



EMPREGO DE CROMATOGRAFIA À GÁS ENANTIOSSELETIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE SULFÓXIDOS QUIRAIS OBTIDOS POR REAÇÕES DE BIOCATÁLISE

Evandro Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Carla Porto (PQ), José E. Gonçalves (PQ), Arildo José Braz de Oliveira (PQ), Regina Aparecida Correia Gonçalves (PQ) Eduardo Jorge Pilau (Orientador), e-mail: ejpilau@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Química/ Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra- Química/ Química / Química Orgânica

Palavras-chave: Sulfóxidos quirais, biocatálise, fungos da pele

Resumo:

O presente trabalho visou realizar o estudo da determinação da configuração absoluta de sulfóxidos quirais obtidos por reações de biocatálise utilizando a técnica de Cromatografia à gás enantiosseletiva. Os sulfóxidos quirais são importantes intermediários sintéticos de diversas reações e também são intermediários na síntese de alguns fármacos quirais. Por se tratar de substâncias de tal importância, foram realizadas reações enzimáticas com fungos filamentosos da pele humana e reação química, frente ao sulfeto para a obtenção dos sulfóxidos e os produtos formados foram monitorados por Cromatografia à gás enantiosseletiva e sua estrutura elucidada por técnicas de Ressonância Magnética Nuclear.

Introdução

A cromatografia a gás enantiosseletiva é uma das técnicas amplamente empregadas para a determinação de compostos quirais. Geralmente faz-se a síntese do composto de interesse ou se adquire um padrão comercial para se fazer uma co-injeção, isto é, adicionar uma solução padrão de concentração conhecida do composto e pela diferença determina-se a amostra (PORTO *et al*, 2014). Dentre as novas tecnologias para a busca de compostos enantiomericamente puros podemos destacar a biocatálise, uma poderosa ferramenta capaz de avaliar a atividade enzimática de diferentes





classes de compostos, incluindo compostos derivados de enxofre, como os sulfetos. A alteração enzimática de sulfetos pode ocorrer principalmente pela oxidação do enxofre pró-quiral, com a formação de sulfóxido ou sulfona por mono-oxigenases ou dioxigenases, respectivamente.

Materiais e métodos

As reações foram desenvolvidas por biocatálise utilizando microorganismos (MO) e a reação química mediada por periodato de sódio (NaIO_4) para a mistura *cis/trans* do 2-metil-4-propil-1,3-oxatiano (**1**), responsável pelo odor de maracujá, amplamente utilizado na indústria de fragrâncias (Figura 1). Nesse trabalho foi monitorada apenas a reação do isômero *cis*-**1**.

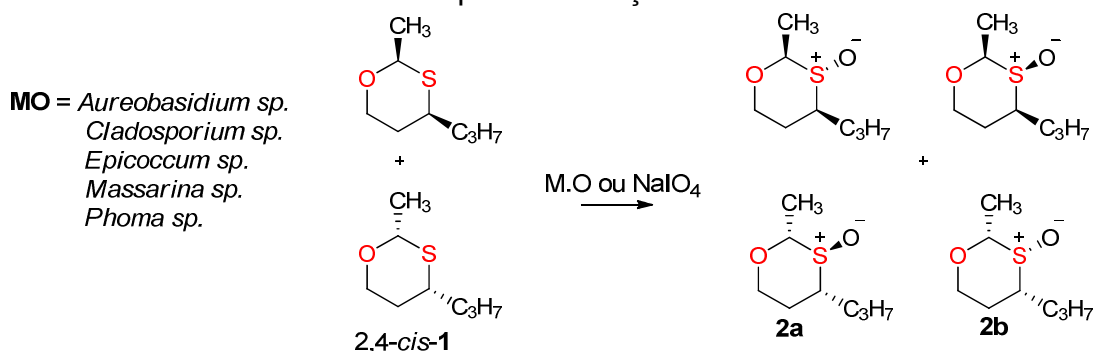


Figura 1: Rota para oxidação enzimática e química do sulfeto **1** para obtenção dos diastereoisômeros formado a partir do isômero *cis*-**1**

Biocatálise: Os ensaios foram realizados com cerca de 2 g de massa celular (peso úmido) do MO a ser testado e 20 mg do substrato (**1**) em solução tampão fosfato (Na_2HPO_4 ; 0,1mol L⁻¹; pH 7,0) previamente esterilizada. As reações foram mantidos sob agitação de 200 rpm, à 28°C e monitorados por alíquotas de 2 mL a cada 24, 48, 72 e 96h. As alíquotas foram tratadas com a adição de NaCl, extraídas com 2 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi coletada e seca com Na_2SO_4 anidro, e analisada por CG-DIC.

Oxidação Química: O sulfeto (**1**) foi oxidado com NaIO_4 a 0°C por 24 horas. A evolução da reação foi monitorada por CCD (hexano/acetato de etila 1:1). O produto da reação foi isolado através de coluna cromatográfica de sílica gel utilizando gradiente de solvente hexano/acetato de etila.

