

USO DE SULFITO DE SODIO COMO ESTABILIZADOR DEL CATECOL UTILIZADO COMO SUSTRATO EN LA SÍNTESIS DE L-DOPA POR CÉLULAS DE *C. freundii* CON ACTIVIDAD TIROSINFENOLIASA

Gerardo de Jesús Sosa Santillán*, Raquel Rivera Estrada, Mónica Abigail Sánchez Calderón, Yolanda Garza García, Jesús Rodríguez Martínez. Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza esquina con José Cárdenas Valdés. Col. República Oriente, CP 25280, Saltillo, Coahuila. Fax (844) 415-95-34, email: gdejsosa@mail.uadec.mx

Palabras clave: tirosinfenoliasa, L-DOPA, *C. freundii*

Introducción. La L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-dopa) es importante por su empleo como medicamento en el tratamiento del Mal de Parkinson. La enzima tirosinfenoliasa (TFL) posee actividad catalítica de amplio potencial para su uso en la síntesis de los aminoácidos L-tirosina y L-dopa. Esta enzima puede ser obtenida de microorganismos tales como *Erwinia herbicola* y *Citrobacter freundii*. Uno de los problemas que se presenta en la síntesis enzimática de la L-DOPA es la rápida oxidación del catecol, uno de los sustratos utilizados.

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de la adición de sulfito de sodio sobre la actividad enzimática TFL en la síntesis de L-DOPA.

Metodología. Para este estudio se utilizó como biocatalizador células libres de *C. freundii* con actividad TFL. Estas células fueron propagadas mediante incubación en matraces erlenmeyer de 1 L a 32°C durante 12 horas, posteriormente las células fueron separadas por centrifugación y el paquete celular obtenido fue suspendido en buffer de fosfatos. Las células fueron colocadas en reactores batch que contenían 30 mL de mezcla reaccionante para síntesis de L-DOPA (catecol, piruvato y amonio) a un pH de 7.5 y una temperatura de 30°C. Se probaron, añadiendo a la mezcla reaccionante, las siguientes concentraciones de sulfito de sodio (%): 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5.

Resultados y discusión. El cuadro 1 muestra la comparación de actividades enzimáticas obtenidas bajo los diferentes tratamientos con sulfito de sodio.

Tabla 1. Comparación de la actividad enzimática con los tratamientos con sulfito de sodio a diferentes concentraciones.

Tratamiento con sulfito de sodio (%)	A.E. (mmoles/mgxh) x 10 ⁴
0.0	230.26
0.1	332.59
0.2	511.69
0.3	562.85
0.4	491.22
0.5	465.66

Se observa que los mejores resultados se obtienen al utilizar una concentración de sulfito de sodio de 0.2 % o mayor. Es obvio que en comparación con la síntesis llevada a cabo sin la adición de sulfito de sodio, todos los casos muestran una mejoría significativa de la actividad enzimática. Estos resultados muestran que una concentración de entre el 0.2 y el 0.3% es suficiente para lograr una actividad enzimática mayor que sin la presencia del sulfito de sodio, ya que concentraciones mayores no mejoran significativamente la síntesis del aminoácido.

Conclusiones. Los resultados obtenidos en este estudio parecen apoyar el hecho de que el sulfito de sodio es un buen agente antioxidante y en este caso funciona bien como agente estabilizante del catecol retardando su oxidación y dando tiempo para que se lleve a cabo la bioconversión enzimática.

No obstante lo anterior, se hace necesario buscar otras alternativas que permitan mejorar aún más el uso de este tipo de biocatálisis evitando al máximo el proceso de oxidación del sustrato limitante.

Agradecimientos. Este trabajo se realiza con apoyo del Programa de Postgrado en Biotecnología del Departamento de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, y con financiamiento por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Referencias.

1. Foor, F., N. Morin and K.A. Bostian. 1993. Production of L-dihydroxyphenylalanine in *Escherichia coli* with tyrosine phenol-lyase gen cloned from *Erwinia herbicola*. Appl. Environ. Microbiol. 59(9):3070-3075.
2. Godina Camarillo, Liliana. 2001. Caracterización de la Reacción de Síntesis de L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) Catalizada por Células de *Citrobacter freundii* con Actividad Tirosinfenoliasa. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. 113 p.
3. Hee-Sung Park, Jang-Young Lee, Hak-Sung Kim. 1998. Production of L-DOPA (3,4-dihydroxyphenyl-alanine) from Benzene by Using a Hibrid Pathway. Biotechnol. and Bioeng. 58(2-3):339-343.