



UNICAMP

# Produção de lacase de alta atividade para aplicação em transformação de fármacos

Jeany Delafiori (IC), Luiz Arthur Zampieri (PG), J. Augusto R. Rodrigues (PQ)

1- Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

Agências Financiadoras: Sae-Unicamp/PIBIC, CNPq, FAPESP

Palavras Chave: Lacase-*Pycnoporus sanguineus*-Disruptores endócrinos



## Introdução

As lacases são feniloxidases que catalisam reações de oxidação de compostos fenólicos e aromáticos não fenólicos, e possuem espectro ampliado quando utilizadas em associação com mediadores químicos<sup>1</sup>.

Os fungos do gênero *Pycnoporus* são grandes produtores de lacase, que pode ser empregada na transformação de poluentes ambientais, como os fármacos, os quais podem atuar como disruptores endócrinos<sup>2</sup>.

O emprego do extrato bruto otimizado associado à imobilização enzimática em nanossílica permite a reutilização do biocatalisador, sendo economicamente viável.



Figura 1. *Pycnoporus sanguineus* a 25 °C no ambiente (A) e a 37 °C em meio de cultura (B).

## Objetivos

Otimizar o crescimento do fungo *Pycnoporus sanguineus* através da utilização de indutores para obtenção de enzima lacase de alta atividade, imobilizar e aplicar o biocatalisador em transformação de fármacos.

## Metodologia

O crescimento foi feito com extrato de malte, sendo que diversas concentrações e combinações foram testadas. No meio A foram acrescentados indutores:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 2,5-xilidina, pirogallol, etanol, o-toluidina e Tween 80. Para o meio B foram empregados apenas 2,5-xilidina e  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Para o controle foi utilizado apenas extrato de malte.

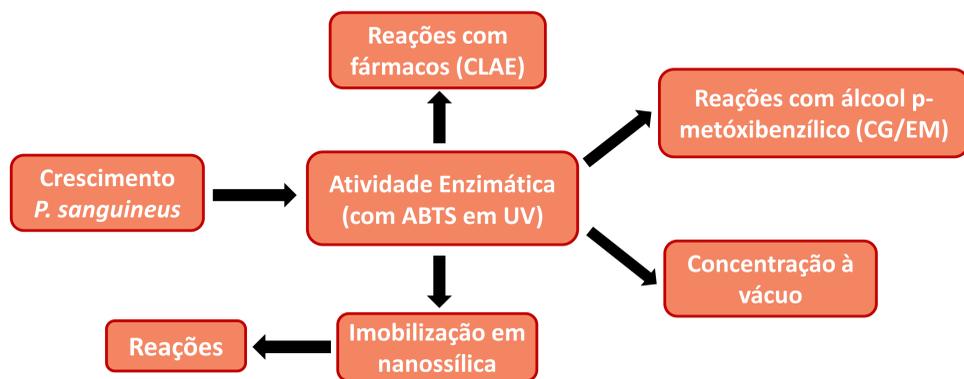


Figura 2. Fluxograma experimental.

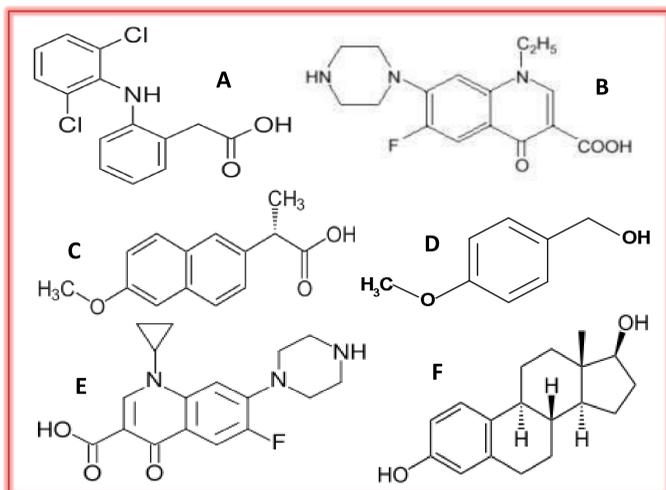


Figura 3. Substratos utilizados: Diclofenaco (A), Norfloxacin (B), Naproxeno (C), Álcool 4-metóxi-benzílico (D), Ciprofloxacina (E), Estradiol (F).

