



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO
COORDENADORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



**REDUÇÃO ENANTIOSELETIVA DE CETO-IMIDAZOL POR
FUNGOS ENDOFITICOS ISOLADOS DA *Bertholletia excelsa* Humn. &
Bonpl. (CASTANHA-DO-BRASIL)**

MACAPÁ-AP

2021

BEATRIZ LACERDA FERREIRA

**REDUÇÃO ENANTIOSSELETIVA DE CETO-IMIDAZOL POR
FUNGOS ENDOFITICOS ISOLADOS DA *Bertholletia excelsa* Humn. &
Bonpl. (CASTANHA-DO-BRASIL)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Amapá, como requisito final para obtenção de Título de Licenciatura em Química.

Orientador: Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

MACAPÁ-AP

2021

BEATRIZ LACERDA FERREIRA

**REDUÇÃO ENANTIOSSELETIVA DE CETO-IMIDAZOL POR
FUNGOS ENDOFITICOS ISOLADOS DA *Bertholletia excelsa* Humn. &
Bonpl. (CASTANHA-DO-BRASIL)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Amapá, como requisito final para obtenção de Título de Licenciatura em Química.

Orientador: Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

APROVADO EM ____/____/____

Examinador: Dr. David Esteban Quintero Jimenez

Examinador: Me. Fabricio Holanda e Holanda

Orientador: Dr. Irlon Maciel Ferreira

CONCEITO FINAL: _____

MACAPÁ-AP

2021

Dedico este trabalho primeiramente à Deus, a minha família, e as mulheres da minha vida, Antônia e Maria Antônia por todo amor recebido nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

O trabalho de Conclusão de Curso desenvolvido, contou com o apoio de importantes pessoas, dentre as quais agradeço.

À Deus pela dádiva da vida e pela sabedoria.

Ao meu orientador Prof. Dr Irlon Maciel Ferreira, por toda dedicação empenhada na elaboração deste trabalho.

Aos laboratórios por conceder seus espaços para execução da parte prática deste trabalho, agradeço ao Laboratório de Pesquisa em Fármacos - UNIFAP pela disposição de seus equipamentos de análise e ao Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada – UNIFAP por conceder o ambiente de trabalho, reagentes e materiais necessários para a execução da pesquisa.

A Todas as pessoas do Grupo de Pesquisa em Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada (BIORG), em especial a Iracirema Sena, Victor Marinho, Edmilson Moraes e David Quintero, pela colaboração no desenvolvimento da parte prática do trabalho.

Agradeço aos meus professores do Colegiado de Licenciatura em Química, pela significativa aprendizagem que me proporcionaram, em especial ao Prof. Joel Diniz, Prof. Joaquina Malheiros e Prof. Alex Rodrigues.

Agradeço a Universidade Federal do Amapá, a seu corpo docente, administrativo e a todos que direta e indiretamente contribuíram nesse processo de formação, obrigada pela oportunidade a mim concedida.

A minha amada mãe Maria Antônia, que sempre me incentivou e não permitiu que eu desistisse nos momentos de desânimo.

A minha querida avó Antônia, que me deu forças para sempre seguir em frente e superar todas as adversidades.

E aos meus grandes amigos, que sempre me incentivaram a lutar pelos meus sonhos, Dionisia Pelaes, Fernando Neves e Gabriel Baia, agradeço pelo companheirismo, afeto e por sonharem junto comigo.

*O sucesso é a soma de
pequenos esforços repetidos
dias após dias*

- Robert Collier

RESUMO

REDUÇÃO ENANTIOSSELETIVA DE CETO-IMIDAZOL POR FUNGOS ENDOFITICOS ISOLADOS DA *Bertholletia excelsa* Humn. & Bonpl. (CASTANHA-DO-BRASIL)

O bioma Amazônico contém uma alta e complexa biodiversidade, dentre os milhares organismos ainda não explorados, o fungo endofítico destaca-se pela sua capacidade de produzir um arsenal de substâncias e enzimas de interesses biotecnológico. Por tanto, o objetivo deste trabalho foi realizar reações de biotransformação de compostos derivados do cet-imidazol, mediadas por células de fungos endofíticos isolados da *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil), até então não descrita na literatura, para produção de álcoois enantiomericamente puros. Foi realizado a síntese do cet-imidazol, e posteriormente 5 cepas de diferentes fungos endofíticos isolados da amêndoa da *B. excelsa* foram cultivados em frasco de 250 mL contendo 100 mL de meio líquido (malte 2%), previamente esterilizados. Após este período os micélios foram filtrados e ressuspensos em solução tampão (pH 7) com adição de 25 mg do composto solubilizado em 400 µL de DMSO, permanecendo em condições controladas (30°C, 120 rpm) por 7 dias. As reações foram filtradas e extraídas com acetato de etila, secas com sulfato de sódio e novamente filtrado. A identificação do produto formado, e porcentagem de conversão para cada reação foi realizada por Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas (CG-EM). Em todos os casos foi identificado o álcool-imidazol, como produto de biotransformação, a taxa de conversão do produto variou de >99 – 15%. O fungo *Penicillium paxilli* (BIORG 6) apresentou maior taxa de conversão (>99%), em comparação a reação com o fungo *Aspergillus* sp. (BIORG 9) promoveu menor taxa de conversão (15%). Outros compostos derivados de cet-imidazol foram sintetizados e empregados na biotransformação com o fungo *Penicillium paxilli* (BIORG 6).

Palavras-Chave: Biotransformação; Biotecnologia; Micro-organismos; Compostos azóis; Processos enzimáticos.

ABSTRACT

ENANTIOSELECTIVE REDUCTION OF KETO-IMIDAZOL BY ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Bertholletia excelsa* (BRAZIL NUTS)

The Amazon biome contains a high and complex biodiversity, among the thousands of unexplored organisms, the endophytic fungus stands out for its ability to produce an arsenal of substances and enzymes of biotechnological interest. Therefore, the objective of this work was to carry out biotransformation reactions of compounds derived from keto-Imidazole, mediated by cells of endophytic fungi isolated from *Bertholletia excelsa* (Brazil Nut), so far not described in the literature, for the production of alcohols enantiomerically pure. The synthesis of keto-imidazole was performed, and then 5 strains of different endophytic fungi isolated from the almond of *B. excelsa* were cultivated in a 250 mL flask containing 100 mL of liquid medium (2% malt), previously sterilized. After this period, the mycelium was filtered and resuspended in a buffer solution (pH 7) with the addition of 25 mg of the compound solubilized in 400 μ L of DMSO, remaining under controlled conditions (30 °C, 120 rpm) for 7 days. Reactions were filtered and extracted with ethyl acetate, dried with sodium sulfate, and filtered again. The identification of the formed product, and conversion percentage for each reaction was performed by Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). In all cases the alcohol-imidazole was identified as a biotransformation product, the product conversion rate ranged from >99 – 15%. The fungus *Penicillium paxilli* (BIORG 6) had a higher conversion rate (>99%), compared to the reaction with the fungus *Aspergillus sp.* (BIORG 9) promoted a lower conversion rate (15%). Other compounds derived from keto-imidazole were synthesized and used in biotransformation with the fungus *Penicillium paxilli* (BIORG 6).

Keywords: Biotransformation; Biotechnology; Microorganisms; Azole compounds; Enzymatic processes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura Imidazol.....	15
Figura 2: Estrutura Histidina	15
Figura 3: Fármacos que apresentam o Anel Imidazólico nas suas estruturas	16
Figura 4: Formação Ligações Intermoleculares	16
Figura 5: Arvore da Castanha-do-Brasil.....	22
Figura 6: Ouriços da Castanha-do-Brasil	22
Figura 7: Sementes da Castanha-do-Brasil.....	23
Figura 8: Biotransformação composto limoneno	25
Figura 9: Enantiômeros (R)-Tembamida e (R)-Aegeline.....	25
Figura 10: Reação mediada por micro-organismos.....	25
Figura 11: Reação Biotransformação por fungos marinhos	26
Figura 12: Biorredução enantiosseletiva de β -cetotriazóis.....	26
Figura 13: Reação geral para obtenção dos derivados de ceto-imidazol.....	28
Figura 14: Preparação das Amêndoas para Isolamento dos Fungos Endofíticos.....	29
Figura 14: Fungos endofíticos BIORG4 e BIORG7 cultivados em meio sólido.	30
Figura 15: Fungos endofíticos cultivados em meio líquido (1° dia)	30
Figura 16: Fungos endofíticos cultivados em meio líquido (7° dia)	30
Figura 17: Fungos endofíticos em solução tampão fosfato pH 7 (7° dia).....	31
Figura 18: Mecanismo da Reação	38
Figura 19: Cromatograma do Produto 3a	39
Figura 20: Perfil espectroscópico do produto 3a.....	39
Figura 21: Fungo (BIORG6)	40
Figura 22: Cromatograma obtido das reações de biotransformação do composto 3a para os Fungos Biorg 4, Biorg 5 e Biorg 6.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reação de redução de derivados de ceto-imidazol com Boro hidreto (NaBH_4)	32
Tabela 2: Síntese de derivados de ceto-imidazol utilizados como substrato em reação de biotransformação mediados por fungos endofíticos.	37
Tabela 3. Estudo da porcentagem de conversão do derivado de ceto-imidazol 1a mediadas por células todas de diferentes fungos endofíticos.	40
Tabela 4: Estudo de Conversão de Compostos Imidazólicos.....	42
Tabela 5: Proposta de Ensino da Estereoquímica.....	53

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 JUSTIFICATIVA	17
3 PROBLEMA	18
4 OBJETIVOS	19
4.1 Geral.....	19
4.2 Específicos	19
5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
5.1 Processos biotecnológicos	20
5.2 Princípios da química verde	20
5.3 <i>Bertholletia Excelsa</i> (Castanha-do-Brasil)	21
5.4 Fungos endofíticos	23
5.5 Biotransformação	24
5.6 Biotransformação e Biorredução por cepas de fungos.....	24
5.7 Biotransformação de compostos azóis.....	26
6 MATERIAIS E MÉTODOS	28
6.1 Materiais.....	28
6.2 Métodos.....	28
6.2.1 Síntese dos derivados de ceto-imidazol	28
6.2.2 Isolamento e identificação dos fungos endofíticos.....	29
6.2.3 Cultivo microbiano em meio sólido (malte 2%)	29
6.2.4 Cultivo microbiano em meio líquido (malte 2%).....	30
6.2.5 Reação de Biotransformação	31
6.2.6 Reação de hidrogenação	32
6.2.7 Análises e caracterização espectroscopia.....	33
6.3 Dados Espectroscópios.....	33
6.3.1 2-(1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)-1-feniletan-1-ona (3a): C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O g.mol ⁻¹ . Rendimento 1,098 g (55 %). Sólido alaranjado.	33
6.3.2 1-(4-clorofenil)-2-(1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)etan-1-ona (3b): C ₁₁ H ₉ ClN ₂ O g.mol ⁻¹ . Rendimento 0,995 g (75 %). Sólido alaranjado.	34
6.3.3 1-(4-flúorfenil)-2-(1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)etan-1-ona (3c).....	34
6.3.4 1-(4-bromofenil)-2-(1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)etan-1-ona (3d): C ₁₁ H ₉ BrN ₂ O g.mol ⁻¹ . Rendimento 1,693 g (95 %). Sólido alaranjado.	35
6.3.5 1-([1,1'-bifenil]-4-yl)-2-(1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)etan-1-ona (3e): C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O g.mol ⁻¹ . Rendimento 1,693 g (95 %). Sólido alaranjado.	36

6.3.6 1-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona (3f).....	36
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
7.1 Síntese dos derivados de ceto-imidazol	37
7.2 Reação de Biotransformação mediadas por fungos endofíticos	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
REFERÊNCIAS	45
REFERÊNCIAS DE IMAGEM	47
APÊNDICES	48
APÊNDICE A – PROPOSTA DE ENSINO	49
ANEXOS.....	57

1 INTRODUÇÃO

O bioma Amazônico é dotado de alta e complexa biodiversidade com variantes espécies de animais, vegetais e microrganismos, no qual muitos possuem propriedades biomedicinas de interesse científico e biotecnológico. Devido a essa alta diversidade, ainda pouco se conhece sobre as espécies existente nessa região (OLIVEIRA, 2010, p.14).

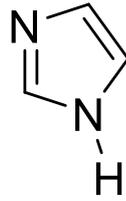
Dentre as milhares espécies vegetais da amazônica, a Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), se destaca. Segundo Tonini (2007), trata-se de uma espécie largamente distribuída cobrindo aproximadamente 325 milhões de hectares da floresta Amazônia, sendo que cerca 92% de toda essa área pertence ao território brasileiro, por este fato presencia-se alta concentração do extrativismo desta espécie no país.

Estudos relacionados a microbiologia associada a *Bertholletia Excelsa* (castanha-do-Brasil), tem chamado atenção da comunidade científica, devido seus constituintes, dentre eles os fungos endofíticos isolados desta espécie vegetal, no qual habitam sistematicamente dentro da planta, sem causar doenças em seu hospedeiro. Os trabalhos relacionados mostraram importantes desempenhos apresentado pela espécie, como a produção de metabólicos, no qual possuem aplicações biotecnológicas, como a produção de enzimas, e potencial antibióticos e anti-inflamatório (OLIVEIRA, 2010, p.14).

