

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ALLYNE MOREIRA DOS SANTOS**

**BIOTRANSFORMAÇÕES DE MONOTERPENOS  
MEDIADAS POR FUNGOS**

**DOURADOS**

**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ALLYNE MOREIRA DOS SANTOS**

**BIOTRANSFORMAÇÕES DE MONOTERPENOS  
MEDIADAS POR FUNGOS**

*Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química Industrial da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de graduada em Química Industrial, sob orientação do Prof. Dr. Alex Haroldo Jeller.*

**DOURADOS**

**2015**

# **BANCA EXAMINADORA**

## **Biotransformações de monoterpenos mediadas por fungos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química Industrial da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Química Industrial.

---

Prof. Dr. Alex Haroldo Jeller (Orientador/UEMS)

---

Prof. Dr. Leonardo Martins Ribeiro (UFGD)

---

Prof. Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira (UFGD)

**Dourados**

**2015**

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, que me apoiaram em todos os momentos da minha vida e aos meus professores que sempre me incentivaram a buscar e renovar o conhecimento.*

***Muito Obrigada!***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, em quem encontrei refúgio e força nas horas de dificuldade e me deu esperanças para superar os obstáculos encontrados nessa etapa da graduação.

Ao Prof. Dr. Alex Haroldo Jeller, por ter me dado oportunidade de ter feito parte da sua equipe de pesquisa e ter dedicado seu tempo para me orientar na realização deste trabalho, ensinando-me a ter um olhar mais crítico e a buscar sempre melhorar e aprimorar meus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Gilberto José de Arruda, quem me deu privilégio de fazer parte da sua equipe de pesquisa e depositou em mim confiança desde o primeiro ano de Universidade; seus ensinamentos serviram para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus pais, Rosângela Moreira dos Santos e José Ananias Monteiro da Silva, pela dedicação, amor e por terem lutado para me proporcionar esta oportunidade de um futuro promissor, abdicando dos próprios sonhos, para me ajudar a realizar os meus.

Aos meus amigos da Universidade: Ana Paula Gusmão, Danilo Uemura, Elaine Pio, Elen Santos, Elizabete Maximiano, Érica Castro, Júnior Camargo, Laís Zacheu, Linston Romão, Poliane Alves, Rafael Souza, Taís Silva, Vanessa Ellen e Verônica Augusta, pelos momentos de estudos, brincadeiras e festas e por muitas vezes terem estendido a mão para me ajudar.

Aos meus amigos Ananda Barbosa, Diandra Gonçalves, Joseane Monteiro, Marcela Kátia, Murilo Godinho, Paulo Eduardo, Sabrina Vieira e Vanessa Santos, pois eles sempre me apoiaram, deram-me conselhos e força nessa jornada importante na minha vida, além de terem também comemorando comigo nos momentos de alegria.

Aos meus familiares, que sempre estiveram do meu lado, apoiando-me nos momentos ruins e também comemorando comigo nos melhores momentos.

Agradeço também a todos que direta ou indiretamente também contribuíram para a realização desse sonho, que agora está cada vez mais perto de se tornar realidade.

A UEMS, onde passei esta etapa da minha vida e recebi bolsas de iniciação científica e auxílio para apresentação de trabalho em congresso e a partir da conclusão dessa fase, posso colocar em prática o conhecimento adquirido nesses anos de estudo transmitido pelo corpo docente.

## RESUMO

Os metabólitos primários e secundários são substâncias naturais que auxiliam nos processos de crescimento e manutenção das plantas. Dentro da classe dos metabólitos secundários encontram-se os terpenos e desses são considerados óleos essenciais os monoterpenos e sesquiterpenos, além de outras substâncias, os quais apresentam propriedades medicinais sendo apreciadas pela indústria. O presente constitui em realizar um levantamento no banco de dados Scopus, este tem como objetivo apresentar estudos relacionados a biotransformações de monoterpenos mediadas por fungos, os produtos dessas reações e quais os métodos utilizados para a identificação dos produtos. Mediante reação de biotransformação, os micro-organismos são capazes de modificar regiões específicas das moléculas e transformar uma substância simples em outra com valor industrial agregado. Esse método vem sendo foco de estudos científicos na obtenção natural dos óleos essenciais, pois não utiliza reagentes químicos específicos, os produtos são considerados naturais e há uma probabilidade de geração de novas substâncias. Isso ocorre devido a complexibilidade que esses organismos vivos apresentam geneticamente. Os produtos obtidos após a reação de biotransformação apresentaram características mais hidrofílicas com hidroxilações, epoxidações, adição de carbonilas e formação de ésteres e o método de identificação mais utilizado foi a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. A biotransformação é uma área que apesar de ser estudada a tempos, ainda está em desenvolvimento e a grande maioria de suas pesquisas são voltadas para a descobertas de substâncias úteis para o tratamento de doenças e o aumento da atividade biológica dos produtos de reação.

