

MODULACIÓN DE LA ENANTIOSELECTIVIDAD DE LIPASAS PRODUCIDAS POR HONGOS TERMOTOLERANTES VÍA PROTOCOLO DE INMOVILIZACIÓN

Blanca E. Hernández-Rodríguez^{1*}, Gloria Fernández-Lorente², Roberto Fernández-Lafuente², Jose Manuel Guisan², Ernesto Favela-Torres¹.

^{1*}Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-I. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina. C.P. 09340. fax (55) 58 04 65 54, *blancaeli_hr@yahoo.com.mx

²Departamento de Biocatálisis. Instituto de Catálisis, CSIC, Cantoblanco, 28049 Madrid, España

Palabras clave: enantioselectividad, lipasas inmovilizadas, hongos termotolerantes

Introducción. Las lipasas (EC 3.1.1.3) se emplean en reacciones de química bio-orgánica. Por sus propiedades regio- y enantioselectivas, las lipasas son utilizadas para la síntesis de compuestos quirales. Como estrategia para mejorar la enantioselectividad en síntesis de fármacos y químicos finos se han desarrollado protocolos de inmovilización cuyas diferencias radican en la orientación, rigidez y micro-ambiente conferido a la proteína; lo que puede provocar en algunos casos cambios conformacionales en la enzima (1).

Objetivo. Determinar el efecto de dos tipos de inmovilización sobre la enantioselectividad de lipasas producidas por dos cepas de hongos termotolerantes.

Metodología. Las lipasas fueron producidas en cultivo sólido por las cepas *Rhizopus microsporus* var. *tuberosus* (19) y *Rhizopus microsporus* var. *chinensis* (43a). Las enzimas se inmovilizaron (derivados enzimáticos) en dos soportes: 1) Octil-agarosa (adsorción interfacial) y 2) MANAE-Glutaraldehído (unión covalente multipuntual). La enantioselectividad (*E*) se evaluó en la hidrólisis del ácido (±)-2-*O*-butiril-2-fenilacético [(±)-OBFA] y del (±)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo [(±)-HFBE] e hidrólisis asimétrica de los sustratos pro-quirales di-*n*-metil [DMFG] y di-*n*-etil-fenil-glutarato [DEFG]. El valor de *E* se reportó como la proporción del isómero mayoritario con respecto al isómero minoritario (1).

Resultados y discusión. El cuadro 1 presenta los resultados de enantioselectividad (*E*) obtenidos con los derivados enzimáticos producidos. En la hidrólisis de (±)-OBFA el valor de *E* del derivado MANAE-G-19 fue 5 veces mayor con respecto al derivado Octil-19. La selectividad del derivado Octil-43a se incrementó notablemente al generar como único producto de reacción *S*-ácido mandélico [(*S*)-AM]. Todos los derivados enzimáticos estudiados presentaron una preferencia estereoquímica hacia la producción del isómero (*S*)-AM, el cual es un precursor quiral de la *S*-oxibutinina, fármaco de interés para el tratamiento de la incontinencia urinaria. En la hidrólisis de (±)-HFBE, los derivados enzimáticos evaluados mostraron una baja selectividad (*E*<4). La *E* de las lipasas 19 y 43a fue modulada vía estrategia de inmovilización en el sustrato cuyo carbono quiral se localiza en la parte nucleófilo del sustrato éster [(±)-OBFA], contrario a lo

observado en el sustrato cuyo carbono quiral se ubica en el donador acilo del sustrato éster [(±)-HFBE]. Con respecto a la hidrólisis asimétrica de DMFG, ambos derivados de la lipasa 19 generaron como único producto el monoéster quiral, (*S*)-*n*-metil-fenilglutarato [(*S*)-MFG]. Mientras que al emplear el sustrato DEFG, solamente el derivado MANAE-G presentó una elevada selectividad en la producción del (*S*)-*n*-etil-fenilglutarato [(*S*)-EFG]. En la hidrólisis asimétrica catalizada por los derivados de la lipasa 19, tanto el grupo carboalcoxi como el tipo de inmovilización mostraron efecto sobre la *E* del producto de reacción (*S*)-*n*-metil-fenilglutarato y (*S*)-*n*-etil-fenilglutarato. Estos resultados son importantes porque la hidrólisis asimétrica catalizada por los derivados enzimáticos usados en este trabajo permite obtener mayores rendimientos de los compuestos quirales con respecto a la hidrólisis cinética de racematos (1).

Cuadro 1. Enantioselectividad de lipasas inmovilizadas

Derivado enzimático (Soporte-Lipasa)	Sustrato	<i>E</i>	Isómero preferente
Octil-19	(±)-OBFA	5.2	<i>S</i>
MANAE-G-19	(±)-OBFA	25.8	<i>S</i>
Octil-43a	(±)-OBFA	∞	<i>S</i>
MANAE-G-43a	(±)-OBFA	9.8	<i>S</i>
Octil-19	DMFG	∞	<i>S</i>
MANAE-G-19	DMFG	∞	<i>S</i>
Octil-19	DEFG	1.3	<i>R</i>
MANAE-G-19	DEFG	∞	<i>S</i>

Conclusiones. La selectividad (*E*) de las lipasas 19 y 43a dependió de la estrategia de inmovilización. Los derivados enzimáticos estudiados son biocatalizadores potenciales para la producción de compuestos quirales enantioméricamente puros y de gran importancia para la industria biotecnológica.

Agradecimiento. Hernández-Rodríguez agradece la beca de posgrado otorgada por CONACyT.

Bibliografía.

1. Fernández G, Cabrera Z, Godoy C, Fernández R, Palomo J, Guisán J. 2008. Interfacially activated lipases against hydrophobic supports: Effect of the support nature on the biocatalytic properties. *Process Biochem* 43: 1061–1067.