

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENZIMÁTICO DE LEVEDURAS NA BIOTRANSFORMAÇÃO DE SULFETOS PRÓ-QUIRAIS PARA A OBTENÇÃO DE SULFÓXIDOS QUIRAIS

Daniele Maria Zanzarin (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Evandro Silva (PG), Daiane Silva de Souza (PG), Carla Porto (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 Orgânica**

**Palavras-chave:** Biotransformação, enzimas, sulfóxidos quirais.

### Resumo:

O presente trabalho visou avaliar o potencial enzimático de leveduras, através de reações de biotransformação de sulfetos pró-quirais. Os sulfetos pró-quirais podem sofrer oxidação por enzimas peroxidases ou oxigenases levando a formação de sulfóxidos quirais os quais possuem ampla aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica sendo também empregados em diversas reações assimétricas. Devido a sua importância e aplicação, estudos do potencial enzimático de leveduras frente a essas substâncias foram realizados através de reações de biocatálise convencional e os produtos formados monitorados por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

### Introdução

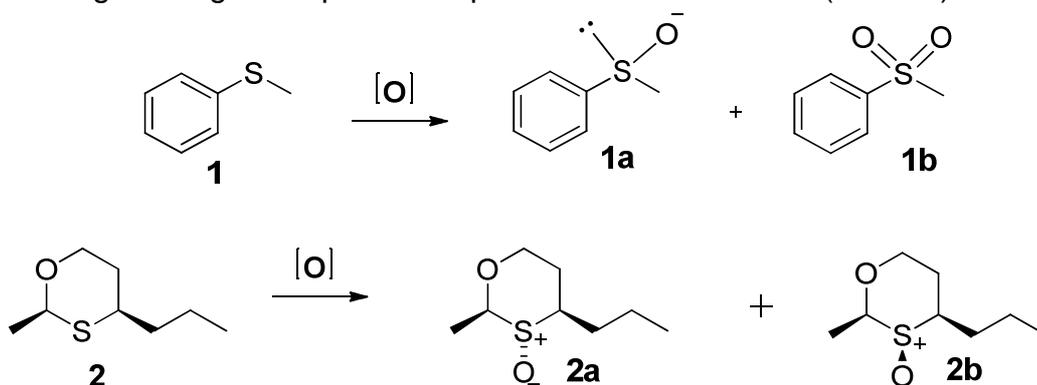
Enzimas são conhecidas pelo seu potencial de aplicação como biocatalisadores, em virtude da sua seletividade, atuação em condições brandas, aceitação de substratos não naturais, qualidade e facilidade de purificação do produto, considerável diminuição do número de etapas envolvidas no processo, além do baixo impacto ambiental (PAIVA, 2006; OLIVEIRA e MANTOVANI, 2009). Em geral, as enzimas aplicadas no setor industrial são obtidas principalmente a partir de microrganismos (ORLANDELLI et al., 2012).

A aplicação do potencial biocatalítico dos microrganismos deve-se ao interesse da indústria de química fina, devido à especificidade na transformação de compostos pró-quirais, como sulfetos, e síntese de compostos enantiomericamente puros. (ELIEL, WILEN e MANDER, 1996). A alteração enzimática de sulfetos pode ocorrer principalmente por oxidação do enxofre pró-quiral, com a formação de sulfóxido ou sulfona por enzimas do tipo monoxigenases ou dioxigenases, respectivamente (PORTO, 2002). O uso destes sulfóxidos tem se tornado crescente devido à versatilidade e

eficiência no setor alimentício, cosmético e farmacêutico (LEGROS, DEHLI e BOLM, 2005). Dessa forma, a biocatálise surge como uma alternativa para obtenção destes compostos, atuando dentro dos conceitos de química verde (MARSAIOLI e GONÇALVES, 2013).