As enzimas, maquinaria celulares, desses fungos filamentosos podem ser aproveitadas em processos biotecnológicos como da biotransformação de substâncias químicas, apresentando uma série de vantagens quando comparado aos reagentes químicos convencionais, tais com a diminuição do custo de processo, menor impacto ambiental, redução da quantidade de resíduos, menor consumo de energia e introdução de rotas mais acessíveis de produção (CASTRO, 2003, p. 146), já que as enzimas são biodegradáveis.

As vantagens do processo de biotransformação estão inseridas dentro dos princípios da Química Verde. Conforme Rocha (2011, p.14), os bioprocessos em sua maioria apresentam considerável seletividade por substratos, proporcionando a obtenção de produtos com maior quimiosseletividade, regioseletividade e enantioseletividade com menores impactos ambientais.

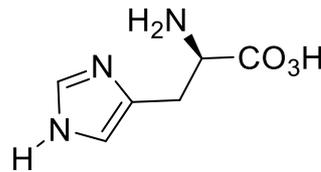
Substâncias com atividade farmacológica comumente são utilizados nos processos de biotransformação, como exemplo se tem os compostos imidazólicos. O anel do imidazol (Figura 1) pode ser caracterizado por conter dois átomos de nitrogênio localizados nas posições 1 e 3, respectivamente. Sistematicamente nomeamos de 1,3-diazol, possuindo uma geometria pentágono regular planar.

Figura 1: Estrutura Imidazol

Fonte: Autor

Considera-se o imidazol um composto aromático. Na estrutura, observa-se que um dos átomos de nitrogênio contribui com dois elétrons para o sexteto eletrônico, o átomo de nitrogênio coopera com um elétron e mais outros três átomos de carbono, com um elétron cada. Portanto, os elétrons estão partilhados sobre cinco átomos, sendo estes mais intensificados sobre os átomos de nitrogênio (STEFANI, 2009).

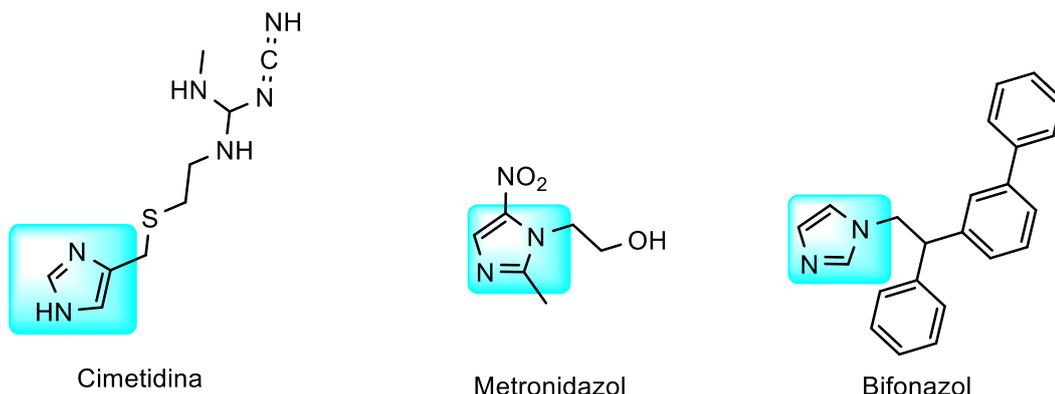
Um dos produtos naturais considerado importante por seus fins, derivados do imidazol, é o amino ácido Z-histidina (Figura 2), no qual comumente é utilizada no tratamento de crises alérgicas.

Figura 2: Estrutura Histidina

Fonte: Autor

Existem diversos fármacos que possuem em suas estruturas o anel imidazólico (Figura 3), podemos citar a cimetidina utilizada no tratamento de úlceras duodenais e gástricas, outro medicamento que é utilizado no tratamento de infecções de tricomoníases e amebas é o metronidazol, e também destaca-se o bifonazol com finalidade antifúngica.

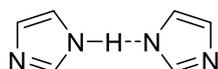
Figura 3: Fármacos que apresentam o Anel Imidazólico nas suas estruturas



Fonte: Autor

O imidazol forma cristais incolores, possui ponto de fusão à 90°C e ponto de ebulição igual a 256°C. O imidazol é solúvel em água e também em outros solventes, e ligeiramente solúvel em solventes apróticos. Estes compostos tem alto ponto de fusão quando comparados a pirrol, oxazol e tiazol, haja vista que a molécula do imidazol é doadora e aceptora de ligações de hidrogênio, sendo que apenas ligações de hidrogênio (Figura 4) intermoleculares são formadas (STEFANI, 2009).

Figura 4: Formação Ligações Intermoleculares



Fonte: Autor

A utilização de células totais de fungos endofíticos em processos de biotransformação de rotas sintéticas quimio-enzimática em fármacos como os imidazóis ainda são pouco exploradas. A biotransformação possibilita estudos relacionados à obtenção de metodologias viáveis para produção de fármacos enantiomericamente puros.

Os compostos imidazólicos apresentam núcleos estruturais em diversos fármacos, principalmente com aplicação anti-microbiana. Este trabalho trata da biotransformação enantiosseletiva de compostos azóis, cujo é uma alternativa frente aos catalisadores sintéticos, pois se utiliza de meios economicamente viáveis e ambientalmente aceito, já que envolve processo biodegradável e de fácil manipulação.

2 JUSTIFICATIVA

O avanço da química tornou-se descontrolado em alguns aspectos, principalmente na geração incontrolável de rejeitos indesejáveis advindo de processos químicos industriais, no qual quando expostos de forma prolongada são nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. A utilização de enzimas com finalidade biocatalítica é uma proposta indicada pelos princípios da química verde, no qual visa minimizar a impacto advinda de reagentes químicos e equipamentos.

Imaginando em preencher a lacuna entre o estudo de células totais de fungos endofíticos isolados da *Bertholletia Excelsa* como alternativa viável para a redução de cetonas imidazólicas, fez-se necessário este estudo para que possa identificar fungos capazes de produzir enzimas de interesse biotecnológicos para estes fins.

Ademais, neste trabalho foi feito o uso de células inteiras de fungos endofíticos, neste caso, não foi necessário o acréscimo de rotas sintéticas para isolamento da enzima presente no fungo isolado da *Bertholletia Excelsa*, o que se torna a proposta mais viável. Visando os princípios da química verde, no trabalho buscou-se utilizar para os ensaios reacionais as condições ambientes sobre temperatura, pH e solventes de baixa toxicidade.

Existe uma alta demanda por compostos ceto-imizadolicos enantiosseletivos, por serem núcleos estruturais em diversos fármacos, principalmente com aplicação anti-microbiana. A biotransformação enantiosseletiva de compostos azoles é uma alternativa frente aos catalisadores sintéticos, pois se utiliza de meios economicamente viáveis e ambientalmente aceito, já que envolve processo biodegradável e de fácil manipulação.

3 PROBLEMA

Fungos endofíticos isolados da Castanha-do-Brasil promovem redução enantiosseletiva de compostos azólicos?

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

- Realizar reações de biotransformação de compostos derivados de ceto-imidazólicos, mediadas por células totais de fungos endofíticos isolados da *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil), para produção de álcoois enantiomericamente enriquecidos.

4.2 Específicos

- Sintetizar e caracterizar os compostos ceto-imidazólicos;
- Sintetizar e caracterizar os padrões racêmicos;
- Realizar a triagem das reações de biotransformação com cinco fungos endofíticos da Castanha-do Brasil;
- Identificar o fungo capaz de promover a reação de biorredução em maior rendimento.

5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 Processos biotecnológicos

Os produtos naturais são adeptos a funções específicas a natureza. Estudos vinculados a processos biotecnológicos centram-se em organismos que habitam novos biótopos. Fungos endofíticos tem chamado atenção para produção de pesquisas devido a comprovação da capacidade que estes microrganismos têm de gerar atraentes fontes bioativas metabólicas que possui importância para área agrícola, industrial e farmacêutica (PADHI et al., 2013, p.153).

Os endófitos são considerados micro-organismos que possuem uma fonte promissora de metabólitos naturais orgânicos, em alguns casos compartilhando a produção dessas substâncias com os hospedeiro, gerando diversas substâncias biológicas de interesse medicinal, agrícola e industrial. Exemplo de produções advindas dos endofíticos são: antibióticos, agentes anticâncer, e demais compostos bioativos. Esta espécie possui ainda um forte potencial para produzir diversos grupos funcionais em compostos orgânicos como álcoois, a partir da redução de cetonas (BIER et al., 2017, p.138).

5.2 Princípios da química verde

A química verde está diretamente atribuída ao desenvolvimento de tecnologia não poluentes, com intuito de eliminar ou reduzir o uso de substâncias nocivas à saúde humana e ao meio ambiente, ou seja, para fomentar processos químicos não poluentes. Portanto a Química verde rege alguns princípios que necessitam serem implementados para que haja a efetividade na produção de processos limpos (LENARDÃO et al., 2002, p.124).

Conforme Lenardão (2002, p.124), os 12 princípios da Química Verde estão descritos abaixo:

1. *Prevenção*: Neste contexto considera-se que é melhor prevenir do que tratar os resíduos que se originou do procedimento executado;
2. *Economia atômica*: Este princípio vem a ressaltar que os métodos sintéticos devem ser concebidos para maximizar a incorporação de todos os materiais utilizados no procedimento para o produto final;
3. *Síntese de compostos menos perigosos*: Este tópico está voltado para a utilização de métodos sintéticos projetados para utilizar e gerar substâncias que possuam baixas ou nenhuma toxicidade para a saúde humana ou do meio ambiente;
4. *Desenvolvimento de produtos mais seguros*: Neste princípio busca-se sempre que possível a geração de produtos que ao serem consumidos ou utilizados não causem danos ao meio ambiente.

5. *Uso de solventes e auxiliares mais seguros:* O uso de substâncias auxiliares bem como, solventes, agentes secantes e de purificação, devem ser evitados, quando não houver a possibilidade de desprezá-las essas substâncias devem ser inócuas ou reutilizáveis.
6. *Projeto de eficiência energética:* Neste contexto os processos de síntese devem ser conduzidos a condições brandas, ou seja, temperatura e pressão ambiente, pois em processos químicos é necessário que seja considerado os impactos gerados pelo gasto de energia.
7. *O uso de matérias-primas renováveis:* Este princípio frisa a importância da incorporação de matéria-prima renovável em processos químicos junto da busca por técnicas economicamente viáveis.
8. *Evitar a formação de derivados:* Processos que dão origem a derivações desnecessárias, através da utilização de grupos bloqueadores, proteção/desproteção, modificação temporária de processos físicos e químicos, devem ser evitados ou minimizados, uma vez que, estas etapas requerem reagentes adicionais e podem gerar resíduos indesejáveis.
9. *Catalise:* Se possível utilizar de Reagentes catalíticos (tão seletivo quanto possível) em métodos sintéticos, pois estes são superiores aos reagentes estequiométricos.
10. *Design para a degradação:* Neste sentido busca-se que os produtos químicos devem ser concebidos de modo que, ao final da sua função eles possam torna-se produtos de degradação não poluentes ao meio ambiente.
11. *Análise em tempo real para prevenção da poluição:* Metodologias analíticas precisam ser desenvolvidas para permitir em tempo real a possibilidade de monitoramento de processos, para que haja um controle, cujo tem o intuito de prevenir a formação de substâncias perigosas.
12. *Química inerentemente segura para prevenção de acidentes:* Substâncias nos quais são utilizadas em processos químicos devem ser escolhidas com o objetivo de minimizar o potencial de acidentes químicos, incluindo vazamentos, explosões e incêndios.

Os processos de biotransformação integra-se aos princípios da química verde. A utilização de micróbios como fungos e bactérias é considerado um método de produtividade sustentável, que pode se sobrepor a química puramente sintética para obter produtos de interesse farmacológico. Jeandet (et al., 2019, p. 7) em seu estudo relatam um método para produção de resveratrol e derivados através da química biocatalítica, enzimática e verde de células inteiras, cujo utiliza culturas de células.

5.3 *Bertholletia Excelsa* (Castanha-do-Brasil)

A *Bertholletia excelsa*, trata-se de uma planta (Figura 5) pertencente à família *lecythidaceae*, nativa da floresta amazônica, no qual é explorada comercialmente, e geograficamente está distribuída no Brasil, Bolívia e Peru. Esta espécie desperta interesse em

diversos setores da sociedade, por possuir alto nível ecológico, econômico e nutricional. A produção brasileira no consumo interno representa de 70 a 75% da produção, enquanto para a exportação, é encaminhada cerca 25 à 30% de toda produção (KLUCZKOVSKI e MARTINS, 2016, p.108).

Figura 5: Arvore da Castanha-do-Brasil



Fonte: Natureza e Vida

No Brasil as castanheiras podem ser encontradas principalmente na região norte, ocorrendo em estados como Acre, Amazonas, Amapá e Pará. A castanheira pertence à família das lecitidáceas, quando adulta pode chegar a 50 e 30 metros de altura e 1 a 2 metros de diâmetro. Os frutos da castanheira são chamados de ouriços (Figura 6), são esféricos e lenhosos, e contém certa de 25 sementes (Figura 7). A castanheira se desenvolve em área de terra firme, com temperatura de 24°C e 27°C, a umidade do ar deve ser superior a 80% e precipitação entre 1.400 mm e 2.800 mm anuais (SOUZA et al., 2008, p.1).

