

## BIOCATALISADORES VEGETAIS NA REDUÇÃO DE ACETOFENONAS PRÓ-QUIRAIS E SUAS CONTRIBUIÇÕES PARA A QUÍMICA VERDE

VITOR HUGO DE GOES SAMPAIO<sup>1</sup>, JOÃO CARLOS DA COSTA ASSUNÇÃO<sup>1</sup>,  
CAMYLLA RACHELLE AGUIAR ARAÚJO DANTAS<sup>1</sup>, DANIELE ALVES FERREIRA<sup>2</sup>,  
ANA KARINE PESSOA BASTOS<sup>1</sup>, CAROLINE DE GOES SAMPAIOS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal do Ceará (IFCE)

<sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará (UFCE)

<vitorsampaio.engambiental@gmail.com> <jcassuncao2002@yahoo.com.br> <camyllarachelle@hotmail.com>  
<dafufc@yahoo.com.br> <karinebastos@ifce.edu.br> <carol-quimica@hotmail.com>

DOI: <<https://doi.org/10.21439/conexoes.v14i3.1398>>

**Resumo.** O presente trabalho objetivou investigar o potencial biocatalítico de resíduos vegetais na redução de acetofenonas. As cascas de abacaxi formaram diferentes produtos, como o 1-feniletanol, 2-feniletanol, acetato de 1-feniletila e acetato de 2-feniletila, assim como as sementes de abóbora e amêndoas da manga, o 1-feniletanol, 2-hidroxiacetofenona e 1-fenil-1,2-etanol, mostrando baixa seletividade química mas com bons rendimentos de conversão. Cascas de banana, maracujá, bagaço da cana-de-açúcar e sabugos de milho formaram apenas o 2-feniletanol, sendo os três primeiros mais efetivos, com conversão variando entre 21,7% e 80,0%. Os estudos para otimização das condições reacionais com a banana e o maracujá, através do monitoramento da conversão e do excesso enantiomérico, permitiram otimizar tempo reacional, pH e quantidade de biocatalisador. As melhores condições encontradas para a banana foram 36 horas, 15 g e pH 7,0, enquanto para o maracujá foram 48 horas, 15 g e pH 7,6. Utilizando as condições otimizadas, avaliou-se o potencial biorredutor da banana e maracujá frente aos derivados da acetofenona 2-bromoacetofenona, 3-bromoacetofenona, 4-bromoacetofenona, 1-fenil-2,2,2-trifluoretanona, 3-fluoracetofenona, 4-fluoracetofenona e 2-nitroacetofenona. Dentre os derivados testados 1-fenil-2,2,2-trifluoretanona foi o mais reativo com rendimento >99%.

**Palavras-chaves:** Enzimas. Biocatalisadores. Acetofenona. Química Verde.

## BIOCATALISADORES VEGETAIS NA REDUÇÃO DE ACETOFENONAS PRÓ-QUIRAIS E SUAS CONTRIBUIÇÕES PARA A QUÍMICA VERDE

**Abstract.** The present work aimed to investigate the biocatalytic potential of plant residues in the reduction of acetophenone. The pineapple peels have formed different products, such as 1-phenylethanol, 2-phenylethanol, 1-phenylethyl acetate and 2-phenylethyl acetate, as well as pumpkin seeds and almonds of mango, 1-phenylethanol, 2-hydroxyacetophenone and 1-phenyl-1,2-ethanol, showing low chemical selectivity, a desired result, but good conversion yields. Shells of banana, passion fruit, sugarcane bagasse and corn sabugo formed only 2-phenylethanol, the first three being more effective, with a conversion ranging from 21.7% to 80.0%. The studies to optimize the reaction conditions with banana and passion fruit, through the monitoring of conversion and enantiomeric excess, allowed to optimize the reaction time, pH and amount of biocatalyst. The best conditions found for the banana were 36 hours, 15 g and pH 7.0, while for passion fruit were 48 hours, 15 g and pH 7.6. Using the optimized conditions, the bioreductive potential of banana and passion fruit against acetophenone derivatives 2-bromoacetophenone, 3-bromoacetophenone, 4-bromoacetophenone, 1-phenyl-2,2,2-trifluoroethanone, 3-fluoracetophenone, 4-fluoracetophenone and 2-nitroacetophenone. Among the derivatives tested 1-phenyl-2,2,2-trifluoroethanone was the most reactive in yield > 99%.

**Keywords:** Enzymes. Biocatalysts. Acetophenone. Green Chemistry.

### 1 INTRODUÇÃO

O aumento dos processos industriais, crescimento populacional, desenvolvimento desordenado das cida-

des, bem como as mudanças nos padrões de consumo de bens e matérias primas impactaram significativamente o meio ambiente e trouxe à tona um quadro de degrada-

ção e desequilíbrio ambiental nunca visto anteriormente (FARIAS; FÁVARO, 2011). Esse cenário foi resultado do incentivo e expansão da economia somado a falta de conscientização no controle das poluições e descarte de resíduos tóxicos provenientes dentre outras fontes, da indústria química. Conseqüentemente, temos uma geração desenfreada de resíduos sólidos, contaminação do ar e recursos hídricos com qualidade comprometida (NASCIMENTO, 2007).

A indústria química tem relevante participação em quase todas as esferas econômicas, que incluem processos industriais, agrícolas a serviços. Somente nos Estados Unidos, em 2016, mais de 878 milhões de toneladas de compostos químicos foram produzidos, 91 bilhões de dólares foram investidos em pesquisa e desenvolvimento e aproximadamente 6 milhões de empregos diretos e indiretos foram gerados pelos negócios do setor químico. Diante desses números, fica evidente a dimensão e a influência desse mercado no mundo (AMERICAN CHEMISTRY COUNCIL, 2017).

Mesmo com o desenvolvimento de políticas direcionadas para o reaproveitamento dos resíduos sólidos, fiscalização para minimizar a produção e lançamento de efluentes químicos e diante da fatídica crise ambiental, é necessário fundamentar os desafios do desenvolvimento sustentável e criar uma visão estratégica que leve a um crescimento equilibrado e multidisciplinar. Fica claro a importância do desenvolvimento de técnicas de determinação e quantificação dos diversos tipos de poluentes, com rapidez, seletividade e também a otimização dos processos industriais pioneiros.