**Palavras-chave:** Monoterpenos, Óleo essencial, Micro-organismo.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Interação entre enzima e substrato, modelo chave-fechadura.....	13
---	----

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1:	Formação dos terpenos.....	13
Esquema 2:	Representação da reação de oxidação pelo citocromo P450.....	16
Esquema 3:	Diferentes reações de biotransformação empregando o fungo por <i>Hormonema</i> sp. UOFSY-0067, tendo como substrato o limoneno (1), (-)- $\alpha$ -pineno (3) e do (-)- $\beta$ -pineno (6).....	19
Esquema 4:	Biotransformação da (R)-(+)-pulegona por <i>Mucor piriformes</i> .....	20
Esquema 5:	Biotransformação do citronelol por <i>Cystoderma carcharis</i> .....	21
Esquema 6:	Biotransformação do $\alpha$ -pineno por <i>Aspergillus niger</i> ATCC 326 e NCL 612.....	21
Esquema 7:	Biotransformação do citrol em citral e em 6-metilept-5-en-2-ona e do geranial em ácido gerânico por <i>Penicillium digitatum</i> ATCC 201167.....	22
Esquema 8:	Biotransformação do (R)-(+)- $\alpha$ -pineno por <i>Picea abies</i> .....	23
Esquema 9:	Biotransformação do limoneno por <i>Aspergillus niger</i> .....	23
Esquema 10:	Biotransformação do limoneno por <i>Penicillium simplicissimum</i> .....	24
Esquema 11:	Biotransformação do R-(+)-limoneno por <i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Fusarium oxysporum</i> 152B.....	24
Esquema 12:	Diferentes reações de biotransformação empregando o fungo por <i>Trichosporum cutaneum</i> CCT 1903, tendo como substrato a <i>cis</i> -jasmona (40), (R)-(-)-carvona (44), $\alpha$ -ionona (49), $\beta$ -ionona (51) e (R)-(+)-limoneno (39), formando seus respectivos produtos.....	26
Esquema 13:	Biotransformação do citral por <i>Penicillium</i> sp.....	26
Esquema 14:	Biotransformação da piperitona por <i>Botrytis cinera</i> AM235.....	27
Esquema 15:	Biotransformação da piperitona por <i>Absidia cylindrospora</i> AM336..	27
Esquema 16:	Biotransformação da piperitona por <i>Absidia glayca</i> AM177.....	27
Esquema 17:	Biotransformação do $\alpha$ -pineno em verbenol por pelos fungos <i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Paecilomyces</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. e <i>Rhizopus</i> sp.....	28
Esquema 18:	Biotransformação do R-(+)-limoneno em $\alpha$ -terpineol <i>Paecilomyces</i> sp. e <i>Penicillium</i> sp.....	28
Esquema 19:	Biotransformação do $\beta$ -pineno em $\alpha$ -terpineol pelos fungos <i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Paecilomyces</i> sp. e <i>Penicillium</i> sp.....	28
Esquema 20:	Biotransformação do D-limoneno em $\alpha$ -terpineol pelo fungo <i>Penicillium digitatum</i> NRRL 1202.....	29
Esquema 21:	Biotransformação do R-(+)-limoneno e $\beta$ -pineno em $\alpha$ -terpineol por <i>Aspergillus niger</i> .....	29
Esquema 22:	Biotransformação do $\alpha$ -felandreno por <i>Corynespora cassicola</i> (DMS 62474 E DMS 62475), <i>Fusarium heterosporium</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Botrytis cinera</i> , <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Phanerochaete chrysosporium</i> .....	30



Esquema 23:	Biotransformação do lavandulol ( <b>63</b> ) e tetraidrolavandulol ( <b>64</b> ) pelo fungo <i>Rhizopus oryzae</i> .....	31
Esquema 24:	Biotransformação do car-3-eno por <i>Pleurotus sapidus</i> .....	31
Esquema 25:	Biotransformação do $\alpha$ -pipeno por <i>Absidia corulea</i> .....	31
Esquema 26:	Biotransformação do $\alpha$ -pipeno ( <b>3</b> ) e do geraniol ( <b>24</b> ) por fungos <i>Polyporus brumalis</i> .....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
DEPT	<i>Distortionless enhancement by polarization transfer</i>
EM	Espectrometria de massa
gCOSY	<i>Gradient correlate spectroscopy</i>
gHMBC	<i>Gradient heteronuclear multiple bond correlations</i>
gHSQC	<i>Gradient heteronuclear through multiple quantum coherence</i>
IV	Infravermelho
MEB	<i>Malt extract broth</i>
MYB	<i>Malt yeast broth</i>
NADH	Fosfato de nicotinamida adenina nucleotídeo
NADPH	Fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo
RAPD	<i>Random amplified polymorphic DNA</i>
RMN de <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de <sup>1</sup> H	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
1.1	Biotransformação.....	14
1.2	Enzimas responsáveis pela biotransformação.....	14
1.3	Caracterização estrutural de biotransformação de monoterpenos.....	16
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

