
ENZIMAS EM BIOCATÁLISE
(Esterificação de aminas, adição de
Michael, clonagem e expressão de álcool
desidrogenase)

Yara Jaqueline Kerber Araujo

Instituto de Química de São Carlos
Universidade de São Paulo

ENZIMAS EM BIOCATÁLISE (Esterificação de aminas, adição de Michael, clonagem e expressão de álcool desidrogenase)¹

Yara Jaqueline Kerber Araujo

Orientador: *Prof. Dr. André Luiz Meleiro Porto*

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos (IQSC-USP) como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, com habilitação em Química Orgânica

**São Carlos - SP
Janeiro/2013**

¹Trabalho realizado com auxílio financeiro do CNPq (proc. 141412/2009-7).

Dedico este trabalho ao meu irmão Luciano, que não teve tempo para ouvir o quanto eu o amo, pelo seu amor e rigidez de pai que me tornaram quem sou hoje. Descanse que em breve nos veremos lá no céu, Até breve!

Agradecimentos

- A Deus por me sustentar em pé a cada dia.
- Ao meu esposo Erick pelo amor, pela paciência e principalmente pela parceria ilimitada.
- À minha mãe pelo amor sem fim e as horas de terapia by fone.
- Ao meu irmão e pai Luciano pelo cuidado e apoio silencioso, mas presente. Saudades...
- Ao meu irmão Juliano pelo carinho e as ligações impróprias.
- A toda minha família que de algum modo sempre está ao meu lado.
- Ao Professor Dr. André L. M. Porto, que apesar das divergências me proporcionou um grande crescimento profissional.
- À minha chefinha Cidinha que me dá forças para enfrentar qualquer coisa e me apoia com suas orações.
- Ao meu colega Reinaldo pelos infra-vermelhos, a parceria no trabalho e as horas de conversa.
- Aos meus colegas de laboratório, Lenilson, Mariana, Julieta, Ana Maria, Sandra, Natália, Irlon, Alex e Isac (fiote).
- Aos meus colegas do laboratório da Profa. Dra. Fernanda Canduri que me adotaram como um dos seus, Nathália, Cintia, Nikolas, Juliana e Kelly.
- À Camila Thomas por ter paciência e me ensinar a arte da biologia molecular.

- A Profa. Fernanda Canduri pela co-orientação, amizade e confiança que me proporcionou um novo rumo na vida científica.
- Aos meus sogros que prometeram uma festa para a primeira Doutora da família.
- A todos os amigos que de tantos fica difícil colocar os nomes, mas que de suas maneiras especiais me apoiaram com as conversas, sorrisos, olhares e companheirismo durante esses 4 anos.
- Aos técnicos do CAQI (Central de Análises Químicas Instrumentais)- André (IV) e Silvana (RMN).
- Aos técnicos, do Grupo de Química Orgânica e Biocatálise, Marília e João Pedro.
- A Silvia, Andréia e Gustavo da secretaria de Pós-Graduação do Instituto de Química de São Carlos.
- Ao Instituto de Química de São Carlos/USP, pelo apoio institucional.
- Ao CNPq pela bolsa de doutorado.
- À FAPESP e ao CNPq pelo financiamento dos projetos.

E a todos que de alguma forma contribuíram para o sucesso deste trabalho.
Muito obrigada!!!

Resumo

As lipases têm um papel importante no desenvolvimento da biotecnologia e são empregadas na química orgânica como biocatalisadores com alta regio- quimio- e enantiosseletividade. Além de permitir sínteses mais sustentáveis e que estão em concordância com os princípios da Química Verde. A resolução enzimática de aminas racêmicas tem se mostrado uma maneira eficiente de obter aminas enantiomericamente puras, que podem ser empregadas na síntese assimétrica de fármacos e agroquímicos. Neste trabalho a resolução enzimática de 4 aminas primárias sendo elas 2-amino-heptano **1**, 2-metil-cicloexil amina **3**, 1-metil-3-fenilpropilamina **2**, 1,2,3,4-tetra-hidro-1-naftilamina **4**, foram estudadas obtendo-se resultados relevantes. Para a 2-amino-heptano **1** resultados semelhantes aos da literatura foram obtidos com uma redução de 2,4 vezes no tempo reacional quando a resolução cinética foi em hexano na presença de CAL-B e acetato de etila como acilante obteve-se uma conversão na (*R*)-*N*-(1-metil-hexil)acetamida **4** de 42% e um excesso enantiomérico de 88% (tempo = 7h). Observaram-se também os efeitos da concentração de lipase no meio reacional, da temperatura e de diferentes solventes frente a 11 lipases. Os primeiros estudos de resolução cinética enzimática com a 2-metilcicloexil-amina **3** são apresentados neste trabalho com conversões de até 98% porém sem excesso enantiomérico. Uma outra característica das lipases é a capacidade de catalisar reações diferentes da sua função natural (promiscuidade), o que permite que elas catalisem reações de adição de Michael, além de suas reações normais que são a hidrólise e esterificação. A adição de Michael catalisada por lipases entre as 4 aminas primárias já citadas e acrilonitrila foi estudada com e sem a influência da irradiação micro-ondas, demonstrando a maior estabilidade de lipases imobilizadas sob irradiação micro-ondas. Os adutos de Michael obtidos (3-[(1-metil-hexil)amino]propanonitrila **9**, 3-[(1-metil-3-fenil-propil)amino]propanonitrila **10**, 3-[(2-metil cicloexil)amino]propanonitrila **11**

e 3-(1,2,3,4-tetra-hidronaftaleno-1-amino)propanonitrila **12**) foram sintetizados pela primeira vez com a metodologia onde foi utilizada a água, acrilonitrila e irradiação micro-ondas e os adutos **9**, **10** e **11** não são descritos na literatura. Outro viés do trabalho foi a clonagem e expressão da álcool desidrogenase de *Bacillus subtilis* que foi clonada, expressa e purificada com sucesso. O interesse em tal enzima deve-se a resultados obtidos na literatura onde a utilização de células íntegras de *B. subtilis* apresentou a redução de cetonas a álcoois com alta enantiosseletividade.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

