



## Análise do potencial de Diferentes Vegetais na Biorredução enantiosseletiva da acetofenona

Francisco Felipe Maia da Silva<sup>1</sup>, Luciana Medeiros Bertini<sup>1</sup>, Gustavo Daniel Soares Souza<sup>2</sup>, Telma Leda Gomes de Lemos<sup>3</sup>, Marcos Carlos de Mattos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Professor(a) Msc do Instituto Federal do Rio Grande do Norte – IFRN. E-mail: felipe.maia@ifrn.edu.br; luciana.bertini@ifrn.edu.br

<sup>2</sup>Licenciando em Química - IFRN. E-mail: danielgdss@hotmail.com

<sup>3</sup>Professor(a) Dr(a) da Universidade Federal do Ceará – UFC. E-mail: tlemos@ufc.br

**Resumo:** O uso de enzimas como catalisador em síntese orgânica vem ganhando destaque nos últimos anos devido às características bastante peculiares destes catalisadores, tais como: enantiosseletividade, operam em condições brandas de reação e são biodegradáveis. Os vegetais são fontes promissoras destes biocatalisadores já que o Brasil possui uma enorme diversidade em sua flora. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da Casca da Banana (*Musa*), sementes de Neem (*Azadirachta indica A. Juss*), Cenoura (*Daucus Carota*) e Malvarisco (*Plectranthus Amboinicus*) em reações de Biorredução frente à acetofenona. As reações foram realizadas por 72h em meio aquoso, utilizando 20g do material vegetal e 0,100ml do substrato. A banana apresentou baixo teor de conversão (9,35%) e um alto excesso enantiomérico - *ee* - (99%), o Neem, também apresentou um baixo teor de conversão (8,35%), mas manteve um razoável *ee* (90,47%), a cenoura apresentou um bom *ee* (~99%) e uma conversão comparável a processos químicos convencionais (80,55%), o Malvarisco apresentou baixa conversão (5,2%) e um desprezível *ee* (4,8%). Apesar das reações com alguns vegetais avaliados (Banana e Malvarisco) não terem apresentado bons resultados em termos de conversão e *ee*, o Neem demonstrou uma boa enantiosseletividade (90,47%), e a cenoura como já demonstrado em estudos anteriores, apresentou ótima conversão e bom *ee*, mostrando-se uma reação biocatalítica bastante reprodutível. Portanto, este estudo contribui para identificação de novas fontes enzimáticas, capazes de substituir reagentes químicos clássicos, contribuindo para a consolidação, desenvolvimento e aplicação de uma química mais verde, sendo que, nesse contexto as enzimas vegetais apresentam-se com grande potencial de aplicação devido a imensa e diversificada flora Brasileira.

**Palavras-chave:** biocatálise, biorredução, enzimas, vegetais

### 1. INTRODUÇÃO

Biocatálise é o ramo da ciência que estuda a aplicação de catalisadores oriundos de fontes biológicas (microorganismos, células de plantas, culturas de células e enzimas isoladas) na modificação de substâncias químicas diversas, mostrando-se como uma alternativa promissora para o aproveitamento de rejeitos da indústria de alimentos, pois estes apresentam em sua constituição natural, enzimas, que são macromoléculas biológicas capazes de catalisar um grande número de reações químicas (SILVA, 2012).

A possibilidade de se usar enzimas vegetais em processos biocatalíticos contribui significativamente para um melhor aproveitamento dos recursos naturais, pois, utiliza como catalisadores pequenas enzimas, não inutilizando os vegetais como alimentos, já que mesmo com a retirada dessas biomoléculas (as enzimas) ainda possuem um alto valor energético (fibras, proteínas, carboidratos, vitaminas, entre outras).

As enzimas se destacam por terem características bastante peculiares, dentre as quais se resalta: atuação em condições brandas de temperatura e pressão, capacidade de catalisar reações diversas, atividades em meios não convencionais (solventes orgânicos), baixa ou nenhuma produção de compostos tóxicos ao meio ambiente e alta quimio-, regio-, e enantiosseletividade, devido à quiralidade inerente a estes catalisadores (COELHO, 2008). A incessante busca por compostos com atividade farmacológica os quais, em sua grande maioria, são compostos quirais com pelo menos um centro estereogênico, o que pode dificultar sua obtenção através de reações por via química

convencional, torna os estudos de biocatálise e a busca de novas fontes biocatalíticas cada vez mais comuns. Em função disto, as maiores aplicações da biocatálise são referentes à sua utilização em síntese assimétrica, aonde as enzimas vêm sendo utilizadas em substituição dos processos químicos clássicos (PANKE *et al.*, 2004). Um exemplo da importância da pureza ótica na síntese orgânica pode ser visualizado na figura 1, onde os efeitos fisiológicos são muitas vezes distintos para um par de enantiômeros.