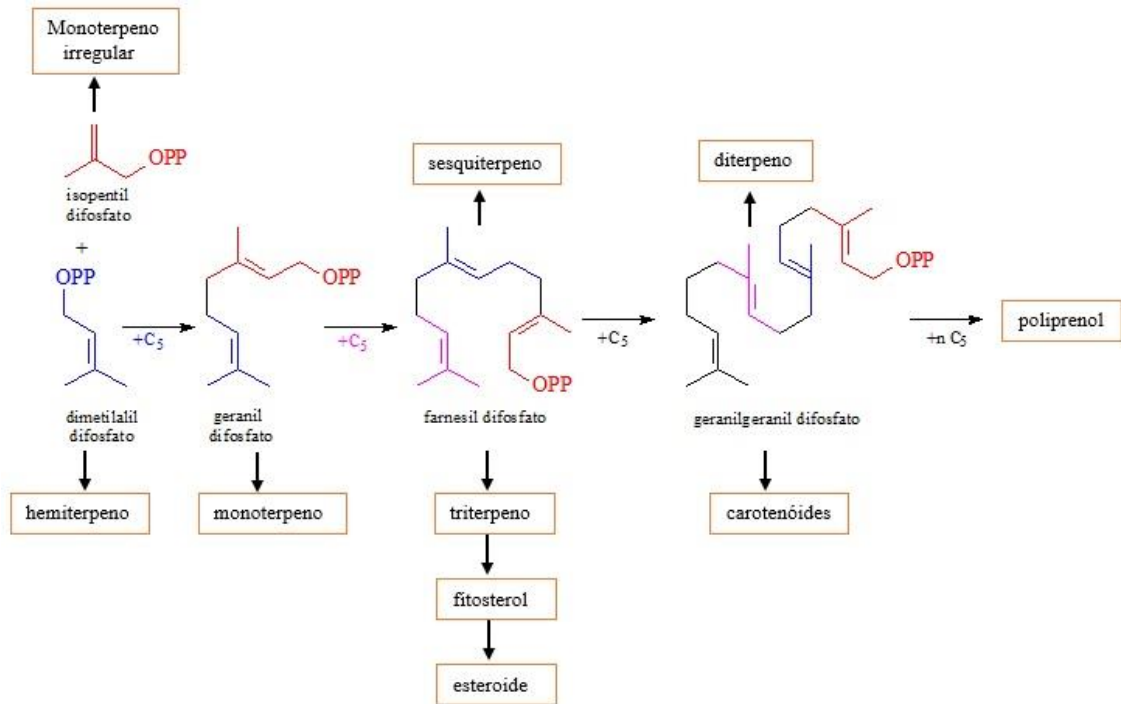
São chamados óleos essenciais misturas de substâncias voláteis produzidas por organismos vivos e isolados por meios físicos apenas, a partir de uma planta ou parte de uma planta de origem taxonômica conhecida. Estes são derivados de três principais vias biossintéticas: mevalonato (sesquiterpenos); metileritritol (mono e diterpeno) e ácido chuquímico (fenilpropenos) (BASER *et al.*, 2010).

Os óleos essenciais possuem propriedades apreciadas pela indústria farmacêutica podendo atuar como antisséptico, antimicrobiano, sedativo, anti-inflamatório, anestésico local, sedativo, além de serem utilizadas em indústria agrônômica, alimentícia, sanitária, entre outras (BAKKALI *et al.*, 2008).

Os óleos essenciais são constituídos por algumas classes de substâncias, dentre elas se destacam os terpenos (mono e sesquiterpenos), aromáticos e outros constituintes alifáticos. São conhecidos mais de 3000 óleos essenciais, encontrados em diferentes concentrações de acordo com seus componentes. Estes são obtidos por variados métodos de extração, definidos a partir da aplicabilidade do produto final, por exemplo, para a produção de perfumes que é preferencialmente utilizado extração com solventes e/ou dióxido de carbono supercrítico (BAKKALI *et al.*, 2008).

A principal classe de substâncias as quais os óleos essenciais fazem parte é a dos terpenos, estes são considerados como o maior grupo de produtos naturais, sendo conhecido mais de 40.000 estruturas. Estão envolvidos em vários processos fundamentais nas plantas, como fotossíntese (cadeias laterais de clorofila, carotenóides), transferência de elétrons por reações redox (quinonas), regularização de crescimento, desenvolvimento, defesa, reprodução, dentre outras funções (SCHWAB, 2015).

Os terpenos variam de acordo com a quantidade de carbonos presentes em suas estruturas e são classificados como: hemiterpenos (C<sub>5</sub>), monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>). Podendo apresentar em suas estruturas, composições acíclicas e cíclicas, diferentes grupos funcionais, tais como álcoois, aldeídos, cetonas, éster e éter, e atividade ótica. No Esquema 1 apresenta a formação dessa classe (BAKKALI *et al.*, 2008; PARSHIKOV *et al.*, 2014).



**Esquema 1:** Via biossintética de formação dos terpenos.

FONTE: SCHWAB, 2015

Muitos monoterpeneos são responsáveis pelo aroma característico das flores e o sabor das frutas, por exemplo, o *R*-limoneno está presente em mais de 90% da composição do óleo essencial da laranja; o enantiômero *S*-linalol é encontrado na composição do óleo essencial de diferentes frutas como goiaba, lichia, manga, nectarina, laranja, maracujá; o citral é encontrado em ervas com cheiro de limão, como o capim-limão e verbena (SCHWAB, 2015).

