

Avaliação de lipases de metagenômica em reações de resolução cinética enzimática de alcoóis secundários e ésteres

Leandro Piovan^{1(PQ)*}, Allen C. S. Costa^{1(PG)}, Talita C. Fraiz^{1(IC)}, Robson Alnoch^{2(PG)}, Aline D. Madalozzo^{2(PG)}, Alfredo R. M. de Oliveira^{1(PQ)}, Nadia Krieger^{1(PQ)}

¹Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, CEP 81.531-990, Curitiba-PR, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ciências-Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, CEP 81.531-990, Curitiba-PR, Brasil.

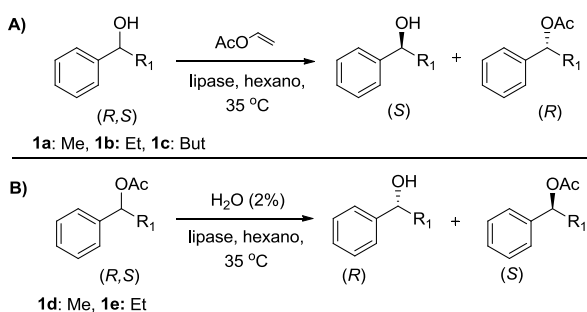
*e-mail autor correspondente: lpiovan@quimica.ufpr.br

Palavras Chave: lipases, alcoóis secundários, resolução cinética enzimática.

Introdução

As técnicas convencionais de obtenção de enzimas microbianas baseiam-se no isolamento e cultivo de microrganismos. No entanto, estima-se que apenas 1-10% deles sejam cultiváveis em laboratório, o que limita o espectro de enzimas potencialmente acessíveis. Uma alternativa para evitar o cultivo de micro-organismos é a prospecção metagenômica, que consiste na extração direta de fragmentos de DNA de uma amostra do meio ambiente e, posterior sequenciamento, análise e superexpressão em um microrganismo cultivável em laboratório¹. Neste trabalho apresentamos os resultados da avaliação de duas lipases (LipC6G9 e LipC12) obtidas de uma biblioteca metagenômica construída a partir de solo contaminado com gordura². Essas lipases nunca haviam sido aplicadas em síntese orgânica, em particular, na resolução cinética enzimática (RCE) de alcoóis secundários e seus respectivos ésteres **1a-1f** (Figura 1).

Figura 1. Reações de RCE mediadas por: LipC6G9 e LipC12. A) Transesterificação e B) Hidrólise.



Resultados e Discussão

As lipases LipC6G9 e LipC12, foram imobilizadas em Accurel e Immobead[®] respectivamente. As reações foram realizadas em frascos selados, sob agitação magnética a 35 °C, os resultados estão apresentados na Tabela 1. As reações de RCE mediadas por LipC6G9 apresentaram altas razões enantioméricas ($E > 200$) e altos excessos enantioméricos ($> 99\%$) para a maior parte dos produtos. O tempo reacional aumentou conforme o aumento do grupo R_1 (entradas 1-5).

37^ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Tabela 1. RCE de alcoóis e ésteres mediada por LipC6G9 e LipC12.

#	Lipase	Comp.	Tempo (h)	c (%)	ee _s (%)	ee _p (%)	E
1	LipC6G9	1a	30	49	95	95	>200
2		1b	156	30	44	99	>200
3		1c	192	10	10	99	>200
4		1d	120	26	34	99	>200
5		1e	192	10	10	99	>200
6	LipC12	1a	216	14	4	24	2
7		1b	216	21	2	6	1
8		1c	216	9	10	99	>200
9		1d	72	14	16	99	>200
10		1e	216	9	10	99	>200

c e e.e: conversão e excesso enantiomérico (determinados por CG-quiral). E: razão enantiomérica. Condições reacionais: substrato (0,1 mmol), hexano (2 mL), enzima suportada (100 mg), 35 °C.

As reações de hidrólise (entradas 4 e 5) apresentaram menores taxas de conversão do que as reações de transesterificação dos alcoóis correspondentes mediadas pela LipC6G9. As reações de transesterificação mediadas pela LipC12 apresentaram menores taxas de conversão quando comparadas com a LipC6G9 e também menor enantiosseletividade nas reações de transesterificação com baixos valores de excesso enantioméricos (entradas 6 e 7). As reações de hidrólise mediadas pela LipC12 apresentaram melhores excessos enantioméricos do que as reações de transesterificação dos alcoóis correspondentes (entradas 9 e 10).

Conclusões

Duas lipases de metagenômica foram avaliadas com sucesso na RCE de alcoóis secundários e ésteres. Os produtos foram obtidos com elevados excessos enantioméricos, apesar do longo tempo de reação, o qual acredita-se que pode ser reduzido através da otimização dos parâmetros reacionais.

Agradecimentos

À CAPES, CNPq, Fundação Araucária e UFPR.

¹ Handelsman, J.; Rondon, S. F.; Brady, J. e Clardy, R. M. *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 245. ² Glogauer, A.;Martini, V. P.; Faoro, H.; Couto, G. H.;Müller-Santos, M.; Monteiro, R.A.; Mitchell, D. A.; Souza, E. M.; Pedrosa, F. O.; e Krieger, N. *Microbiol Cell Fact.* **2011**, *10*, 3335. ³ Chen, C. Fujimoto, Y. Girdaukas, G. Sih, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 7294.