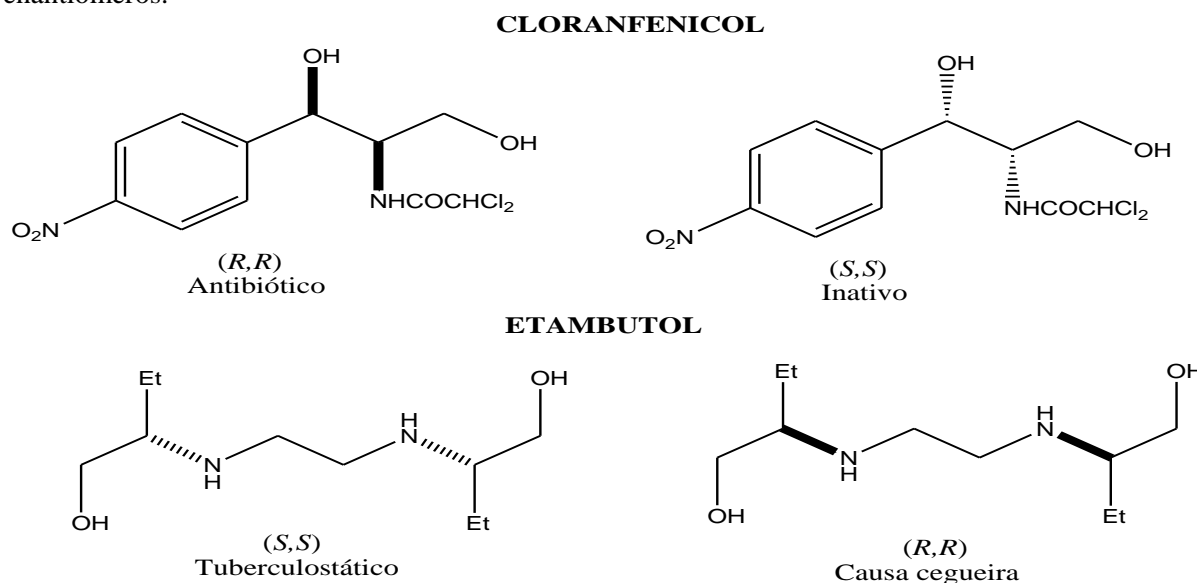


Figura 1 – Exemplos de compostos que possuem propriedades biológicas distintas em função da configuração dos enantiômeros

O uso de vegetais em reações de biocatálise, mesmo com o número de investigações realizadas até o momento, ainda é um campo muito novo visto a enorme diversidade de espécies vegetais existentes e ao pequeno número de espécies investigadas. Só no Brasil, o número de espécies de plantas ultrapassa os 56000, o que compreende quase 19% da flora mundial, sendo que o conhecimento da biodiversidade no país ainda é muito incompleto (GIULIETTI *et al.*, 2005).

Estudo realizado por Yadav (2002) utilizando células íntegras da espécie tuberosa *Daucus Carota* na biorredução de cetonas alifáticas e aromáticas,  $\beta$ -cetoésteres e azidocetonas, figura 2, demonstrou grande simplicidade e excelentes rendimentos e excessos enantioméricos (*ee*).

