

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO GRANDE
DO NORTE-CAMPUS APODI
LICENCIATURA EM QUÍMICA

JOYCE SOARES DE SOUZA

ESTERIFICAÇÃO DO ÁCIDO CINÂMICO USANDO CATÁLISE ENZIMÁTICA

APODI-RN

2021

JOYCE SOARES DE SOUZA

ESTERIFICAÇÃO DO ÁCIDO CINÂMICO USANDO CATÁLISE ENZIMÁTICA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Química.

Orientador (a): Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S729e Souza, Joyce Soares de.

Esterificação do ácido cinâmico usando catálise enzimática / Joyce Soares de Souza – Apodi, 2021.

38 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva.

Trabalho de conclusão de curso (Superior). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Campus Apodi - Curso Superior de Licenciatura Plena em Química, Apodi, 2021.

1. Ácido cinâmico. 2. Metabolismo – catabolismo. 3. Química inorgânica. I. Silva, Francisco Felipe Maia da (orient). II. Título.

IFRN

546 CDU

JOYCE SOARES DE SOUZA

ESTERIFICAÇÃO DO ÁCIDO CINÂMICO USANDO CATÁLISE ENZIMÁTICA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso superior de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado e aprovado em 04/02/2021, pela seguinte Banca Examinadora:

BANCA EXAMINADORA



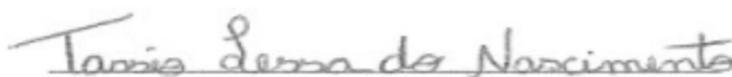
Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva – Presidente

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte



Prof. Dr. Alcivan Almeida Evangelista Neto – Examinadora

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte



Prof. Me. Tassio Lessa do Nascimento – Examinadora

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é uma maneira simbólica de agradecer imensamente à minha família por ser minha base em todas as fases da minha vida, com majoritária participação e auxílio nestes árduos anos de graduação.

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus por me fornecer as habilidades, capacidade, paciência e conhecimento para tal realização. Aos meus pais Joelma e Itaacio, pelo carinho imenso, pela paciência, por nunca desistirem de mim e acreditarem na minha capacidade. Por me darem o apoio fundamental para que eu encarasse todos os obstáculos da vida e por sempre se desdobrarem para me fornecer as melhores condições.

Ao meu irmão Gabriel e minha avó Ana, por sempre estarem comigo, a toda minha família e as minhas amigas próximas Dara Fernanda e Virna Elissa, pela força, convivência, confiança e palavras confortantes;

Às queridas Rita de Cássia e Lohane Gama que estão comigo desde o início do curso, que com, companheirismo, carinho e paciência me propiciaram grandes alegrias e a descoberta do prazer da amizade mesmo em momentos difíceis. Tendo minha gratidão e amizade eternas.

Agradeço a todos os meus colegas que conheci durante o curso e aos docentes da licenciatura por ter me proporcionado o conhecimento, e terem contribuído com a minha formação.

Ao meu orientador Felipe Maia pela oportunidade de realizar este trabalho, que com muita paciência, me auxiliou com seu conhecimento, não só durante o desenvolvimento desse trabalho, mas, como também no decorrer do curso.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN) campus Apodi, por proporcionar um ambiente saudável para todos os alunos, além de estimular a criatividade, a interação e a participação nas atividades acadêmicas.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu”.

(Eclesiastes 3, 1)

RESUMO

A formação de uma consciência ecológica e a obrigação de preservar o meio ambiente, têm gerado o desenvolvimento de novos métodos para a obtenção de produtos naturais, sem que ocorra a danificação do meio ambiente, tendo em vista ser uma possibilidade de controle alternativo. Entre os compostos de origem natural encontra-se o ácido cinâmico e seus derivados que são facilmente encontrados em frutos, flores e vegetais. Ele tem sido explorado devido a sua ampla diversidade nas atividades biológicas tais como, antimicrobiano e antifúngico, atividade antitumoral contra tumores humanos malignos, entre outros. Para que seja possível obter esses produtos de forma que não agrida o meio ambiente, o uso de biocatalisadores tem sido uma alternativa limpa. E a aplicação de enzimas como catalisadores em sínteses químicas vem ganhando grande destaque nos últimos anos, pois o seu uso tem sido promissor e considerado uma fonte limpa para o meio ambiente em virtude de estimular o desenvolvimento tecnológico com a utilização de matéria-prima renováveis e com a preservação ambiental. Por isso, o presente trabalho teve o objetivo de sintetizar, caracterizar e otimizar as condições reacionais na esterificação do ácido cinâmico, com o uso da catalise enzimática. Neste contexto, os resultados obtidos indicam um grande potencial para o uso dos biocatalisadores nas sínteses de ésteres, trazendo destaque para a enzima lipase B de *Candida antarctica* (CALB) que alcançou valores acima de 70%. Além disso, as análises em cromatograma apontaram o hexano como um bom solvente para esse tipo de reação e a razão molar mais adequada de 0,1:0,5. Por tanto, esse trabalho demonstrou as melhores condições para a síntese de ésteres.

Palavras-chave: meio ambiente, biocatalisador, ácido cinâmico

ABSTRACT

The formation of an ecological conscience and the obligation to preserve the environment, have generated the development of new methods for obtaining natural products, without causing damage to the environment, in view of the possibility of alternative control. Among the compounds of natural origin are cinnamic acid and its derivatives, which are easily found in fruits, flowers and vegetables. It has been explored due to its wide diversity in biological activities such as, antimicrobial and antifungal, antitumor activity against malignant human tumors, among others. In order to obtain these products in a way that does not harm the environment, the use of biocatalysts has been a clean alternative. And the application of enzymes as catalysts in chemical syntheses has gained great prominence in recent years, since its use has been promising and considered a clean source for the environment due to stimulating technological development with the use of renewable raw materials and with environmental preservation. Therefore, this work aims to synthesize, characterize and optimize the reaction conditions in the esterification of cinnamic acid, with the use of enzymatic catalysis. In this context, the results obtained indicate a great potential for the use of biocatalysts in the synthesis of esters, highlighting the enzyme lipase B of *Candida antarctica* (CALB), which reached values above 70%. In addition, the chromatogram analyzes indicated hexane as a good solvent for this type of reaction and the most appropriate molar ratio of 0.1: 0.5. Therefore, this work demonstrated the best conditions for the synthesis of esters.

Keywords: environment, biocatalyst, cinnamic acid

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do ácido cinâmico	10
Figura 2 – Estrutura do 3,4,5-trimetoxicinamato de etila	12
Figura 3 – Estrutura do metoxicinamato de octila.....	12
Figura 4 – Estrutura da artepilina C, baccarina e drupanina	12
Figura 5 - Estrutura do cinamato de etila	13
Figura 6 - Estrutura química do ácido acetilsalicílico	14
Figura 7 – Estrutura da Diacetilmorfina natural e da Heroína	14
Figura 8 - Estrutura química da amoxicilina	15
Figura 9 - Estrutura química da penicilina	15
Figura 10 - Estrutura química da ivermectina	16
Figura 11 – Estrutura química da avermectina.....	16
Figura 12 – Estrutura tridimensional da Lipase.....	18
Figura 13 – Reações catalisadas pela Lipase.....	19
Figura 14 - Algumas enzimas usadas nas reações	21
Figura 15 - Reações em agitação e aquecimento.....	21
Figura 16 - Solventes usados nas reações	22
Figura 17 - Mesa agitadora com uma câmara térmica.....	23
Figura 18 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).....	23
Figura 19 - Espectro de massa do Ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico.....	25
Figura 20 - Cromatograma obtido da análise da reação de esterificação do ácido acético com etanol catalisada por enzima Cal B.	25
Figura 21 - cromatografia da formação do derivado do ácido cinâmico catalisado com a enzima Amano lipase livre	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAL B	Lipase B de <i>Candida antarctica</i>
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
He	Hélio
IUBBM	União internacional de bioquímica e biologia molecular
THF	Tetraidrofurano
TLL	<i>Thermomyces lanuginosus</i>
RML	<i>Rhizomucor miehei</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1 PRODUTOS NATURAIS: FONTE E FUNÇÃO	10
2.2 ÁCIDO CINÂMICO	10
2.2.1 Derivados do ácido cinâmico	11
2.3 DERIVATIZAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS: VANTAGENS E OBJETIVOS...	13
2.4 ENZIMAS	16
2.4.1 Lipases	18
3 METODOLOGIA	21
3.1 REAÇÃO ENZIMÁTICA	21
3.1.1 Seleção da enzima	21
3.1.2 Seleção do solvente	22
3.1.3 Avaliação do efeito da concentração do substrato	22
3.1.4 Avaliação de enzimas	22
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO OBTIDO NAS REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO	23
3.2.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)	23
4 RESULTADOS	24
4.1 EFEITO DO CATALISADOR.....	24
4.2 EFEITO DO SOLVENTE.....	26
4.3 EFEITO DA RAZÃO MOLAR.....	27
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais constituem uma importante e diversificada classe de substâncias vitais para a manutenção das atividades metabólicas dos mais diferentes seres vivos. Além disso, fornece a energia necessária para todas as ações inerentes aos processos de organização e replicação celular, transformando moléculas menores em macromoléculas como complexas e extremamente funcionais como proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos, carboidratos, metabólitos secundários entre outros (THOMFORD, *et al.*, 2018).