Além dessas propriedades odoríferas e de sabores, as substâncias presentes nos óleos essenciais possuem interessantes atividades biológicas, por exemplo a cânfora, que é um monoterpeneo bicíclico, apresenta atividade antimicrobiana, antiviral, agente analgésico e inseticida, podendo também ser encontrada em cosméticos, alimentos e produtos de limpeza (SANTOS *et al.*, 2015).

Considerando a importância dos monoterpeneos, esta monografia visou realizar um levantamento bibliográfico, com o intuito de apresentar pesquisas relacionadas às biotransformações desta classe de substâncias, empregando fungos de diferentes origens como biocatalisadores.

### 1.1. Biotransformação

A biotransformação pode ser definida como um processo de modificação em uma parte específica de uma determinada substância, para gerar produtos com semelhanças estruturais ao material de partida. Estas reações são realizadas empregando como catalisadores sistemas biológicos provenientes de micro-organismos (por exemplo fungos, bactérias, leveduras), sistemáticos de plantas, enzimas isoladas, entre outros (HEGAZY *et al.*, 2015).

Muitas dessas reações podem ser desenvolvidas em pH neutro, em temperatura e pressão ambiente, apresentam regioseletividade, enantioseletividade, podem produzir substâncias menos tóxicas em relação ao substrato inicial e apresentam um custo menor quando comparadas às sínteses orgânicas (LI *et al.*, 2007; PARSHIKOV *et al.*, 2014).

Vários monoterpênos acíclicos e cíclicos foram biotransformados por diferentes espécies de fungos. Estas substâncias foram inicialmente avaliadas quanto às propriedades antifúngicas, antioxidantes, antivirais, ansiolíticos, entre outras, buscando após as reações de biotransformações potencializar tais atividades previamente observadas (BHATTI *et al.*, 2014).

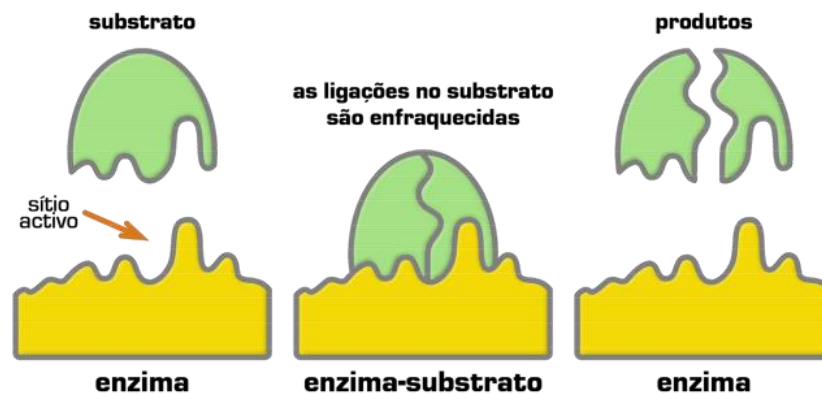
Alguns monoterpênos são muito abundantes na natureza e, portanto, são produtos baratos disponíveis em grandes quantidades, como é o caso do limoneno que é utilizado como precursor para síntese de muitas substâncias (BICAS *et al.*, 2008).

O fungo *Aspergillus niger* produz várias enzimas extracelulares e possui a capacidade de gerar diferentes produtos com o mesmo substrato. Além disto, tem a capacidade de produzir alguns ácidos orgânicos como, por exemplo, o oxálico, fumárico e glucônico. Tais habilidades, o torna um dos fungos mais utilizados como biocatalisador para estudo de reações de biotransformação em muitas substâncias (PARSHIKOV *et al.*, 2014).

### 1.2. Enzimas responsáveis pelas biotransformações

Enzimas são excelentes biocatalisadores, com grande importância no desenvolvimento de indústrias farmacêuticas, alimentícias, entre outros, essa importância é devido a sua capacidade de realizar reações regioseletivas e estereosseletivas. Essa especificidade baseia-se na interação entre o substrato e o sítio ativo da enzima, que pode ocorrer por diferentes tipos de interações, como por exemplo, ligações de hidrogênio, Van der Waals ou eletrostática (CARDOSO *et al.*, 2009)

A dois modelos que explicam a interação entre o substrato e a enzima. O primeiro apresentado na Figura 1, é o modelo chave-fechadura, onde o substrato é a chave e a enzima é fechadura, no entanto esse modelo induz imaginar substâncias rígidas que se interagem, e não é isso que ocorre, pois, as enzimas são flexíveis e é isso que permite a criação de enantiômero. Assim surge o modelo por encaixe induzido, sugerindo que o substrato induz a modificação estrutural da enzima. Este último modelo é o mais aceito (VERLI *et al.*, 2005).