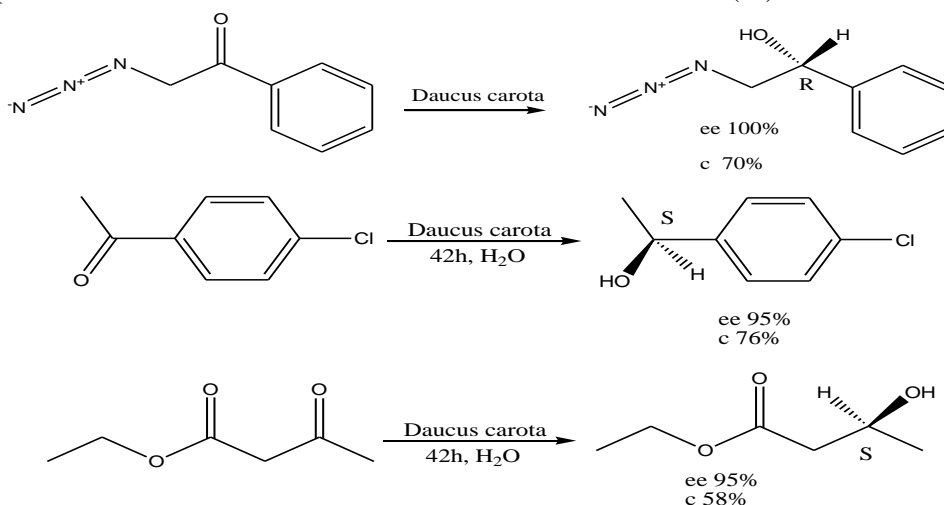


Figura 2: Processos biocatalíticos utilizando a espécie *Daucus Carota* (YADAV 2002)

Posteriormente, outras investigações usando a espécie *Daucus carota* em reações de biocatálise foram realizadas. Comasseto (2004) explorou a espécie na obtenção de alcoóis organocalcogeno- $\alpha$ -

metilbenzil quirais (COMASSETO et al., 2004), já Ferraz (2008) obteve  $\alpha$ -tetralóis substituídos, amplamente encontrados como intermediários em síntese, a partir da redução de  $\alpha$ -tetralonas (FERRAZ et al., 2008). Esses resultados, atrelados a necessidade do desenvolvimento de métodos de sínteses mais limpos, ou seja, de baixo ou nenhum impacto ambiental, torna a busca por catalisadores biodegradáveis (as enzimas, principalmente) imprescindível para se alcançar um desenvolvimento verdadeiramente sustentável. Com isso, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de algumas espécies vegetais como fonte de biocatalisador em reações de biorredução enantiosseletiva da acetofenona. As espécies avaliadas foram: Banana (*Musa*), Neem (*Azadirachta indica A. Juss*), Cenoura (*Daucus Carota*) e Malvarisco (*Plectranthus Amboinicus*), Figura 3.



Figura 3. Banana, sementes de Neem, cenoura e malvarisco (da esquerda para direita).

Portanto, a identificação de novas fontes enzimáticas vegetais, em espécies que já possuem suas técnicas de cultivo e produção (tais como: Cenoura, Neem, Banana e Malvarisco) dominada pelas comunidades locais vem a contribuir decisivamente no desenvolvimento regional, por possibilitar a produção de alimentos concomitantemente com a produção de catalisadores bioquímicos de alto valor agregado, as enzimas, que por sua vez, são capazes de substituir catalisadores químicos convencionais que são muitas vezes tóxicos ao meio ambiente. Desta forma, agregar valor a espécies de fácil cultivo, melhorando a renda das famílias e preservando o meio ambiente.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção dos Vegetais

As bananas e cenouras foram obtidas no comércio local da cidade de Apodi-RN. O Neem e o Malvarisco foram coletados pela manhã no Instituto Federal do Rio Grande do Norte, Câmpus Apodi.

### 2.2 Reagentes e Solventes utilizados

A acetofenona utilizada na reação foi obtida na empresa Sigma. Os solventes utilizados foram todos com qualidade P.A obtida da empresa Synth. Os alcoóis padrões foram obtidos através da redução da acetofenona com borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) proveniente da empresa PROSYNTH, onde aproximadamente 2ml de borohidreto de sódio foram dissolvidos em metanol P.A (15mL) e adicionados a 1mmol do substrato(cetona pró-quiral) sob agitação e banho de gelo por um período de 6h. Após este período, o meio foi acidificado com HCl (pH 5,0) e o metanol foi evaporado sob pressão reduzida, e a fase restante foram adicionados 20mL de água. Nesse meio efetuou-se uma partição com acetato de etila P.A (3x20mL). A fase orgânica, contendo o álcool, pois posteriormente concentrada em rota evaporador em pressão reduzida (adaptado de MACHADO, 2008).