Diversos estudos apontam caminhos alternativos para a mitigação e/ou redução dessas problemáticas. Nos últimos anos foram desenvolvidas novas metodologias e pesquisas envolvendo a biotecnologia. A biotecnologia é um mercado economicamente viável, com estimativa de 20% na manufatura de produtos químicos em 2020, e ambientalmente correto (GONÇALVES; MARSAIOLI, 2013).

Inseridas nos processos biotecnológicos mais eficientes, levando em consideração os fatores ambientais, a minimização de impactos e harmonia com as demandas tecnológicas do mercado, temos as tecnologias de biotransformação e biocatálise (BRASIL, 2007). Biocatalisadores são proteínas de origem animal, vegetal e microbiana, com variação em suas propriedades catalíticas. Utilizados em transformações químicas, servem como alternativa aos processos pioneiros e têm como função principal catalisar reações nos organismos (PAQUES; MACEDO et al., 2006).

Há cerca de 20 anos com crescimento notório no cenário industrial e científico, a produção de moléculas

quirais a partir do uso de catalisadores enzimáticos chama a atenção, em grande parte, pelas suas vantagens e características. Os biocatalisadores apresentam elevada seletividade (enantio-, quimio-, estereo- e régio-seletividade), biodegradabilidade e alta eficiência em reações sob condições brandas, ou seja, à pressão e temperatura ambiente e podem ser utilizados em meio aquoso (BRAGA et al., 2013). Destaca-se também a reduzida demanda de solventes orgânicos e não formação de produtos secundários (ALBUQUERQUE et al., 2014). Em 2007, devido ao enorme potencial biotecnológico, foi criado pelo Governo Brasileiro o Comitê Nacional de Biotecnologia, com o intuito de estimular esse mercado. A partir daí, a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia foi instituída pelo decreto Nº 6.041 com a pretensão de colocar o país, até 2022, entre os cinco principais geradores de pesquisa, serviços e produtos biotecnológicos (GONÇALVES; MARSAIOLI, 2013).

A redução assimétrica biocatalítica de cetonas em álcoois quirais consiste em uma alternativa mais atrativa do ponto de vista ambiental, muito comum na obtenção de auxiliares cirúrgicos, produtos farmacêuticos, agroquímicos, aromas, fragrâncias, entre outros importantes produtos de aplicação industrial (NI; XU, 2012; MATSUDA; YAMANAKA; NAKAMURA, 2009; JAVIDNIA et al., 2016). No entanto, é fundamental a obtenção final de produtos com elevada pureza enantiomérica, uma vez que compostos racêmicos podem resultar em efeitos opostos quando relacionados com sistemas biológicos (MILETIC; LOOS; GROSS, 2011; PAVOKOVIĆ et al., 2017).

A redução enantiosseletiva usando plantas frescas, vegetais e frutos como biocatalisadores já foi amplamente investigada e relatada na literatura, mostrando-se vantajosa devido à alta biodiversidade de espécies, configuração experimental simples e viável para aplicações industriais (GAŠO-SOKAČ et al., 2014). As enzimas celulares de origem vegetal são capazes de catalisar a redução de cetonas pró-quirais, com alta estereoespecificidade, já que não há necessidade de regenerar cofatores (JAVIDNIA et al., 2016; PATIL, 2015).

Nesse contexto, a utilização de fontes residuais vegetais como fontes biocatalíticas para a conversão do respectivo substrato pode contribuir decisivamente para o desenvolvimento de uma química ambientalmente favorável, já que são capazes de substituir catalisadores químicos convencionais, muitas vezes mais tóxicos ao meio ambiente.

A redução de diferentes tipos de cetonas pró-quirais foi conseguida tendo, entre outros materiais, a maçã (*Malus pumila*), cenoura (*Daucus carota*), cebola (*Cu-*

*cumis sativus*), batata (*Solanum tuberosum*), rabanete (*Raphanus sativus*) e raízes de rabanete (*Raphanus sativus L.*) como biocatalisadores (BENNAMANE; ZEROR; ARIBI-ZOUIOUECHE, 2015; PATIL, 2015).

Levando em consideração a grande ascensão da biocatálise, o presente trabalho tem como objetivo investigar o potencial biocatalítico de resíduos vegetais na redução da acetofenona. Os biocatalisadores utilizados que inicialmente teriam como destino os aterros sanitários foram aplicados visando à redução de impactos ambientais e aproveitá-los na obtenção de compostos quirais de alto valor agregado.

## 2 Materiais e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Química Analítica e Microbiologia Ambiental (LAQMAB) do Eixo de Química e Meio Ambiente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – *campus* Maracanaú. A pesquisa iniciou com a seleção de fontes vegetais, oriundas de resíduos com potencial biocatalítico para redução da acetofenona. Os materiais testados foram: cascas de abacaxi (*Anana comosus*), banana (*Musa paradisiaca*), bagço de cana de açúcar (*Saccharum officinarum L.*), sabugo de milho (*Zea mays L.*), casca do maracujá (*Passiflora*) e sementes de abóbora (*Cucurbitales*), abacate (*Persea americana*) e manga (*Mangifera indica L.*). A triagem foi realizada considerando aspectos químicos e econômicos, como custo-benefício, facilidade de coleta e capacidade catalítica descrita na literatura. Os materiais foram adquiridos no comércio local considerando a mesma variedade vegetal.

O experimento consistiu, inicialmente, em cortar os resíduos em pequenos pedaços, pesa-los (10,0 g) e esteriliza-los em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 5% por 10 minutos. Após esse processo os mesmos foram lavados três vezes com água destilada e então acondicionados em erlenmeyers de 250 mL com 50 mg do substrato, acetofenona (1), e 40 mL de água destilada.

Logo após o acondicionamento dos sistemas, os frascos foram vedados com filme plástico e as misturas incubadas num agitador orbital (150 rpm) por 72 horas e temperatura ambiente (30 °C). Após esse período, cada suspensão foi filtrada individualmente em funil comum e papel de filtro, com o objetivo de separar o material residual do aquoso.

A fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (25mL), para separação dos compostos orgânicos, e secagem com sulfato de sódio anidro para retirada de excesso de água. Então, as amostras foram levadas a um sistema de evaporação rotativa a pressão reduzida,

a uma temperatura de aproximadamente 40 °C, para retirada do solvente, gerando o produto reacional.

Os produtos foram retirados dos balões com uma pequena quantidade de solvente (acetato de etila) e purificados em uma coluna cromatográfica de 15 cm x 5cm empacotada com sílica gel, utilizando um volume de 50 mL de diclorometano como eluente. Os produtos foram novamente levados ao sistema de evaporação rotativa a pressão reduzida para concentração, retirados dos balões com pequena porção de solvente (acetato de etila) e guardados em frascos de vidro previamente pesados (ASSUNÇÃO et al., 2008).

Posteriormente, foram realizados experimentos de otimização visando o aperfeiçoamento da metodologia de modificação química da acetofenona e verificação do potencial biorredutor das fontes enzimáticas estudadas. Variou-se a massa do biocatalisador, tempo de reação e pH da solução monitorando-se o rendimento de conversão e o excesso enantiomérico (%ee).

A variação da quantidade de biocatalisador ocorreu entre 2 e 15 g. Nesse caso, é importante destacar que a metodologia empregada foi a mesma dos testes iniciais. Já para o estudo cinético, foram verificadas as variações de 12 a 84 horas. Nessa etapa, aplicamos a quantidade de biocatalisador que obteve melhor resultado no primeiro ensaio de otimização.

Finalmente, pHs de 5,0-8,0 foram controlados com soluções tampões, utilizando a melhor massa de biocatalisador e tempo de reação. Para pH 5,6 foi utilizado um tampão acetato, feito a partir das soluções de ácido acético e acetato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Já para pH na faixa compreendida entre 5,8 e 8,0, foi utilizado tampões fosfato, a partir de soluções de fosfato de sódio monobásico e fosfato de sódio dibásico 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

Com as condições otimizadas, foram aplicadas biotransformações de derivados da acetofenona (2-bromoacetofenona, 3-bromoacetofenona, 4-bromoacetofenona, 3-fluoroacetofenona, 4-fluoroacetofenona, 2-nitroacetofenona e 1-fenil-2,2,2-trifluoretanona) com o intuito de comprovar o potencial biorredutor dos vegetais estudados.

Cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massa (CG-EM) foi utilizada na quantificação e a Cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (CG-DIC) na determinação dos excessos enantioméricos. CG-EM modelo 17A/QP5050 da Shimadzu equipado com coluna capilar OV-5 (5%-Fenil)-dimetipolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\theta$  m) com filme de 0,1  $\theta$  m; gás de arraste Hélio 5.0; fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> em modo split. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 e 280 °C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada para 4 °C min<sup>-1</sup> de

40 a 180 °C, e 20 °C min<sup>-1</sup> de 180 a 280 °C. O excesso enantiomérico foi calculado usando um CG-DIC modelo Trace Ultra da Thermo Electron equipado com coluna capilar Varian Chirasil-Dex CB ( $\beta$ -ciclodextrina, 25 m0,25 mm0,25  $\mu$ m); gás de arraste Hélio 5.0, fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> com modo split. A temperatura do injetor e detector foi de 220 °C. A temperatura da coluna foi programada para aumentar 2 °C min<sup>-1</sup> de 130 a 160 °C.

Um ensaio em branco (água mais substrato) foi realizado utilizando a metodologia descrita acima para verificar a atuação do biocatalisador. A determinação dos rendimentos de conversão foi feita pelo método da normalização da área (ASSUNÇÃO et al., 2008).

### 3 Resultados e Discussão

No teste de triagem foi observado que a maioria dos materiais testados apresentou capacidade catalítica na redução da acetofenona (**1**) ao 1-feniletanol (**1a**). Todos os resultados das conversões podem ser vistos na Tabela 1, com obtenção de rendimentos variando entre 10,2 e 90,1%, exceto para o abacate (0,0%) que se mostrou cataliticamente inativo.

Conversão reacional semelhante de acetofenona por cetoreductase foi apresentada no trabalho de Liang et al. (2010). Nesse, o processo biocatalítico estudado, cujo resultado foi um álcool quiral que atua como intermediário na síntese do fármaco antiasmático Singulair<sup>®</sup>, apresentou rendimento de 97,2% e excesso enantiomérico superior a 99,9%.

Inicialmente, utilizou-se como critério de seleção o rendimento de conversão da acetofenona, sendo as amêndoas de manga (90,1%) e cascas de maracujá (80,0%) os mais eficientes dentre os materiais testados.

No entanto, as amêndoas de manga, assim como sementes de abóbora e cascas de abacaxi, geraram mais de um produto, demonstrando baixa quimioseletividade. Já bagaço de cana (10,2%) e o caroço de abacate (0%) apresentaram baixo ou nenhum rendimento, motivo pelo qual foram descartados para os ensaios seguintes. O sabugo de milho apresentou rendimento semelhante aos das cascas de banana, 21,7%, porém, o último foi selecionado, dentre outros fatores, por questões de disponibilidade no mercado.

De acordo com os estudos realizados por Pavoković et al. (2017), os resultados obtidos neste trabalho, e dispostos na Tabela 1, podem ser considerados satisfatórios, justificando uma otimização da reação enzimática, que será descrita a seguir, em busca de melhores resultados. O autor aplicou metodologia semelhante a deste trabalho, com reações de 72 horas à temperatura ambiente, água destilada (pH 7,0) como meio

reacional, NaBH<sub>4</sub> e diferentes plantas como biocatalisadores na redução de 1-(3,4-dimetilfenil)etanona a 1-(3,4-dimetilfenil)etanol. Para cenoura (*Daucus carota*), beterraba (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *conditiva*), rabanete preto (*Raphanus sativus* L. var. *niger*), rabanete branco (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus* L.H.Bailey), aipo (*Apium graveolens* L.), rábano (*Armoracia rusticana*), salsinha (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss), rabanete (*Raphanus sativus* var. *sativus*) e beterraba açucareira (*Beta vulgaris* L.), os rendimentos obtidos foram de 71,9%, 55,9%, 55,9%, 67,7%, 65,9%, 54,3%, 88,2%, 44,1% e 70,6%, respectivamente.

