## PLANO DE TRABALHO DO BOLSISTA 1

BOLSISTA 1								
_	Biotransformações de compostos carbonílicos utilizando células íntegras de vegetais.							
Modalidade de bolsa solicitada:	PIBITI							

## Objetivos geral e específicos:

Treinar os alunos de graduação da Universidade Federal do Cariri visando à formação de pesquisadores capacitados a desenvolver trabalhos científicos/tecnológicos em centros de pesquisa na área de química de produtos naturais, na realização de biotransformações em compostos carbonilados utilizando células íntegras de espécies vegetais, em especial as da família Fabaceae, bem como quantificar o teor de proteína de espécie investigada.

## Metodologia:

- 1. Levantamento bibliográfico em sites de busca científicos;
- 2. Coleta e identificação do material botânico a ser investigado como fonte de novos biocatalisadores;
- 3. Obtenção e determinação dos padrões: os padrões dos álcoois racêmicos serão obtidos através de síntese química a partir das cetonas e dos aldeídos padrões com boroidreto de sódio. A purificação dos produtos será efetuada através de coluna cromatográfica de sílica gel. Todos os padrões serão elucidados por RMN e a separação dos enantiômeros será realizada por coluna quiral de CG-DIC ou por CLAE;
- 4. Realização das biotransformações, especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células integras de espécies vegetais: nos experimentos serão utilizadas as folhas, flores, caule, raízes, cascas e/ou sementes de espécies vegetais como biocatalisadores, em solução aquosa, juntamente com os substratos a serem testados e agitados em Shake (150 rpm). A biorredução de cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos será realizada usando a proporção de 145 mL de água, 200 mg de substrato, acondicionada em Erlenmeyer (250 mL), e submetidas a agitação em Shaker (150 rpm) por um período de 72 h. As amostras então serão filtradas a vácuo e o filtrado será extraído com AcOEt (3x100mL). As fases orgânicas serão secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentradas sob pressão reduzidas. frações obtidas serão analisadas inicialmente recromatografadas em gel de sílica e analisadas por infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C) e/ou cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou outros processos;
- 5. Análises espectroscópicas dos bioprodutos: Infravermelho: os espectros de absorção na região do infravermelho serão registrados em espectrômetro Perkin-Elmer modelo 720. Para as substâncias sólidas serão utilizadas pastilhas de KBr e para as demais serão preparados filmes (análise realizada pelo bolsista na UFCA); Cromatógrafo Gasoso acoplado a espectrometria de massas: o cromatógrafo a gás a ser utilizado será da marca Shimadzu modelo GC 17A, acoplado a um espectrômetro de massas MS QP5050A

equipado com coluna capilar de sílica fundida J&W Scientific DB-5 (50m de comprimento e 0,25µm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura do filme). Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade (análise realizada em parceria com a URCA); Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN <sup>1</sup>H) e de Carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C): os espectros de RMN uni- e bidimensionais serão obtidos em espectrômetro Bruker AC-500, operando em 500 MHz para hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C), respectivamente. Os espectros unidimensionais de RMN <sup>13</sup>C serão obtidos totalmente desacoplados e, também, utilizando-se a técnica DEPT-135 (ângulo de nutação 135°). Utilizar-se-ão algumas técnicas de RMN bidimensionais: espectroscopia de correlação homonuclear (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY), espectroscopia de Efeito Nuclear Overhauser bidimensional (NOESY). Os métodos de detecção inversa que serão utilizados são coerências quânticas múltiplas heteronucleares (HMQC) e correlação de ligações múltiplas heteronucleares (HMBC). Os solventes deuterados: clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>), metanol (MeOD), piridina (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) e dimetilsulfóxido (DMSO) serão utilizados na dissolução das substâncias submetidas às análises (análise realizada em parceria com a UFC – caso seja necessária);

- 6. Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade: os excessos enantioméricos (% ee) dos produtos quirais serão determinados através de Cromatógrafo Gasoso (CG-DIC) e CLAE utilizando coluna quiral. A enantiosseletividade e o teor de conversão serão determinados por meio de programa específico obtido por meio de uma curva de calibração usando 20 padrões (análise realizada em parceria com a UFC);
- 7. Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas: inicialmente os materiais vegetais serão lavados com uma solução de hipoclorito de sódio 5% por 10 minutos. Logo após as partes dos vegetais serão cortadas em pedaços pequenos, pesados e acondicionados em erlenmeyer com água destilada por três dias em geladeira. Após esse intervalo o extrato será filtrado e será obtido o concentrado enzimático. Posteriormente à extração do concentrado enzimático dos vegetais, serão realizados experimentos para determinação do teor de proteínas nos extratos. Os vegetais que apresentarem os melhores resultados serão selecionados para os testes posteriores. Os dois métodos mais comumente utilizados em rotinas de laboratórios serão aplicados na determinação do conteúdo de proteína, o Método de Lowry, modificado por Hartree (HARTREE, 1972) e o Método de Bradford (BRADFORD, 1976). O primeiro método se baseia em uma reação química com as enzimas e o segundo na fixação de corantes na superfície das enzimas. Onde o corante utilizado é "Coomassie Brilliant Blue G-250" e baseia-se na interação de grupos ácidos e básicos das proteínas com dissociação dos grupos do corante formando um complexo colorido;
- 8. Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos;
- 9. Elaboração e envio do Relatório Final individual.

## Cronograma de atividades:

Atividade		Mês											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Realização	de												
levantamento		X											
bibliográfico.													

dos padrões.  Coleta de material botânico.  Realização das biotransformações, especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos c/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	Obtenção e determinação	X	X									
botânico.  Realização das biotransformações, especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	dos padrões.	1	11									
botânico.  Realização das biotransformações, especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final				X	X	X	X	X	X			
biotransformações, especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células integras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	3											
biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	, .											
substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	-											
como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
aromáticos e alifáticos utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final				X	X	X	X	X	X			
utilizando células íntegras de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
de espécies vegetais.  Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
Análises espectroscópicas dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	_											
dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
dos bioprodutos.  Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final				X	Y	X	X	X	Y			
estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	<u> </u>			71	21	71	71	21	71			
das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	Determinação das											
dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	-											
dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	-					Y	Y	Y	Y			
enantiosseletividade.  Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final						1	1	1	<b>A</b>			
Obtenção dos extratos enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
enzimáticos e quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	enantiosseletividade.											
quantificação do teor de proteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	,											
roteínas.  Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final							<b>X</b> 7	<b>X</b> 7	*7			
Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	quantificação do teor de						A	A	A			
serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final  X X  X X	proteínas.											
serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final  X X  X X	Elaboração de artigos a											
eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	, ,											
publicados em periódicos científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final	<u> </u>									X	X	
científicos.  Elaboração e envio do Relatório Final												
Elaboração e envio do Relatório Final X												
Relatório Final X												
	,											$\mathbf{X}$
	individual.											