## Resultados e Discussão

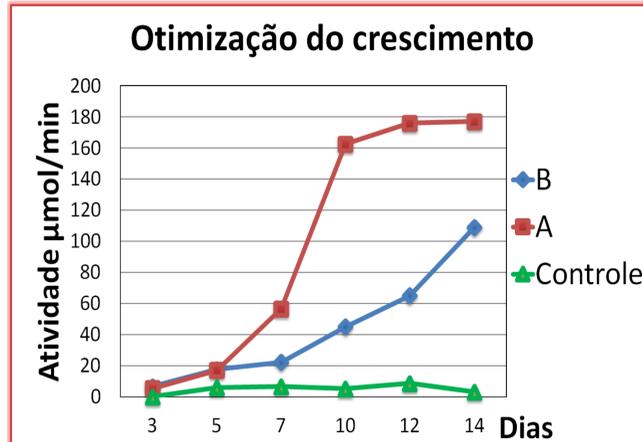


Figura 4. Perfil enzimático produzido pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* sob diferentes condições.

A produção máxima de lacase do meio A foi aproximadamente **20 vezes** maior dos que o máximo do controle no mesmo período. Já a solução concentrada à vácuo resultou em aumento de **100 vezes**. Os resultados mostram a vantagem na utilização de indutores na obtenção de lacase de alta atividade.

A reatividade da solução bruta de lacase 176U foi comparada com a lacase comercial livre (20mg), apresentando perfis semelhantes, sendo que solução concentrada imobilizada em nanossílica apresentou reatividade equivalente.

Tabela 1. Porcentagem de 4-metóxi-benzaldeído em 24 horas utilizando o mediador HBT.

	Lacase Comercial	Solução Enzimática Livre	Solução Enzimática Concentrada	Solução Enzimática Concentrada Imobilizada
% produto	73	63	97	76

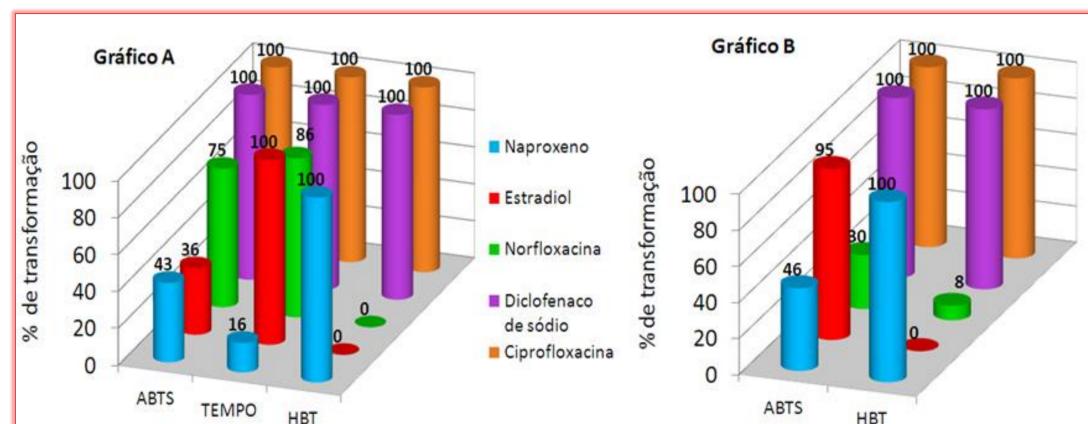


Figura 5. Transformação de fármacos com enzima comercial livre (A) e com solução imobilizada (B).

Os resultados apresentados para a solução imobilizada mostraram-se similares aos apresentados para a enzima comercial para o naproxeno, ciprofloxacina e diclofenaco de sódio, sendo mais promissores do que alguns autores<sup>3</sup>. Entretanto, houve queda de eficácia para o estradiol e norfloxacin.

## Conclusão

A otimização levou ao aumento significativo na atividade da lacase e sua capacidade de oxidação/transformação, sendo a concentração à vácuo um método eficaz. O uso do nanobiocatalisador mostrou-se favorável na transformação dos fármacos, e viável, uma vez que imobilizado em nanossílica é passível de reutilização.

## Referências Bibliográficas

- 1- Mayer, A. M.; Staples, R. C. *Phytochemistry*, **2002**, 60(6), 551-556.
- 2- Marco-Urrea, E.; Pérez-Trujillo, M. et al. *Chemosphere*. **2009**, 74, 765-772.
- 3- Lloret, L.; Eibes, G. et al. *Biochemical Engineering Journal*. **2010**, 51, 124-131.