As cascas de abacaxi favoreceram transformações químicas indesejadas, originando quatro produtos diferentes, 1-feniletanol (**1a**), 2-feniletanol (**1b**), acetato de 1-feniletila (**1c**) e acetato de 2-feniletila (**1d**), como resultado da redução do grupamento cetona e acetilação do álcool formado, como pode ser observado na Figura 1. O álcool quiral 1-feniletanol (**1a**) foi obtido em proporção (53,0%) superior ao dos outros produtos, indicando que as cascas de abacaxi podem ser utilizadas como biocatalisador na obtenção deste importante precursor quiral, mas com necessidade de um processo de purificação. A formação dos acetatos **1c** e **1d** pode indicar a presença de outras enzimas do grupo das lipases, além das reductases responsáveis pela formação de **1a**.

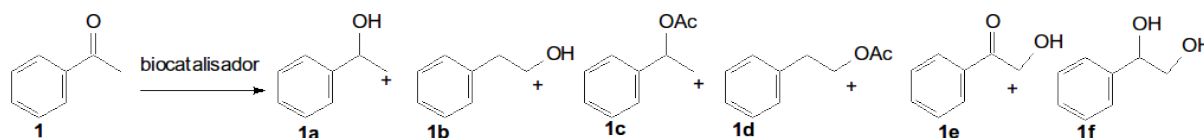
As sementes de abóbora e amêndoas de manga também apresentaram relevante atividade de biotransformação. As sementes de abóbora e amêndoas do caroço de manga demonstraram boa capacidade reductora, evidenciando a presença de possíveis enzimas oxidoreductases. Com estas a acetofenona (**1**) foi convertida em três diferentes produtos, o 1-feniletanol (**1a**), 2-hidroxiacetofenona (**1e**) e 1-fenil-1,2-etanodiol (**1f**), conforme o esquema reacional da Figura 1 e Tabela 1. Relevante resultado foi observado com a amêndoa da manga que converteu a cetona em seu álcool com 90,1% de rendimento, ao passo que as sementes de abóbora resultaram em 51,9% do mesmo produto. Resultados inesperados foram as formações dos produtos **1e** e **1f**, gerados pela oxidação do grupo metila da acetofenona (para **1e**) e pela redução da carbonila e oxidação do grupo metila simultâneos (para **1f**). Comparação entre os resultados dos dois biocatalisadores revelou maior predominância de atividade oxidase nas sementes de abóbora que nas amêndoas de manga, devido a maior proporção de produtos de oxidação (**1e** e **1f**). Isto demonstra a presença de um complexo enzimático, nos extratos aquosos destes materiais, rico em reductases e oxidases.

Baixa seletividade química também foi relatada por

**Tabela 1:** Resultados da biotransformação da acetofenona por catalisadores naturais (10 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

Material vegetal	Produto(s)/conversão (%)					
	1a	1b	1c	1d	1e	1f
Casca de abacaxi	53	4,5	0,1	1,9	-	-
<b>Casca de banana</b>	<b>21,7</b>	-	-	-	-	-
<b>Casca de maracujá</b>	<b>80</b>	-	-	-	-	-
Bagaço de cana	10,2	-	-	-	-	-
Sabugo de milho	21,7	-	-	-	-	-
Caroço de abacate	-	-	-	-	-	-
Semente de abóbora	51,9	-	-	-	7,9	37,6
Amêndoa de manga	90,1	-	-	-	5,1	1

Fonte: Autor



**Figura 1:** Esquema reacional para biotransformação da acetofenona (1) (10 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

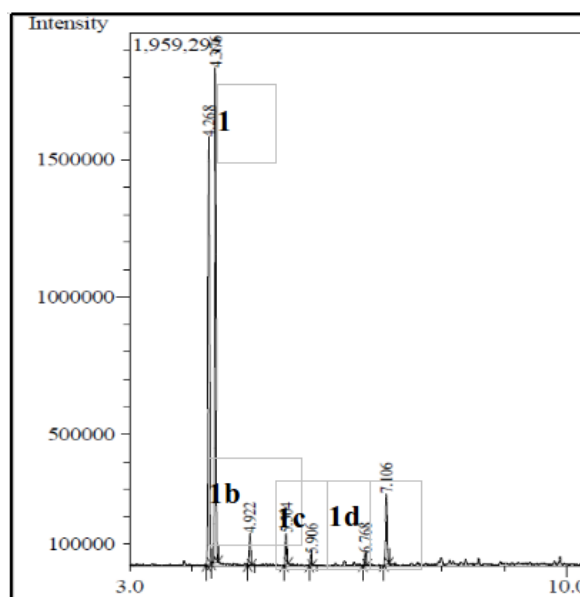
Fonte: Autor

Assunção et al. (2008), para a biorredução de compostos carbonilados a partir do caldo de cana-de-açúcar. A regiosseletividade não foi observada com o cinamaldeído, que gerou dois diferentes produtos, sendo um deles (66,5%) oriundo da redução seletiva do grupo carbonila e outro (33,5%) na redução da ligação olefínica. O metil-cinamaldeído também apresentou o mesmo comportamento. Nesse mesmo contexto, um ácido carboxílico (56,1%) foi gerado a partir do cinamaldeído, pela oxidação do grupo aldeído.

Os cromatogramas CG-EM das análises dos produtos reacionais resultantes da bioconversão da acetofenona (1) com as cascas de abacaxi, sementes de abóbora e amêndoas de manga são mostrado nas Figuras 2, 3 e 4.