**Figura 1:** Interação entre enzima e substrato, modelo chave-fechadura.

FONTE: <http://bioquimicaproteica.blogspot.com.br/>

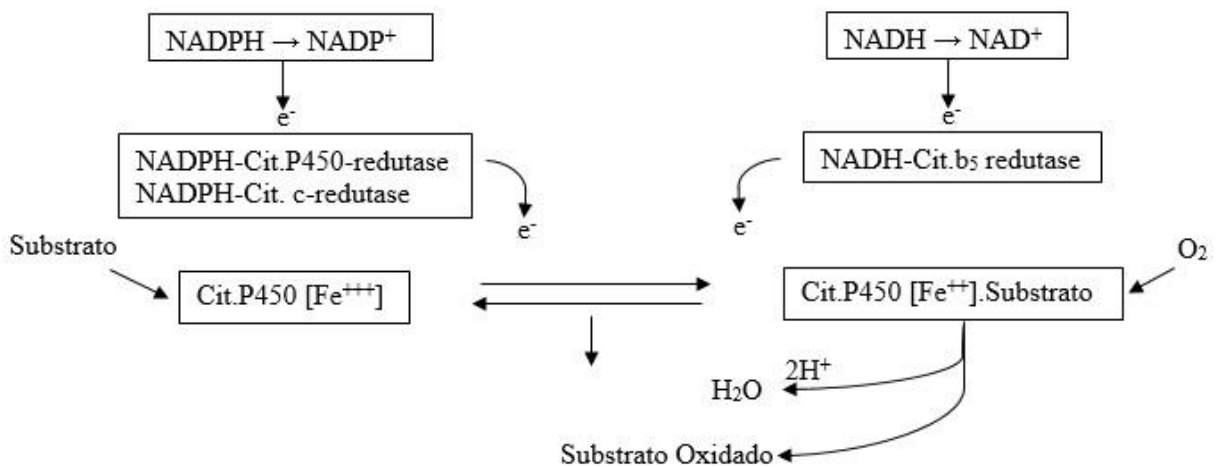
Essa capacidade em realizar reações induzidas inesperadas, faz com que as enzimas sejam conhecidas como promíscuas. A promiscuidades pode ser descrita de três tipos: condição (enzimas com atividade catalítica em condições diferentes das suas estruturas naturais) substrato (enzimas com especificidade de substratos) e catalítica (enzimas que catalisam reações químicas distintas com diferentes estados de trasições) (HULT *et al.*, 2007)

A biotransformação é a alteração sofrida por um xenobiótico, e as responsáveis por essa alteração são as enzimas, que estão presentes em todos os organismos. As enzimas têm a capacidade de formar novo metabólito com características mais hidrofílicas, alguns metabólitos apresentam aumento na atividade (por exemplo, codeína em morfina) ou propriedades tóxicas (mutagenicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade). Testes bioquímicos permitiram constatar a presença de enzimas solúveis (desidrogenases, esterases, amidases e transferases), mitocondrial (monoamino oxidases) e microssomal (citocromos P450) (FRANCO *et al.*, 2003).

O citocromo P450 é uma superfamília de enzimas (apresenta núcleo pirrólico com presença de ferro, considerada uma hemoproteína) que utiliza xenobióticos lipossolúveis como substratos nas reações enzimáticas, o P450 tem a capacidade de realizar a

monooxigenase (inserção de um átomo de oxigênio), tornando uma molécula hidrossolúvel (WILDERMAN *et al.*, 2014, FRANCO *et al.*, 2003).

A nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) é um agente redutor presente na NADPH-citocromo P450 redutase (enzima intermediária flavoprotéica) e NADH-citocromo b5 redutase, que acompanha o citocromo P450 e funciona como alternativa na transferência de elétrons, juntamente com o oxigênio molecular. Um átomo de oxigênio é consumido pelo substrato e o outro é usado na produção de água. Na Esquema 2, apresenta um esquema de reação catalisada pelo citocromo P450 (FRANCO *et al.*, 2003).



**Esquema 2:** Representação da reação de oxidação pelo citocromo P450.

### 1.3. Caracterização estrutural dos produtos de biotransformações de monoterpenos

Algumas técnicas são empregadas na identificação dos produtos das reações de biotransformação, cada uma com sua funcionalidade de acordo com a necessidade do estudo, dentre essas técnicas pode-se citar: Espectroscopia no Infravermelho (IV), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono 13 (RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ ) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM).

O IV é uma técnica espectroscópica que disponibiliza informações estruturais de uma molécula (tipos de ligação e grupos funcionais). Esse processo ocorre através da absorção de frequências de radiação na região do IV, que aumenta a amplitude dos movimentos vibracionais das ligações nas moléculas (PAVIA *et al.*, 2010)

RMN é uma técnica espectroscópica que estuda comumente os núcleos de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . A ressonância ocorre quando um campo magnético é aplicado ao núcleo, que absorve energia e muda a orientação de *spin*. Por meio da análise do espectro de carbono, é possível obter o número de carbonos não equivalentes e quais são os tipos de átomos de carbono e pelo de



hidrogênio (prócio), é possível saber os tipos e quantidades de prócios não equivalentes e informações a respeito da vizinhança de cada um (PAVIA *et al.*, 2010).