Figura 6: Ouriços da Castanha-do-Brasil



Fonte: Natureza e Vida

Figura 7: Sementes da Castanha-do-Brasil



Fonte: Autor

5.4 Fungos endofíticos

Estudos relacionados aos fungos endofíticos isolados de espécies vegetais, como a Castanha-do-Brasil, ganhou discussões dentro da comunidade científica devido sua enriquecida utilidade. Para que haja uma discussão sobre os endofíticos é necessário definir este termo. O endofíticos foram mencionados pela primeira vez no início do século XIX, porém, somente ao final do século XX, que eles começaram a ser tratados com relevância em trabalhos desenvolvidos pela comunidade científica (SANTOS e VARAVALLO, 2011, p.200).

A primeira discussão de endofíticos foi proposta por Bary em 1866, no qual diz que os endofíticos são quaisquer organismos que ocorrem nos tecidos vegetais, ou seja, todos os organismos que habitam em órgãos vegetais, podendo colonizar nos tecidos vegetais internos sem causar dano aparente a planta. (AZEVEDO, 1991, p.119; PADHI et al., 2013, p.153)

Os fungos endofíticos são todos micro-organismos que habitam em espécies vegetais ou que em algum momento em sua vida colonizaram em tecidos vegetais internos sem causar aparente dano ao hospedeiro (PETRINI, 1991, p. 179-180). Outros autores partilham de similares definições, como Padhi (2013, p.153) e Hallmann (1997, p.557), que ao se referir a fungos endofíticos, definem que são um grupo de fungos que colonizam em tecidos internos das plantas, sem causar lesões visíveis ao hospedeiro.

Conforme Farhat (2019, p. 02-03) os fungos endofíticos são micro-organismo encontrados em tecidos da maioria das espécies vegetais, que difere dos patógenos, pois estes levam ao desenvolvimento de doença em plantas, diferentemente dos endofíticos que habitam em cima e abaixo dos tecidos do solo da espécie hospedeira sem causar doença.

5.5 Biotransformação

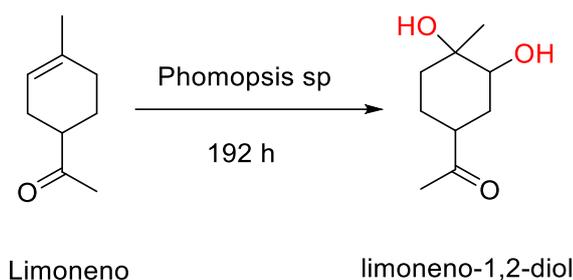
A biotransformação abrange processos enzimáticos, no qual utiliza de enzimas contidas em organismos vivos (espécie vegetais, micro-organismos, etc.) para catalisar reações químicas, com substratos sintéticos (processos fermentativos) (OLIVEIRA et al., 2013, p.7). Segundo Winkler (2012, p.381) houve crescente interesse por compostos orgânicos enantiopuros obtidos a partir de processos de biotransformação, por síntese enantiosseletiva. Estes processos ocorrem por meio de síntese de compostos biologicamente ativos, no qual tem contribuído para o desenvolvimento de produtos sintéticos altamente específicos. A síntese enantiosseletiva possibilita a redução de alcenos.

A redução estereosseletiva de uma ampla variedade de compostos, proporciona excelentes rendimentos e excesso enantiomérico, este procedimento trabalha sob condições brandas de pH e temperatura. Existe uma série de enzimas homólogas, cujo ao serem aplicadas em processos de biorredução desenvolveram várias moléculas industrialmente relevantes, no qual possuem características de interesse medicinal. Pesquisas relacionada a biotransformação estão cada vez mais sendo discutidas, pelo fato de a natureza fornecer esta atrativa alternativa sustentável e econômica, no qual faz uso de enzimas contidas em micro-organismos presentes em espécies vegetais (WINKLER et al., 2012, p.381).

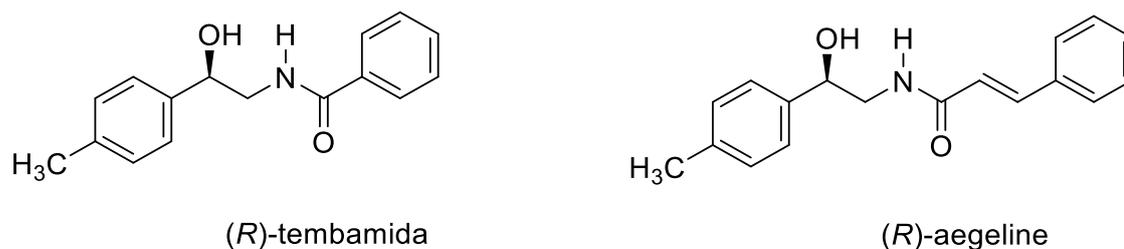
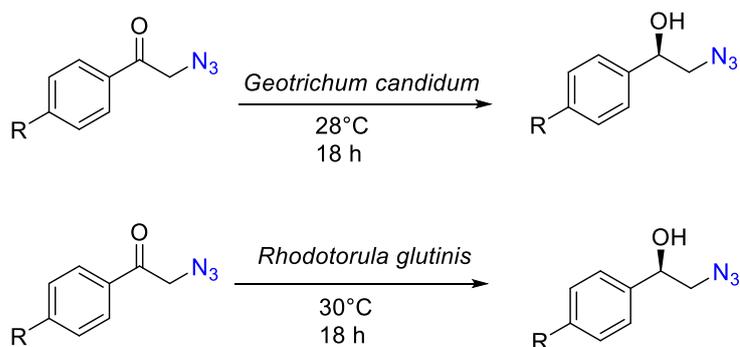
6.6 Biotransformação e Biorredução por cepas de fungos.

Biorredutores de origem microbiana, incluindo enzimas isoladas e células inteiras, são utilizados para redução de cetonas para obtenção de álcoois enantiomericamente puros de interesse. Os biorredutores ideais devem apresentar considerável enantioselectividade e rendimento de conversão. Estas reações devem ser simples e de baixo custo. De acordo com pesquisas relacionadas, a utilização de enzimas em sua forma isolada requer a presença de quantidades drásticas de cofatores, o que demanda um maior custo, deste modo, o uso de células inteiras, como cepas de fungos, para processos de biotransformação é preferível, devido a redução de cofatores e custos (ROCHA et al., 2009, p.1559).

Pesquisas relacionados a biotransformação de compostos orgânicos por fungos endofíticos, vem sendo trabalhada pela comunidade científica, como exemplo temos trabalho desenvolvido por Bier (2017, p.142) no qual utiliza a cepa do fungo *Phomopsis* sp, para biotransformar o composto limoneno. Esta biotransformação resultou vários compostos de interesse como a carvona, carveol, terpineol e outros. Um dos compostos mais importantes manifestados neste estudo foi o limoneno-1,2-diol (Figura 8), que, segundo o autor, atingiu uma concentração máxima de 1,12 g / L após 8 dias de fermentação, e teve rendimento total da produção, calculado em 10,85%.

Figura 8: Biotransformação composto limoneno

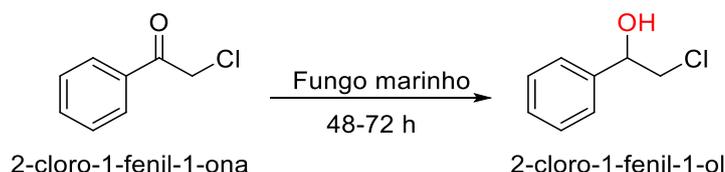
A biotransformação ou biorredução enantiosseletiva de acetofenonas portadoras de substituintes funcionais, como o grupo azida, ligados a carbonos promove importantes intermediários cujo são utilizados como blocos quirais de construção para síntese orgânica. Conforme Fardelone (2006, pp.9-10) estes processos enzimáticos tornam-se uma rota alternativa para preparação de compostos de interesse, por exemplo a obtenção dos enantiômeros dos compostos sintéticos de Tembamida e Aegeline (Figura 9), no qual demonstraram ter boa atividade hipoglicêmica, são obtidos através da reação de biorredução mediadas por *Rhodotorula glutinis* e *Geotrichum candidum* (Figura 10), apresentando bons rendimentos, com conversão >99.

Figura 9: Enantiômeros (R)-Tembamida e (R)-Aegeline.**Figura 10:** Reação mediada por micro-organismos

Através das espécies brasileiras, desencadeia-se a as diversas possibilidades de aplicar os micro-organismos do país em processos de biotransformação. Rocha (2009, p.1560) desenvolveu uma pesquisa avalia o potencial de redução estereosseletiva do composto α -

cloroacetofenona mediado por fungos marinhos da Mata Atlântica, isolados de esponjas marinhas *Geodia corticostylifera* e *Chelonaplysylla*, para formação clorohidrina quiral, α -clorofeniletanol (Figura 11).

Figura 11: Reação Biotransformação por fungos marinhos

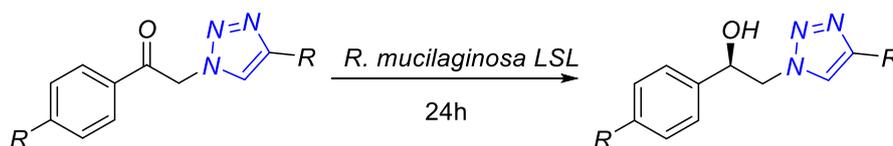


Os fungos marinhos utilizados nesta biotransformação do composto α -cloroacetofenona foram identificados como *Trichoderma* sp. Gc1, *Penicillium miczynskii* Gc5, *Aspergillus sydowii* Gc12, *Bionectria* sp. Ce5, *A. sydowii* Ce15, *P. raistrickii* Ce16 e *A. sydowii* Ce19 (ROCHA et al., 2009, p. 1561). Os resultados apresentados neste trabalho demonstram potenciais aplicações dos fungos de espécies brasileiros como fontes enzimáticas para desenvolvimento de processos biotecnológicos.

6.7 Biotransformação de compostos azóis.

Os compostos azólicos têm sido amplamente estudados por seu potencial medicinal, segundo Pranzoni (et al., 2019, p.114) derivados deste composto tem proporcionado a descoberta de drogas com alto potencial, pois estes dispõem de uma ampla variedade de propriedades antimicrobianas, antivirais, antiepilépticas, anti-HIV, etc. A literatura demonstra aplicações relacionadas a utilização de compostos azólicos em sua forma enantiomérica, como exemplo, contatou-se que derivados do β -hidroxitriazol, em especial o enantiômero resultante (*R*), possui potencial de receptor β adrenérgico bloqueador (PRANZONI et al., 2019, p.114).

Figura 12: Biorredução enantiosseletiva de β -cetotriazóis



Acima presencia-se a biorredução enantiosseletiva proposta por Pranzoni (2019, p.116), para este método foi avaliado a redução do composto β -cetotriazóis, mediado pelo micro-organismo *R. mucilaginosa* LSL (Figura 12). A reação apresentou conversão >98, observando-se a formação do enantiômero (*R*)- β -hidroxitriazóis. É importante a utilização destes processos, devido a possibilidade de adquirir produtos bioativos de interesse, no qual são executados por meios ecologicamente viáveis, de fácil manuseio, sem adição e cofatores externos, o que se

torna uma ferramenta importante para o empreendimento da química verde (PRANZONI et al., 2019, p.117).

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Materiais

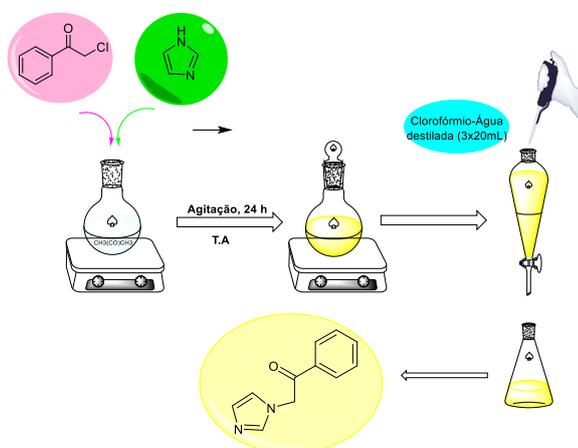
2-bromo-acetofenona (99%), 2-bromo-1-(4-clorofenil) etanona (99%), 2-bromo-1-(4-fluorofenil) etanona (99%), 2-bromo-1-(4-bromofenil) etanona (99%), 1-(1,1-bifenil) 2-bromoetanona (99%), Imidazol (99%), Hidróxido de Sódio (97%), Ácido Clorídrico (10%), Água destilada, Acetona (99,5%), Clorofórmio (99,8%), Acetato de etila (99,5%), Álcool etílico (70%), Álcool metílico (99,8%), Hexano (98,5%) Dimetilsufóxido (97%), Fosfato de sódio monobásico (99%), Fosfato de potássio dibásico (99%), Extrato malte, ágar.

6.2 Métodos

6.2.1 Síntese dos derivados de ceto-imidazol

Para a síntese dos derivados de ceto-imidazol foi adicionado em balão de reação 25 mL de acetona, em seguida inserido derivados de acetofenona (6 mmol) e imidazol (12 mmol). A mistura foi deixada em agitação magnética durante 24 horas a temperatura ambiente. Após o período de agitação foi realizada a remoção do solvente de reação por rotaevaporação. Posteriormente foi feito o processo de extração com (3x20 mL) de água destilada e (3x20 mL) de clorofórmio. Foi adicionado 0,8 g de sulfato de sódio no resíduo orgânico obtido e filtrado. Por fim a substância filtrada foi submetida a destilação para retirada do solvente (Figura 13). A reação foi monitorada por cromatografia de camada delgada (CCD), e identificada por CG-EM (FERREIRA., et al, 2017, p.12657).

