

Identificación de intermediario de reacción de la enzima lipasa B de *Candida antarctica*

María V. Toledo¹, Carlos R. Llerena Suster¹, Sebastián E. Collins², Laura E. Briand¹

1 Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas – Dr. Jorge J. Ronco (CINDECA), Universidad Nacional de La Plata, CONICET, CCT La Plata. Calle 47 N° 257, 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

2 Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Universidad Nacional del Litoral, CONICET. Güemes 3450, 3000, Santa Fe, Santa Fe, Argentina.

victoriatoledo@quimica.unlp.edu.ar

Palabras claves: LIPASA, RESOLUCIÓN CINÉTICA, ACIL-ENZIMA, ESPECTROSCOPIA INFRAROJA, MES-PSD

RESUMEN

Las lipasas (EC 3.1.1.3, triacilglicerol hidrolasas) son enzimas hidrolíticas ampliamente usadas en numerosas reacciones y procesos industriales debido a su habilidad para catalizar diversas reacciones. La capacidad de estas enzimas de resolver mezclas racémicas es aprovechada por la industria farmacéutica para la obtención de fármacos ópticamente puros. Uno de sus usos más frecuentes se encuentra en la resolución cinética de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) cuya actividad farmacológica reside principalmente en el enantiómero S. La lipasa B de *Candida antarctica* (CALB) es una de las más comúnmente empleadas. Su sitio activo es una triada catalítica compuesta por Ser105, Asp187 e His224, y contiene un hueco oxianiónico formado por Thr40 y Gln105. El mecanismo de acción propuesto para esta enzima es conocido como Ping Pong Bi Bi e involucra la formación de dos intermediarios tetraédricos y un complejo acil-enzima. En este trabajo, se estudian las especies intermediarias involucradas en la esterificación de ketoprofeno racémico catalizada por la enzima CALB por medio de espectroscopia ATR-FTIR resuelta en el tiempo en condiciones estáticas y transientes. En el primer caso, la formación de nuevas especies de ketoprofeno

IV Jornadas en Ciencias Aplicadas “ Dr. Jorge J. Ronco”

durante el experimento dificultó la detección de las señales. Estas especies fueron identificadas como monómeros y dímeros lineales y cíclicos del ketoprofeno formadas por el aumento en la concentración del mismo. El análisis en modo transiente por c-MES-PSD permitió detectar precisamente la señal correspondiente al complejo acil-enzima sin la interferencia de las señales intensas del espectro de referencia y las especies formadas por la concentración del profeno.