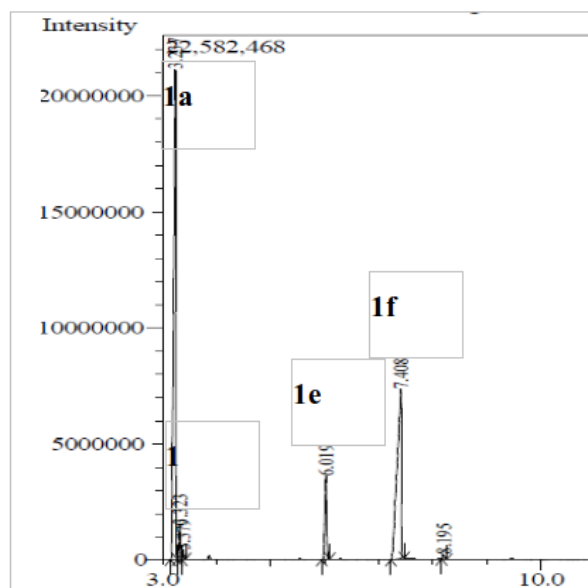
Vale ressaltar que os picos observados nos cromatogramas CG-EM das Figuras 2, 3 e 4 com tempos de retenção 4,3; 4,9; 5,9; 6,8; 7,4 e 8,0 minutos são atribuídos aos produtos 1-feniletanol (1a), 2-feniletanol (1b), acetato de 1-feniletila (1c), acetato de 2-feniletila (1d), 2-hidroxiacetofenona (1e) e 1-fenil-1,2-etanodiol (1f), respectivamente. Já o substrato acetofenona (1) aparece em 4,4 minutos. Estas atribuições foram realizadas baseadas nos espectros de massa gerados por cada pico.

Os resultados obtidos com as cascas de banana e maracujá, bagaço de cana e sabugo de milho mostraram que apenas 1-feniletanol (1a) foi formado a partir da acetofenona (1), indicando maior seletividade química destes biocatalisadores para a obtenção do produto



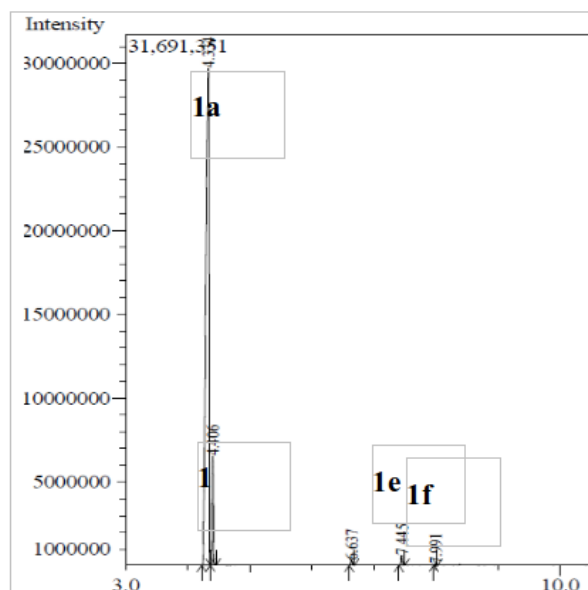
**Figura 2:** Cromatograma CG-EM do produto reacional da acetofenona com cascas de abacaxi (10 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

Fonte: Autor



**Figura 3:** Cromatograma CG-EM do produto reacional da acetofenona com a semente de abóbora (10 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

Fonte: Autor



**Figura 4:** Cromatograma CG-EM do produto reacional da acetofenona com a semente da amêndoa da manga (10 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

Fonte: Autor

**1a.** Os melhores rendimentos foram verificados para as cascas de maracujá (80,0%), cascas de banana (21,7%) e sabugo de milho (21,7%), podendo ser considerados potenciais catalisadores para obtenção de alcoóis quirais.

Avaliando conversão, seletividade, pureza dos produtos e facilidade de aquisição no mercado, as cascas de maracujá e banana foram selecionadas para os testes de otimização. A Figura 5 (A e B) exibem os cromatogramas dos produtos destes estudos.

Em relação as variações de massas dos biocatalisadores selecionados (cascas de banana e maracujá), os dados obtidos, para a obtenção do álcool quiral **1a**, podem ser observados na Tabela ??.

A quantidade de biocatalisador que resultou nas melhores conversões e excessos enantioméricos foi a mesma para ambos, 15 g. É observado que conversão e %ee crescem progressivamente com a massa de biocatalisador, até o máximo testado (15 g), indicando que possivelmente esses parâmetros seriam superiores em quantidades acima de 15 g. Porém, a viabilidade no uso de quantidades maiores deve ser considerada.

No caso do maracujá, mesmo que a enantiosseletividade tenha sido um pouco superior utilizando 6 g de material, 77% (S), 27% a mais de conversão justifica a escolha de 15 g como melhor quantidade.

Estudo cinético para determinação do tempo necessário para obtenção do álcool quiral **1a** na melhor conversão e excesso enantiomérico (%ee) também foi realizado. A Tabela 3 mostra os resultados dos testes, com intervalos de tempo de 12 horas.

Os melhores resultados, tanto de conversão quanto excesso enantiomérico, foram obtidos no período de 36 horas, rendimento de conversão de aproximadamente 60% e enantiosseletividade >91% (S) tendo a banana como biocatalisador. Para o maracujá, os melhores resultados foram encontrados no tempo de 48 horas, com conversão de 93,6% e excesso enantiomérico de 84% (S).

O terceiro estudo foi constituído pelo uso de soluções tampão comuns em sistemas biológicos como meio reacional, cujos valores obtidos estão dispostos na Tabela 4.

O melhor resultado para a banana foi observado em pH 7,0, com conversão de 43,2% e %ee 98%(S). Já para o maracujá, temos duas interpretações. Se o interesse for obter uma maior conversão da acetofenona, opta-se pelo pH 7,6 (76,9%). No entanto, se o intuito for obter uma maior pureza enantiomérica, deve-se optar por meio com pH igual a 5,6 (98%).

No último teste, os derivados da acetofenona, 2-bromoacetofenona (**2**), 3-bromoacetofenona (**3**), 4-

**Tabela 2:** Resultados da conversão da acetofenona com variação da massa de biocatalisador (50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

Quantidade (g)	Banana		Maracujá	
	Conversão (%)	ee (%)	Conversão (%)	ee (%)
2	2	67 (S)	13,2	70 (S)
6	3,9	72 (S)	49,6	77 (S)
8	9,2	76 (S)	50,4	52 (S)
12	15,2	84 (S)	53	71 (S)
<b>15</b>	<b>30,5</b>	<b>85 (S)</b>	<b>76,7</b>	<b>76 (S)</b>

Fonte: Autor,

**Tabela 3:** Resultados da conversão da acetofenona com variação do tempo (15 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm e temperatura ambiente).