Figura 13: Reação geral para obtenção dos derivados de ceto-imidazol



Fonte: Autor

6.2.2 Isolamento e identificação dos fungos endofíticos

Os fungos *Aspergillus* (BIORG 4), *Aspergillus* (BIORG 5), *Penicillium* (BIORG 6), *Trichoderma* (BIORG 7), *Aspergillus* (BIORG 9), foram isolados das amêndoas da *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil). As amêndoas foram obtidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Amapá (EMBRAPA), na área de localização 1 - W 52 ° 18'20,976 " e S 0 ° 33'44,44 ", e 2 - W 51 ° 57'53,338 " e S 0 ° 25'21,39 " (Estado do Amapá, Brasil). As sementes da castanha foram higienizadas conforme Ekiz (et al., 2018, p.96), lavadas cuidadosamente com água corrente, em seguida higienizada com água destilada, em sequência foram embebedadas em recipiente por 3 minutos com hipoclorito de sódio 2%, posteriormente adicionou-se as amêndoas em álcool 70% por mais 3 minutos, e por fim lavadas novamente com água destilada e deixadas para secagem (Figura 14). Após a secagem adicionou-se as sementes em placas de petri previamente forradas com papel filtro e deixadas até o manifesto dos micélios do fungo. A identificação da morfologia dos fungos endofíticos trabalhados neste estudo realizou-se por observação direta em microscópio óptico (HOLANDA., et al, 2019, p.2).

Figura 14: Preparação das Amêndoas para Isolamento dos Fungos Endofíticos



Fonte: Autor

6.2.3 Cultivo microbiano em meio sólido (malte 2%)

Para o cultivo microbiano em meio sólido (Figura 15), em um frasco de 1000 mL foi adicionado 20 g de extrato malte (Malt extract powder, refined) e 20 g de ágar (2%) em 1 L de água destilada. Posteriormente foi ajustado o pH da solução para 7 utilizando a solução de NaOH 1,0 M. O meio de cultura foi autoclavado pelo período de 15 minutos, sob temperatura de 121°C. Foi feito o vertimento da solução em placas de petri previamente esterilizadas, e após a solidificação do meio de cultura, realizou-se a repicagem dos fungos endofíticos. As placas foram deixadas em estufa incubadora BOD para crescimento dos fungos por 5 dias à uma temperatura de 28°C (FERREIRA, 2016, p.73).

Figura 15: Fungos endofíticos BIORG4 e BIORG7 cultivados em meio sólido.



Fonte: Autor

6.2.4 Cultivo microbiano em meio líquido (malte 2%)

Para preparação do meio de cultura líquido (Figura 15) foi utilizado frasco béquer de 1000 mL, onde adicionou-se 20 g de extrato malte (Malt extract powder, refined) diluído em 1 L de água destilada. O pH foi ajustado para 7 em solução de NaOH 1,0 M. Em frascos Erlenmeyer de 250 mL introduziu-se 100 mL da solução de meio de cultura líquida e fechado com tampão de algodão. Os frascos com meio líquido foram autoclavados pelo período de 15 minutos, sob temperatura de 121°C. A inoculação dos fungos endofíticos em meio de cultura líquido foi feita em ambiente estéril (Câmara de fluxo laminar), com a introdução de 6 fragmentos circulares do meio sólido (1cm x 1cm) contendo micélios do fungo endofítico em frascos erlenmeyer. Os recipientes permaneceram em agitação rotativa por 7 dias (Figura 16), em temperatura de 30° C e rotação de 130 rpm (FERREIRA, 2016, p.74).

Figura 16: Fungos endofíticos cultivados em meio líquido (1° dia)



Fonte: Autor

Figura 17: Fungos endofíticos cultivados em meio líquido (7° dia)



Fonte: Autor

6.2.5 Reação de Biotransformação

6.2.5.1 Preparo da solução tampão de fosfato

O tampão de fosfato pH 7 foi preparado a partir das soluções de fosfato de sódio (Na_2HPO_4 à 0,1 mol/L) e fosfato de potássio (KH_2PO_4 à 0,1 mol/L). Para preparo das soluções foram utilizados 11,876 g de fosfato de sódio para cada 1 L de água destilada e 9.081 g de fosfato de potássio. O pH da solução tampão desejada foi ajustado em uma mistura apropriada das soluções preparadas de Na_2HPO_4 e KH_2PO_4 . Em momento posterior, foram distribuídos para cada frasco Erlenmeyer utilizado, 100 mL da solução tampão (FERREIRA, 2016, p.78).

6.2.5.2 Reação de biorredução com fungos endofíticos isolados da *Bertholletia excelsa*

Os micélios úmidos dos fungos (*Aspergillus* (BIORG 4), *Aspergillus* (BIORG 5), *Penicillium* (BIORG 6), *Trichoderma* (BIORG 7), *Aspergillus* (BIORG 9)) crescidos colocados previamente em agitação, foram retirados e submetidos à filtração em funil de Buchner e ressuspensas em 100 mL de solução tampão de fosfato (pH 7). Dentro dos frascos contendo as células dos fungos em solução tampão foram adicionados 25 mg do substrato sólido de cetimidazol, previamente dissolvido em 200 μL do solvente Dimetilsulfóxido- DMSO. As reações mantiveram-se em agitação orbitalar (130 rpm) por 7 dias (Figura 17) a temperatura ambiente. (FERREIRA, 2016, p.78).

Figura 18: Fungos endofíticos em solução tampão fosfato pH 7 (7º dia)



Fonte: Autor

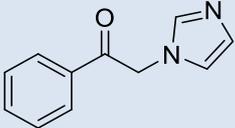
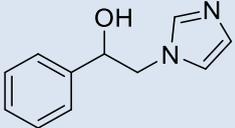
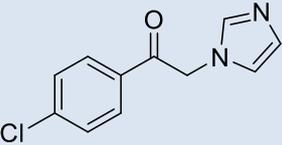
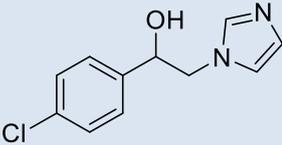
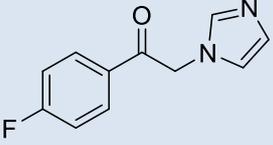
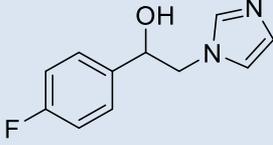
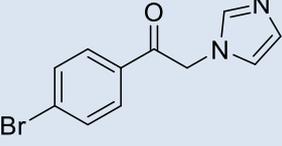
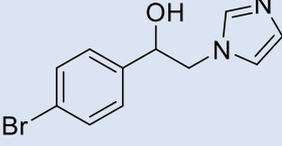
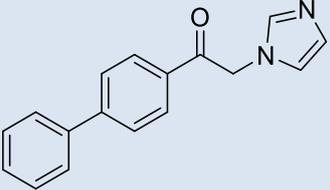
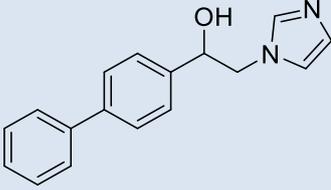
6.2.5.3 Extração reações microbianas

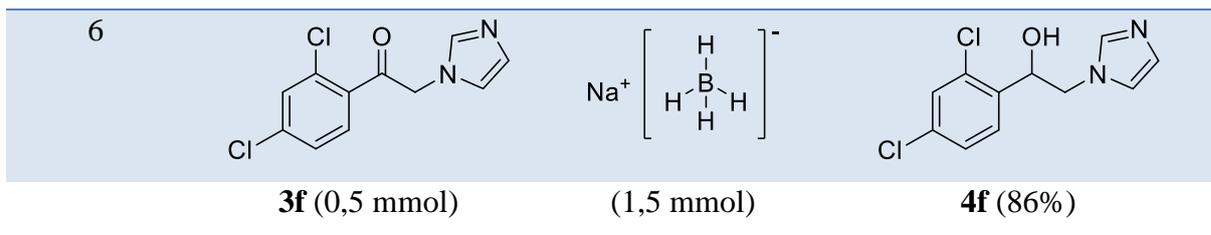
Após a permanência por 7 dias em agitação foi realizada a extração das reações de biorredução. Adicionou-se 30 mL de acetato de etila nas reações, e deixado em agitação magnética por 30 minutos. As células dos fungos contidos na reação foram filtrados em funil de Buchner. A mistura filtrada foi extraída por partição líquido-líquido com o solvente acetato de etila (3x 30mL). Adicionou-se a fase orgânica extraída 0.8 g de Na_2SO_4 e em seguida realizada a filtração. A mistura obtida foi transferida para um balão de reação e posteriormente foi feita a retirada do solvente por evaporador rotativo (FERREIRA, 2016, p.78-79).

6.2.6 Reação de hidrogenação

Em um balão de reação foi colocado derivados de ceto-imidazol, dissolvido em 5 ml de álcool metílico. Logo após foi adicionado NaBH₄ (1,5 mmol) à temperatura de 0°C, e deixada em agitação magnética por 3 horas. Ao final do período de agitação foi adicionado 1 ml de HCl (10%), em seguida realizou-se a extração com solvente acetato de etila (3x10mL) e água destilada (3x10mL). A fase menos densa da repartição foi separada. Nesta fase separada foi adicionada 0,8 g de Na₂SO₄ e filtrada. Adiante foi sujeitada a rota evaporação do solvente (JIMENEZ, 2017, p.236).

Tabela 1: Reação de redução de derivados de ceto-imidazol com Boro Hidreto (NaBH₄)

Reação	Derivado ceto-imidazol (mmol) 3a-3f	Boro Hidreto (NaBH ₄) (mmol) 5a	Produto (%) 4a-4f
1	 3a (0,5 mmol)	$\text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{B}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]^-$ (1,5 mmol)	 4a (29%)
2	 3b (0,5 mmol)	$\text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{B}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]^-$ (1,5 mmol)	 4b (75%)
3	 3c (0,5 mmol)	$\text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{B}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]^-$ (1,5 mmol)	 4c (18%)
4	 3d (0,5 mmol)	$\text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{B}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]^-$ (1,5 mmol)	 4d (87%)
5	 3e (0,5 mmol)	$\text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{B}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]^-$ (1,5 mmol)	 4e (68%)



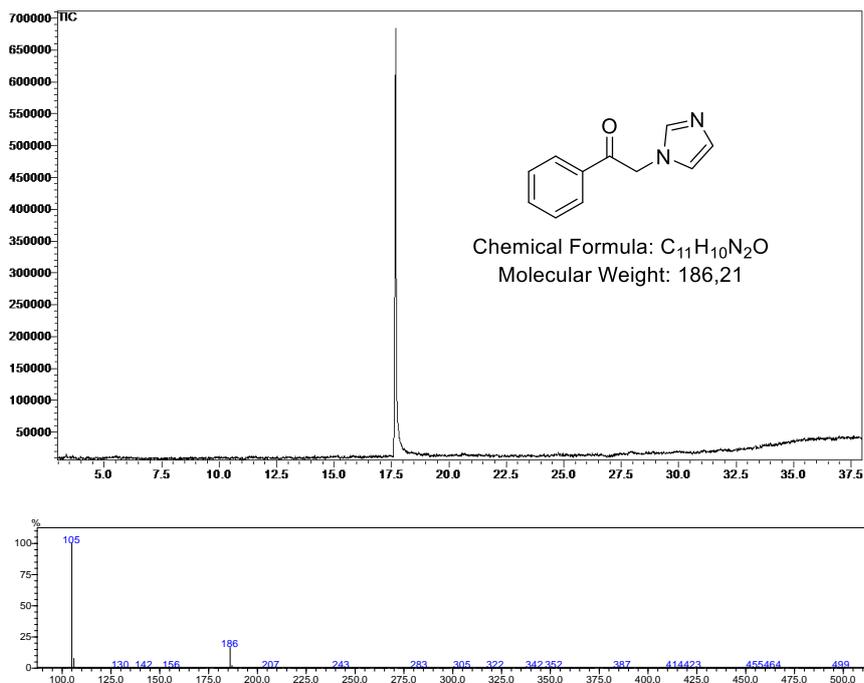
6.2.7 Análises e caracterização espectroscópica

6.2.7.1 Cromatografia gasosa e espectroscopia de massas (GC-MS)

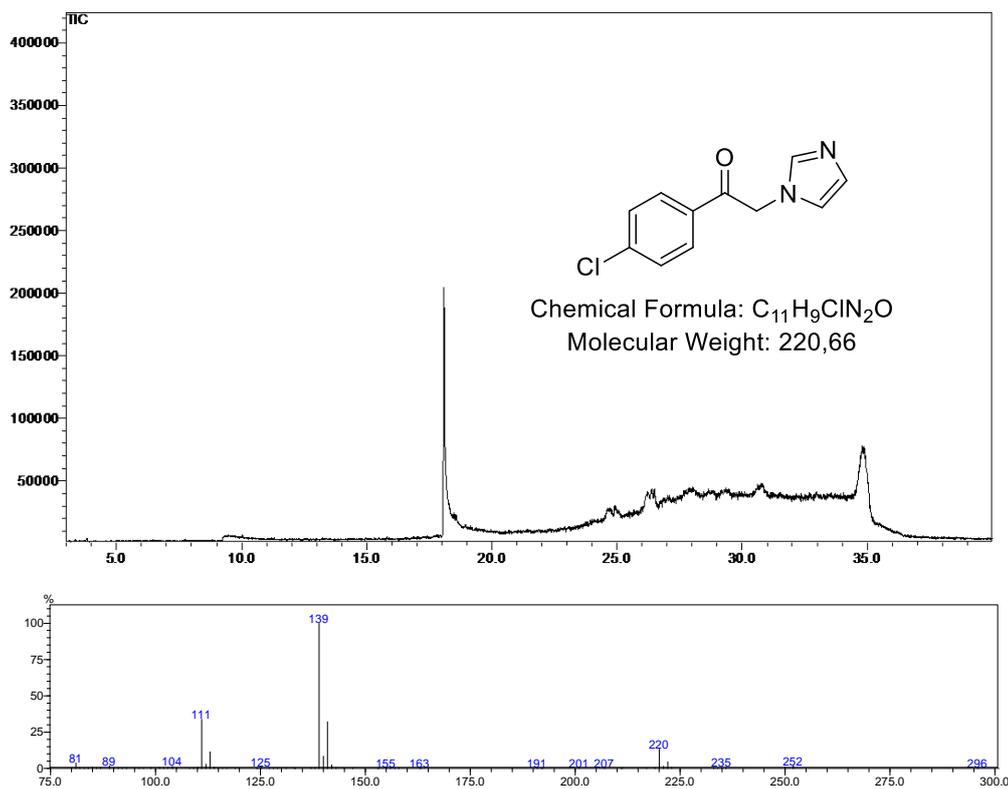
A análise realizou-se por meio de um cromatógrafo a gás acoplado e um detector de espectroscopia de massas. O aparelho utilizado foi cedido pelo no Laboratório Pesquisa em Fármacos (DCBS - UNIFAP), cujo o modelo é Shimadzu/GC 2010, acoplado a um auto injetor Shimadzu/AOC-5000 e um detector de massas (Shimadzu MS2010 Plus) com impacto de elétrons (70 eV) equipado com coluna de sílica fundida RTX-5. O gás de arraste utilizado foi o He a 65 kPa.

