

SÍNTESIS DE DERIVADOS FENÓLICOS UTILIZANDO UNA LACASA DE ORIGEN FÚNGICO

Lizette Trujillo Robles, Marcela Ayala Aceves, Rafael Vázquez Duhalt.

Instituto de Biotecnología-UNAM, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62210.

Fax: 777-3172388. Correo electrónico: zetty@ibt.unam.mx

Palabras clave: Lacasas, oxidación, biocatálisis.

Introducción. La inserción de grupos funcionales en diversos compuestos a través de la oxidación por vía química presenta desventajas que pueden ser superadas con enzimas, especialmente, las óxido-reductasas. La lacasa, una fenol oxidasa, es una alternativa interesante para la catálisis de reacciones redox ya que únicamente utiliza al oxígeno como cofactor. La reactividad de las lacasas ha sido correlacionada con el potencial redox del sitio Cu T1, que es el lugar en donde se realiza la oxidación de los sustratos [1].

La oxidación directa de fenoles por la lacasa genera radicales libres reactivos, que llevan a la formación de oligómeros y polímeros. Así también, los radicales fenólicos pueden sufrir reacciones de acoplamiento para formar diferentes dímeros C-O y C-C [2] que pueden ser de relevancia sintética. Sin embargo, la utilización de estas enzimas en síntesis orgánica ha sido poco explorada.

En este trabajo se pretende estudiar la aplicación de una lacasa fúngica en reacciones de oxidación, mediante la formación de aductos derivados de reacciones con fenoles.

Metodología. Las reacciones se realizaron en amortiguador de acetatos a pH 4.5, con una concentración equimolar de sustratos y nucleófilos de 200 μ M, en presencia de la lacasa de *Corioliopsis gallica* (Lac). Los productos fueron purificados por cromatografía en capa fina (TLC) preparativa para análisis posteriores.

La actividad específica se determinó por HPLC (utilizando una concentración de 2 mM para cada compuesto), midiendo la disminución en el área de las bandas después de 10 minutos de reacción y está expresada como moles de sustrato transformado por mol de lacasa por minuto (min^{-1}).

Resultados y discusión. Se realizaron ensayos de oxidación con diferentes compuestos fenólicos para determinar si todos ellos eran sustratos de la Lac. Todos los compuestos utilizados fueron sustratos para la enzima, a excepción de aquellos que poseen grupos atractores de electrones, debido probablemente, a que el sitio Cu T1 de esta lacasa no es de alto potencial redox. En el caso de la anilina, se observó una actividad específica muy baja, probablemente debido a que los radicales libres producidos ocasionan una rápida inactivación de la enzima. Se ha sugerido que existe una correlación entre el potencial redox de los sustratos y la reactividad de las lacasas. Sin embargo, se encontró que en el caso de la Lac la correlación es baja (figura 1), siendo únicamente notorio que compuestos con una energía de ionización mayor a 8.7 eV no fueron sustratos para esta enzima.

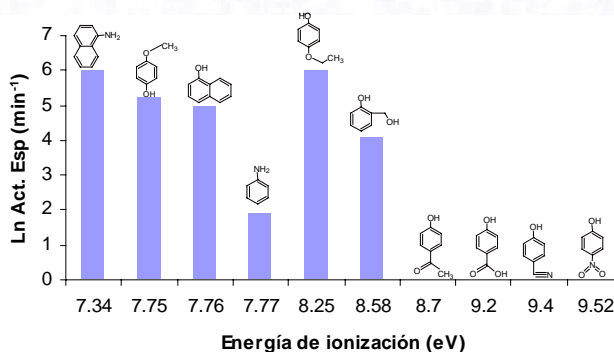


Figura 1. Relación entre la actividad específica y la energía de ionización de los compuestos utilizados.

En el caso de las reacciones con nucleófilos (ácido p-aminobenzoico, etilendiamina, hidroxilamina, etanolamina y 1,6-hexandiamina) se observó que con el 4-metoxifenol (4-MF) y ácido p-aminobenzoico (PABA) aparece un producto diferente, además del obtenido en la reacción sin nucleófilo (figura 2a), sugiriendo que en presencia de este compuesto se favoreció probablemente la formación de un aducto. El enlace de este probable aducto pudo haberse formado considerando que el radical libre producido sobre el anillo fenólico se posicionó en función del grupo metoxilo reaccionando con los electrones disponibles en el PABA (figura 2b). Sin embargo, este compuesto aún está en vías de identificación.

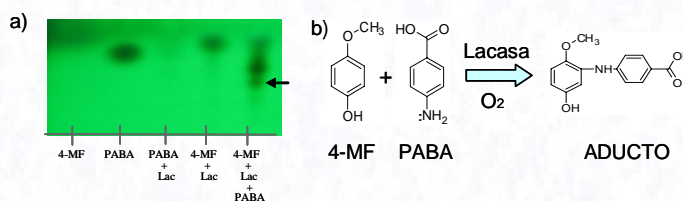


Figura 2. a) TLC que muestra la presencia de un producto diferente en la reacción con PABA. b) Estructura propuesta del posible aducto.

Conclusiones. Lac no puede oxidar sustratos con una energía de ionización mayor a 8.7 eV. Además, se encontró que existe una baja correlación entre la actividad específica de los sustratos ensayados y la energía de ionización de los mismos. En la reacción de 4-MF y PABA se produce un compuesto que no se obtiene en ausencia de PABA; pruebas preliminares indican que podría ser un aducto.

Bibliografía.

- Solomon, E. I., Sundaram, V. M. and Machonkin, T. E. (1996). Multicopper oxidases and oxygenases
- Riva, S. (2006). Laccases: blue enzymes for green chemistry. *Trends in Biotechnology*. 24: 219-226.