Entre os compostos de origem natural encontra-se o ácido cinâmico e seus derivados que estão constituídos em uma classe de compostos que podem ser encontrados com facilidade em frutos, flores e vegetais, além de ser normalmente consumidos como compostos fenólicos. Essas substâncias têm desempenhado um papel notável como intermediários para a produção de diferentes fármacos (RODRIGUES, 2015).

O ácido cinâmico e seus derivados têm despertado a atenção de diversos pesquisadores ao redor do mundo, devido a sua ampla diversidade nas atividades biológicas, dentre elas, pode-se destacar ação, antitumoral, antifúngica, antibacteriana. Além disso, ele também possui efeito citotóxico contra diversas linhagens de células tumorais (BRUGUEL, 2015). Além disso, vem sendo utilizado como precursor na síntese comercial de ésteres cinâmicos para a aplicação em perfumaria, cosmética e na produção de medicamentos (ADOLPHO, 2012).

Entretanto a obtenção de derivados do ácido cinâmico, em grande escala resulta em um elevado custo econômico e ambiental, uma vez que estes estão presentes em baixas concentrações nos organismos. O uso de reações químicas convencionais é capaz de superar a questão quantitativa, sendo possível produzir uma diversidade de moléculas em grande quantidade (LEIROSE; LOUSTALOT; OLIVEIRA, 2020).

Contudo, as reações químicas clássicas, muitas vezes, fazem uso de sistemas catalíticos tóxicos e, frequentemente, resultam na formação de subprodutos, o que acarreta maiores custos em etapas subsequentes de purificação.

Com isso, a aplicação de enzimas como catalisadores em sínteses químicas vem ganhando grande destaque nos últimos anos, pois o seu uso tem sido promissor e considerado uma fonte limpa para o meio ambiente. Esses catalisadores são vistos como uma poderosa ferramenta catalítica que tem uma vasta variedade de aplicação em processos químicos diversos (SOUZA, MACHADO, OLIVEIRA, 2016).

Assim, o uso de enzimas na síntese de fármacos, biodiesel, sensores entre outros tem se tornado uma realidade, devido a sua alta especificidade, as condições naturais de reações e a redução de problemas ambientais e toxicológicos (COELHO; SALGADO; RIBEIRO, 2008).

Desta forma, o presente projeto teve o objetivo de realizar a síntese e caracterização de derivados do ácido cinâmico, com o uso de biocatalisadores, que foi analisado através de análises cromatográficas e espectroscópicas as melhores condições para a obtenção do cinamato de etila.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PRODUTOS NATURAIS: FONTE E FUNÇÃO

Os produtos naturais são considerados substâncias produzidas por microrganismos, organismos marinhos, plantas, anfíbios e animais. Esses produtos possuem diversas utilidades, por exemplo: barreiras protetoras, defesa do hospedeiro em combate a infecções bacterianas e predadores (animais), proteção de seu nicho ecológico, comunicação intra e inter espécies, pigmentos, dentre outros (RODRIGUES, 2015).

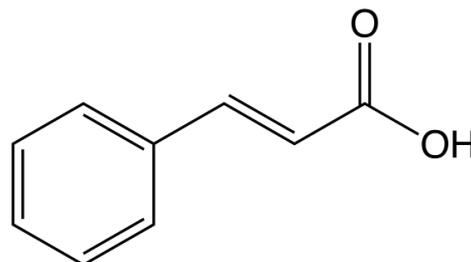
Neste contexto, a procura por alívio e cura de enfermidades, através da ingestão de ervas e folhas, acredita-se que essa tenha sido uma das primeiras formas de aplicação desses produtos. As experiências e observações levaram a novas e importantes descobertas para recursos terapêuticos de injúrias ou doenças através da utilização de plantas e ervas (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Dentre as substâncias de origem natural, destacam-se os compostos fenólicos, um dos grupos de metabólitos secundários mais importantes produzidos por plantas, sendo estes essenciais para o crescimento e reprodução das plantas. Esses compostos são caracterizados por terem pelo menos um anel aromático tendo um ou mais grupos hidroxila (BEZERRA FILHO, 2014).

2.2 ÁCIDO CINÂMICO

Entres os produtos de origem natural, temos o ácido 3-fenil-2-propenóico, que também é conhecido como ácido cinâmico (Figura 1), que é um polifenol bioativo da classe dos ácidos fenólicos.

Figura 1 – Estrutura química do ácido cinâmico



Fonte: (CARVALHO *et al.*, 2007)

Quimicamente, é um ácido graxo aromático de baixa toxicidade em humanos, essa substância que é uma especiaria que pode ser encontrada na parte interna da casca do tronco da espécie vegetal *Cinnamomum zeilanicum* (canela) e em folhas de coca (*Erythroxylum coca*), junto com outros fenilpropanóides análogos como o cinamaldeído e álcool cinâmico (SANTOS, 2018).

Ele é encontrado naturalmente na sua forma *trans*, e relaciona-se a um hormônio vegetal pertencente ao grupo das auxinas, que são características responsáveis pelo crescimento e a diferenciação celular (SOUZA, 2015).

Esse ácido possui desempenho como, antimicrobiano e antifúngico, atividade antitumoral contra tumores humanos malignos, que inclui, melanoma glioblastoma e adenocarcinoma de próstata e pulmão. Também possui desempenho anti inflamatória, antidiabética, anti hiperglicêmica, atividade antioxidante e antibacteriana. Além disso, alguns de seus derivados podem exercer a função de defesa da planta, contra microrganismos e insetos (PEPERIDOU *et al.*, 2017).

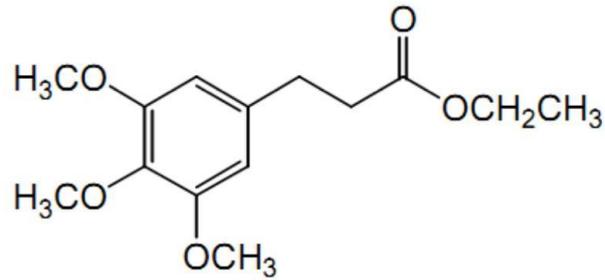
2.2.1 Derivados do ácido cinâmico

Na investigação de novos compostos farmacologicamente ativos, derivados do ácido cinâmico são considerados significativos e promissores por demonstrarem elevado potencial para o desenvolvimento de fármacos (SOUZA, 2015).

Esses derivados são encontrados em grãos de café, maçãs e peras, frutas silvestres, frutas cítricas, uva, legumes, espinafre, beterraba, alcachofra, batata, tomate, fava, cereais e entre outros. Assim como o ácido cinâmico, estes compostos também apresentam importantes atividades biológicas tais como atividades antioxidantes (SILVA, 2018).