6.3 Dados Espectroscópios

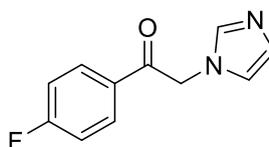
6.3.1 2-(1*H*-imidazol-1-yl)-1-feniletan-1-ona (**3a**): $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$ g.mol⁻¹. Rendimento 1,098 g (55 %). Sólido alaranjado.



6.3.2 1-(4-clorofenil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona (**3b**): $C_{11}H_9ClN_2O$ g.mol⁻¹. Rendimento 0,995 g (75 %). Sólido alaranjado.

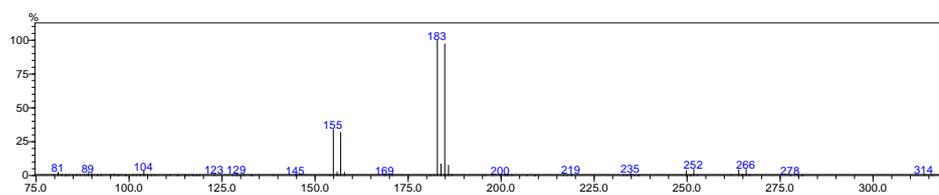
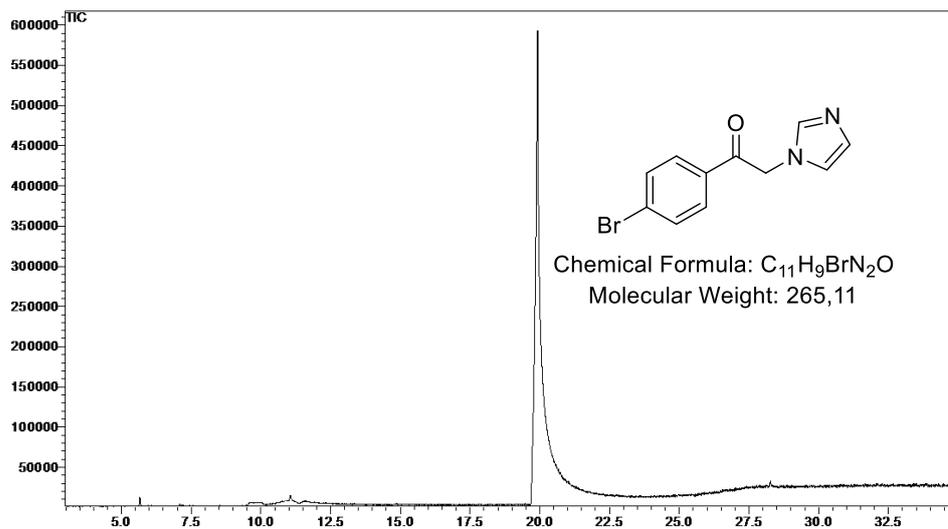


6.3.3 1-(4-flúorfenil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona (**3c**)

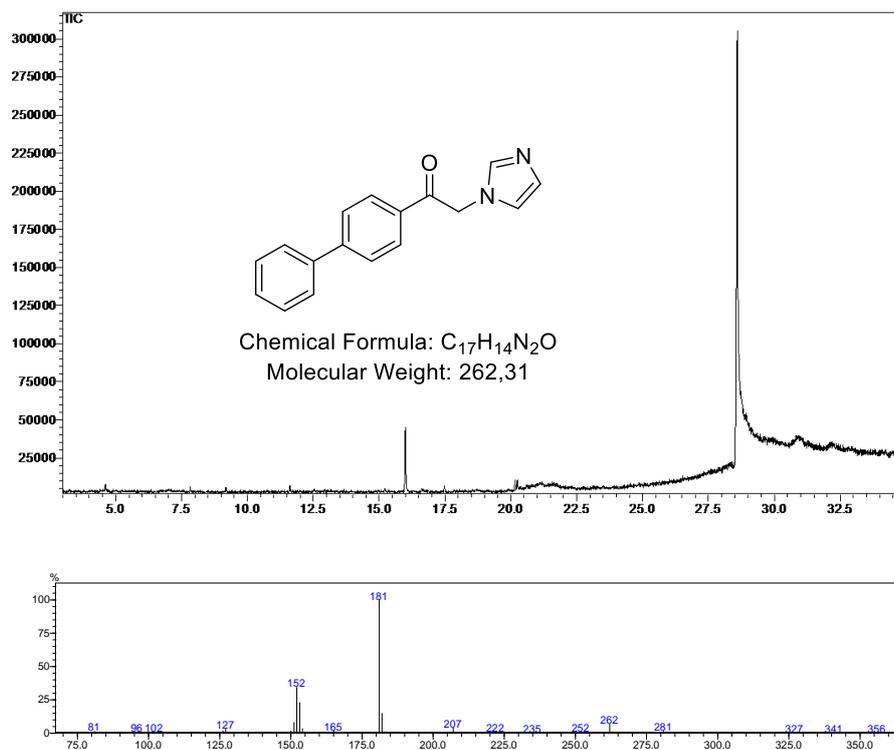


$C_{11}H_9FN_2O$ g.mol⁻¹. Rendimento 0,778 g (64 %). Sólido alaranjado;

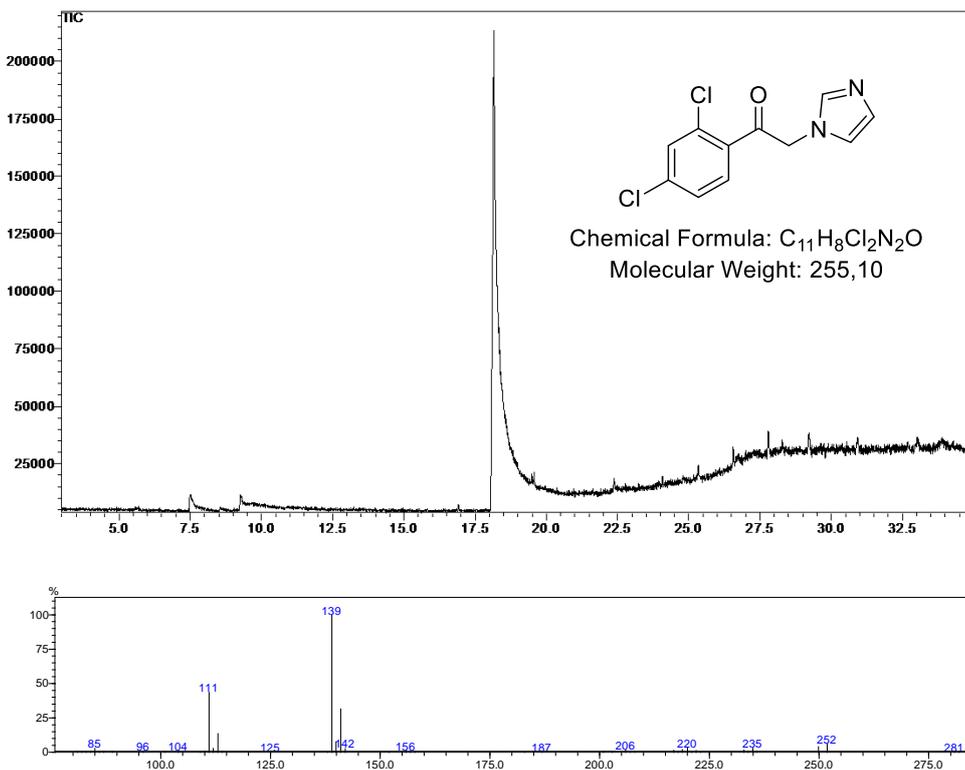
6.3.4 *1-(4-bromofenil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona* (**3d**): $C_{11}H_9BrN_2O$ g.mol⁻¹.
Rendimiento 1,693 g (95 %). Sólido alaranjado.



6.3.5 *1-([1,1'-bifenil]-4-yl)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona* (**3e**): $C_{17}H_{14}N_2O$ g.mol⁻¹.
Rendimiento 1,693 g (95 %). Sólido alaranjado.



6.3.6 *1-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona* (**3f**)

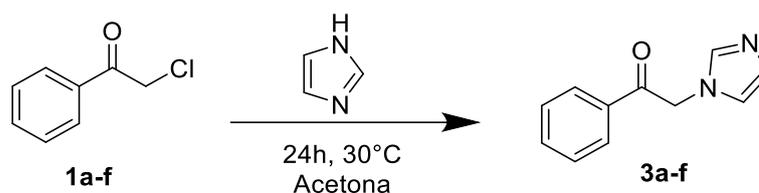


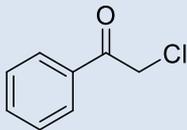
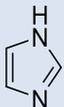
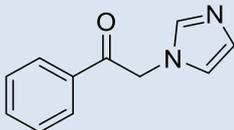
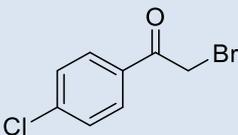
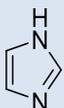
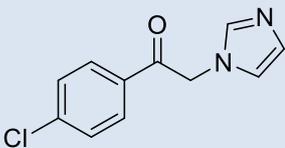
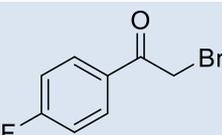
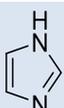
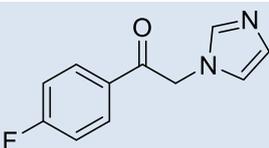
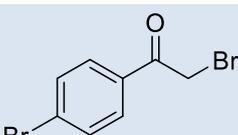
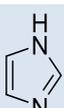
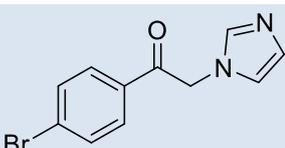
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

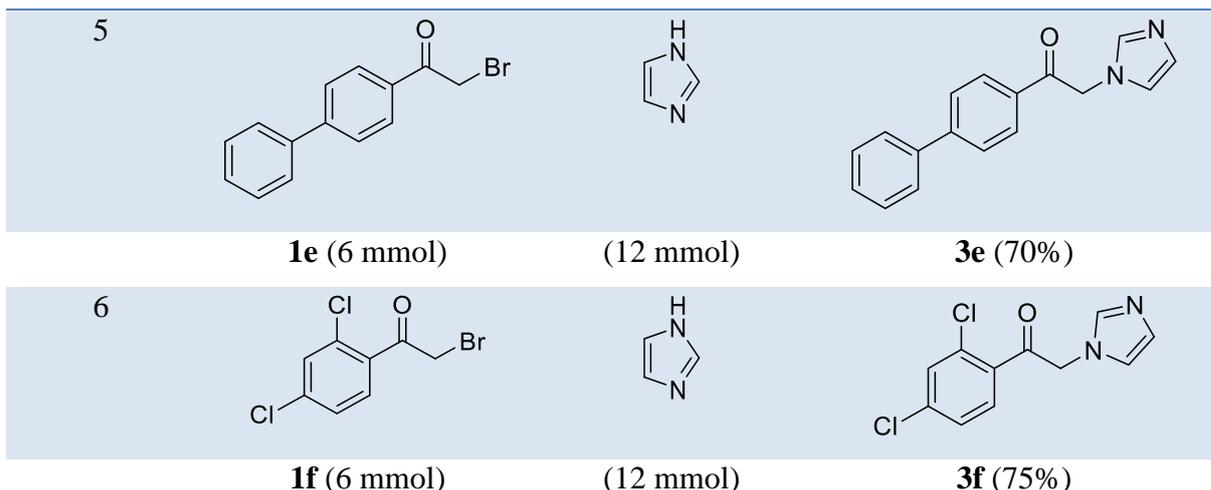
7.1 Síntese dos derivados de ceto-imidazol

Os compostos imizazólicos (**3a-f**) foram preparados segundo metodologia descrita por Ferreira et al (2017) que emprega 1 equivalente da halo-cetona, 2 equivalentes de imidazol, 30 mL de acetona como solvente a temperatura de 30 °C ($\pm 3^\circ$). Todos os compostos obtidos foram preparados em bons rendimentos, como descrito na Tabela 1.

