



ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES REDUCTORAS DE *Pisum sativum*.

Abraham Cano Hipólito¹, Aida Solís Oba¹, Herminia I. Pérez Méndez¹, Norberto Manjarrez Álvarez¹, Myrna Solís Oba²,
¹Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, C.P. 04960, México, D.F. ²CIBA, IPN C.P. 90700, Tlaxcala, México. Email: asolis@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: reducción, biocatálisis, *Pisum sativum*.

Introducción. Los alcoholes secundarios ópticamente activos son intermediarios importantes en la síntesis de compuestos biológicamente activos, como fármacos y agroquímicos. Dichos alcoholes se pueden obtener por reducción de cetonas utilizando como biocatalizadores oxidoreductasas (1). La principal fuente de estas enzimas son los microorganismos, pero en diversas plantas también se encuentran las oxidoreductasas (2) las cuales no han recibido tanta atención como las de origen microbiano.

En este trabajo se estudió al *Pisum sativum* (chícharo) como fuente de oxidoreductasa para llevar a cabo la reducción enantioselectiva de acetofenona a 1-feniletanol (**Fig. 1**), usando el material tanto fresco como liofilizado y bajo diferentes condiciones de reacción, como tiempo, cantidad de biocatalizador y del sustrato.

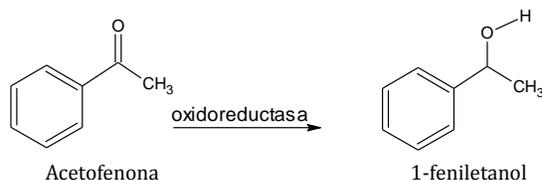


Figura 1. Reducción de acetofenona catalizada por la oxidoreductasa de chícharo.

Metodología. A) Método con chícharo fresco: el chícharo sin vaina se molió con agua destilada, en relación 1:1 (W/V), se centrifugó y se utilizó el sobrenadante como fuente de oxidoreductasa, se agregó la acetofenona disuelta en DMF. B) Método con chícharo liofilizado: el polvo de chícharo liofilizado se suspendió en agua (8.7 mL), se molió, luego se centrifugó y 5 mL del sobrenadante se mezclaron con acetofenona disuelta en DMF. En ambos casos las mezclas se agitaron a 30°C 24h, se extrajeron con cloruro de metileno, se analizaron por CG para determinar el grado de conversión y por CLAR, utilizando una columna quiral, para determinar el exceso enantiomérico (ee) del 1-feniletanol.

Resultados.

En el caso de chícharo fresco se usaron 5 g de material fresco en 5 mL de agua destilada, 5 mL del sobrenadante se mezclaron con una solución de 2.5 mg de acetofenona en 25 mL de DMF, después de 24 h el ee de 1-fenilpropanol fue >99%, con conversión entre 63 y 67%. En base al resultado anterior, se observó que el chícharo tiene la capacidad de reducir acetofenona, pero como

este material no es estable por tiempos prolongados, se liofilizó para conservarlo más tiempo. Para evaluar si mantuvo sus propiedades biocatalíticas 1290 mg se suspendieron en 8.7 mL de agua destilada, el sobrenadante se mezcló con 2.5 mg acetofenona/25 mL DMF, la conversión fue de 87%, y el ee fue de 88%. Posteriormente se utilizaron diferentes cantidades de material liofilizado y de acetofenona, los resultados se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1. Reducción de acetofenona utilizando chícharo liofilizado como fuente de enzima.

mg liofilizado	mg cetona	% conv	% ee
1290	2.5	85-90	95
1000	2.5	92 (48 h)	94
640	2.5	68-84	95
375	2.5	10-15	94
200	2.5	5	95
1000	5	84 (96h)	95
1000	7.5	56 (96 h)	98

% conv: % de conversión; ee del 1-feniletanol.

En la **Tabla 1** se puede observar que el chícharo liofilizado mantiene sus propiedades de oxidoreductasa, la conversión depende de la cantidad de acetofenona y del material biológico utilizando, pero el exceso enantiomérico se mantiene mayor al 90% en todos los casos.

Conclusiones. El chícharo liofilizado es una fuente de oxidoreductasa que se puede almacenar en refrigeración por tiempos prolongados, lo que no es posible con el chícharo fresco, y sus propiedades biocatalíticas se mantienen, obteniéndose un producto de reducción con alto % de ee.

Bibliografía.

- Huisman G, Liang J, Krebber A. (2010) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 14: 122-129.
- Utsukihara T, Watanabe S, Tomiyama A, Chai W, Horiuchi A. (2006) *J. Mol. Cat. B: Enzym.* 41: 103-109