O DEPT é uma técnica de sequência de pulsos que, juntamente com a RMN de  $^{13}\text{C}$ , permite a identificação do número de hidrogênios ligados a um determinado átomo de carbono. Essa sequência de pulsos envolve atrasos temporais no canal do  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , exibe diferentes fases de acordo com as ligações C-H. O DEPT-45 mostra os átomos de carbonos ligados a um ou mais hidrogênios, no DEPT-90 mostra apenas grupos metínicos, no DEPT-135 carbonos metílicos e metínicos geram picos positivos e metilênicos aparecem inverso, carbono quartenário não gera sinal no DEPT (PAVIA *et al.*, 2010).

Além das técnicas espectroscópicas, tem também a cromatografia gasosa (CG) que é uma técnica de identificação de substância voláteis, mais acoplada ao espectrômetro de massas (EM), transforma-se em uma técnica de identificação. Assim a CG-EM é uma técnica de identificação e separação.

No EM as moléculas são transformadas em íons (geralmente por ionização de elétrons) na fase gasosa, que são acelerados por um campo eletromagnético e separados da amostra por sua razão *massa/carga* ( $m/z$ ), sendo o sinal registrado por um detector. O gráfico do espectro de massas apresenta o número de fragmentações (íons) detectados, essa técnica permite a determinação de pesos moleculares das substâncias (PAVIA *et al.*, 2010).

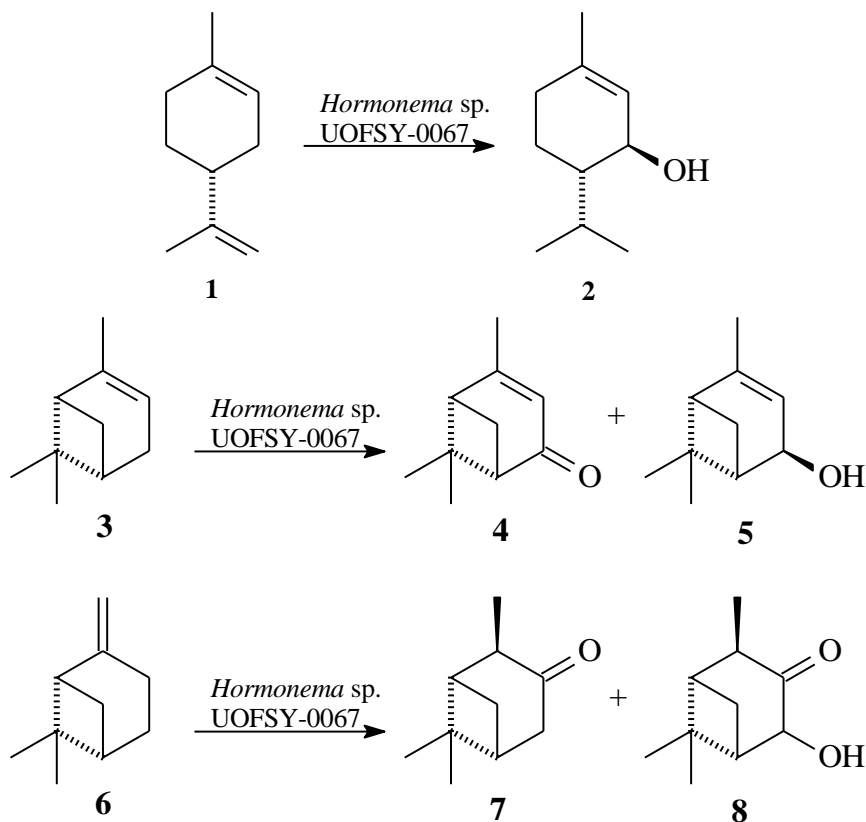
## 2. OBJETIVOS

- Efetuar um levantamento bibliográfico visando compilar dados acerca da biotransformação de monoterpenos por fungos a partir de artigos obtidos no banco de dados *Scopus*.
- Apresentar os produtos das reações de biotransformação.
- Apresentar os métodos utilizados na identificação dos produtos de reação.