Tabela 2: Síntese de derivados de ceto-imidazol utilizados como substrato em reação de biotransformação mediados por fungos endofíticos.

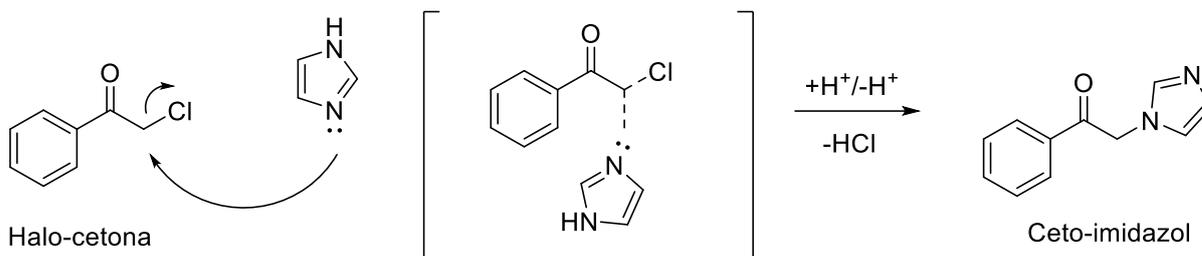


Reação	Acetofenona (mmol) 1a-f	Imidazol (mmol) 2a	Produto (%) 3a-f
1	 1a (6 mmol)	 (12 mmol)	 3a (59%)
2	 1b (6 mmol)	 (12 mmol)	 3b (75%)
3	 1c (6 mmol)	 (12 mmol)	 3c (64%)
4	 1d (6 mmol)	 (12 mmol)	 3d (95%)



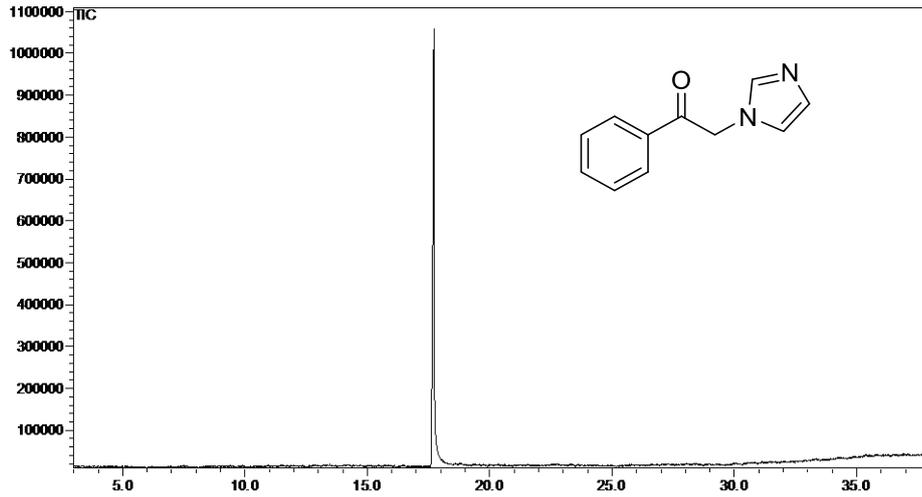
É notável a formação seletiva dos produtos ceto-imidazolicos quando imidazol reage com halo-cetonas a temperatura de 30°C usando propanona, como solvente (Tabela 2). Vale destacar que os grupos halos (bromo ou cloro) são considerados bons grupos de saídas, o que facilita o processo de substituição pelo grupo imidazólico. Presumivelmente, o mecanismo da reação ocorre pela interação entre o grupo imidazol (Figura 18), como nucleofílica, atacando a espécie eletrofílica neste caso será o carbono alfa ligado no grupo halogênio (cloro ou bromo), que libera o cloro na forma de cloreto, finalizado pelo equilíbrio prototropismo de $+H^+/-H^+$ e levando a formação do produto imidazólico.

Figura 19: Mecanismo da Reação

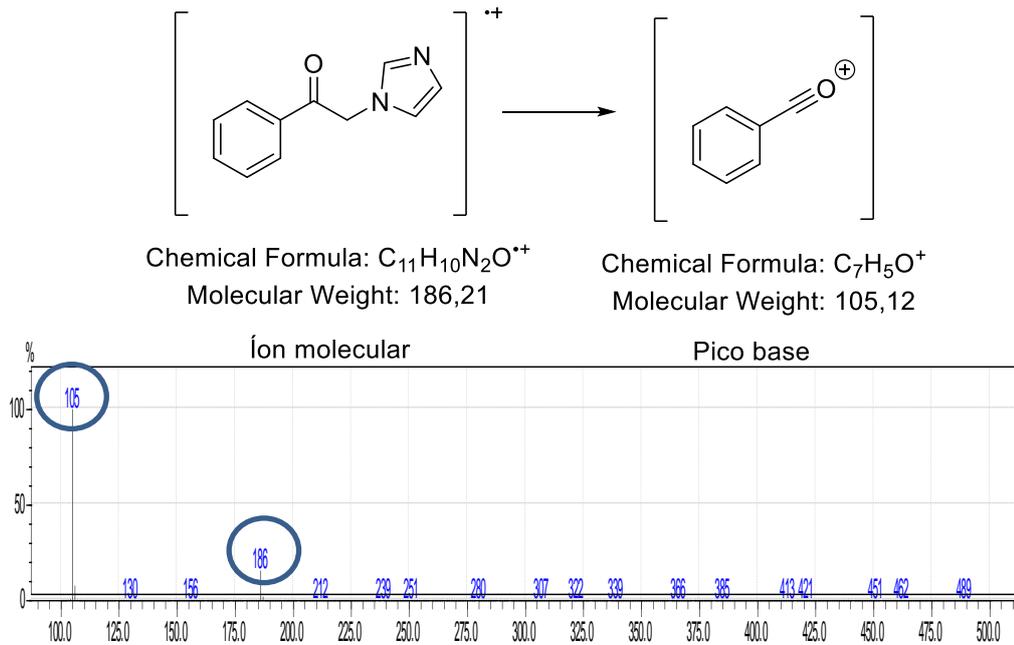


Fonte: Autor

A formação e produto formado após o processo de recristalização está ilustrada na Figura 19, pela análise de cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas. Com isso, percebe-se que o sinal correspondente ao produto elui no tempo de 18.03 min, vale destacar a pureza relacionada ao composto, demonstrando eficiência no processo de obtenção e purificação.

Figura 20: Cromatograma do Produto **3a**

O espectro de massas do produto **3a** é ilustrado na figura 20. Observa-se que o perfil de fragmentação desse composto tem um pico base (fragmento de maior estabilidade) de 105 m/z e um íon molecular de 186 m/z, correspondente a massa molecular do composto esperado (186 g/mol).

Figura 21: Perfil espectroscópico do produto **3a**

7.2 Reação de Biotransformação mediadas por fungos endofíticos

Dado que a síntese do derivado de ceto-imidazol **1a** foi realizada, objetivou-se a seleção do fungo endofítico com melhor potencial de redução enantiosseletiva da ligação carbono-carbono. Deste modo, foi realizado uma triagem com as cepas dos fungos *Aspergillus* (BIORG 4), *Aspergillus* (BIORG 5), *Penicillium* (BIORG 6), *Trichoderma* (BIORG 7) e *Aspergillus* (BIORG 9) em solução de tampão fosfato pH 7 com o substrato **1a**. Os resultados obtidos através de análise espectroscopia de CG/EM permitiram observar que todos os fungos endofíticos utilizados no emprego deste trabalho, apresentaram percentuais de biorredução enantiosseletiva do composto ceto-imidazol **1a**.

Comparado aos demais fungos, o fungo *Penicillium* da figura 21 (BIORG 6) atingiu conversão de 99% na redução enantiosseletiva da ligação carbono-carbono do ceto-imidazol **3a**. As enzimas constituídas nas células totais dos fungos *Trichoderma* (BIORG 7) e *Aspergillus* (BIORG 5) apresentaram atividades moderadas, cujo a conversão foi de 48,8% e 48,7% respectivamente na biorredução do ceto-imizadol **1a**. As células do fungo *Aspergillus* (BIORG 4) na atividade enzimática de redução da ligação carbono-carbono exibiu conversão de 30,6%. E os micélios do fungo *Aspergillus* (BIORG 9) demonstraram menor eficácia de redução no composto **3a**, cerca de 15,3%. (Tabela 3).

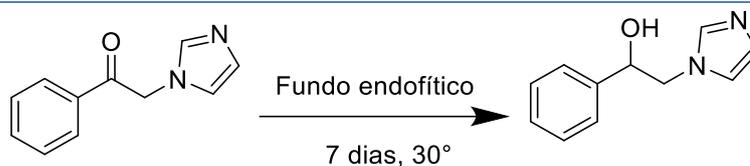
Figura 22: Fungo (BIORG6)



Fonte: Autor

Tabela 3. Estudo da porcentagem de conversão do derivado de ceto-imidazol **1a** mediadas por células todas de diferentes fungos endofíticos.

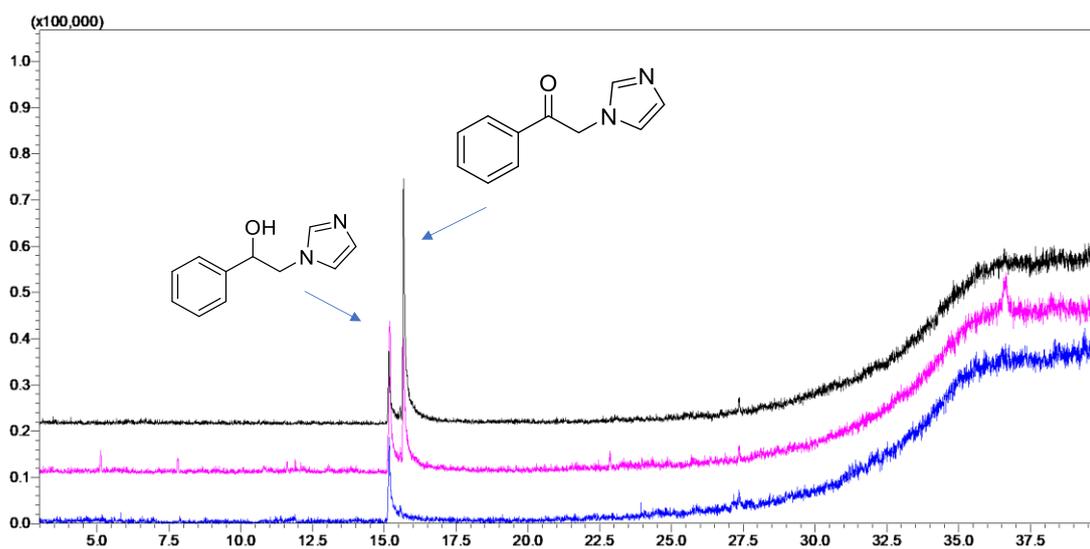
Reação	Fungo Endofítico	Conversão 1b (%)
1	BIORG 4	30.6%



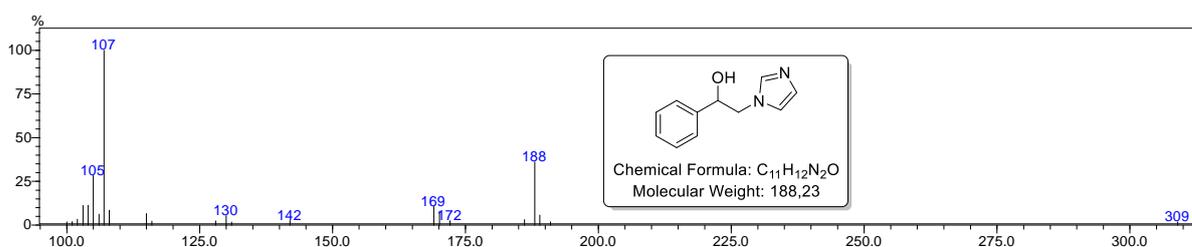
2	BIORG 5	48,7%
3	BIORG 6	99%
4	BIORG 7	48.8%
5	BIORG 9	15.3%

*Reação com 10 g de micélios úmidos do fungo endofítico e 25 mg de 2-(1H-imidazol-1-yl)-1-phenylethan-1-one **1a** em tampão fosfato (pH 7, 7 dias, 32°C, 130 rpm).

Figura 23: Cromatograma obtido das reações de biotransformação do composto **3a** para os Fungos Biorg 4, Biorg 5 e Biorg 6.



Nota-se que o perfil cromatográfico do produto de biorredução é eluído em 15.16 min e o material de partida em 15.68 min. O produto de redução apresentou íon molecular de 188 m/z, íon correspondente a adição de 2 hidrogênio, o que demonstra o processo de redução na carbonila.