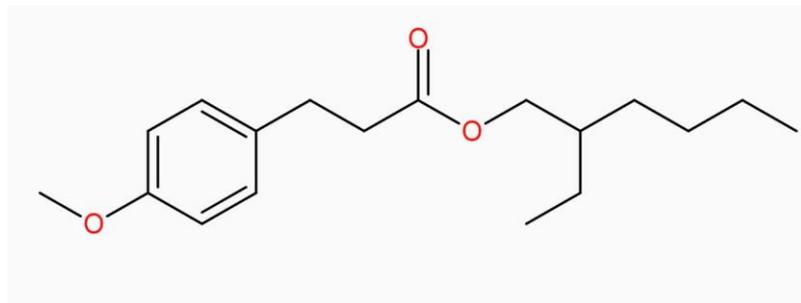
Por exemplo, os metoxicinamatos substituídos, como o 3,4,5-trimetoxicinamato de etila (Figura 2), possuem importante papel no controle de doenças inflamatórias. Na produção de cosméticos, pode-se mencionar o uso de ésteres do ácido cinâmico de cadeia longa, como o metoxicinamato de octila (Figura 3), o qual é bem visto como agente de proteção solar (ADOLPHO, 2012).

Figura 2 – Estrutura do 3,4,5-trimetoxicinamato de etila



Fonte: (ADOLPHO, 2012)

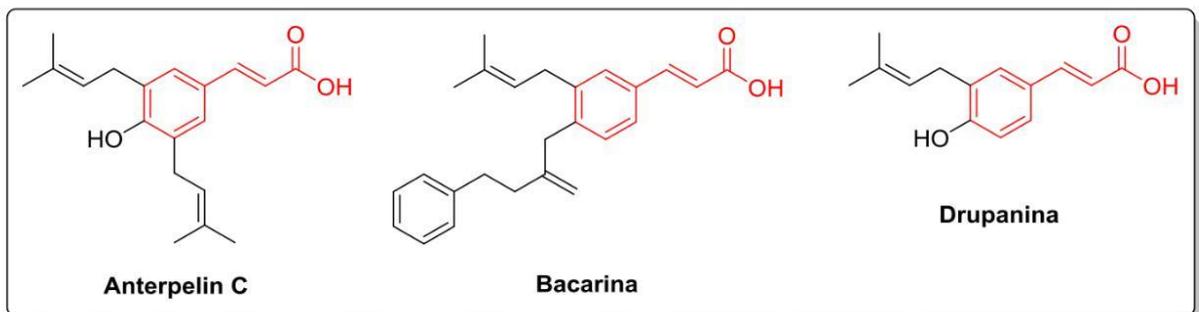
Figura 3 – Estrutura do metoxicinamato de octila



Fonte: (GUARATINI et al., 2009)

De acordo com De, Baltas e Bedos-Belval (2011) no extrato etanólico de própolis brasileira pode-se encontrar três derivados do ácido cinâmico, especificamente a artepilina C, bacarina e drupanin (Figura 4), que ambas têm ação antitumoral importante. Todos estes compostos apresentam atividade contra o câncer de cólon e linhagens celulares de leucemia na concentração de 15 μ M. Dentre eles, artepillin C é vista por exercer atividade antitumoral por indução de apoptose em linhas celulares de câncer humano.

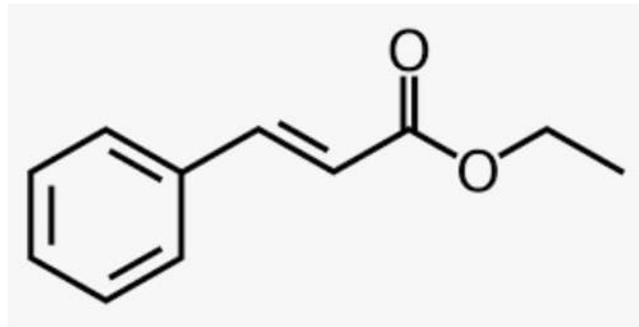
Figura 4 – Estrutura da artepilina C, bacarina e drupanina



Fonte: (RIBEIRO, 2011)

Outro derivado do ácido cinâmico que tem aprovação como aroma no *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) é o cinamato de etila (figura 5). Este produto também tem aplicações em cosméticos, fragrâncias finas, shampoos, sabonetes e em outras áreas como em produtos para cuidados da casa. Além disso, alguns estudos estão sendo desenvolvidos para a sua aplicação em fármacos (SOUZA, 2016).

Figura 5 - Estrutura do cinamato de etila



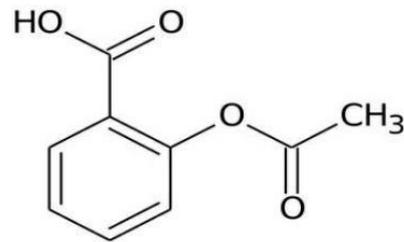
Fonte: (SOUZA, 2016).

2.3 DERIVATIZAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS: VANTAGENS E OBJETIVOS

No período entre 1981 e 2002, novos fármacos foram desenvolvidos a partir de produtos naturais. Então, os derivados de produtos naturais vêm sendo amplamente empregada na descoberta de novos fármacos que são utilizados em tratamentos, tais com, de diabetes, dislipidemia, infecções fúngicas e bacterianas, dermatite atópica e doença de Alzheimer (RODRIGUES, 2015).

O primeiro fármaco derivado de um produto natural produzido em escala industrial foi o ácido acetilsalicílico, ele foi sintetizado por Felix Hoffmann na empresa Bayer no final do século XVIII, sendo inspirado na estrutura da salicina, isolado de cascas da espécie de salgueiro (*Salix alba*). O ácido acetilsalicílico (Figura 6) é o componente da Aspirina[®], o medicamento mais vendido no mundo, que é utilizado como analgésico, anti-inflamatório, antitérmico e no tratamento da artrite reumatoide (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

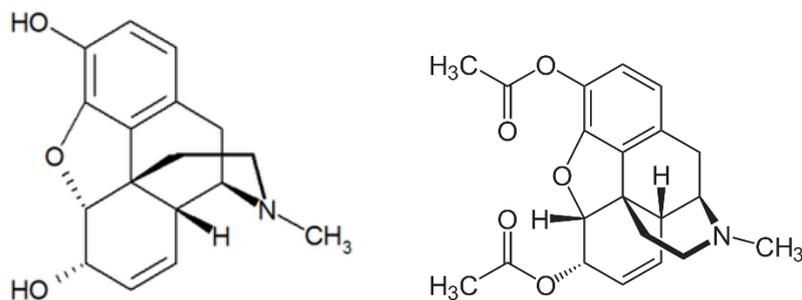
Figura 6 - Estrutura química do ácido acetilsalicílico



Fonte: (XAVIER; SOUZA, 2013)

A Heroína, ou Diacetilmorfina é derivada da morfina (Figura 7), que está presente em uma planta denominada de papoula (*Papaver somniferum*). A Heroína é uma droga opióide semi-sintética e foi inserida no mercado como medicamento, na esperança de ser efetiva contra tosse, sem os efeitos colaterais da morfina, porém isso não aconteceu. Essa substância tem um alto poder viciante, que traz uma mistura de sensações ao usuário, como por exemplo, sentimento de leveza, euforia, fuga da realidade, entre outros (CUNHA, 2009).

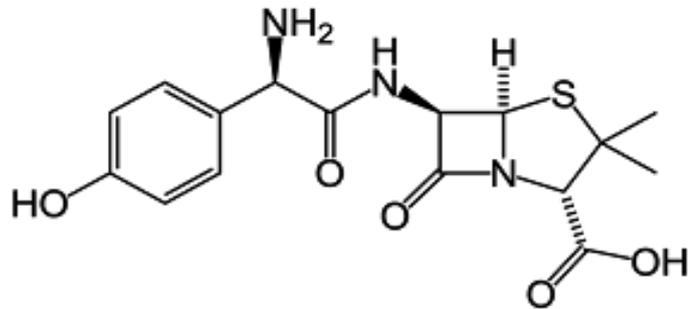
Figura 7 – Estrutura da Diacetilmorfina natural e da Heroína



Fonte: (LIMA, 2003)

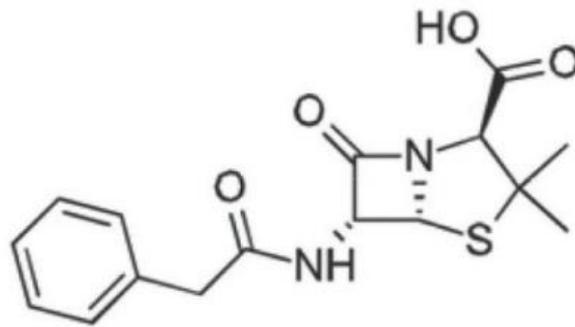
A amoxicilina (Figura 8) também é derivado de produto natural (penicilina), é um antibiótico β -lactâmico de espectro moderado. Que é uma penicilina semissintética (Figura 9), derivada da ampicilina, na qual é inativada por β -lactamases, sendo então sensível a microrganismos produtores de penicilinas. É um composto estável em meio ácido, que foi projetado para uso oral. Procede por inibição de desenvolvimento de proteínas da parede celular bacteriana, de forma geral, afetando a síntese de componentes dos peptidoglicanos da parede celular e causando lise osmótica (GOMES; SOUZA, 2010).