Resultados e Discussão





A oxidação química de **(1)** foi confirmada por análise em CG-EM mostrando que a reação é seletiva devido à formação majoritária de dois isômeros do sulfóxido. Um fracionamento em coluna cromatográfica levou ao isolamento desses dois isômeros (**2a** e **2b**), os quais foram analisados com base em dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de ^{13}C , comparando com dados da literatura (Singer *et al*, 1987). Sendo as frações identificadas como dois diastereoisômeros: 2,3-*trans*, 3,4-*trans*-(**2a**) e 2,3-*cis*, 3,4-*cis*-(**2b**), obtidos majoritariamente na oxidação de **1**. Após a determinação estrutural dos isômeros **2a** e **2b** comparou-se as análises de cromatografia a gás enantiosseletiva dos isômeros isolados com o produto bruto obtido na reação de oxidação de **1**. Nas análises cromatográficas cada um dos isômeros apresentou dois sinais cromatográficos com diferentes tempos de retenção, **2a** ($t_r=10,65$ e $10,96$ min) e **2b** ($t_r=12,47$ e $12,92$ min), conforme mostra a Figura 2.

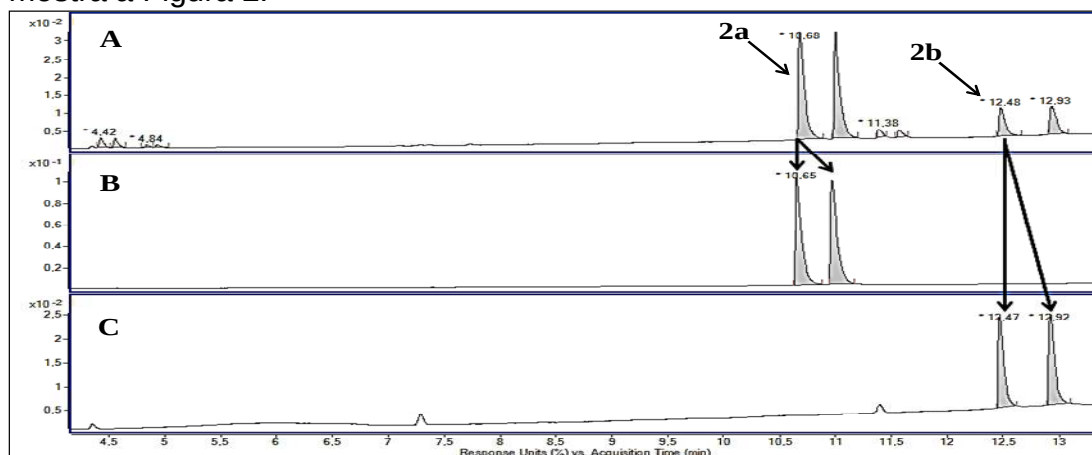


Figura 2: A. Cromatograma CG-DIC do produto bruto da oxidação química de **1**; B. Cromatograma CG-DIC da fração isolada contendo o sulfóxido 2,3-*trans*, 3,4-*trans*-(**2a**); C. Cromatograma CG-DIC da fração isolada contendo o sulfóxido e 2,3-*cis*, 3,4-*cis*-(**2b**).

Com a identificação dos isômeros **2a** e **2b** foi possível avaliar a seletividade das reações biocatalíticas, utilizando cinco fungos filamentosos isolados da pele humana frente ao substrato (**1**). As reações de biotransformação foram monitoradas pelas análises de CG-DIC levando em conta a enantiosseletividade das reações de biotransformação, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Conversão total (% c) e excesso enantiomérico (% ee) observados para a oxidação de 2,4-*cis*-**1**.





Biocatalisador	2,4- <i>cis</i> -1	2a		2b	
72h	c (%)	c (%)	ee	c (%)	Ee
<i>Aureobasidium sp.</i>	95,4	82,7	72,7	12,7	68,2
<i>Cladosporium sp.</i>	17,0	14,6	38,5	2,2	27,9
<i>Epicoccum sp.</i>	86,6	60,1	18,4	26,9	39,3
<i>Massarina sp.</i>	64,1	55,2	15,5	8,7	3,2
<i>Phoma sp.</i>	97,0	69,5	78,4	27,6	52,9

Os fungos *Aureobasidium sp.* e *Phoma sp.* apresentaram ótimos excessos enantioméricos 72,7 e 78,4% e altas conversões 95,4 e 97,0%, respectivamente. Entretanto, o fungo *Cladosporium sp.* mostrou uma baixa conversão e baixo excesso enantiomérico.

Conclusões

O uso das técnicas de cromatografia à gás enantiosseletiva e de ressonância magnética nuclear possibilitou a caracterização estrutural dos sulfóxidos obtidos pela reação química e enzimática, bem como o estudo da enantiosseletividade das reações de biocatálise.

Agradecimentos

UEM/DQI, UEM/DFA, UNICESUMAR, PIBIC/CNPq.

Referências

Porte, A.; Porte, L. H. M; L. M de Oliveira. Cromatografia Gasosa Quiral na Resolução de Enantiômeros Envolvidos em Flavours de Frutas. **Química Nova**, v.37, n.10, p.1670-1679, 2014.

Singer, G.; Heusinger, G.; Mosandl, A.; Burschka, C. Liebigs. Struktur und Eigenschaften optischreiner 2-methyl-4-propyl-1,3-oxathian-3-oxide. **Ann. Chem.** p. 451-453, 1987.