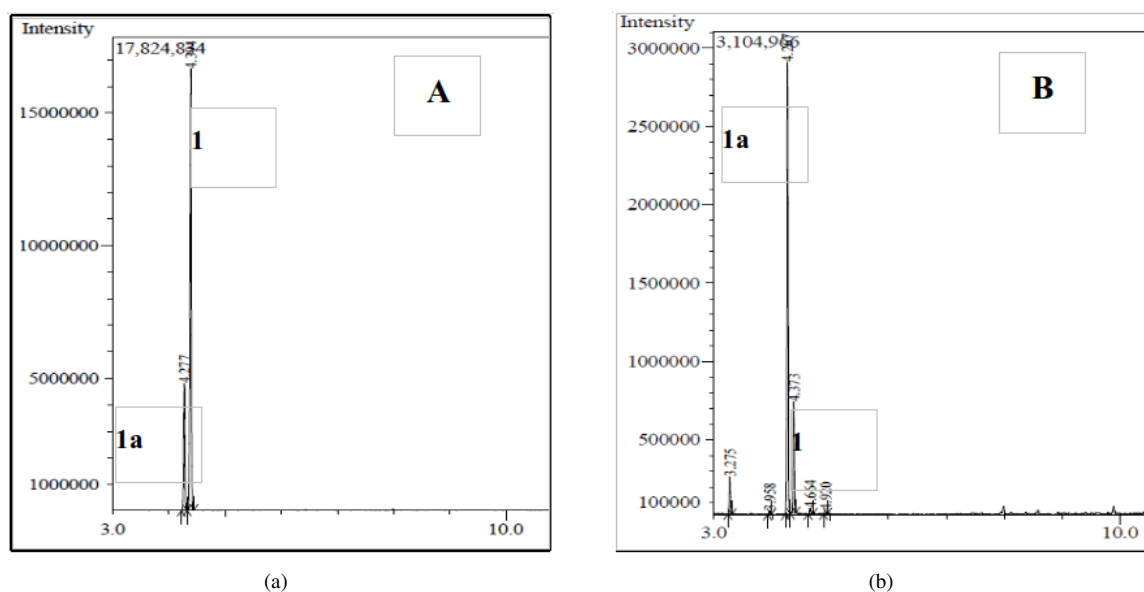
Tempo	Banana		Maracujá	
	Conversão (%)	ee (%)	Conversão (%)	ee (%)
12	55,5	87 (S)	67,9	66 (S)
24	18,3	87 (S)	71,4	80 (S)
36	<b>60</b>	<b>91 (S)</b>	29,6	-
48	23	85 (S)	<b>93,6</b>	<b>84 (S)</b>
60	12,8	85 (S)	69	30 (S)
72	11,6	87 (S)	68,9	25 (S)
84	18,6	86 (S)	69,5	23 (S)

Fonte: Autor.

**Tabela 4:** Resultados da conversão da acetofenona com variação do pH (15 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de solução tampão, 150 rpm, 36 horas para a banana e 48 horas para o maracujá e temperatura ambiente).

pH	Banana		Maracujá	
	Conversão (%)	ee (%)	Conversão (%)	ee (%)
5	8,3	94 (S)	-	-
5,6	12,7	91 (S)	44,9	<b>98 (S)</b>
7	<b>43,2</b>	<b>98 (S)</b>	69,6	55 (S)
7,6	16	-	<b>76,9</b>	63 (S)
8	15,2	97 (S)	69	77 (S)

Fonte: Autor.

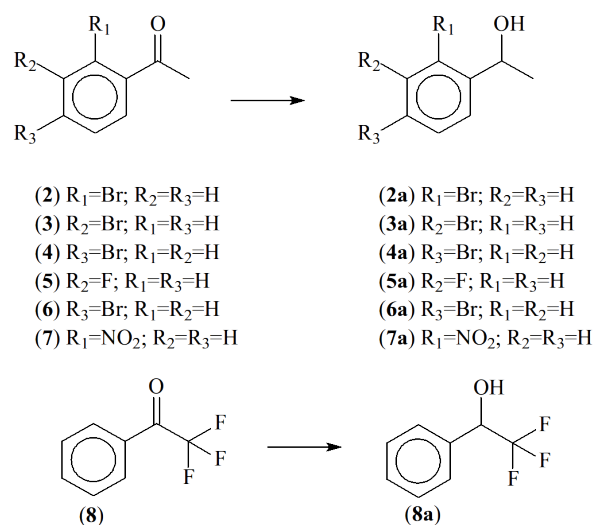


**Figura 5:** Cromatogramas CG-EM dos produtos reacionais da redução da acetofenona com as cascas de banana (A) e maracujá (B); sendo (1) acetofenona e (1a) 1-feniletanol (10 g de biocatalisador, 50 mg do substrato acetofenona, 40 mL de água destilada, 150 rpm, 72 horas e temperatura ambiente).

bromoacetofenona (4), 3-fluoracetofenona (5), 4-fluoracetofenona (6), 2-nitroacetofenona (7) e 1-fenil-2,2,2-trifluoretanona (8) foram submetidos a biorredução com as cascas da banana e maracujá, conforme esquema reacional da Figura 6. Todos os substituintes são retiradores de elétrons, portanto, grupos que aumentam a reatividade da carbonila por indução ou mesomeria. Os resultados estão dispostos na Tabela 5.

1-fenil-2,2,2-trifluoroacetofenona (8) se destacou por apresentar conversão superior a 99,9% para os dois biocatalisadores, porém, com %ee bem diferentes, >99% (S) para banana contra apenas 6% (S) do maracujá. Isso indica que a banana foi um biocatalisador com elevada enantiosselevidade frente a 1-fenil-2,2,2-trifluoretanona (8). Ao analisarmos as conversões dos demais derivados utilizando banana, percebemos que esta não foi eficiente, com apenas 4-fluoracetofenona (6) apresentando uma conversão superior a 10%. 2-bromoacetofenona (2), 3-bromoacetofenona (3), 4-bromoacetofenona (4) e 3-fluoracetofenona (5) mostraram conversões de apenas 2,8%, 2,2%, 1,1% e 4,4%, respectivamente. Por outro lado, sua enantiosselevidade foi razoavelmente elevada. O derivado 2-nitroacetofenona (7) não apresentou qualquer alteração na presença do biocatalisador.