Figura 8 - Estrutura química da amoxicilina



Fonte: (PUTAROV; GALENDE, 2017)

Figura 9 - Estrutura química da penicilina

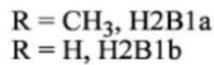
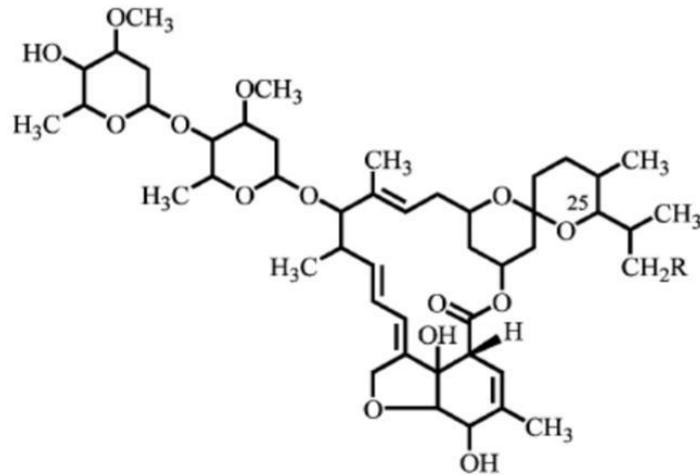


Fonte: (PICCIRILLO; AMARAL, 2018)

Outro exemplo de modificação química para obtenção de fármacos mais ativos e com menores efeitos colaterais é a ivermectina (Figura 10), um antibiótico macrolídeo semissintético, isolado do *Streptomyces avermitilis*, e está presente no grupo químico das avermectinas (Figura 11) (SILVA; FERREIRA; MIRANDA, 2018).

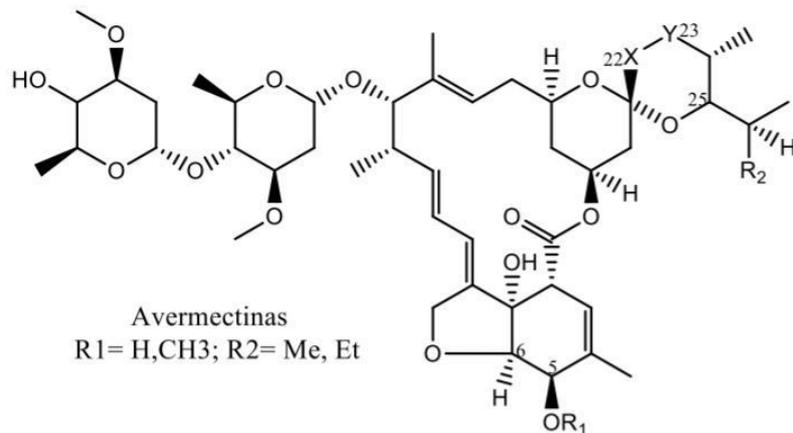
É extensivamente usado em animais de grande porte, como bovinos, equinos, ovinos, caprinos e camelídeos. A ivermectina é utilizada em tratamento e controle das parasitoses causadas por nematódeos gastrointestinais e pulmonares, nas infestações por bernes (miíase), piolhos, e auxiliar no tratamento de sarnas (escarbiose) e carrapatos (RIBEIRO et al., 2001).

Figura 10 - Estrutura química da ivermectina



Fonte: (MOREIRA, 2016)

Figura 11 – Estrutura química da avermectina



Fonte: (MOREIRA, 2016)

2.4 ENZIMAS

Para a obtenção dos derivados de produtos naturais, alguns pesquisadores e indústrias faziam o uso de metodologias sintéticas convencionais, que podem causar danos a vida humana e ao ambiente, pois elas geram substâncias tóxicas e as exigem energias que são reconhecidas por seus impactos ambientais e econômicos (CORREIA; OLIVEIRA, 2011).

Em vista disso, em meados do século XX, diversas indústrias e pesquisadores iniciaram a investir no desenvolvimento de tecnologias sintéticas que fossem ambientalmente favoráveis,

gerando mais economia de energia e menos resíduos tóxicos (SILVA; LACERDA; JONES JUNIOR, 2005).

Diante desse contexto, o uso de biocatalisadores vem se destacando em processos químicos. A utilização de enzimas em síntese orgânica tem muitas vantagens quando comparadas com os processos químicos convencionais catalisados ou não, o seu uso se destaca por apresentarem uma série de benefícios (RIBEIRO, 2014).

Devido ao alto teor catalítico das enzimas, cerca de dois terços das pesquisas em síntese orgânica por biotransformação, estão presentes as ações enzimáticas e isso leva a substituição dos catalisadores inorgânicos ou sintéticos (MARTINS, 2008). Enzimas são catalisadores biológicos, em sua maioria de linhagem proteica que catalisam a maior parte das reações em organismos vivos, elas também apresentam uma capacidade notável de catalisar reações químicas (GAVA, 1997).

As enzimas têm um vasto poder catalítico, por exemplo, velocidades de uma reação pode ser de aproximadamente 10^{10} a 10^{26} vezes superiores aos encontrados na ausência do catalisador. Diferente dos catalisadores metálicos, as enzimas operam como um reagente ambientalmente favorável, em vista que são totalmente degradáveis e os processos enzimáticos são executados sob condições operacionais mais brandas. Além disto, as reações biocatalíticas podem transformar uma grande diversidade de substâncias naturais ou não, em ambiente aquoso ou orgânico (CORTEZ; CASTRO; ANDRADE, 2016).

Esses catalisadores são encontrados na forma solúvel, e devido a esse fator isso pode deixá-las sujeitas à inativação por razões químicas, físicas ou biológicas, então para que o seu uso seja viável o ideal é seria a sua imobilização para que a catálise seja eficiente em um determinado processo (PEREIRA; ZANIN; CASTRO, 2003).

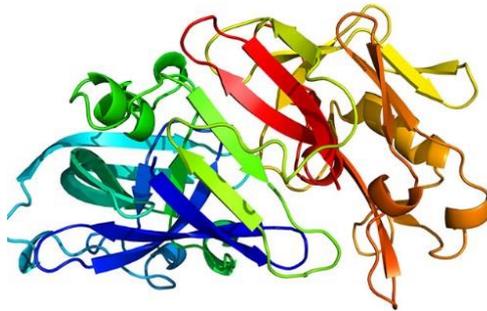
De acordo com Santos (2014), uso de enzimas imobilizadas demonstra diversas vantagens, a imobilização pode promover uma maior estabilidade em relação ao pH e temperatura, protege a enzima dos solventes, reduzir a inibição pelo substrato quando atingido o equilíbrio da reação.

Além disso, esses biocatalisadores são classificados pela união internacional de bioquímica e biologia molecular (IUBBM) de acordo com o tipo de reação que catalisam, sendo estas divididas em seis grupos, oxidorreductase, transferase, hidrolase, liase, isomerase e ligase (RIBEIRO, 2014).

2.4.1 Lipases

Dentre o grupo das hidrolases, temos as lipases (triacilglicerol hidrolases E. C. 3.1.1.3) (Figura 12) que são encontradas em fontes microbianas, animais e vegetais, e atuam sobre a ligação éster de vários compostos, sendo os acilgliceróis seus melhores substratos (SILVA, 2012).

Figura 12 – Estrutura tridimensional da Lipase



Fonte: (MARTINS, 2008)

Segundo Molinari (2015), essas enzimas destacam-se devido a sua ampla gama de posicionamento, especificidade, termoestabilidade, pH ótimo, entre outros. Esta viabilidade das lipases faz com que tenham aplicações em alimentos, detergentes, produtos farmacêuticos, de couro, têxteis, cosméticos, indústrias de papel e vários outros.