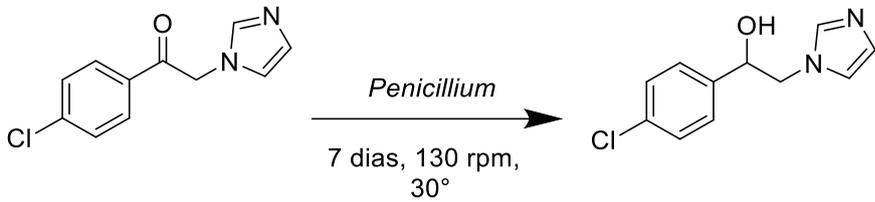
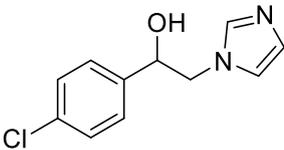
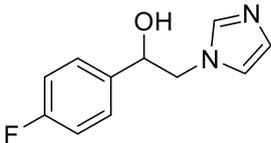
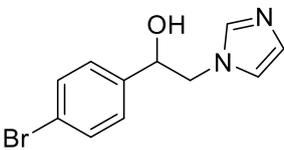
As oxidorredutases presentes nos fungos são, em sua maioria, enzimas intracelulares que podem ser encontradas em todos os organismos vivos, atuando como catalisadores de suas vias metabólicas. Essas enzimas catalisam reações de redução e oxidação através da transferência de elétrons, a qual ocorre com a participação essencial dos cofatores, substâncias

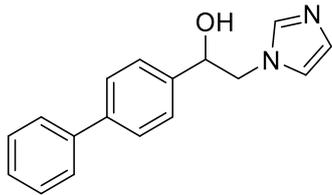
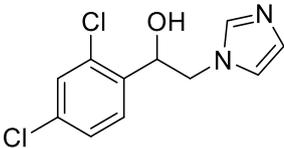
não protéicas que fornecem os “reagentes químicos” necessários para que as reações redoxes ocorram. Os cofatores podem ser íons inorgânicos (K^+ , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+}), grupos prostéticos permanentemente ligados às enzimas (porfirinas) ou moléculas orgânicas que se ligam transitoriamente denominadas de coenzimas, tais como, vitaminas, flavina, tiamina, niacina, ácido ascórbico, NAD(P)H (GRUNWALD 2009).

A grande variedade de oxidoredutases conhecidas pode ser classificada de acordo com os cofatores necessários ou com a natureza de seus substratos em três subclasses: oxigenases, oxidases e peroxidases.

Partindo dos resultados obtidos através das reações com diferentes fungos endofíticos com o substrato **3a**, foi utilizado as células do fungo da reação 3, no qual apresentou melhor desempenho de conversão, para mediar reações de biorredução com outros derivados de cetimidazol (Tabela 4).

Tabela 4: Estudo de Conversão de Compostos Imidazólicos

Produto formado 4b-4f	Conversão (%)
 <p style="text-align: center;"><i>Penicillium</i> 7 dias, 130 rpm, 30°</p>	
	99
4b	
	99
4c	
	70
4d	

	60
4e	
	*
4f	

Observa-se que o composto **3e** (*1-([1,1'-bifenil]-4-yl)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona*) e o **3d** (*1-(4-bromofenil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etan-1-ona*), apresentaram porcentagem de conversão inferior, comparado aos demais compostos. De acordo com Ferreira (2016), pode-se comparar esse fator aos efeitos de átomos halogenados presente na estrutura molecular desses compostos, tais como a lipofilicidade, volume atômico e eletronegatividade. Sendo que, quanto maior a lipofilicidade e quanto menor o volume atômico, mais facilidade o substrato terá para se difundir por meio da membrana celular ao receptor biológico, logo, a reação entre receptor e substrato torna-se eficiente e rápida (FERREIRA, 2016, p.108).

Para a reação em questão, façamos uma comparação entre as reações que envolve os átomos halogenados fluor e bromo, respectivamente. O bromo presente na molécula **4d** possui lipofilicidade inferior comparado a molécula com fluor **4c**, e volume atômico maior, portanto, a molécula **4d** apresentou baixa conversão, pelo fato da reação sofrer dificuldades para ancorar no sítio ativo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da pesquisa realizada, comprovou-se que a espécie vegetal utilizada origina células com alto potencial de seletividade, portanto podem ser utilizadas em reações de biotransformação. A utilização de micro-organismos como biocatalizadores, minimiza tempo e custos, tornando-se uma metodologia simples e vantajosa frente a outras fontes de enzimas.

As enzimas dos fungos endofíticos agiram de modo indutivo ao estarem na presença do substrato submetido à biotransformação, com isso foi obtido resultados com excelentes bioconversões. Para este caso, as enzimas são denominadas de enzimas indutivas, pois foram induzidas na presença de um substrato xenobiótico durante o estágio de cultivo do micro-organismo em um meio de cultura restrito de nutrientes.

Por conseguinte, foi possível notar a importância de estudos relacionados a área de pesquisa, haja vista, a carência de estudos nessa área, pois os fungos endofíticos advindos da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) se mostraram eficientes no processo de biotransformação dos compostos imidazólicos.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, J. L. *Microrganismos Endofíticos*. Ecologia Microbiana, Capítulo 4, pp. 117-137. Goiânia, 1991.
- BIER, M.C; MEDEIROS, A. B. P; SOCCOL, C. R. *Biotransformation of limone by an endophytic fungus using synthetic and Orange residue-based media*. Fungal Biology (pp. 137-144). 2017.
- CASTRO, H. F; MENDES, A. A; SANTOS, J. C. *Modificação de óleos e gorduras por biotransformação*. Química Nova (p. 146-156). São Paulo, 2003.
- CHRISTOPH K. W; GÁBOR T; DORINA C; MÉLANIE H; KURT F. *Asymmetric bioreduction of activated alkenes to industrially relevant optically active compounds*. Journal of Biotechnology, pp.381-389. 2012
- EKIZ, G; DUMAN, S; BEDIR, E. *Biotransformation of cycloanthogenol by the endophytic fungus Alternaria eureka IEIBL1*. Phytochemistry, pp. 91-98. 2018.
- FARDELONE L. C; RODRIGUES J. A.R; MORAN P. J. S. *Bioreduction of 2-azido-1-arylethanones mediated by Geotrichum candidum and Rhodotorula glutinis*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, pp.9-12. 2006.
- FERREIRA, I. M; YOSHIOKA, S. A; COMASSETO, J. V; PORTO, A. L. M. *Immobilization of amano lipase from Pseudomonas fluorescens on silk fibroin spheres: an alternative protocol for the enantioselective synthesis of halohydrins*. Royal Society of chemistry, pp.12650-12658. 2017.
- FERREIRA, I.M. *Imobilização do fungo Penicillium citrinum CBMAI 1186 e lipase de Pseudomonas fluorescens em biopolímeros para aplicações em biocatálise*. Tese de doutorado. São Carlos. 2016.
- GRUNWALD, P. *Biocatalysis: Biochemical Fundamentals and Applications*. Editora: Imperial College. 2009.
- HALLMANN, A. Q; BENHAMOU, N; KLOEPPER, J. W. *Bacterial endophytes in cotton: Mechanisms of Entering the plant*. Microbiol (p. 557-582). Canadá, 1997.
- HOLANDA, F. H; et al. *Study of biodegradation of chloramphenicol by endophytic fungi isolated from Bertholletia excelsa (Brazil nuts)*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019.
- JIMENEZ, D. E. Q. *Síntese de adutos de Knoevenagel para obtenção de compostos tetrazólicos, produtos de acoplamento de Suzuki-Miyaura e cromenos por radiação micro-ondas e para bio-hidrogenação pelo fungo marinho Penicillium citrinum*. Tese de doutorado. São Carlos. 2017.
- KLUCZKOVSKI, A. M; MARTINS, M. *Nuts: Brazil Nuts*. Encyclopedia of Food and Health, (pp. 108–110). 2016.

LENARDAO, E.J; FREITAG, R.A; DABDOUB, M.J; BATISTA, A.C.F; SILVEIRA, C.C. "Green chemistry" - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. Química Nova, v.26, p.123-129, 2002.

LIMA, V. L. E. *Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem*. Química Nova, (p.657-663). Porto Alegre, 1997

NORAINI, M.Y; ONG, H. C; BADRUL, M. J; CHONG, W. T. *A review on potential enzymatic reaction for biofuel production from algae*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, (p. 24-34). 2014.

OLIVEIRA, R.L. *Avaliação do Potencial Biotecnológico de Fungos Endofíticos de Piper hispidum*. Manaus. Dissertação de mestrado, 2010.

OLIVEIRA, J. R; FERREIRA, I. M; PORTO, A. L. M. *Biocatálise e Biotransformação*. Instituto de Química de São Carlos. 2013.

PADHI, L; MOHANTA Y. K; PANDA, S. K. *Endophytic fungi with great promises: A Review*. Journal of Advanced Pharmacy Education & Research. 2013.

PETRINI, O. *Fungal endophytes in tree leaves*. Microbial Ecology of Leaves (pp.179-197). New York. 1991.

PRANZONI, C. A; et al. *Preparation of chiral β -hydroxytriazoles in one-pot chemoenzymatic bioprocesses catalyzed by *Rhodotorula mucilaginosa**. Process Biochemistry, pp. 114–117. 2019.

ROCHA L. C; et al. *Bioreduction of α -chloroacetophenone by whole cells of marine fungi*. Biotechnol Lett, pp. 1559–1563. 2009.

ROCHA, E. O. *Biorredução de cetonas por espécies vegetais*. São Paulo. Tese de Doutorado, 2011.

SANTOS, T. T; VARAVALLO, M. A. *Application endophytic microorganisms in agriculture and production of substances of economic interest*. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, (pp. 199-212). Londrina. 2011

SOUZA, C.R; AZEVEDO, C. P; ROSSI, L. M. B; LIMA, R. M. B. *Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.)*. Manaus. Embrapa, 2008.

STEFANI, H. A. *Introdução à Química de Compostos Heterocíclicos*. Cáp. 17. Editora: Guanabara Koogan. 2009.

TONINI, H. *Castanheira-do-brasil: uma espécie chave na promoção do desenvolvimento com conservação*. Boa Vista: Embrapa Roraima. 2007.

REFERÊNCIAS DE IMAGEM

FIGURA 1: Disponível em <<https://tudoparanatureza.blogspot.com/2016/08/castanheira-do-brasil-bertholletia.html?m=0>>. Acesso em 20 de abril de 2021.

FIGURA 2: Disponível em <<https://tudoparanatureza.blogspot.com/2016/08/castanheira-do-brasil-bertholletia.html?m=0>>. Acesso em 20 de abril de 2021

APÊNDICES

APÊNDICE A – PROPOSTA DE ENSINO

ESTEREOQUÍMICA EM FÁRMACOS: UMA PROPOSTA DE APRENDIZAGEM SIGNIFICATIVA PARA O ENSINO MÉDIO, SOB A LUZ DE AUSUBEL E JOSEPH D. NOVAK.

OBJETIVO

- Propor um ensino sobre o conteúdo de estereoquímica em fármacos, tendo como alicerce a Teoria da Aprendizagem Significativa, para o ensino médio.

O ensino e aprendizagem de química enfrenta diversas dificuldades desde os primórdios até os dias atuais, para que esses problemas sejam sanados, é importante que haja no planejamento da disciplina de química, temas que estejam relacionados com aspectos sociais, econômicos e ambientais (RIBEIRO *et al.*, 2010, p. 169).

Para tornar o ensino de química mais acessível, claro, simples e agradável, precisamos nos apropriar de metodologias que nos oportunize ensinar com a leveza, para isso deve-se investir em procedimentos didáticos alternativos, no qual os alunos poderão adquirir conhecimentos significativos e agradáveis, em que aproveite, no primeiro momento, a vivência dos alunos, os fatos do dia-a-dia, a tradição cultural e a mídia, e com isso reconstruir os conhecimentos químicos para que o aluno possa refazer a leitura do seu mundo (BERNARDELLI, 2004, p. 02).

No intuito de esclarecer como vai se desenvolver a Proposta de Aprendizagem Significativa para o Ensino Médio, é importante discutir sobre os âmbitos legais que garantem o direito do acesso à educação de qualidade, e os documentos que compõem a grade curricular das instituições de ensino, no qual respaldam a importância de buscar alternativas que supram as necessidades do ensino e aprendizagem.

1 ÂMBITO LEGAL

A Lei de Diretrizes e Bases (Lei 9.394/96), garante o direito de todos indivíduos brasileiros a ter acesso ao ensino gratuito e de qualidade, e reforça que a educação é dever da família e do Estado, tendo em vista que o processo formativo se desenvolve no seio familiar e na convivência humana em sociedade. A LDB considera o Ensino Médio característico de terminalidade, pois é etapa final da educação Básica, justaposto que é neste período que se assegura ao aluno consolidar e aprofundar-se dos conhecimentos adquiridos no ensino fundamental, visando dotar o discente das competências necessárias para continuar aprendendo (Art. 35, incisos I a IV).

A continuação da aprendizagem tem como finalidade estimular o indivíduo, ao concluir a educação básica, continuar o seguimento do conhecimento rumo ao ensino superior, a cursos de formação, ou mercado de trabalho, pois aprender é contínuo e necessário, é um processo que percorre do ambiente escolar para a vida.