### 3. DESENVOLVIMENTO

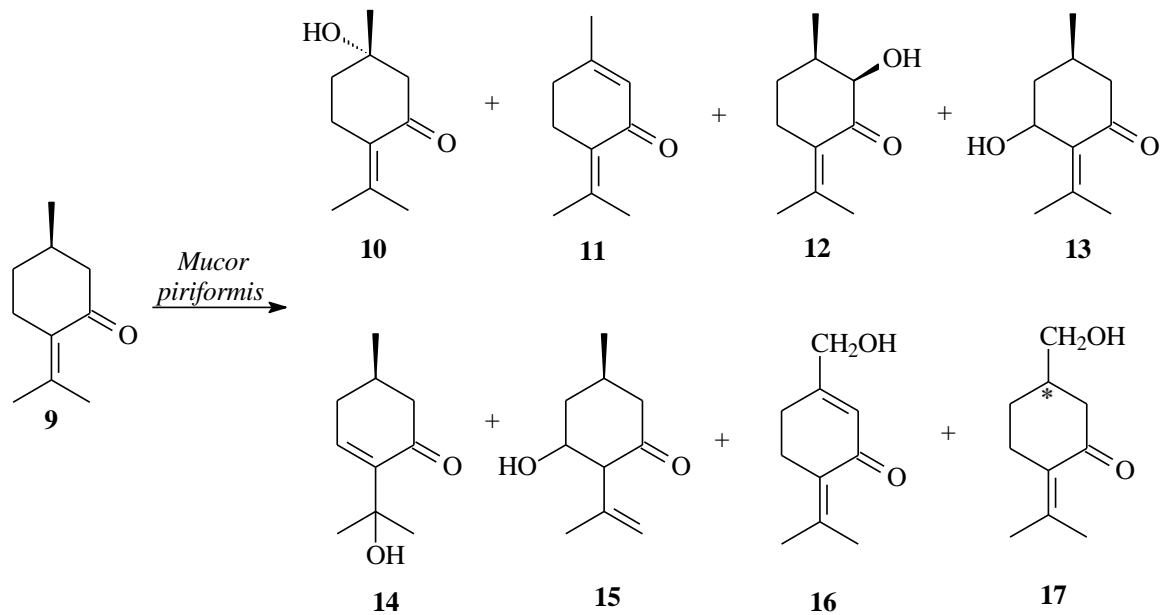
De acordo com os relatos anteriormente apresentados, que justificam a importância de pesquisas a serem desenvolvidas na área de biotransformação com micro-organismo, especificamente como fungos, e tendo-se em vista o objetivo proposto nesse trabalho, a seguir será apresentado estudos realizados sobre este tema, o quais foram executados por meio pesquisas no banco de dados Scopus.

Van Dyk *et al.* (1998) descreveram algumas biotransformações empregando o fungo *Hormonema* sp. UOFSY-0067. Este utilizou o (+)-limoneno (**1**) (substância presente em grande parte das frutas cítricas, usado nas indústrias farmacêuticas e de alimentos como aditivo de aroma e também como solvente em pigmento, resinas, tintas e borracha), o qual foi biotransformado em *trans*-isopiperitenol (**2**), com rendimento de 31% após 12 h de reação. Utilizou também o (-)- $\alpha$ -pineno (**3**) (principal constituinte do óleo de muitas coníferas) formando a verbenona (**4**) (5% após 96 h) e *trans*-verbenol (**5**) (6% após 96 h). E também o (-)- $\beta$ -pineno (**6**) (maior constituinte da terebintina) em pinocanfora (**7**) (2% após 72 h) e 3-hidroxi-pinocanfora (**8**) (4% após 72 h) (Esquema 3). As identificações dos produtos foram realizadas por meio das técnicas de CG-EM e RMN de  $^1\text{H}$ .



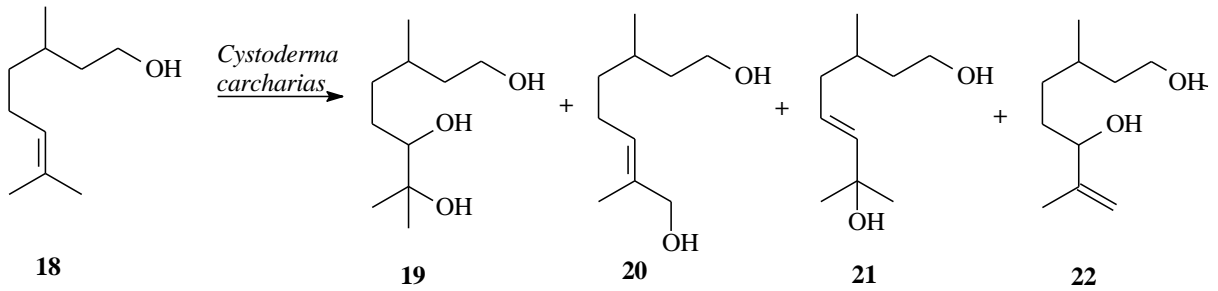
**Esquema 3:** Diferentes reações de biotransformação empregando o fungo por *Hormonema* sp. UOFSY-0067, tendo como substrato o limoneno (**1**), (-)- $\alpha$ -pineno (**3**) e do (-)- $\beta$ -pineno (**6**).

Madyastha *et al.* (1999) utilizaram linhagens do fungo *Mucor piriformis* na biotransformação da cetona terpênica (*R*)-(+)-pulegona (**9**) (Esquema 4), que tem potencial hepatotóxico. O trabalho mostrou que a (*S*)-(-)-pulegona apresentava comportamento semelhante ao seu enantiômero. Os produtos obtidos foram: 5-hidroxipulegona (**10**); piperitenona (**11**); 6-hidroxipulegona (**12**); 3-hidroxipulegona (**13**); 5-metil-2-(1-hidroxi-1-metiletil)-2-ciclohexeno-1-ona (**14**); 3-hidroxi-isopulegona (**15**); 7-hidroxipiperitenona (**16**) e 7-hidroxipulegona (**17**). As identificações das substâncias foram feitas por RMN de  $^1\text{H}$ , EM e IV.