Além de quebrar as ligações éster de triacilgliceróis com o consumo de moléculas de água (hidrólise), as lipases são também aptas para catalisar reação reversa sob condições microaquosas como, por exemplo, a constituição de ligações éster, a partir de um álcool e ácido carboxílico. Essas reações constantemente são processadas com uma elevada regio e/ou enantiosseletividade, tornando as lipases um grupo de biocatalisadores significativo (PAQUES; MACEDO, 2006).

Segundo Dalla-vecchia; Nascimento; Soldi (2004), as lipases têm a eficácia de catalisar reações de hidrólise, esterificações, interesterificação, alcoólise, acidólise, aminólise e lactonização (Figura 13) em solvente orgânico anidro, sistema bifásico e em solução micelar com alta especificidade.

Figura 13 – Reações catalisadas pela Lipase

Hidrólise



Esterificação



Interesterificação



Alcólise



Acidólise



Aminólise



Lactonização



Fonte: (PAQUES; MACEDO, 2006)

Devido a sua grande potencialidade biotecnológica, essa enzima se destaca com: sua elevada estabilidade em solventes orgânicos; não necessita da existência de cofatores; dispõem uma ampla especificidade pelo substrato (PINTO, 2019).

As lipases podem ser utilizadas em várias áreas, entre elas pode-se mencionar a indústria oleoquímica em procedimentos como hidrólise, glicerólise e alcoólise, no desenvolvimento de ácidos graxos poli-insaturados (aditivos de alimentos), na indústria têxtil (melhoria dos tecidos), na indústria de detergentes (remoção de manchas de batom, frituras, azeites e molhos), na modificação de sabores (fermentação de salame e queijo), na indústria de essências, na biorremediação, na síntese de biodiesel, e outros (ARAGÃO *et al.*, 2009).

3 METODOLOGIA

As reações de esterificação do ácido cinâmico foram seguindo a metodologia descrita por Costa (2018).

3.1 REAÇÃO ENZIMÁTICA

3.1.1 Seleção da enzima

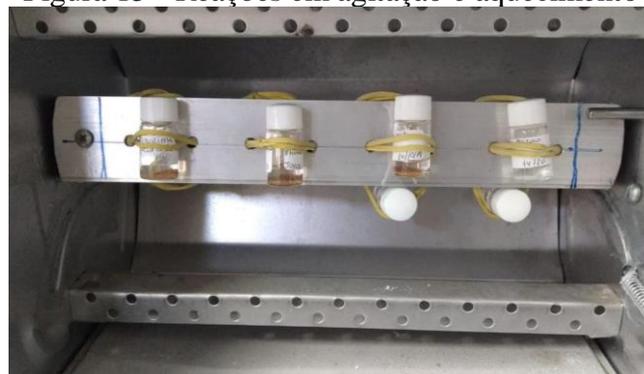
As primeiras reações de esterificação procederam-se com diversas enzimas comercializadas, com a adição de 20 mg de ácido cinâmico, 600 μ L de etanol, 2 mL hexano, e 20 mg de enzimas comerciais, *Thermomyces lanuginosus* (TLL), *Rhizomucor miehei* (RML), lipase B de *Candida antarctica* (CAL B) (Figura 14) e Amano lipase livre, os demais catalisadores estavam imobilizados, os quais permaneceram sob agitação à 40 °C, em um equipamento improvisado (Figura 15) com retirada de alíquota de 24h para análises na cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).

Figura 14 - Algumas enzimas usadas nas reações



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15 - Reações em agitação e aquecimento



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.1.2 Seleção do solvente

Para a obtenção do melhor solvente, foi procedido da seguinte forma: 20 mg de ácido cinâmico, 20 mg de CAL B, 600 μ L de etanol e 2 mL dos solventes, hexano, iso-octano, Tetraidrofurano (THF) e acetona (figura 16), as reações foram colocadas para agitar e aquecer em uma temperatura de 40°C, com 24h foi retirado alíquotas de cada reação para a análises.

Figura 16 - Solventes usados nas reações



Fonte: Elaborado pelo autor.

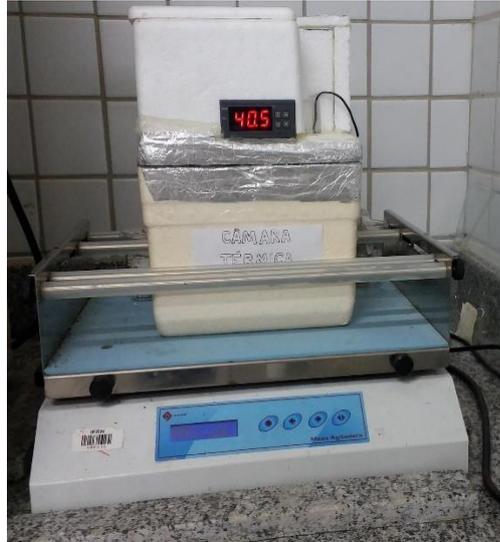
3.1.3 Avaliação do efeito da concentração do substrato

Essas reações foram com a relação molar de ácido:etanol de 0,1:0,5, 0,1:5 e 0,1:10. Respectivamente foram usadas as seguintes quantidades de etanol: 30 μ L, 300 μ L e 600 μ L, com a adição de 20 mg de ácido cinâmico, 2 mL hexano, e 20 mg de CAL B, as reações permaneceram sobe agitação por 24h e aquecimento de 40°C.

3.1.4 Avaliação de enzimas

Nessas reações foram procedidas da seguinte maneira: 20 mg de ácido cinâmico, 30 μ L de etanol e 2 ml de hexano, e 20 mg das enzimas TLL, RML, CAL B e Amano lipase não imobilizada, as reações foram colocadas para agitar e aquecer em uma mesa agitadora com uma câmara térmica (Figura 17) em uma temperatura de 40°C, e com 24h foi retirado alíquotas de cada reação para a análises.

Figura 17 - Mesa agitadora com uma câmara térmica



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO OBTIDO NAS REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO

3.2.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

O aparelho é proveniente da marca Shimadzu, modelo QP2010SE Plus que usa coluna capilar Rtx®-5MS (95% dimetilpolisiloxano e 5% difenil) de 30 m, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1 μm de espessura do filme da fase fixa. As temperaturas do injetor e do detector de 240 e 280 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Condições da coluna: 60 $^{\circ}\text{C}$ para 80 $^{\circ}\text{C}$ a 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, permanecera por 3 minutos; então de 80 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 280 $^{\circ}\text{C}$ a 30 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ permanecera nesta temperatura por 10 minutos, usando hélio (He) como gás de arraste com vazão de 1,0 mL min^{-1} (Figura 18).

Figura 18 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

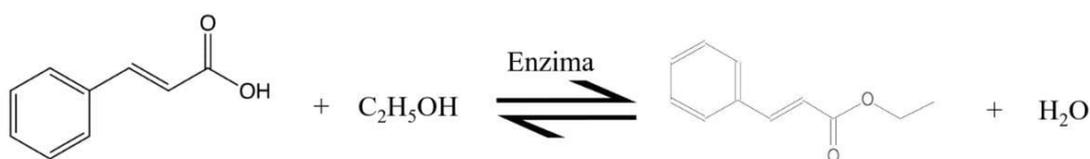


Fonte: Universidade Federal de Juiz de Fora, 2011.

4 RESULTADOS

Neste tópico serão apresentados e discutidos os resultados obtidos ao longo do estudo referente ao processo de esterificação do ácido cinâmico. Foram avaliadas as melhores condições (enzimas livres e imobilizadas, solvente e razão molar). Desta forma, temos na equação 01 a reação de esterificação do ácido cinâmico com o etanol, onde é possível observar o produto esperado o cinamato de etila.