As Orientações Curriculares para o Ensino Médio (BRASIL, 2008) afirmam que a importância da área de Ciências da Natureza, Matemática e suas Tecnologias no desenvolver intelectual do estudante de Ensino Médio, está na qualidade e não na quantidade de conceitos, aos quais se busca dar significado nos quatro componentes curriculares: Física, Química, Biologia e Matemática. Tendo em vista a extrema complexidade do mundo atual no que tange a educação, não se permite mais que o ensino médio seja apenas preparatório para um exame de seleção, em que o estudante é perito, por ser treinado em resolver questões que exigem sempre a mesma resposta padrão. O mundo atual impõe que o estudante se posicione, julgue e tome suas decisões, e seja responsabilizado por seus atos. Dessa forma, as Orientações Curriculares para o Ensino Médio reconhecem que é importante que as metodologias adotadas em sala de aula caminhem juntas, de maneira que venha acrescentar conhecimento para o aluno (BRASIL, 2008).

Apesar dessas Orientações Curriculares Nacionais, o ensino de Química transformou-se em preocupação premente nos últimos anos, tendo em vista que hoje além das dificuldades apresentadas pelos alunos em aprender Química, muitos não sabem o motivo pelo qual estudam esta disciplina, visto que nem sempre esse conhecimento é trabalhado de maneira que o aluno possa entender a sua importância (PAZ e PACHECO, 2010, p. 02).

A partir dessas concepções nota-se que é essencial agir para que os educandos possam usufruir dos conhecimentos, haja vista que este é necessário para exercer a cidadania. A criação de documentos de apoio e orientação dos professores no processo de ensino e aprendizagem é imprescindível, pois esses irão nortear o corpo técnico escolar, para escolher a maneira ideal de adaptar o ensino as peculiaridades de cada localidade.

2 PARÂMETROS CURRICULARES NACIONAIS PARA O ENSINO MÉDIO

Historicamente a escola possui uma concepção conservadora da aprendizagem, onde o ensino das disciplinas, em geral, são conteudistas e o aluno possui uma postura passiva no processo de construção do conhecimento. Nesse sentido a escola passa a não valorizar os preceitos sociais dos sujeitos que dela participam, como o conhecimento prévio. As propostas de ensino objetivam, promover aos alunos a compreensão dos fundamentos científico-tecnológicos dos processos produtivos, relacionando a teoria com a prática, no ensino de cada disciplina.

Com isso, de acordo com os Parâmetros Curriculares Nacionais, o aprendizado de química deve possibilitar ao aluno a compreensão tanto dos processos químicos em si quanto da construção de um conhecimento científico em estreita relação com as aplicações tecnológicas e suas implicações ambientais, sociais, políticas e econômicas. Assim, vale ressaltar os PCNs, utilizam de objetivos distintos, de acordo com a singularidade de cada localidade no qual será utilizada. (BRASIL, 1998).

Em síntese, os PCNs do Ensino Médio, propõe as instituições de ensino desenvolver um ensino interdisciplinar e contextualizado, com o objetivo desenvolver com leveza os conteúdos, de modo que o aluno compreenda o que está estudando, e consiga vincular os conhecimentos científicos com os conhecimentos dotados por ele anteriormente.

3 APRENDIZAGEM SIGNIFICATIVA

Para abordar a teoria da Aprendizagem Significativa buscou-se David Paul Ausubel (1963) e Joseph D. Novak (1977, 1981). O primeiro defendia que a aprendizagem para ser significativa, deve o conhecimento fazer sentido para o aluno, ou seja, ocorre uma interação dos conceitos científicos com a estrutura de conhecimento já existente pelo aluno. O segundo desenvolveu o lado humanista, no qual afirma que os seres humanos pensam, sentem e agem, e que deve-se ajudar a melhorar a forma pela qual as pessoas fazem isso. Esses teóricos desenvolveram uma proposta de ensino que auxilia os alunos de ensino médio a despertar maior interesse pela ciência Química.

Em sua teoria, Ausubel apresenta uma aprendizagem, cujo o ambiente possui uma comunicação eficaz, respeita e conduz o aluno a imaginar-se como parte integrante desse novo conhecimento através de elos, de termos familiares a ele. Através da palavra, o educador pode diminuir a distância entre a teoria e a prática na escola, capacitando-se de uma linguagem que desafie e leve o aluno a refletir, conhecendo a sua realidade e os seus anseios. Haja vista, se

esta não for a realidade vivida pelo professor, o aluno provavelmente terá aquele conhecimento apenas como conteúdo a ser cumprido (PELIZZARI, *et al*, 2002, p. 41).

Para Ausubel (1963, p. 58), a aprendizagem significativa é o mecanismo humano, sublime, para aprender a vasta quantidade de ideias e informações, seja ela de qualquer campo de conhecimento. Portanto, a aprendizagem significativa é o processo no qual uma nova informação (um novo conhecimento), se relaciona de maneira não arbitrária e substantiva (não-literal) à estrutura cognitiva do aprendiz. É no curso da aprendizagem significativa que o significado lógico do material de aprendizagem se transforma em significado psicológico para o sujeito (MOREIRA, *et al*, 1997, p. 19).

É importante notar que Ausubel afirma que uma aprendizagem não-arbitrária e substantiva, envolve a não-arbitrariedade, pois ressalta que o material potencialmente significativo se relaciona de maneira não-arbitrária com o conhecimento já existente na estrutura cognitiva do aprendiz, ou seja, o relacionamento não é tratado de qualquer aspecto da estrutura cognitiva, mas sim com conhecimentos especificamente relevantes, os quais Ausubel chama subsunçores. O conhecimento prévio serve de matriz ideacional e organizacional para a incorporação, compreensão e fixação de novos conhecimentos especificamente relevantes (subsunçores), preexistentes na estrutura cognitiva (MOREIRA, *et al*, 1997, p. 20).

Observa-se que quando Ausubel comenta sobre conhecimento prévio, ele retrata a importância da valorização deste conhecimento, pois este serve como degrau para a construção de novos conhecimentos de saber científico, e que a desvalorização das experiências e costumes, já vivenciados pelos alunos, contribui para o declínio do ensino e aprendizagem.

A substantividade significa que o que é agregado à estrutura cognitiva é a substância do novo conhecimento, de novas ideias. O mesmo conceito ou a mesma proposição podem ser expressos de diferentes maneiras, assim, uma aprendizagem significativa não pode depender do uso exclusivo de determinados signos em particular. A essência do processo da aprendizagem significativa está, portanto, no relacionamento não-arbitrário e substantivo de ideias simbolicamente expressas a algum aspecto relevante da estrutura de conhecimento do sujeito, isto é, a algum conceito ou proposição que já lhe é significativo e adequado para interagir com a nova informação. É desta interação que emergem, para o aprendiz, os significados dos materiais potencialmente significativos, é também nesta interação que conhecimento prévio se modifica pela aquisição de novos significados. (MOREIRA, *et al*, 1997, p. 20).

Joseph D. Novak (1977, 1981), apresenta uma visão humanista da aprendizagem significativa ao mostrar que para aprender de maneira significativa o aprendiz deve querer relacionar o novo conteúdo de maneira não-literal e não-arbitrária ao seu conhecimento prévio.

Independente de quão potencialmente significativa é a nova informação (um conceito ou uma proposição, por exemplo), se a intenção do sujeito for apenas a de memorizá-la de maneira arbitrária e literal, a aprendizagem só poderá ser mecânica (MOREIRA, et al, 1997, p. 31).

4 DETALHAMENTO DA PROPOSTA DE ENSINO

O trabalho em questão abrange uma proposta de ensino, no qual busca aproximar o conteúdo de química com o cotidiano do educando, com o intuito de gerar conflitos entre o conhecimento prévio, no qual centra-se nas experiências e conhecimentos já adquiridos pelo discente, e a alfabetização científica, no qual trará a pertinência científica a sua realidade, através de problematizações e reflexões.

Pressupondo que o conhecimento prévio influencia de forma ativa no ensino e aprendizagem, será utilizado a temática fármacos para trabalhar o conteúdo de estereoquímica, devido seu reduzido vínculo com o ensino da química, e por englobar substâncias produzidas para fins farmacêuticos, como os medicamentos.

A explicação para desenvolver a proposta, se embasa ao fato de o estudo da estereoquímica ser apontado como um conteúdo difícil de ser trabalhado, visto o seu nível de abstração para a visualização tridimensional das moléculas, e outro ponto a ser destacado é a dificuldade de aprender sobre as propriedades e reatividade dos compostos orgânicos. Com isso, o ensino proposto perpassa por uma sequência de aulas, no qual será detalhado as etapas conforme abaixo:

Tabela 5: Proposta de Ensino da Estereoquímica

SEQUÊNCIA	ETAPA	DESCRIÇÃO
Aula 1	Questionário Inicial Avaliação Diagnóstica	Questionário investigativo oral à respeito dos hábitos e conhecimentos, com relação à temática.
Aula 2	Pesquisa sobre fármacos	Listagem dos produtos farmacológicos encontrados em casa e debater o uso.
Aula 3	Trabalhar o conteúdo de isômeros <i>cis-trans</i> , <i>E e Z</i> ; Avaliação formativa.	Exposição conteúdo teórico; Interpretação da fórmulas estruturais simplificadas de pares de isômeros geométricos (diastereoisômeros)

		presentes em fármacos encontrados em casa.
Aula 4	Trabalhar o conteúdo enantiômeros; Avaliação formativa.	Exposição conteúdo teórico; Construção de fórmulas estruturais simplificadas de pares de isômeros ópticos (enantiômeros) presentes em fármacos encontrados em casa, através de materiais alternativos.
Aula 5	Aula de Revisão;	Revisão do conteúdo em relação à temática.
Aula 6	Avaliação Somativa	Avaliação somativa individual em forma de prova;

Aula 1

O questionário inicial, objetiva conhecer o emprego de hábitos, e que conhecimentos e experiências os discentes possuem sobre os fármacos que utilizam diariamente, na busca de subsunções para a Aprendizagem Significativa, haja vista que os fármacos, estão presentes no cotidiano do aluno, através de produtos medicamentosos.

Aula 2

Na etapa posterior, os alunos farão uma pesquisa dos produtos farmacológicos presentes em sua casa. Justificar o uso desses medicamentos, e debater os riscos de efeitos colaterais e malefícios advindos da automedicação. A partir da referida pesquisa, será realizado pelo professor, uma lista no qual reúne todos os fármacos apresentados pelos discentes.

Aula 3

Nessa aula, será feita a exposição do conteúdo de Estereoquímica, com ênfase no tópico de Diastereoisômeros. A partir do conteúdo abordado, será repassado aos alunos a representação de quatro estruturas de fármacos, presentes na lista elaborada pelo docente. Com as representações, os discentes deverão realizar a análise das estruturas, e evidenciar semelhanças e diferenças das fórmulas estruturais simplificadas, de pares de isômeros geométricos (diastereoisômeros) cis- trans.

Aula 4

Na quarta aula, será ministrado a segunda parte do conteúdo de Estereoquímica, no qual contempla os pares de isômeros ópticos (enantiômeros), de forma a representar as estruturas

moleculares em formato 3D, através do software ChewDraw, para que facilite a aprendizagem do aluno sobre as propriedades ópticas. Após a exposição do conteúdo cada aluno receberá uma estrutura de fármaco, presentes na lista elaborada, e posteriormente deverão construir os pares de enantiômeros, através de materiais alternativos, como isopor e palitos, das respectivas moléculas.

Através do aprofundamento no conteúdo, é possível ampliar a estrutura cognitiva do aluno ao trazer a ele novos conhecimentos, com intuito de realizar sucessivas interações entre os subsunçores, incorporando novos conceitos.

Aula 5

Nesta aula, será realizado a síntese dos conceitos em conjunto com a temática empregada, por meio de uma revisão de tudo que foi trabalhado no decorrer das aulas e discutir a importância do conhecimento sobre esse estudo.

Aula 6

Por fim, como avaliação final, será repassado aos discentes uma avaliação somativa individual, em formato de prova, para avaliar qualitativamente e quantitativamente o alcance dos objetivos traçados.

REFERÊNCIAS

AUSUBEL, D.P (1968). *Educational Psychology – A Cognitive View*. Nova York: Holt Rinehart e Winston. 1968.

BERNARDELLI, M. S. *Encantar para ensinar – um procedimento alternativo para o ensino da química*. Foz do Iguaçu: Congresso Brasileiro e Encontro Paranaense de Psicoterapias Corporais, 2004.

BRASIL. Ministério da Educação (MEC), Secretaria de Educação e Tecnológica (Semtec). *Orientações Curriculares para o ensino médio, ciências da natureza, matemática e suas tecnologias*. Brasília: Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, 2008.

BRASIL. *Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional*, LDB. 9394/1996.

BRASIL, *Parâmetros Curriculares Nacionais*. Brasília: Ministério da Educação/SEF, 1998.

MOREIRA, M.A., CABALLERO, M.C. E RODRÍGUEZ, M.L. *Aprendizagem significativa: um conceito subjacente*. Burgos, Espanha: Actas del encuentro internacional sobre el aprendizaje significativo, p. 19-44, 1997.

PAZ, G.L; PACHECO, H. F. *Dificuldades no Ensino-Aprendizagem de Química no Ensino Médio em algumas Escolas Públicas da Região Sudeste de Teresina*. PICIC/UESPI. Piauí, 2010.

PELIZZARI, A; KRIEGL, M. L; BARON, M. P; FINCK, N. T. L; DOROCINSKI, S. I. *Teoria da Aprendizagem Significativa segundo Ausubel*. Revista Pec. Curitiba, 2002.

RIBEIRO, E. M. F.; MAIA, J. O.; WARTHA, E. J. *As Questões Ambientais e a Química dos Sabões e Detergente*. Química Nova na Escola, v. 32, nº. 3, p. 169 - 175, 2010.

ANEXOS

