



SÍNTESIS ENZIMÁTICA DE FUCOSILOLIGOSACÁRIDOS: EN LA BÚSQUDA DE NUEVOS DONADORES.

Paulina Barrera-Muñoz,¹ Francisco Guzmán-Rodríguez,² Lorena Gómez-Ruiz,² Gabriela Rodríguez-Serrano,² Mariano García-Garibay,^{2,3} Alma Cruz-Guerrero,² Sergio Alatorre-Santamaría.²

1. Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México, México, 04510 2. Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Ciudad de México, México, 09340. 3. Departamento de Ciencias de la Alimentación, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Lerma de Villada, Edo. de México, México, 52006.

salatorre@xanum.uam.mx

Palabras clave: transfucosilación enzimática, donadores de fucosa, fucosidasa.

Introducción.

Dentro de la composición de la leche humana destacan la presencia de oligosacáridos, particularmente aquellos que en su estructura poseen fucosilos y/o sialilos. Se destacan tanto por su carácter prebiótico, como por ser receptores competitivos para algunas bacterias patógenas impidiendo su adhesión a la superficie epitelial del intestino, así como por presentar efecto inmumodulador (1). La proporción en la que se encuentran varía según la genética de la madre y la etapa de lactancia, y su preparación *in-vitro* es compleja (1). En este trabajo se estudió la síntesis de oligosacáridos fucosilados por medio de la reacción enzimática de transfucosilación catalizada por la α -L-fucosidasa recombinante de *Thermotoga maritima* (2), utilizando como sustrato diferentes donadores de fucosa sintetizados químicamente. De esta manera, se busca mejorar la síntesis de oligosacáridos fucosilados analizando el efecto que tiene el uso de diferentes donadores y la concentración del donador.

Metodología.

Mediante una reacción de glicosilación de fucosa, con condiciones tipo Fischer se obtuvieron los donadores (3): fucosa (100 mg), alcohol (10-15 mL) y un medio ácido, a reflujo (3-6 h). Las mezclas se purificaron en columna de gel sílice 60. Para el estudio del reconocimiento de sustratos por hidrólisis enzimática, se realizó el siguiente procedimiento: una mezcla con cada donador (1 mg/mL) en buffer de acetatos (0.01 M, pH= 5) y 0.67 unidades enzimáticas de α -L-fucosidasa de *Thermotoga maritima*, se incubó a 60 °C por 15 h y se analizó por HPLC. La transferencia de fucosa por transfucosilación siguió una metodología similar: una mezcla con los donadores elegidos en el paso anterior, un azúcar aceptor (lactosa, lactulosa y glucosa) y las condiciones descritas, por 15 h. El efecto de la concentración del donador de bencilfucosa en la transfucosilación se estudió preparando una mezcla con diferentes concentraciones de bencilfucosa (0.79–7.08 mM) en las mismas condiciones descritas anteriormente.

Resultados.

En la Fig. 1 se muestran las estructuras de los cinco donadores de fucosa sintetizados: etil, isopropil, butil, isopentil y bencilfucosa. Se observó la hidrólisis enzimática de todos los donadores mediante la detección de fucosa. De los donadores analizados, la isopropilfucosa fue descartada ya que presentó la conversión más baja. Para el caso de la transfucosilación, etilfucosa y butilfucosa no presentaron ningún tipo de transferencia de fucosa, únicamente se repitió la hidrólisis. No así cuando se emplearon isoamilfucosa y bencilfucosa (Tabla 1), los cuales funcionaron como donadores con glucosa y lactosa, pero ninguno con lactulosa.

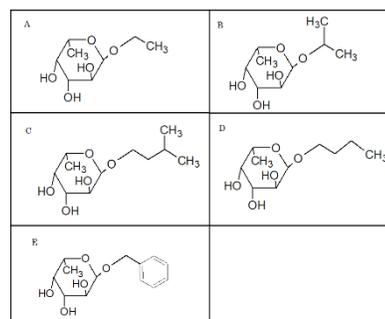


Fig. 1. Estructuras de los donadores: A) etilfucosa, B) isopropilfucosa, C) isoamilfucosa, D) butilfucosa y E) bencilfucosa.

Tabla 1. Resultados de la transferencia

Donador	Aceptor	Transferencia (%)
isoamilfucosa	Glucosa	67%
	Lactulosa	-
	Lactosa	26%
bencilfucosa	Glucosa	22%
	Lactulosa	-
	Lactosa	48%

Con el donador de bencilfucosa se analizó el efecto que tiene la concentración en la transferencia hacia la lactosa, encontrándose que dentro del intervalo de concentración del donador (3.15–5.90 mM) el resultado del porcentaje de transferencia (>40%) es mayor en comparación con otros trabajos realizados con condiciones similares (4).

Conclusiones.

Se lograron sintetizar quimioenzimáticamente oligosacáridos fucosilados, mediante la reacción de transfucosilación utilizando isoamilfucosa y bencilfucosa como donadores de fucosa, y se definieron algunas condiciones de trabajo óptimas para obtener un mejor rendimiento.

Bibliografía.

- Bode L (2012) *Glycobiol.* 22 (9): 1147-1162.
- Osanojo G *et al.* (2007) *Biochem.* 46 (4): 1022-1033.
- Vermeer H *et al.* (2001) *European J Org Chem.* 1:193-203.
- Guzmán-Rodríguez F *et al.* (2018) *Appl Biochem Biotechnol.* 186 (3): 681-691.

