BIOCATÁLISE A PARTIR DE VEGETAIS FRESCOS

Maria Augusta Vilvert de Nigro[1], Rogério Aparecido Minini dos Santos[2]

[1] Acadêmica do curso de Farmácia, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. gutaviln@gmail.com

[2]Orientador, Doutor, Departamento de Farmácia, Centro Universátrio de Maringá – UNICESUMAR. rogerio.santos@unicesumar.edu.br

RESUMO

A Biocatálise é um método alternativo e sustentável de síntese de substratos que gera a redução de resíduos poluentes liberados no meio ambiente. Sendo assim, o objetivo deste projeto é analisar a capacidade de vegetais frescos em promover síntese biocatalítica de metilcicloexanonas. Para tanto, serão reduzidos os substratos 2-metilcicloexanona, 3-metilcicloexanona e 4-metilcicloexanona na presença de $NaBH_4$ com a finalidade de obter álcoois para serem empregados como padrões nas análises cromatográficas. Os vegetais utilizados serão obtidos no comercio maringaense e os mesmo serão fatiados em aproximadamente 0,5 cm, a biomassa obtida ficará em contato com o substrato por 5 dias sob agitação mecânica, variando-se pH e concentrações de ambos. Os produtos obtidos serão submetidos a métodos cromatográficos. Espera-se que o rendimento da síntese catalisada pelos vegetais seja maior e mais benéfica que as demais utilizadas na indústria farmacêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Biotransformação; Síntese biocatalítica; Enzimas.

1 INTRODUÇÃO

No início da década de 90, com o avanço das legislações e programas que disseminavam as ideias de sustentabilidade e prevenção da natureza nasce a chamada Química Verde que tem por objetivo a preservação do meio ambiente utilizando substâncias menos agressivas a natureza (GOMES et al., 2018). A indústria farmacêutica é em grande parte responsável pelos resíduos descartados, já que a relação resíduo/produto varia de 100 a 1000 na maioria dos processos usando solventes (GAGO, 2012).

Dentre as alternativas encontradas para diminuir os impactos causados por esta indústria está a biocatálise, que consiste em reações de conversão de um substrato que podem ser catalisadas por enzimas isoladas, micro-organismos ou culturas de células, que substituem o uso de catalisadores químicos considerados caros e produtores de resíduos poluentes (VANDENBERGHE et al., 2013). O emprego de células inteiras é mais promissora, pois a mesma já possui os sistemas enzimático, cofator e regenerador estequiométrico englobados dentro dela, tornando o processo mais rápido e de menor custo (VANDENBERGHE et al.,2013; CHANG et al.,2010).

A modificação estrutural de produtos naturais é geralmente necessária para melhorar a bioatividade, reduzir a toxicidade ou melhorar as propriedades físicas e químicas. Na síntese orgânica convencional, muitas vezes são encontrados problemas em relação a seletividade das reações, principalmente quanto à regio, químio ou estereosseletividade. Além disso, as reações de múltiplas etapas incluindo proteção ou desproteção, geralmente resultam em baixos rendimentos dos produtos alvo. A biocatálise é geralmente considerada como uma ferramenta alternativa para modificar um substrato em um produto específico, demonstrando grande capacidade para realizar transformações

químicas com alta regio e estereosseletividades, que não podem ser acessadas por transformações químicas padrões (STRYJEWSKA et al., 2013)

As células que constituem o tecido vegetal são uma opção viável para biocatálise pois há uma grande variedade delas que apresentam em sua composição a oxido-redutase e o sistema de regeneração de cofator evitando processos demorados de preparação, extração, purificação e reprodução do biocatalizador que seriam necessários se fosse uma enzima isolada. Além disso, pode-se utilizar produtos vegetais rejeitados pela indústria alimentícia como catalizadores biológicos e os resíduos gerados pela reação são biodegradáveis (VANDENBERGHE et al., 2013).

Uma grande atenção vem sendo dada para as sínteses assimétricas de compostos quirais, para isso são necessários precursores específicos que possibilitem o desenvolvimento de fármacos e compostos agroquímicos mais modernos. Um exemplo destas reações ocorrem com os álcoois quirais que são compostos bem conhecidos e podem ser obtidos a partir de cetonas pró-quirais através de redução assimétrica (YADAV et al., 2002a).

Em muitos trabalhos estão descritos o emprego de pequenos pedaços de tecidos vegetais mantidos em meio líquido como cultura em suspensão, sendo este utilizado como meio catalítico. Yadav et al. (2002a,b) utilizaram este sistema para investigar a capacidade de raízes de Daucus carota em realizar reduções assimétricas de cetonas alifáticas e aromáticas, cetonas cíclicas, *β*-cetoésteres e azidocetonas. Neste experimento raízes desta espécie foram cortadas em pedaços de 1 cm.