Equação 01 – Reação de esterificação do Ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico



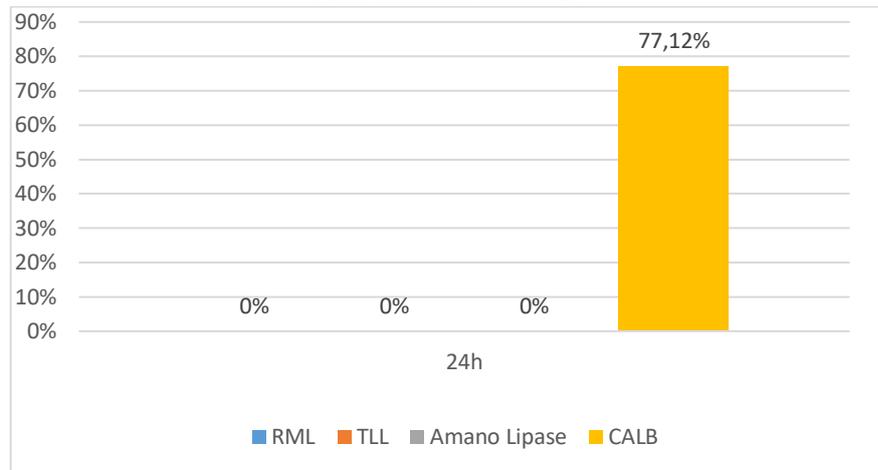
4.1 EFEITO DO CATALISADOR

Entre as enzimas escolhidas para as reações, podemos observar no gráfico 01 o percentual de esterificação, através da análise em CG/EM, que a CAL B imobilizada teve a conversão de 77,12% sendo considerado um valor bastante promissor. Uma vez que, a enzima CAL B é considerada um excelente catalisador para diversos tipos de reações, entre elas, a esterificação (FERNANDES, A. *et al.*, 2014).

Desta forma, de acordo com Souza (2013), em seu estudo sobre a lipase de *Candida antarctica* do tipo B (CALB) imobilizada, usada na catálise de ésteres, obteve-se conversão para aproximadamente 90% com esse biocatalisador sob temperatura de 60 °C em 48h de reação. Sendo assim, a máxima a conversão (96,8%) foi obtida a 25 °C com CALB imobilizada após 8 h de reação.

Neste contexto, podemos destacar a possibilidade dessa enzima ser objeto de estudos posteriores, por possuir bom potencial de aplicação na síntese de ésteres, uma vez que, as demais enzimas não formaram o produto desejado.

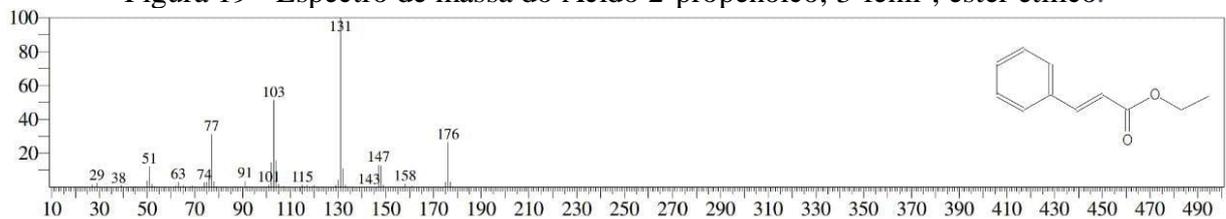
Gráfico 01- Resultado da variação de enzimas na reação de esterificação do ácido cinâmico com etanol e hexano.



Fonte: elaborado pelo autor.

A espectroscopia de massa (Figura 19) confirmou a produção do Ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico, com a presença do pico íon molecular em m/z 176, compatível com massa molecular esperada para o cinamato de etila.

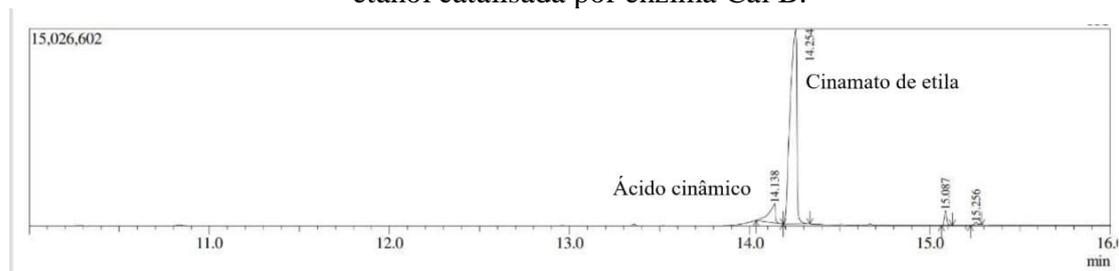
Figura 19 - Espectro de massa do Ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico.



Fonte: elaborado pelo autor.

No cromatograma (Figura 20) da reação após o período de 24 horas é possível perceber o do ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico, com tempo de retenção de aproximadamente 14 min.

Figura 20 - Cromatograma obtido da análise da reação de esterificação do ácido acético com etanol catalisada por enzima Cal B.



Fonte: elaborado pelo autor.

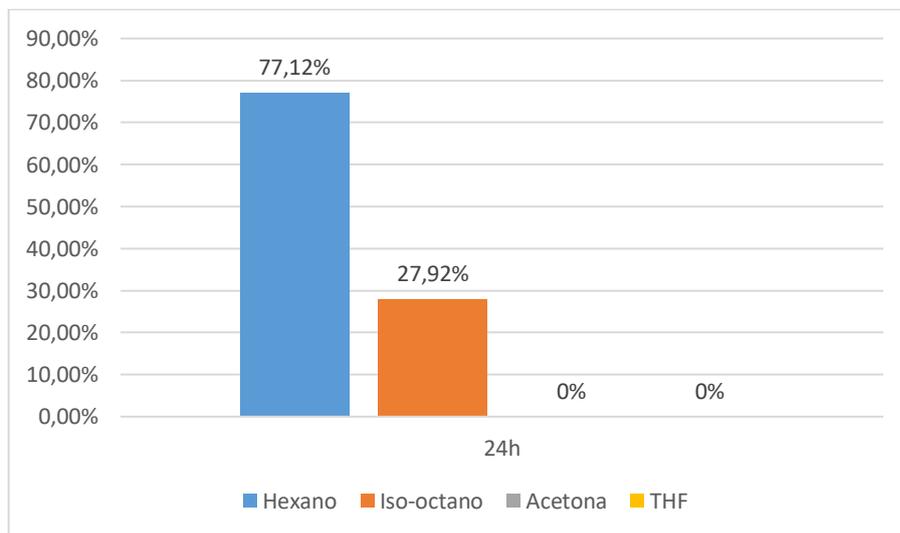
4.2 EFEITO DO SOLVENTE

A escolha do solvente orgânico é um fator importante que deve ser levado em consideração na catálise enzimática em meio não aquoso, em virtude de alguma interferência direta do solvente na atividade, estabilidade e especificidade da enzima.

Desta forma, os solventes menos nocivos às enzimas são os mais hidrofóbicos, por não ter interação significativa com água. Logo, os solventes hidrofílicos tendem a retirar a água essencial da camada protéica, acarretando à perda da atividade enzimática. Esses biocatalisadores, quando em suspensão em solventes hidrofóbicos, necessita substancialmente de uma quantidade de água menor para manutenção de sua atividade em comparação às enzimas suspensas em solventes hidrofílicos (PAULA; BARBOZA; CASTRO, 2005).

A enzima usada no teste seguinte foi a CAL B, selecionada na reação anterior. No gráfico 02 verifica-se que o maior percentual de esterificação (77,12%) foi obtido em hexano com 24h de reação, o iso-octano forneceu uma conversão molar de 27,92%.

Gráfico 02 – Efeito da variação de solventes nas reações de esterificação do ácido cinâmico com etanol para a obtenção do cinamato de etila.