### 2.3 Procedimentos gerais para reação de Biorredução

Nas reações de biotransformação realizadas, usou-se a seguinte metodologia: o material vegetal (cascas da Banana, folhas do Malvarisco, sementes de Neem e Cenoura sem casca) utilizados foi cortado em pequenos cubos com aproximadamente 1,0 cm de aresta (com exceção do Neem em que utilizou-se sua própria semente dividida ao meio) e lavados em solução 5% de hipoclorito de sódio por 20 minutos e em seguida com água destilada. Foram utilizados 20,0g do material de cada vegetal em erlenmeyers de 125 mL, 0,100 mL do substrato (acetofenona) e 50mL de água destilada. Os frascos foram lacrados com papel alumínio e submetidos à agitação em mesa agitadora a uma velocidade 175 r.p.m. durante 72 horas. Todas as reações foram realizadas em duplicata (adaptado de YADAV et al, 2002). Após esse período de reação os sistemas foram reacionais foram submetidos a uma partição

com diclorometano (3x30mL) e em seguida a fase orgânica foi concentrada a pressão reduzida em rotaevaporador a uma temperatura de aproximadamente 60°C (SILVA, 2012).

## 2.4 Análises e identificação das substâncias

As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso com detector de Ionização em Chama (CG-IC), modelo GC-2010 Plus, marca SHIMADZU, dotado com coluna capilar quiral de ciclodextrina-B (0.25 mm x 30 m) e o teor de conversão das reações de biorredução foi calculado através do método da normalização das áreas do cromatograma referentes ao substrato (acetofenona) e produto (R e S 1-feniletanol). O excesso enantiomérico (*ee*) foi calculado através da fórmula:

$$ee (\%) = \frac{A-a}{A+a} \times 100$$

A- área do enantiômero em maior quantidade  
a- área do enantiômero em menor quantidade  
*ee*- excesso enantiomérico

Figura 4: Fórmula para calcular o excesso enantiomérico (*ee*)

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Resultado da acetofenona via química

A redução da acetofenona com borohidreto de sódio apresentou alto rendimento químico, 82%, resultando como esperado, devido á geometria planar do substrato, na mistura racêmica do (RS)-1-feniletanol (figura 5).

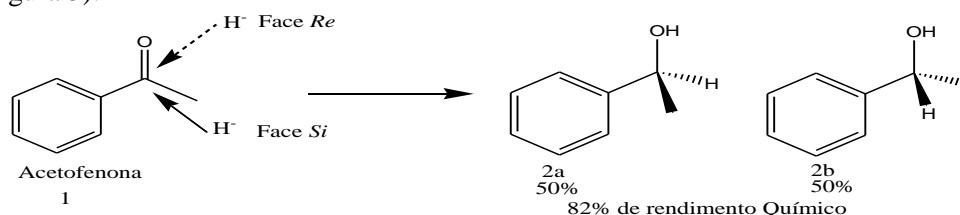


Figura 5: Esquema reacional da redução da acetofenona por via química

A acetofenona apresentou o tempo de retenção de 9,13 minutos e os alcoóis racêmicos de 11,58 e 11,79 minutos. O cromatograma com os respectivos sinais do substrato e dos produtos podem ser visualizados na figura 6.

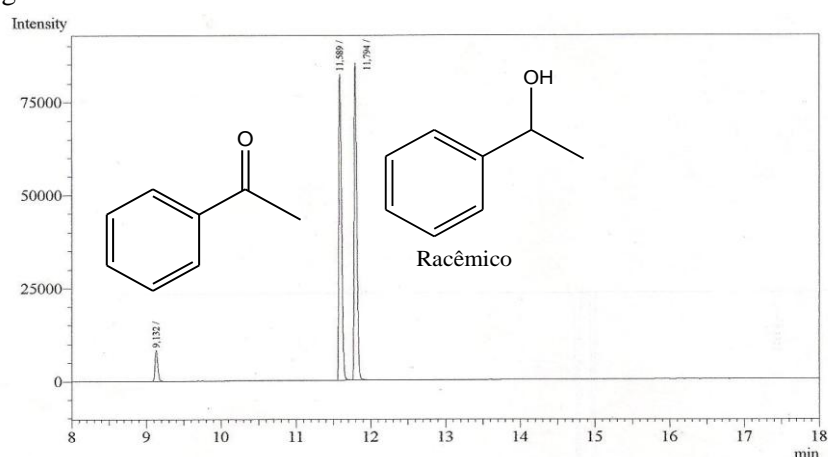


Figura 6: Cromatograma da análise do substrato (acetofenona) e dos produtos (RS)-1-feniletanol.

