

Rastreamento da atividade ω -transaminase utilizando espécies de *Pseudomonas* sp.

Raquel de Oliveira Lopes^{1,4} (PG), Luciana Dalla Vecchia^{1,4} (PG)*, Thelma de Barros Machado² (PQ), Ivana Correa Ramos Leal³ (PQ), Rodrigo Octavio Mendonça Alves de Souza^{1,4} (PQ).

¹ Grupo de Biocatálise e Síntese Orgânica, Instituto de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP:22941-909

² Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense

³ Faculdade de Farmácia, Campus Macaé – Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP:27930-560

⁴ Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

* lucianadallavechia@yahoo.com.br

Palavras Chave: *Pseudomonas* sp., transaminase, resolução cinética.

Introdução

Transaminases são enzimas dependentes de fosfato de piridoxal (PLP) responsáveis pela transferência de grupo amino para uma cetona pró quiral. Estas enzimas podem ser utilizadas para a resolução cinética de aminas racêmicas, conforme demonstrado na Figura 1.¹

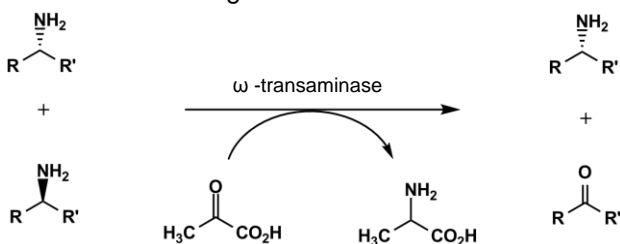


Figura 1. Resolução cinética de aminas racêmicas utilizando piruvato de sódio como co-substrato.

Reações de transaminação podem ser realizadas utilizando a enzima isolada ou microorganismos. Neste trabalho, foram investigadas diferentes espécies de *Pseudomonas* sp. quanto a sua capacidade de promover a resolução cinética da mistura racêmica de 1-feniletilamina através da formação de acetofenona.

Resultados e Discussão

Dentre as espécies avaliadas neste estudo (*P. alcaligenes*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa* e *P. fluorescens*), os resultados mais promissores foram obtidos com a amostra de *P. fluorescens* NCTC 10038. As reações foram realizadas utilizando-se células liofilizadas previamente cultivadas em meio TSB (Oxoid). As células foram reidratadas em tampão fosfato com PLP (pH 7,5) e, em seguida, foram adicionados o substrato (*rac*-feniletilamina) e co-substrato (piruvato de sódio, 1 ou 10 eq). A mistura foi incubada em reator shaker a 30 °C e 120 rpm por 48 horas.² Após este período, foi realizada a extração com acetato de etila e a fase orgânica foi analisada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. De acordo com os resultados expostos na Tabela 1, a formação de acetofenona mostrou-se invariável em relação às

diferentes concentrações de piruvato (1 ou 10 equivalentes).

Tabela 1. Percentual de conversão da acetofenona a partir da *rac*-feniletilamina utilizando a espécie *Pseudomonas fluorescens*.

Tubos	Concentração de piruvato	% de <i>rac</i> -feniletilamina	% de acetofenona
Controle +	1 eq	0	0
Controle -	1 eq	99,44	0,56
Amostra 1	1 eq	93,15	6,85
Amostra 2	10 eq	93,36	6,64

*Controle +: reação sem *rac*-feniletilamina; Controle -: reação sem bactéria liofilizada; eq = equivalente.

As conversões em acetofenona obtidas são promissoras e estão em concordância com resultados da literatura, onde diferentes estudos alcançaram percentuais de cerca de 5-10%, apresentando excessos enantioméricos da amina de 90-95%.

As condições de análise por CG-EM bem como a especificação dos parâmetros adotados estão dispostos na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2. Parâmetros utilizados para análise por CG-EM.

Taxa de aquecimento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo de espera (min)
	80	6,5
10	160	0
20	200	5

*Coluna: Rtx-5MS (Espessura: 0,25 μ m, Diâmetro: 0,25 mm, Comprimento: 30 m); Pressão de nitrogênio: 102,6 kpa.

Conclusões

Dentre as amostras-padrão de *Pseudomonas* sp. analisadas, os melhores resultados foram obtidos com *Pseudomonas fluorescens*. Estudos para otimização das condições reacionais, assim como a análise das reações por CG utilizando coluna quiral para quantificação do excesso enantiomérico obtido, estão sendo implementados por nosso grupo.

Agradecimentos

Ao BossGroup e IQ-UFRJ.

¹ Koszelewski, D. et al. *Trends Biotechnol.*, **2010**, *28*, 324-332.

² Clay, D. et al. *Tetrahedron: Asym.*, **2010**, *21*, 2005-2009.