

## INGENIERÍA DE SOLVENTES APLICADA A LA RESOLUCIÓN ENZIMÁTICA QUIMIOSELECTIVA DE MEZCLAS AMINAS-ALCOHOL

De Regil Rubén, López-Munguía Agustín, Castillo Edmundo\*

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. postal 501-3, Cuernavaca, Morelos, CP 62271

Fax: (777)311 4903, email: [deregil@ibt.unam.mx](mailto:deregil@ibt.unam.mx)

Palabras clave: lipasas, solventes orgánicos, quimioselectividad

**Introducción.** De manera empírica se sabe que una sustancia es capaz de disolver a otra similar. Una de las aproximaciones más racionales para explicar este fenómeno es mediante la determinación de los coeficientes de actividad, los cuales permiten estimar el número de interacciones moleculares entre dos o más especies químicas. La capacidad de solvatación de un solvente esta en función de la afinidad soluto-solvente, y esta a su vez depende del número de interacciones entre los grupos moleculares de ambas especies. Esta característica de los solventes se ha explotado en biocatálisis para el control del equilibrio termodinámico en reacciones de esterificación, estableciéndose que ésteres polares son favorablemente sintetizados al equilibrio en solventes polares (1). Bajo este razonamiento, es de esperarse que las amidas, compuestos relativamente más polares que los ésteres, se producirán preferencialmente en solventes polares.

Este trabajo tuvo como objetivo central la resolución enzimática quimioselectiva de mezclas de aminas y alcoholes análogos empleando la ingeniería de solventes. Mediante el cálculo de coeficientes de actividad se buscó explicar teóricamente los cambios en la quimioselectividad de los procesos.

**Metodología.** Las síntesis de amidas y ésteres se efectuaron en dos solventes orgánicos: 2-metil-2butanol (2B) y *n*-hexano (HEX) como medio de reacción, utilizando concentraciones equimolares de amina ó alcohol y ácido cáprico (20mM), 20 mg/mL de tamiz molecular y 20 mg/mL de lipasa inmovilizada Novozym 435<sup>®</sup>. Las reacciones se incubaron a 45 °C y el equilibrio de reacción se determinó por HPLC. Los productos de reacción se purificaron por cromatografía en columna y se analizaron por HPLC. Las reacciones para la resolución de mezclas de amina y alcohol se efectuaron en los mismos solventes con las mismas concentraciones de sustratos y lipasa, pero con 40 mg/mL de tamiz molecular y 40 mM de ácido cáprico. Las reacciones se analizaron con el mismo método al equilibrio. La estructura general de los productos de las reacciones se describe en la figura 1, donde, Vainillinamida del Ácido Cáprico (1): R1= OCH<sub>3</sub>, R2=OH, R3=C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>, A=NH; Vainillinester del Ácido Capricho (2): R1=OCH<sub>3</sub>, R2=OH, R3=C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>, A=O; Bencilamida del Ácido Cáprico (3): R1=H, R2=H, R3=C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>, A=NH; Bencilester del Ácido Cáprico (4): R1=H, R2=H, R3=C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>, A=O

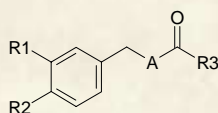


Figura 1. Amidas y ésteres análogos sintetizados.

**Resultados y discusión.** La síntesis de las amidas 1 y 3 resultó favorecida en 2B, obteniéndose conversiones cercanas al 100%. Por el contrario, la producción de estos compuestos alcanzó conversiones menores a 15% cuando las reacciones se llevaron a cabo en HEX. En el caso de la síntesis de los ésteres 2 y 4, el HEX resultó ser el solvente más adecuado, obteniéndose conversiones por arriba del 80% en ambos casos. La síntesis de estos ésteres resultó desfavorecida en 2B. Las conversiones alcanzadas y los valores de los coeficientes de actividad de los productos se muestran también en la Tabla 1. Una vez determinado el medio de reacción apropiado para la síntesis de cada tipo de molécula, se procedió a resolver una mezcla generada con la amina y del alcohol para producir los compuestos 1 y 2 en 2B. Como se esperaba, la síntesis de la amida 1 predominó sobre la del éster 2 teniendo conversiones del 100% en 2B mientras que el éster solo de 2% en el mismo solvente.

Tabla 1. Conversiones de las reacciones de síntesis de amidas y ésteres y los valores de sus coeficientes de actividad calculados con el Método UNIFAC.

Producto	Conversión		Coeficiente de actividad	
	2B	HEX	2B	HEX
1	99%	8%	0.53	11,269
2	11%	81%	1.65	109.6
3	99%	14%	1.63	345.3
4	5%	96%	3.98	2.46
1 y 2	1:100% 2:2%	N.D.	1:0.53 y 2:1.65	1:11,269 y 2:109.6

Los cálculos de las actividades termodinámicas efectuados con el método UNIFAC explicaron adecuadamente la quimioselectividad en la síntesis de amidas en 2B y HEX, sin embargo resulta poco eficiente para explicar el proceso en la síntesis de los ésteres.

**Conclusiones.** Los resultados de este trabajo permitieron comprobar la efectividad de la resolución enzimática quimioselectiva mediante el uso de la ingeniería de solventes. Por lo cual es posible resolver enzimáticamente una mezcla de alcoholes y aminas. El método UNIFAC es un método que debe usarse con reserva para predecir el medio en que se favorecerá determinada reacción.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen a Fernando González Muñoz por su ayuda técnica.

### Bibliografía.

1. Bellot, J.C., Choisnard, L., Castillo, R.E., and Marty, A. (2001). Combining solvent engineering and thermodynamic modeling to enhance selectivity during monoglyceride synthesis by lipase-catalyzed esterification. *Enzyme Microb. Technol.* 28, 362-369.