Por sua vez, o maracujá demonstrou-se bem mais efetivo na conversão de todos os derivados da acetofenona. Os resultados obtidos foram, respectiva-



**Figura 6:** Esquema reacional para biotransformação dos derivados da acetofenona (1).  
Fonte: Autor



Tabela 5: Resultados da biotransformação dos derivados da Acetofenona.

Derivado	Banana		Maracujá	
	Conversão (%)	ee (%)	Conversão (%)	ee (%)
2-bromoacetofenona (2)	2,8	99 (S)	47,7	>99 (R)
3-bromoacetofenona (3)	2,2	98 (S)	59,1	94 (S)
4-bromoacetofenona (4)	1,1	89 (S)	30,3	61 (R)
3-fluoracetofenona (5)	4,4	-	66,6	90 (S)
4-fluoracetofenona (6)	10,2	-	48,5	73 (S)
2-nitroacetofenona (7)	0	0	6,1	>99 (S)
1-fenil-2,2,2-trifluoracetofenona (8)	>99,0	99 (S)	>99,9	6 (S)

Fonte: Autor.

mente, 47,7%, 59,1%, 30,3%, 66,6% e 48,5% para o 2-bromo (2), 3-bromo (3), 4-bromo (4), 3-fluor (5) e 4-fluoracetofenona (6). 2-nitroacetofenona (7) apresentou a menor conversão entre todos os substratos avaliados, 6,1%. A enantiosseletividade também foi considerada boa, com %ee >99% para 2-bromoacetofenona (2) e 2-nitroacetofenona (7). A configuração do carbono assimétrico dos alcoóis **2a** e **4a** (R) chama a atenção por ser pouco observada em reduções biocatalisadas, pois está em desacordo com a regra de Prelog que afirma ser o álcool de configuração S o mais favorecido (ASSUNÇÃO et al., 2008).

Observação relevante foi a análise da reatividade da carbonila em relação a posição do substituinte no anel aromático. Para o substituinte Bromo (Br) nas posições 2 (*orto*), 3 (*meta*) e 4 (*para*) do anel aromático, verifica-se que, como esperado, o derivado *orto* substituído foi mais reativo frente a catálise com a banana. Já com maracujá o derivado *meta* substituído foi mais reativo. Sabe-se que halogênios são substituintes que ativam a carbonila de acetofenonas por indução, mas, devido ao extenso volume do elemento bromo, podem provocar impedimento estérico diminuindo sua reatividade. Como o 4-bromoacetofenona foi o menos reativo para os dois biocatalisadores podemos afirmar que o efeito indutivo foi o principal responsável pela maior reatividade da carbonila, visto que a distância da substituição reduz o efeito retirador de elétrons. Porém, devemos pesar que a questão da reatividade está intimamente associada ao acoplamento enzima-substrato, que pode levar a resultados bem diferentes aos esperados levando-se em conta critérios químicos.

Para os derivados flúor substituídos, como esperado, observou uma reatividade superior aos bromos substituídos, devido possivelmente a maior eletronegatividade do elemento F. A posição do substituinte F (em *meta* e *para*) influenciou diferentemente a do Br, com *para* resultando em maior conversão para banana e *meta* para o maracujá.

O derivado 2-nitroacetofenona (7) não apresentou reatividade para banana e maracujá, o que é surpreendente visto seu grande efeito retirador de elétrons (ativante) por indução e mesomeria na posição *orto* do anel aromático. Possivelmente, o extenso impedimento estérico tenha sido o principal responsável pela baixa reatividade da cetona nesta situação. Novamente, a questão do acoplamento enzima-substrato deve ter sido o fator relevante nesta situação.

Em relação ao 1-fenil-2,2,2-trifluoretanona (8), onde as substituições são nos hidrogênios da  $\alpha$ -carbonila da metila, o efeito indutivo foi altamente favorável para a reatividade da cetona. Devido ao pequeno volume do átomo de Flúor praticamente não houve efeito estérico sobre a carbonila.

Comparando com a acetofenona (1) as substituições provocaram, para a maioria dos derivados, uma diminuição considerável na reatividade da carbonila. Se considerarmos apenas a eletrofilicidade da carbonila isso seria surpreendente, porém, devemos ponderar que a reação está sendo catalisada por enzimas, e estas catalisam reações de forma diferente dos catalisadores químicos. Portanto, o critério de reatividade química pode muitas vezes não se adequar as reações enzimáticas, devendo o fator especificidade e acoplamento ao substrato ser considerado.

Xie et al. (2009) usaram diferentes frutas frescas e vegetais como biocatalisadores na redução enantiosseletiva do 2-clorofluorenona. Dentre os materiais testados, a banana (*Musa balbisiana*) apresentou conversão de 30% e %ee de 46%.

Bruni et al. (2002) também investigaram a redução da acetofenona a partir de biocatalisadores vegetais. Os resultados obtidos mostraram que a cenoura (*Daucus carota*) reduziu, após 72 horas de reação, a acetofenona ao (S)-1-feniletanol com enantiosseletividade de 100%. No entanto, a berinjela (*Solanum melongena*), pepino (*Cucumis sativus*), cebola branca e vermelha (*Allium cepa*), alho (*Allium sativum*) e rabanete (*Raphanus sa-*

*tivus*) não foram capazes de reduzir o substrato testado.

Yadav et al. (2009) usaram como biocatalisadores na redução enantiosseletiva de cetonas pró-quirais, ervilhas verdes germinadas (*Pisum sativa*). Acetofenonas foram convertidas em álcoois quirais secundários, à temperatura ambiente e pH 7,0, com conversões variando entre 55 e 72% e %ee entre 91 e 98%.

#### 4 Considerações Finais

A redução de acetofenonas pró-quirais consiste em uma transformação fundamental na síntese orgânica de compostos biologicamente ativos e de interesse comercial, como por exemplo, na obtenção de fármacos, agroquímicos ou cosméticos.

As cascas de maracujá mostraram-se mais promissoras frente aos demais materiais testados, tanto na metodologia padrão, com conversão de até 80%, como nas condições otimizadas, com conversão de até 93,6%. Esta também foi mais efetiva na redução dos derivados da acetofenona, atingindo conversões >99,9% e %ee >99%. As melhores condições reacionais foram 48 horas de reação, 15 g de biocatalisador e meio reacional com pH 7,6.

