

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA ACTIVIDAD Y ENANTIOSELECTIVIDAD DE LAS ACILASAS EN LOS POLVOS ACETÓNICOS DE RIÑÓN.

Héctor Luna, Julia Cassani, Norberto Manjarrez, Herminia I. Pérez, Aida Solís. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calz. Del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, México, D.F., CP 04960. Fax: 54837237; e-mail: lchm1964@correo.xoc.uam.mx. .

Palabras clave: *Acilasas, biocatálisis, aminoácidos.*

Introducción. Los α -aminoácidos son intermediarios importantes en la síntesis de fármacos y otros compuestos con aplicaciones biológicas, por lo tanto ha sido un reto para los químicos desarrollar métodos para su obtención en forma enantiopura. Uno de los métodos más simples y eficientes es la resolución, ya sea a través del grupo carboxilo o del amino, existiendo numerosas variantes químicas y enzimáticas. Las acilasas algunas de las enzimas utilizadas para la preparación de α -aminoácidos enantiopuros.¹ En este trabajo se evaluó la actividad acilasa de los polvos acetónicos de riñón (KAPs) de varias especies animales, para comparar su capacidad hidrolítica y enantioselectividad frente a *N*-acetilmetionina racémica.

Metodología. Los polvos acetónicos se prepararon moliendo los riñones con acetona y posterior evaporación del disolvente. Las reacciones de hidrólisis se efectuaron por agitación, a 37°, de la *N*-acetilmetionina en solución amortiguadora a pH 7.5 con el polvo acetónico correspondiente en una proporción 1:1(p/p) y el progreso de la reacción y su enantioselectividad se siguió por CLAR quiral.

Resultados y discusión. Se ha reportado que el riñón de varias especies contiene acilasas en diferentes proporciones.² Con ese antecedente, en un trabajo previo se aplicaron los polvos acetónico crudos de riñón a la resolución de la *rac*-homofenilalanina.³ Ahora con el fin de determinar diferencias y ciertas características catalíticas de los KAPs, para su potencial aplicación como biotilizadores crudos en química orgánica, se probaron 10 KAPs, de borrego, res, ternera, perro, cuyo, gato, puerco, hamster, rata y ratón, en su capacidad para la resolución de la *rac*-*N*-acetilmetionina. La reacción de cada uno de ellos se monitoreó estrechamente durante las primeras 5 h y, posteriormente se continuó, hasta 24-25 h de reacción total; con ello se observó el progreso de la reacción y prácticamente todas llegaron a una posición de equilibrio, siendo diferente para cada uno de los KAPs.

De esos resultados obtenidos se pudo clasificar a los KAPs en biocatalizadores rápidos, como el de borrego, res ternera, perro, cuyo, gato y puerco, debido a que el equilibrio (máxima conversión) se alcanzó entre las 4-5 h. Los KAPs de hámster, ratón y rata se consideraron biocatalizadores lentos, ya que el equilibrio apenas se

alcanzó a las 24-25 h. Es interesante notar que para los primeros la conversión fue alrededor del 85-95% y para los segundos de <20%.

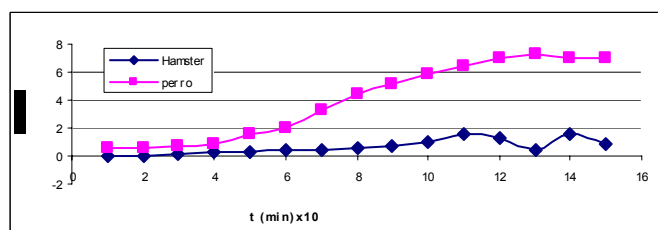


Fig. 1. Progreso de reacción comparativa del KAP de perro (biocatalizador rápido) y hámster (biocatalizador lento).

Respecto a la enantioselectividad, en todos los casos se observó la hidrólisis de un solo enantiómero del sustrato, ya que análisis por CLAR quiral mostró la desaparición de un solo enantiómero de la *N*-acetilmetionina y la formación de un solo enantiómero del producto. Respecto a la enantioselectividad la configuración del enantiómero hidrolizado fue "S". Por otro lado se observó que la remoción del biocatalizador y almacenamiento en el refrigerador de las muestras de reacción, no fue suficiente para detener la reacción de hidrólisis. Lo anterior nos indicó que parte de la acilasa se disolvió en el medio de reacción y que continuó activa aún a temperaturas de 5° C.

Conclusiones. Los KAPs, biocatalizadores crudos de fácil acceso y preparación, mostraron tener potenciales aplicaciones en química orgánica. Se considera que son biocatalizadores muy eficientes ya que los resultados indican que aún a bajas temperaturas, la hidrólisis se lleva a cabo.

Bibliografía.

- Chelnault, H.K.; Dahmer, J.; Whitesides, G.M. (1989). Kinetic resolution of unnatural and rarely occurring aminoacids: enantioselective hydrolysis of *N*-acyl-aminoacids catalyzed by acilase I. *J. Am. Chem. Soc.* 111 (16): 6354-6364.
- Lindner, H.; Höpfer, S.; Täfler-Naumann, M.; Miko, M.; Konrad, L.; Röhm, K.-H. (2000) The distribution of aminoacylase I among mammalian species and localization of the enzyme in porcine kidney. *Biochimie* 82:129-137.
- Regla, I.; Luna, H.; Pérez, H.I.; Demare, P.; Bustos-Jaimes, I.; Zaldivar, V.; Clacagno, M.L. (2004) Enzymatic resolution of *N*-acetyl-homophenylalanine with mammalian kidney acetona powders. *Tet.: Asymmetry* 15:1285-1288.