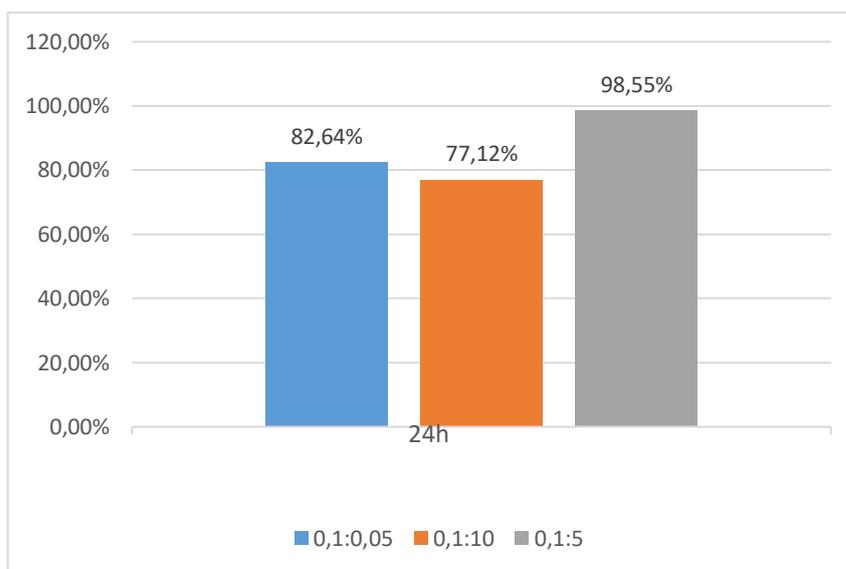
Fonte: elaborado pelo autor.

Enquanto que na presença de acetona e THF não foi observada reação. De acordo com Paula, Barboza e Castro (2005) esses solventes podem ter retirado a água essencial, presente na superfície, necessária à atividade da lipase, conduzindo à possível inativação da enzima.

4.3 EFEITO DA RAZÃO MOLAR

Conforme apontaram os resultados dos experimentos (Gráfico 03), o melhor teor de ésteres de 98,55% foi obtido com uma razão molar ácido:etanol de 0,1:5.

Gráfico 03 – Efeito da variação da concentração na reação de esterificação do ácido cinâmico com etanol catalisada pela enzima CAL B



Fonte: elaborado pelo autor.

Houve uma influência positiva na diminuição da razão molar ácido:etanol de 0,1:10 para 0,1:0,5 e a reação em que foi usado uma quantidade menor de etanol obteve 82,64% (0,1:0,5) do produto, enquanto a outra reação obteve 77,12% (0,1:10) de conversão. O que revela que a razão molar de 0,1:0,5 é mais satisfatória para favorecer a síntese de ésteres, uma vez que, não é necessário usar uma grande quantidade de etanol, como visto nas razões molares de 0,1:5 e 0,1:10.

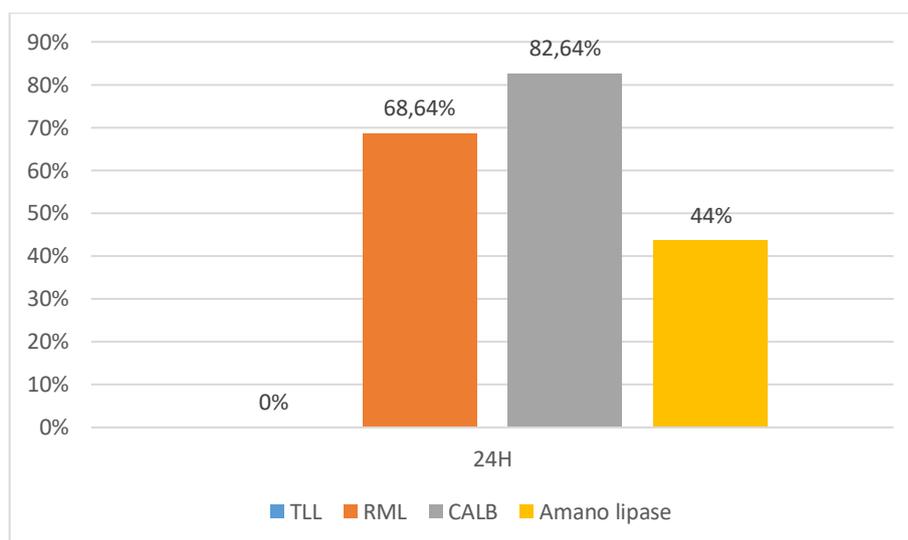
Contudo, existem dados na literatura que indicam que a diminuição de conversão da reação de esterificação acontece quando um grande excesso de um dos substratos está sendo usado. A possível razão para este comportamento é que em alta concentração, o álcool é ligado ao sítio ativo da enzima beneficiando a competição entre as moléculas reversível e impedindo a ligação dessas moléculas no éster (SBARDELOTTO, 2015).

4.4 EFEITO DA ENZIMA

As sínteses de ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico com molaridade de 0,1:0,05 de ácido:etanol, razão molar escolhida no item anterior, alcançou valores bastante significativos. Com 82,64% de esterificação após 24 h a enzima CALB teve mais uma vez o melhor resultado (Gráfico 04).

Comportamento semelhante foi observado na presença da RML a conversão de 68,64% de esterificação em 24h do produto esperado, diferente da enzima TLL que não apresentou nenhuma reação.

Gráfico 04 – Teor das reações com diferentes enzimas, usando a razão molar ácido: etanol de 0,1:0,5

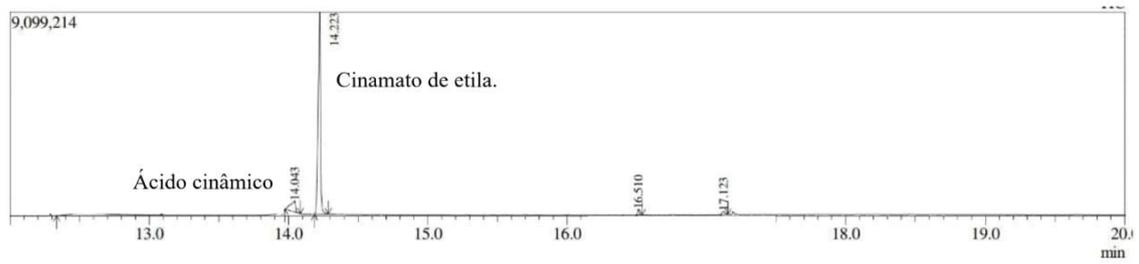


Fonte: elaborado pelo autor.

Com o teor de 44% tivemos a Amano lipase livre, apesar da formação do ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico, o uso de enzimas puras, não imobilizadas, pode ser dispendioso, e seu descarte após o uso é economicamente inviável. Logo, a sua recuperação do meio reacional pode ser difícil, além de ocasionar a perda de sua eficiência no decorrer do processo (ROMANO, 2020).

No cromatograma (Figura 21) da reação com a Amano lipase livre, após o período de 24 horas é possível perceber o ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico, com tempo de retenção de aproximadamente 17 min.

Figura 21 - cromatografia da formação do derivado do ácido cinâmico catalisado com a enzima Amano lipase livre



Fonte: elaborado pelo autor.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A síntese do ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster etílico foi conduzida em diferentes sistemas utilizando diferentes enzimas, solventes e molaridades. Com base nos resultados obtidos foi selecionado o sistema reacional em meio orgânico contendo hexano, por proporcionar resultados mais satisfatórios.

Entre as enzimas a selecionada foi a CAL B comercial imobilizada, além de apresentar valores significativos, a mesma tem a fácil recuperação do meio reacional por ser imobilizada. E por fim, a razão molar mais conveniente foi de ácido:etanol de 0,1:0,5, o valor foi significativo e não exige grandes quantidades do etanol.

Desta forma, o estudo apresentado neste trabalho conclui que as reações de esterificação via catálise enzimática são essenciais para a síntese de ésteres, sendo essa uma característica fundamental para a aplicação em processos que visem a redução de poluentes.