## Materiais e métodos

As leveduras selecionadas como biocatalisadores foram, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Malassezia furfur*. Os substratos selecionados para o estudo foram o metil-fenil-sulfeto (**1**) e o *cis*-2-metil-4-propil-1,3-oxatiano (**2**) (Figura 1). Os ensaios de biotransformação foram realizados em erlenmeyers de 250 mL contendo 40 mL de solução tampão fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ;  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; pH 7,0) previamente esterilizada, 2 g de massa celular das leveduras a serem testadas e 20  $\mu\text{L}$  dos substratos. Os frascos reacionais 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 retiradas foram tratadas com a adição de uma pequena porção de NaCl e extraídas com 2 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi então coletada e seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Os produtos das reações foram analisados por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

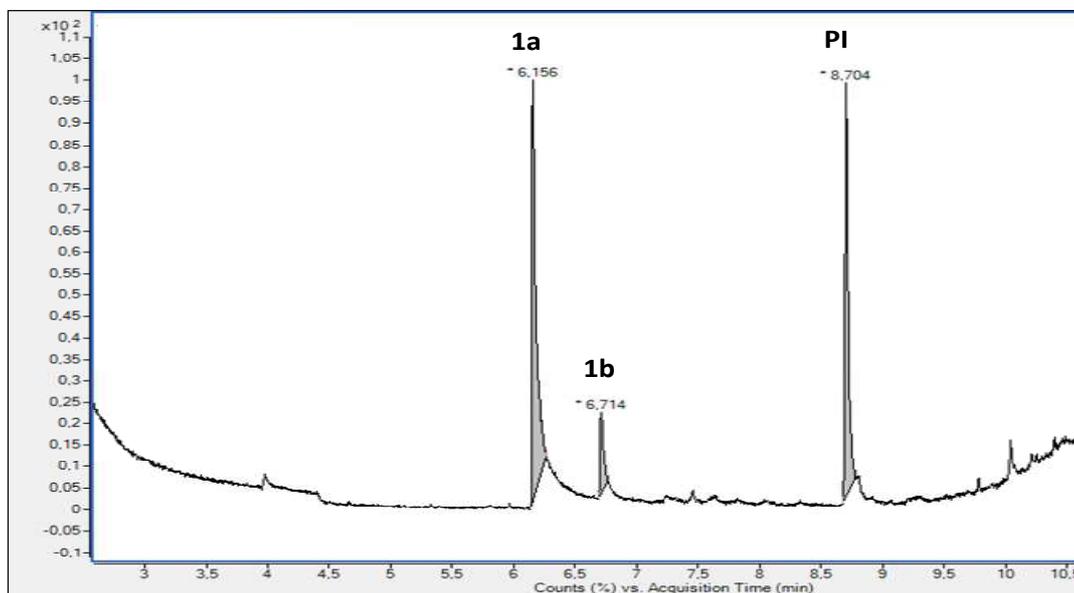


**Figura 1** – Reação de oxidação de 1 e 2 com a formação dos correspondentes sulfóxidos e sulfona.

## Resultados e Discussão

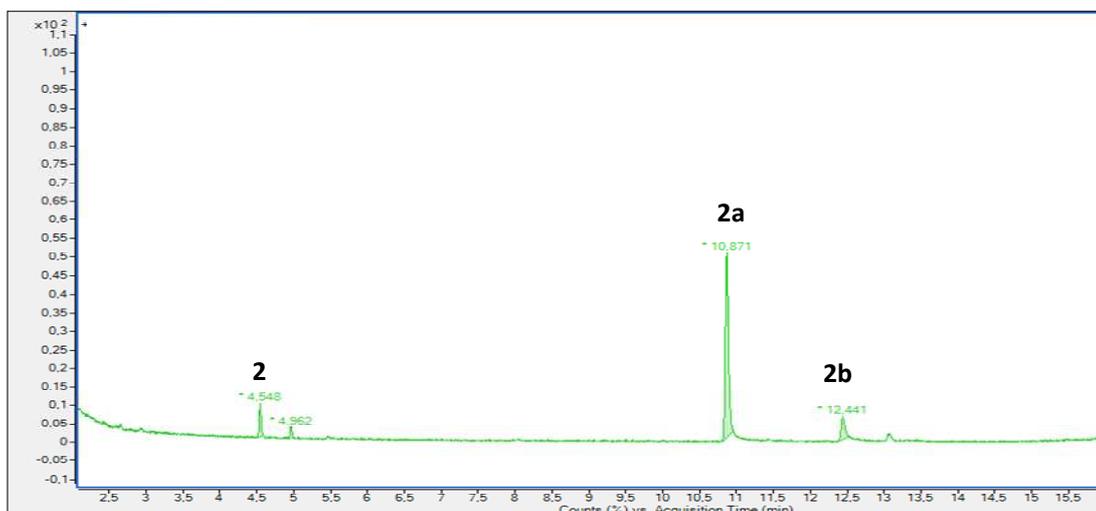
Os produtos das reações foram analisados por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), onde observou a formação de dois sinais cromatográficos com tempo de retenção de 6.15 e 6.71 minutos (Figura 2) para as análises de oxidação do substrato 1. Analisando os espectros de massas obtidos a partir desses sinais, foi possível verificar que todos apresentam os íons de  $m/z$  140 como  $[\text{M}]^+$  (íon molecular), correspondendo ao acréscimo de um átomo de oxigênio  $[\text{M}+16]^+$  em 1, levando a formação de sulfóxido 1a e  $m/z$  156 como  $[\text{M}]^+$  (íon molecular),