Considerando a necessidade de buscar métodos alternativos para a síntese química na indústria farmacêutica, este projeto tem por objetivo trabalhar com a síntese de essências a partir de biocatalizadores obtidos de vegetais frescos. A intenção é utilizar uma pequena variedade de vegetais para que sejam observados quais são mais viáveis e eficazes para realizar o processo.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 EQUIPAMENTOS

- Agitadores magnéticos;
- Banho de ultrassom;
- Evaporador Rotativo Fisatom;
- Balança analítica Denver Instrument APX-200;
- Câmara incubadora com agitação orbital;
- Cromatógrafo a gás (Agilent 7890B) equipado com coluna capilar de fase estacionária Agilent HP-5MS UI (30 m x 0.250 mm x 0.25 µm) ou coluna quiral CPChirasil-DEX CB (25 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm), acoplado com espectrômetro de massas Agilent 5977 A;

2.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

As análises de cromatografia em camada delgada serão realizadas empregando cromatoplacas Merck de alumínio recobertas com gel de sílica com indicador de fluorescência em UV254 sob eluição com hexano/acetato de etila (9:1 v/v). Como revelador químico será empregado solução ácida de p-anisaldeído, 2,4-dinitrofenilhidrazina e vanilina sulfúrica com posterior aquecimento a 300 °C com soprador térmico (ARMAREGO; CHAI, 2009).

2.3 REDUÇÃO QUÍMICA DOS SUBSTRATOS

Com a finalidade de obter álcoois para serem utilizados como padrões nas análises de CG/EM e CG-quiral, os substratos 2-metilcicloexanona, 3-metilcicloexanona e 4-metilcicloexanona serão reduzidos com $NaBH_4$ de acordo com metodologia descrita a seguir e adaptada por Ward e Rhee (1989).

Em um balão de fundo redondo de 50,0 mL será adicionado 0,5 g de substrato diluído em 10,0 mL de álcool etílico 95° e resfriado a 0 °C, seguido da adição lenta de 0,1 g (2,6 mmol) de $NaBH_4$. O meio reacional será mantido sob agitação durante 60 minutos. Após este período, serão adicionados 20,0 mL de solução saturada de NH_4Cl e promovido a extração em funil de separação com duas porções de 20,0 mL de CH_2Cl_2. A fase orgânica seca sobre Na_2SO_4 anidro. O solvente será evaporado em rotaevaporador. Os produtos serão analisados por CCD, CG/EM e CG-quiral.

2.4 BIOCATÁLISE UTILIZANDO TECIDO VEGETAL

Os vegetais que serão utilizados como biocatalisadores serão obtidos em mercados da cidade de Maringá-PR, as quais serão lavadas em água corrente, cortadas em fatias de cerca de 0,5 cm e imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1% para evitar possíveis reações laterais de micro-organismos presentes no vegetal. Os erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de solução tampão com pH definido (4, 7 ou 9), será adicionado da biomassa vegetal (1, 2 ou 4 g) e o substrato (10, 20 ou 30 mg). Os meios reacionais serão mantidos sob agitação (120 rpm) por 5 dias em agitador rotativo a temperatura de 28 °C.

Após os 5 dias de incubação, será realizada a extração dos meios reacionais através de filtração, sendo o sobrenadante transferido para funil de separação de 250 mL para ser submetido a extração com duas porções de 30 mL de diclorometano. O solvente será evaporado em rotaevaporador. Os produtos serão analisados por CCD, CG/EM e CG-quiral.

3 RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se determinar dentre os vegetais utilizados qual apresenta maior rendimento reacional sintetizando uma maior quantidade de substrato. Além disso, avaliar qual o melhor meio reacional (pH) e quais concentrações de biomassa e substrato apresentam um melhor resultado na biotransformação.

REFERÊNCIAS

ARMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. **Purification of Laboratory Chemicals**. 6.ed. Burlington: Elsevier, 2009. p. 743;

CHANG X.; YANG, Z.; ZENG, R.; YANG, G.; YAN, J. Production of chiral aromatic alcohol by asymmetric reduction with vegetable catalyst. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 18, n. 6, p. 1029-1033, 2010.

GAGO, Josep Vicent Sinisterra. Aplicación de las células enteras como biocatalizadores a la síntesis de productos farmacéuticos. **Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia**, 2012.

GOMES, R. N.; LIMA, P. S.; KURIYAMA, S. N.; FIDALGO NETO, A. A. Desenvolvimento da química verde no cenário industrial brasileiro. **Revista Fitos**, p. 80-89, 2018.

STRYJEWSKA, A.; KATARZYNA KIEPURA, K.; LIBROWSKI, T.; LOCHYÑSKI, S. Biotechnology and genetic engineering in the new drug development. Part III. Biocatalysis, metabolic engineering and molecular modelling. **Pharmacological Report.**, v. 65, n. 5, p. 1102-1111, 2013.

VANDENBERGHE, A.; MARKÓ, I. E.; LUCACCIONI, F.; LUTTS. S. Enantioselective hydrolysis of racemic 1-phenylethyl acetate by an enzymatic system from fresh vegetables. **Industrial crops and products**, v. 42, p. 380-385, 2013.

YADAV, J. S.; NANDA, S.; REDDY, P. T.; RAO, A. B. Efficient enantioselective reduction of ketones with *Daucus carota* root. **Journal Organics Chemistry**, v. 67, p. 3900-3903, 2002a.

YADAV, J. S.; NANDA, S.; REDDY, P. T.; RAO, A. B. Stereoselective synthesis of (*R*)-(-)-denopamine, (*R*)-(-)-tembamide and (*R*)-(-)-aegeline via asymmetric reduction of azidoketones by *Daucus carota* in aqueous medium. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 12, p. 3381-3386, 2002b.

WARD, D. E.; RHEE, C. K. Chemoselective reductions with sodium borohydride. **CAN. J. CHEM.**, v. 67, p. 1206-1214, 1989