



POLIMERIZACIÓN ENZIMÁTICA DE ANILINAS HALOGENADAS EMPLEANDO LA CLOROPEROXIDASA DE *Caldariomyces fumago*.

Adriana Longoria, Raunel Tinoco y Rafael Vázquez-Duhalt.
Instituto de Biotecnología-UNAM, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa.
Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62210.
Fax: 777-3172388. Correo electrónico: yanni@ibt.unam.mx.

Palabras clave: Polimerización enzimática, cloroperoxidasa, anilinas halogenadas.

Introducción. El empleo de enzimas como una herramienta biotecnológica para la síntesis *in vitro* de polímeros resulta muy atractivo debido a ventajas tales como condiciones de reacción suaves (temperatura, pH y presión) y compatibilidad con el ambiente respecto a los procesos químicos. Recientemente se han utilizado peroxidases, lacasas y la bilirrubina oxidasa como catalizadores de la polimerización oxidativa de anilinas, fenoles y sus derivados obteniendo compuestos con diversas aplicaciones de interés industrial [1]. Una de estas aplicaciones es la obtención de polímeros conductores cuya estructura es lineal [2]. Las enzimas antes mencionadas involucran la formación de radicales libres durante su ciclo catalítico y el acoplamiento no enzimático de dichos radicales da lugar a la formación de polímeros altamente ramificados.

En este trabajo se propone el empleo de la cloroperoxidasa (CPO) producida por el hongo filamentoso *Caldariomyces fumago* para la obtención de un polímero lineal a partir de 2,3,5,6-Tetracloroanilina (TCA).

Metodología. Se determinaron las velocidades iniciales de consumo de la TCA (0.03 g/L) en presencia de CPO (14 g/L), H₂O₂ (0.034 g/L), KCl (1.49 g/L), 20% de isopropanol y amortiguadores de acetatos pH 2 y pH 3 empleando cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Estas reacciones se realizaron en 1 mL de volumen total. También se realizó la reacción a pH 3 en 1 L con adiciones sucesivas de CPO y H₂O₂ hasta agotar la TCA. Los productos de la reacción fueron extraídos con diferentes solventes orgánicos, se purificaron empleando HPLC y fueron identificados por medio de espectrometría de masas.

Resultados y discusión. La CPO es una enzima muy versátil ya que realiza diferentes actividades catalíticas como son: halogenasa, peroxidasa, monooxigenasa y catalasa [3]. Esta puede ser la razón que explica su capacidad para transformar la TCA mientras que otras peroxidases como la peroxidasa de rábano blanco y la peroxidasa versátil no lo hacen (resultados no mostrados). La reacción de la CPO frente a TCA a pH 2 y pH 3 da como resultado la obtención de una serie de compuestos oxidados, clorados y la reacción esperada de acoplamiento de radicales libres. Hasta el momento se han identificado la pentacloroanilina (PCA), un dímero TCA-TCA (ver Figura 1) y un dímero TCA-PCA con la orientación

deseada. Esto se debe a que los halógenos son los elementos más electronegativos de la tabla periódica y difícilmente pueden ser sustituidos o eliminados de la molécula de TCA evitando así la obtención de polímeros ramificados.

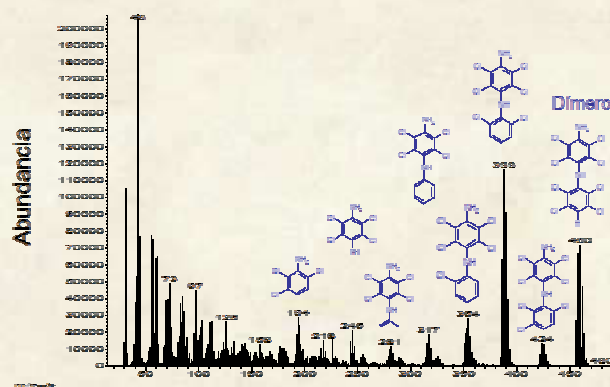


Figura 1. Espectro de masas del dímero formado por dos moléculas de TCA.

En la reacción a pH 3 se obtuvo también un material insoluble que probablemente se trata de un polímero u oligómero cuya caracterización está en proceso. A pH 2 se observa que la reacción halogenasa de la CPO es ampliamente favorecida mientras que a pH 3 se observa un mayor número de productos que se derivan de otras actividades de la CPO, esto nos dice que es posible modular la actividad de la CPO manipulando las condiciones de reacción para favorecer la actividad de mayor interés.

Conclusiones. En medio de reacción con pH 2 y 20% de isopropanol, la principal actividad de la CPO es la halogenasa puesto que el producto mayoritario es la PCA mientras que a pH 3 aumenta la cantidad de productos obtenidos entre los que se encuentran dímeros en la orientación deseada y un polímero insoluble.

Bibliografía.

1. Kobayashi, S., Uyama, H. and Kimura, S. (2001) Enzymatic Polymerization. *Chem. Rev.* 101:3793-3818.
2. MacDiarmid, A. G. (2001) "Synthetic metals": A novel role for organic polymers (Nobel lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* 40:2581-2590.
3. Hager, L. P. Morris, D. R. Brow, F. S. and Eberwein, H. (1966) Chloroperoxidase. II. Utilization of halogen anions. *J. Biol. Chem.* 241:1769-1777.