Assim, a presente pesquisa tem grande importância científica e tecnológica por utilizar resíduos orgânicos e reaproveitá-los como biocatalisadores, podendo vir a ser transformado, após depósito de patente e outras análises, em um produto comercialmente viável. A biotecnologia testada mostrou-se uma alternativa atrativa e viável do ponto de vista ambiental e químico, contribuindo de fato para a Química Verde.

#### REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUEA, M. d. C. C.; RIBEIROA, C. M. S.; RABELOA, C. R. K.; SIQUEIRAA, B. G.; MARINHAB, A. B. A. S.; CASTROA, A. M. de. Aplicações de enzimas na síntese e na modificação de polímeros. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 37, n. 4, p. 699–708, 2014.

AMERICAN CHEMISTRY COUNCIL. **Jobs & Economic Impact**. 2017. Disponível em: <<https://www.americanchemistry.com/Business-of-Chemistry-by-the-Numbers/>>. Acesso em: 02 ago. 2017.

ASSUNÇÃO, J. C. C.; MACHADO, L. L.; LEMOS, T. L.; CORDELL, G. A.; MONTE, F. J. Q. Sugar cane juice for the bioreduction of carbonyl compounds. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Elsevier, v. 52, n. 1, p. 194–198, 2008.

BENAMANE, M.; ZEROR, S.; ARIBI-ZOUIOUCHE, L. Asymmetric reduction of ketones by biocatalysis using clementine mandarin (citrus reticulata) fruit grown in annaba or by ruthenium catalysis for access to both enantiomers. **Chirality**, Wiley Online Library, v. 27, n. 3, p. 205–210, 2015.

BRAGA, A. L.; LÜDTKE, D. S.; SCHNEIDER, P. H.; ANDRADE, L. H. d.; PAIXÃO, M. W. Catálise assimétrica no brasil: desenvolvimento e potencialidades para o avanço da indústria química brasileira. **Química nova**, v. 36, n. 10, p. 1591–1599, 2013.

BRASIL. **Decreto n 6.041, de 8 de fevereiro de 2007. Institui a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia, cria o Comitê Nacional de Biotecnologia e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. 2007. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-010/2007/decreto/D6041compilado.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-010/2007/decreto/D6041compilado.htm)>. Acesso em: 30 jul. 2017.

BRUNI, R.; FANTIN, G.; MEDICI, A.; PEDRINI, P.; SACCHETTI, G. Plants in organic synthesis: an alternative to baker's yeast. **Tetrahedron letters**, Elsevier, v. 43, n. 18, p. 3377–3379, 2002.

FARIAS, L. A.; FÁVARO, D. I. T. Vinte anos de química verde: conquistas e desafios. **Química Nova**, Sociedade Brasileira de Química, v. 34, n. 6, p. 1089–1093, 2011.

GAŠO-SOKAČ, D.; NUJIĆ, M.; BUŠIĆ, V.; HABUDA-STANIĆ, M. Biocatalytic reductions by plant tissue-green alternative to alcohol production. **Croatian journal of food science and technology**, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, v. 6, n. 1, p. 51–60, 2014.

GONÇALVES, C. d.; MARSALOLI, A. J. Fatos e tendências da biocatálise. **Química Nova**, Sociedade Brasileira de Química, v. 36, n. 10, p. 1587–1590, 2013.

JAVIDNIA, K.; FAGHIH-MIRZAEI, E.; MIRI, R.; ATTARROSHAN, M.; ZOMORODIAN, K. Stereoselective reduction of prochiral ketones by plant and microbial biocatalysts. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, Wolters Kluwer–Medknow Publications, v. 78, n. 1, p. 73, 2016.

LIANG, J.; LALONDE, J.; BORUP, B.; MITCHELL, V.; MUNDORFF, E.; TRINH, N.; KOCHREKAR, D.; CHERAT, R. N.; PAI, G. G. Development

of a biocatalytic process as an alternative to the (-)-dip-cl-mediated asymmetric reduction of a key intermediate of montelukast. **Organic Process Research & Development**, ACS Publications, v. 14, n. 1, p. 193–198, 2010.

MATSUDA, T.; YAMANAKA, R.; NAKAMURA, K. Recent progress in biocatalysis for asymmetric oxidation and reduction. **Tetrahedron: Asymmetry**, Elsevier, v. 20, n. 5, p. 513–557, 2009.

MILETIC, N.; LOOS, K.; GROSS, R. **Biocatalysis in Polymer Chemistry**. 1. ed. Weinheim: Wiley VCH-Verlag GmbH & Co., 2011.

NASCIMENTO, J. C. F. **Comportamento mecânico de resíduos sólidos urbanos**. Dissertação (Mestrado) — Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

NI, Y.; XU, J.-H. Biocatalytic ketone reduction: a green and efficient access to enantiopure alcohols. **Biotechnology advances**, Elsevier, v. 30, n. 6, p. 1279–1288, 2012.

PAQUES, F. W.; MACEDO, G. A. et al. Lipases de látex vegetais: propriedades e aplicações industriais. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 29, n. 1, p. 93–99, 2006.

PATIL, D. Biocatalysis using plant material: A green access to asymmetric reduction. **International Journal of ChemTech Research**, v. 8, n. 1, p. 318–324, 2015.

PAVOKOVIĆ, D.; BUĐA, R.; ANDRAŠEC, F.; ROJE, M.; BUBALO, M. C.; REDOVNIKOVIĆ, I. R. Plant-mediated asymmetric reduction of 1-(3, 4-dimethylphenyl) ethanone. **Tetrahedron: asymmetry**, Elsevier, v. 28, n. 5, p. 730–733, 2017.

XIE, B.; YANG, J.; YANG, Q.; YUAN, W. Enantioselective reduction of fluorenones in surfactant-aqueous solution by fruits and vegetables. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Elsevier, v. 61, n. 3-4, p. 284–288, 2009.

YADAV, J. S.; REDDY, B. V. S.; SREELAKSHMI, C.; RAO, A. B. Enantioselective reduction of prochiral ketones employing sprouted pisum sativa as biocatalyst. **Synthesis**, c Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, v. 2009, n. 11, p. 1881–1885, 2009.