REFERÊNCIAS

- ADOLPHO, L. O. **Derivados dos ácidos clorogênico, cafeico e cinâmico: obtenção, avaliação da atividade antimicrobiana e de inibição enzimática.** 2012. 145 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.
- ARAGÃO, V. C. *et al.* Síntese enzimática de butirato de isoamila empregando lipases microbianas comerciais. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 9, p.2268-2272, maio 2009.
- BEZERRA FILHO, C. M. **Avaliação do efeito protetor de Óleos Essenciais extraídos de Eugenia brejoensis Croton sp. contra a morte celular induzida pelo estresse oxidativo.** 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2014.
- BRUGUEL, K. A. A. **Estudo da liberação controlada de derivados de ácido cinâmico utilizando sistemas baseados em polímeros biodegradáveis/biocompatíveis.** 2015. 89 f. TCC (Graduação) - Curso de Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.
- CARVALHO, S. A. *et al.* Synthesis and antimycobacterial evaluation of new trans-cinnamic acid hydrazide derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p.538-541, 28 nov. 2007.
- COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia enzimática.** São Paulo: Epub, 2008.
- CORREIA, C. R. D.; OLIVEIRA, C. C. A evolução da química orgânica sintética: Quo vadis. **Ciência e Cultura**, [s.l.], v. 63, n. 1, p.33-36, jan. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.21800/s0009-67252011000100013>.
- CORTEZ, D. V.; CASTRO, H. F. de; ANDRADE, G. S. S. Potencial catalítico de lipases ligadas ao micélio de fungos filamentosos em processos de biotransformação. **Química Nova**, [s.l.], p.85-96, 30 ago. 2016. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160163>.
- COSTA, A. K. M. **Extração, isolamento e modificação química dos ácidos anacárdicos presentes nas cascas da castanha de caju *anacardium occidentale* L. e avaliação do seu potencial antioxidante e antibacteriano.** 2018. 59 f. Monografia - Curso de Licenciatura em Química, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Apodi, 2018.
- CUNHA, J. R. **Caracterização de Perfis Químicos de Amostras de Heroína.** 2009. 141 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Biológica, Universidade do Algarve, Portugal, 2009.
- DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M. G.; SOLDI, Valdir. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros. **Química Nova**, [s.l.], v. 27, n. 4, p.623-630, ago. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422004000400017>.

DE, P.; BALTAS, M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents-A Review. **Current Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 18, n. 11, p.1672-1703, 1 abr. 2011. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/092986711795471347>.

FERNANDES, A. *et al.* Reações de síntese da lipase b de candida antarctica (CAL B) imobilizada em poliuretano, In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20, 2014. **Proceedings...** Florianópolis: Cobeq, 2014.

GAVA, A. J. **Princípios tecnológicos de alimentos**. São Paulo: Nbl, 1997.

GUARATINI, T. *et al.* Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.717-721, 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422009000300015>.

GOMES, M. L. P. C.; SOUZA, S. V. C. Validação de método para determinação de resíduos de amoxicilina aplicado à validação de limpeza em indústria farmacêutica de penicilínicos. **Química Nova**, [s.l.], v. 33, n. 4, p.972-977, 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010000400038>.

LEIROSE, G. D.; LOUSTALOT, M. F. G.; OLIVEIRA, A. H. de. A aplicação de multi-isótopos para controle de qualidade: ácido tartárico / the application of multi-isotopes for quality control. **Brazilian Applied Science Review**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 3837-3844, 2020. *Brazilian Applied Science Review*. <http://dx.doi.org/10.34115/basrv4n6-042>.

LIMA, E. C. **Determinação de opioides em cabelo via eletroforese capilar (CE)**. 2003. 205 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Usp, São Paulo, 2003.

MARTINS, M. P. Biotransformação de epóxidos com fungos de origem marinha e síntese de cloroidrinas. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Físico-química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MOLINARI, D. **Uso de ultrassom na hidrólise enzimática do óleo de crambe utilizando a lipase lecitase ultra (FosfolipaseA1)**. 2015. 138 f. Dissertação (mestrado) – Curso de bioenergia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo/PR: 2015.

MOREIRA, A. M. S. **Composições nanoestruturadas de avermectinas com β -ciclodextrina: síntese, caracterização físico-química e avaliação da atividade contra larvas do aedes aegypti**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de São João Del-rei Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Governador Valadares - Mg, 2016.

PAULA, A. V.; BARBOZA, J. C. S.; CASTRO, H. F. Estudo da influência do solvente, carboidrato e ácido graxo na síntese enzimática de ésteres de açúcares. **Química Nova**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 792-796, out. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422005000500011>.

PAQUES, F. W.; MACEDO, G. A. Lipases de látex vegetais: propriedades e aplicações industriais. **Química Nova**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.93-99, fev. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000100018>.

PEPERIDOU, A. *et al.* Multifunctional Cinnamic Acid Derivatives. **Molecules**, [s.l.], v. 22, n. 8, p.1247-1264, 25 jul. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22081247>.

PEREIRA, E. B.; ZANIN, G. M.; CASTRO, H. F. Immobilization and catalytic properties of lipase on chitosan for hydrolysis and esterification reactions. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s.l.], v. 20, n. 4, p.343-355, out. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-66322003000400002>.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [s.l.], v. 3, n. 4, p.146-152, nov. 2012.

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, [s.l.], p.4-10, 2018. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170210>.

PINTO, Gabrielle Barbosa. **PERFIL TECNOLÓGICO DAS LIPASES NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**. 2019. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

PUTAROV, N. B.; GALENDE, S. B. Estudo da relação estrutura química e atividade farmacológica dos antibióticos. **Revista Uningá**, [S.l.], v. 30, n. 1, nov. 2017. ISSN 2318-0579.

RIBEIRO, F. A. Q. *et al.* Tratamento da miíase humana cavitária com ivermectina oral. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, [s.l.], v. 67, n. 6, p.755-761, 1 nov. 2001. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-72992001000600002>.

RIBEIRO, M. **Atividade antimicrobiana do extrato de própolis vermelha e verde frente ao microrganismo staphylococcus aureus**. 2011. 56 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – Imesa, Assis, 2011.

RIBEIRO, S. S. **Aplicação da irradiação micro-ondas em biocatalise: resolução cinética, redução de cetonas e adição de Michael**. 2014. 320 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

RODRIGUES, M. P. **Síntese e avaliação de bioatividades de derivados do ácido cinâmico contendo o núcleo 1,2,3-triazólico**. 2015. 279 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

ROMANO, I. P. **Seleção de isolados fúngicos amazônicos produtores de lipases para biocatálise enantiosseletiva em meio orgânico**. 2020. 87 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.

SANTOS, B. L. **Imobilização de lipase por diferentes técnicas para obtenção de catalisadores estáveis**. 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Geral e

Aplicada, Área de Concentração Biomoléculas: Estrutura e Função, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu/SP, 2014.

SANTOS, S. L. dos. **Estudo sobre os efeitos anti-inflamatórios do ácido trans-cinâmico**. 2018. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió - Al, 2018.

SBARDELOTTO, C. R. **Síntese de butanoato de geranila (aroma de cereja) via esterificação enzimática em sistema livre de solvente orgânico**. 2015. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Uri - Erechim, Erechim, Rs, 2015.

SILVA, B. F. **Síntese e avaliação das atividades citotóxica e leishmanicida de cinamatos derivados da vanilina**. 152 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2018.

SILVA, F. M.; LACERDA, P. S. B.; JONES JUNIOR, J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química Nova**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.103-110, fev. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422005000100019>.

SILVA, M. L. **Obtenção de derivados químicos de produtos naturais empregando catálise convencional e enzimática**. 2012. 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

SILVA, N. S.; FERREIRA, J. S.; MIRANDA, E. G. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação por ivermectina em suínos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [s.l.], v. 25, n. 1, p. 3-5, 2018. Editora Cubo. <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2018.001>.

SOUZA, J. P. A. **Estudo de ancoragem molecular de derivados de ácido cinâmico frente às enzimas do ciclo replicativo do hiv-1**. 2015. 91 f. TCC (Graduação) - Curso de Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

SOUZA, M. C. M. de. **Imobilização de lipase de Candida antarctica do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Universidade Federal do Ceará, 2013.

SOUZA, R. de. **Avaliação de sistemas reacionais e ampliação de escala para a síntese enzimática de cinamato de geranila e suas propriedades antimicrobianas**. 2016. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - Sc, 2016.

SOUZA, R.; MACHADO, R. A. F.; OLIVEIRA, D. Transesterificação enzimática para obtenção de éster derivado de ácido cinâmico em meio ultrassônico. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 21, 2016, Fortaleza. **Proceedings...** Fortaleza: Cobeq, 2016.

THOMFORD, N. *et al.* Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: innovations for novel drug discovery. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 1578-10, 25 maio 2018 MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19061578>.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.326-337, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000200025>.

XAVIER, P. M.; SOUSA F. S. Análise do teor de ácido acetilsalicílico 100mg em comprimidos comercializados no município de Gurupi-TO. **Revista Amazônia**, Gurupi-to, v. 3, n. 1, p.35-42, 2013.