correspondente ao acréscimo de dois átomos de oxigênio  $[M+16]^+$  em 1 levando a formação de sulfona 1b .



**Figura 2:** Cromatograma dos íons totais (CG-EM) da biocatálise o metil-fenil-sulfeto com a levedura *Candida albicans* (72h de reação). PI, Padrão Interno (benzofenona).

Para as análises dos ensaios de oxidação do substrato 2 também foi observado a formação de dois sinais cromatográficos com tempo de retenção de 10.78 e 12.44 minutos (Figura 3) que apresentaram espectros de massas com os íons de  $m/z$  176 como  $[M]^+$  (íon molecular), correspondendo ao acréscimo de um átomo de oxigênio  $[M+16]^+$ , levando a formação de sulfóxidos 2a e 2b, não foi observado a formação de sulfona nas reações de biotransformação frente ao substrato 2, devido ao impedimento estérico causado pelos grupos alquila presentes na molécula de 2.



**Figura 3:** Cromatograma dos íons totais (CG-EM) da biocatálise *cis*-2-metil-4-propil-1,3-oxatiano com a levedura *Candida albicans* (72h de reação).

## Conclusões

Os ensaios de biotransformação dos substratos metil-fenil-sulfeto e o *cis*-2-metil-4-propil-1,3-oxatiano com leveduras confirmaram a presença de enzimas do tipo oxigenases responsáveis pela oxidação de compostos contendo enxofre. Demonstrando que as leveduras testadas apresentam grande potencial para serem empregadas como biocatalisadores de reações de oxidação de enxofre.

## Agradecimentos

UEM/DQI, PIBIC/CNPq/FA/Uem e à organização do evento.

## Referências

ELIEL, E.L.; WILEN, S.H.; MANDER, L.N. Stereochemistry of Organic Compounds. **J. Nat. Prod.** v. 59, n. 9, p. 911, 1996.

LEGROS, J.; DEHLI, J.R.; BOLM, C. Applications of Catalytic Asymmetric Sulfide Oxidations to the Syntheses of Biologically Active Sulfoxides. **Advanced Synthesis & Catalysis.** v. 347, n. 1, p. 19-31, 2005.

MARSAIOLI, A. J.; GONÇALVES, CAROLINE C. S.; Fatos e Tendências da Biotatálise, **Química Nova.** v.36, n.10, p.1587-1590, 2013.

OLIVEIRA, L. G.; MANTOVANI, S. M. Transformações Biológicas: Contribuições e Perspectivas. **Química Nova.** v. 32, n. 3, p. 742-756, 2009

ORLANDELLI, R. C. et al. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios.** v. 7, n. 3, 2012.

PAIVA, A. P. O fenômeno da quiralidade: bases de estereoquímica. **Química.** v. 103, p. 56-61, 2006.

PORTO, A. L. M. **Isolamento e seleção de microrganismos brasileiros para reações de biocatálise e produção de metabólitos.** 2002. 413f. Tese (Doutorado)-Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 2002.