### 3.2 Reações de Biorredução

O teor de conversão da acetofenona no(s) respectivo(s) álcool(is), assim como o *ee* obtido estão demonstrado na tabela1, onde percebe-se que a banana apresentou baixo teor de conversão (9,35%) e um alto *ee* (99%). O Neem, também apresentou um baixo teor de conversão (8,35%), mas manteve um razoável *ee* (90,47%). A cenoura apresentou um bom *ee* (>99%) e uma conversão comparável ao





processo químico convencional (80,55%), resultados estes, semelhantes aos encontrados por YADAV (2002), se mostrando, portanto, uma reação biocatalítica bastante reprodutível. O Malvarisco apresentou baixa conversão (5,2%) e um desprezível *ee* (4,8%).

Tabela 1. Conversão e excesso enantiomérico obtido nas reações de biorreduções utilizando enzimas vegetais como catalisadores

Vegetal	Conversão (%)	Excesso Enantiomérico (%)
Banana	9,45	>99
Neem	8,35	90,47
Cenoura	80,55	>99
Malvarisco	5,2	4,8

## 6. CONCLUSÕES

Apesar das reações com alguns vegetais avaliados (Banana e Malvarisco) não terem apresentado bons resultados em termos de conversão e *ee*, o Neem demonstrou uma boa enantiosseletividade (90,47%), e a cenoura como já demonstrado em estudos anteriores (YADAV, 2002) apresentou ótima conversão e bom *ee*. Ainda, este estudo contribui para identificação de novas fontes enzimáticas capazes de substituir reagentes clássicos, contribuindo para o desenvolvimento e aplicação de uma química mais verde, nesse contexto as enzimas vegetais apresentam-se com grande potencial de aplicação no Brasil devido a sua imensa e diversificada flora. Estudos outros devem ser realizados visando otimizar algumas variáveis que influenciam na atividade enzimática (pH, temperatura, solvente, quantidade de substrato, agitação) visando obter condições ótimas de reação para estes vegetais.

## AGRADECIMENTOS

Ao aluno Jackson Diego de Freitas Lima, que com sua motivação e carisma contribuiu para realização deste trabalho e tornou nosso ambiente mais alegre e dinâmico cada dia em que esteve ao nosso lado.

Aos Funcionários do Câmpus Apodi, pela coleta do material vegetal.

Aos órgãos financiadores: CNPQ e CAPES.

## REFERÊNCIAS

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D., **Tecnologia enzimática**- Rio de Janeiro: FAPERJ; Petrópolis, RJ: EPUB, p. 264, 2008.

COMASSETO, J. V. ; OMORI, A. T. ; PORTO, André Luiz Meleiro ; ANDRADE, Leandro Helgueira de . **Preparation of chiral organocalcogeno-alfa-methylbenzyl alcohols via biocatalysis. The role of Daucus carota root.** Tetrahedron Letters **JCR**, v. 45, p. 473, 2004.

GIULLIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G. L.; DEN BERG, C. V. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Revista Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 52-61, 2005.

MACHADO, L. L.; MONTE, F. Q.; DE OLIVEIRA, M. F.; DE MATTOS, M. C.; GOTOR-FERNANDEZ, V.; DE GONZALO, G.; GOTOR, V. LEMOS. T. L. G. **Bioreduction of aromatic**



**aldehydes and ketones by fruits' barks of *Passiflora edulis*.** Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v. 54, p. 130-133, 2008.

PANKE, S.; HELD, M.; WOBOLTS, M. **Trends and innovations in industrial biocatalysis for the production of fine chemical.** Current Opinion in Biotechnology, v. 15, p. 272-279, 2004.

SILVA, F. F. M. **Processos Biocatalíticos utilizando a casca da laranja da terra (*Citrus Aurantium L.*).** Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará. 2012.

YADAV, J.S.; S. NANDA, P. THIRUPATHI REDDY,; A. BHASKAR RAO. **Efficient enantioselective reduction of ketones with *Caucus carota* Root.** *The Journal of Organic Chemistry*. **67, 3900-3903. 2002.**