ESTUDO DAS REAÇÕES DE OXIDO-REDUÇÃO MEDIADAS POR MICRO-ORGANISMOS DE ORIGEM HUMANA E AMBIENTAL

Arthur Antunes Ferrarezi (PIBIC/CNPq)[1], Dr. José Eduardo Gonçalves[2], Dr. Arildo José Braz de Oliveira[1], Dra. Regina Aparecida Correia Gonçalves[1] (Orientadora), e-mail: racgoncalves@uem.br

[1]Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.
[2]Unicesumar – Centro Universitário de Maringá, Maringá, PR.

Ciências da Saúde - Farmácia

Palavras-chave: biocatálise, micro-organismos, enzimas

Resumo:

O emprego de reações de biocatálise mediadas por micro-organismos representa uma alternativa aos métodos tradicionais de síntese orgânica, pois emitem baixa carga de poluentes e são ambientalmente aceitáveis. Micro-organismos podem catalisar uma gama de reações enzimáticas, podendo ser utilizados como potenciais biocatalisadores industriais. No presente trabalho, realizou-se biotransformações com dois fungos filamentosos de origem humana e o bacilo *Klebsiella oxytoca* isolado da rizosfera da *Aspidosperma polyneurum*. Os resultados mostraram que todos os organismos testados foram capazes de reduzir compostos cetônicos e olefinas ativadas.

Introdução

As questões ambientais envolvidas na obtenção de compostos de interesse farmacológico e industrial tem sido uma das diversas áreas de destaque da Química Verde. Isso pode ser feito por meio do desenho, desenvolvimento e implementação de processos industriais ecologicamente corretos.[1]

Uma alternativa aos métodos tradicionais de síntese e amplamente estudada é a biocatálise. Ela pode ser definida como uma modalidade de reação química que utiliza enzimas para promover modificações estruturais em um determinado substrato de interesse.[2] Tais reações enzimáticas são

dotadas de quimio-, regio- e enantiosseletividade. Devido a isso, a biocatálise tem sido considerada uma ferramenta biotecnológica poderosa para a obtenção de compostos de interesse com elevados rendimentos e excessos enantioméricos.[3]

O emprego de micro-organismos em processos biocatalíticos tem contribuído para o crescimento da biocatálise. Isso deve-se ao fato de os mesmos apresentarem a capacidade de catalisar diferentes tipos de reações e tolerância frente a diferentes tipos de substratos. Além disso, sua utilização em processos biocatalíticos apresentam diversas vantagens, pois são realizados sob condições reacionais mais brandas e utilizam metodologias de fácil execução e de baixo custo.[4] Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as reações de óxido-redução catalisadas por micro-organismos da pele humana e do ambiente.

Materiais e métodos

Substratos utilizados

Utilizou-se nas biotransformações os seguintes compostos: acetoacetato de etila (**1**), acetoacetato de benzila (**2**), acetoacetato de *tert*-butila (**3**), *trans*-chalcona (**4**), (4*R*)-(–)-Carvona (**5**) e (4*L*)-(+)-Carvona (**6**).

Micro-organismos empregados

Para os estudos, foram utilizados os fungos de código F45 (*Phoma* sp) e F46 (*Aureobasidium* sp) isolados da pele humana, e a bactéria *Klebsiella oxytoca*, isolada da rizosfera de *Aspidosperma polyneurum*.

Manutenção das culturas dos micro-organismos

Os fungos filamentosos estão mantidos sob criopreservação no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos (LABIPROS) da UEM e reativados em meio líquido de extrato de malte e peptona, a 28 ^{o}C e 200 rpm por 48 h. A cepa de *Klebsiella oxytoca* foi cultivada em caldo LB, por 48 h, a 32 ^{o}C e 130 rpm.

Reações de biocatálise com os micro-organismos

Em capela de fluxo laminar, pesou-se cerca de 2 g do micro-organismo (fungo ou bactéria (peso úmido)), transferiu-se para erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) e adicionou-se 10 ou 20 µL do substrato a ser testado. Os frascos foram incubados em agitador orbital a 28 ^{o}C e 200 rpm (para fungos) ou a 32 ^{o}C e 130 rpm (para bactérias). Retirou-se alíquotas de 2 mL do meio reacional a cada 24 horas para acompanhamento das reações. As mesmas foram extraídas com 1 mL de acetato de etila, secas sobre Na_2SO_4 anidro e analisadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).

Resultados e Discussão

As análises de CG-EM dos extratos das reações realizadas pelos fungos *Phoma* sp e *Aureobasidium* sp mostraram que os mesmos foram capazes de converter, de maneira satisfatória, o acetoacetato de *tert*-butila (**3**) em seu respectivo álcool (3-hidróxi-butanoato de *tert*-butila) (**3a**) em mais de 99% no período de 24 e 48 horas, respectivamente. A chalcona (**4**) também foi convertida totalmente à sua respectiva dihidrochalcona (**4a**) em 48 horas pelos dois fungos. Os resultados das conversões para *K. oxytoca* são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Porcentagens de conversão dos substratos utilizando células em suspensão de *Klebsiella oxytoca*.

Conversões de *K. oxytoca*	
Substrato	Conversão* (%)
1	*n.d.*
2	59,8
3	7,17
4	> 99
5	6,5
6	6,2

*Conversões determinadas por CG-EM
n.d.: não determinado

Tais resultados sugerem que esses micro-organismos expressam enzimas do tipo enoato redutase (ENR) e álcool desidrogenase (ADH) capazes de

converter substratos que possuem grupos volumosos em suas estruturas. A capacidade desses fungos em biotransformarem tais compostos é devida, provavelmente, ao fato de que a pele humana é exposta diariamente a inúmeros insumos de fragrâncias de formulações cosméticas. Dessa forma, esses fungos desenvolveram um sistema enzimático capaz de metabolizar substâncias com diferentes complexidades estruturais, de modo a sobreviverem nesse ecossistema cutâneo.[5]

Conclusões

Os resultados mostraram que esses fungos são uma fonte atrativa de enzimas para catalisarem os mais diversos tipos de reações de interesse em síntese orgânica, de maneira mais branda e ecologicamente aceitável.

Agradecimentos

À Dra. Carla Porto e à Dra. Vera Lúcia Dias Siqueira; à UEM, Fundação Araucária, CNPq e Unicesumar.

Referências

1.LENARDÃO, E. J. *et al*. *Química Nova* **2003**, v. 26 (1), p. 123-129.

2.BORGES, K. B. *et al. Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, v. 20 (4), p. 385-397.

3.CHOI, J. M.; HAN, S. S.; KIM, H. S. *Biotech. Advances* **2015**, v. 33 (7), p. 1443-1454.

4.VASCONSELOS D. H. P.; *et al.* In: *Biocatálise e Biotransformação - Fundamentos e aplicações.* LUCCHESE A. M. *et al.* Schoba, Salto – SP, 2014, pp. 287-306.

5.SILVA, C. P. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas – SP, 2012.