



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



Síntesis enzimática de alquil glucósidos derivados de alcoholes terciarios por la ciclodextrin glucosiltransferasa de *Thermoanaerobacter* sp.

García-Arellano, H.^a Alcalde, M.^b Bernabé, M.^c, Comelles, F.^d, Parra, J.L.^d, Plou, F.J.^b, Ballesteros, A.^b

^aDepartamento de Procesos y Tecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa. México, D. F., 01120. ^bDepartamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis-CSIC, Cantoblanco, Madrid, España, 28049. ^cInstituto de Química Orgánica, CSIC, Madrid, España, 28006. ^dInstituto de Química Avanzada de Cataluña, CSIC, Barcelona, España, 08034. E-mail: hgarcia@icp.csic.es

Palabras clave: CGTasas, alquil glucósidos, síntesis enzimática.

Introducción. Las ciclodextrin glucosiltransferasas (CGTasas, 1,4- α -D-glucan:1,4- α -D-glucanopyranosyl transferase, cyclizing, EC 2.4.1.19) son enzimas extracelulares capaces de convertir el almidón y sustratos relacionados en oligosacáridos cíclicos no reductores denominados ciclodextrinas (CDs). Estos compuestos son sintetizados por una reacción de transglucosilación intramolecular en la cual 6, 7 u 8 moléculas de glucosa se unen mediante enlaces glicosídicos α (1-4) dando lugar a la formación de α , β o γ -ciclodextrinas respectivamente. Además de la ciclización, las CGTasas también catalizan tres reacciones de transferencia adicionales, el acoplamiento, la desproporción y la hidrólisis de almidón (1). Aunque las CGTasas presentan actividad de hidrólisis, su principal actividad es la transglucosilación intermolecular (acoplamiento y desproporción) y en este sentido se han empleado diferentes sustratos como aceptores para las reacciones de transferencia que incluyen, mono y disacáridos, glicósidos, flavonoides, vitaminas alcoholes y poliols. Algunos de estos sustratos aceptores resultaron en altos rendimientos de productos glicosilados (2).

En este trabajo reportamos la síntesis enzimática de *ter*-butil-glicósidos a partir de alcohol *ter*-butílico y de almidón, mediante una reacción de aceptor/desproporción catalizada por la CGTasa. Los alcoholes terciarios no son normalmente glicosilados por β -glucosidasas y, hasta donde sabemos, esta reacción no ha sido reportada usando transglucosidasas.

Metodología. Las diferentes enzimas empleadas se purificaron a homogeneidad a partir de preparaciones comerciales mediante pasos secuenciales de cromatografía en matrices de DEAE-sepharose y Superosa activada con α -ciclodextrina. Se compararon las CGTasas purificadas de *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM1, *Thermoanaerobacter* sp, *Bacillus macerans* y *Bacillus circulans* 251 por su capacidad de transglucosilar *ter*-butanol. Las reacciones se realizaron en buffer de citrato pH 5.5 10 mM, conteniendo el alcohol terciario (30% v/v) y diferentes concentraciones de donadores en presencia de la enzima. Se evaluaron diferentes carbohidratos como donadores en la reacción de glucosilación. Los productos

se aislaron por HPLC preparativa y se identificaron por ¹H-NMR. Se evaluó el comportamiento tensoactivo de uno de los productos y se comparó con el de otros alquil glucósidos comerciales.

Resultados. Las enzimas de los géneros relacionados *Thermoanaerobacterium* y *Thermoanaerobacter* fueron las únicas capaces de sintetizar productos de aceptor bajo las condiciones probadas. Se evaluaron diferentes carbohidratos como sustratos y se identificó al almidón parcialmente hidrolizado como mejor donador. Los productos de reacción se purificaron por HPLC preparativa. La caracterización por ¹H-NMR permitió identificar a los productos como *ter*-butil glucósido y *ter*-butil maltósido. En cinéticas preliminares de producción se alcanzaron los 13 g/L para el glucósido y 4 g/L para el maltósido. Se evaluó el comportamiento tensoactivo del *ter*-butil glucósido a través de la concentración micelar crítica (CMC) encontrándose valores de 4.0 mM. Este valor es comparable al reportado para el octil-glicósido (4.8 mM).

Conclusiones. Se logró la síntesis de alquil glucósidos mediante la reacción de aceptor catalizada por CGTasas a partir de un alcohol terciario y un sustrato de bajo costo como el almidón. El producto obtenido mostró propiedades tensoactivas comparables a las de otros alquil glicósidos comerciales.

Bibliografía.

- (1) Alcalde, M. et al. (2003) *J. Mol. Catal. B:Enzymatic*. 26(1-2):57-67.
- (2) Martín, M.T. et al. (2001) *Biocatal. Biotransform.* 19(1):21-35.