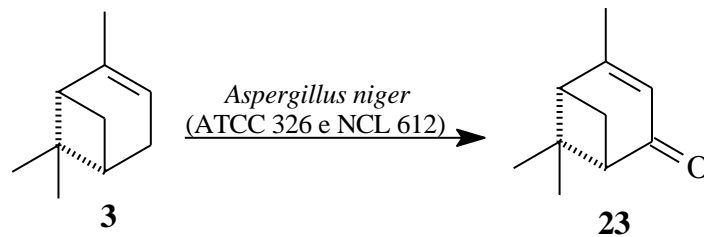
**Esquema 4:** Biotransformação da (*R*)-(+)-pulegona por *Mucor piriformis*. \* = estereoquímica não definida no artigo de origem.

Onken *et al.* (1999) apresentaram um estudo da biotransformação do citrionelol (**18**), o qual é utilizado como constituinte de perfumes e pesticidas e também empregado na síntese da vitamina A e E. A biotransformação foi mediada pelo *Cystoderma carcharis* (Esquema 5), formando como produto principal o 3,7-dimetil-1,6,7-octanotriol (**19**), obtido em 57% de rendimento. Ocorreu a formação dos seguintes produtos secundários: 2,6-dimetil-2-octen-1,8-diol (**20**), 3,7-dimetil-5-octen-1,7-diol (**21**) e o 3,7-dimetil-7-octen-1,6-diol (**22**) (Esquema 5). A identificação das substâncias, obtidas pelo processo de biotransformação, foram realizadas por meio de CG-EM e comparação com espectros de massas existentes na biblioteca do equipamento.



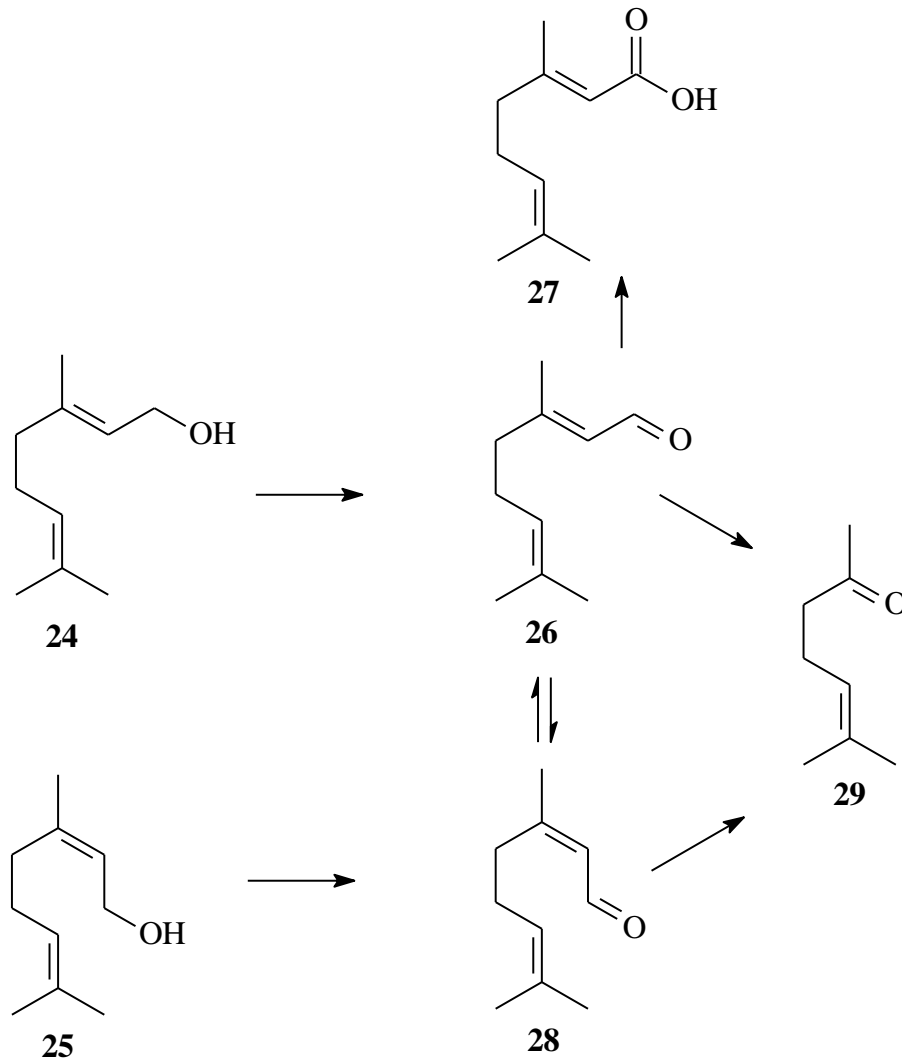
**Esquema 5:** Biotransformação do citronelol por *Cystoderma carcharias*.

Agrawal *et al.* (2000) apresentaram um estudo sobre a biotransformação do  $\alpha$ -pineno (**3**), o qual foi convertido à verbenona (**23**) (Esquema 6), utilizando células do fungo *A. niger* (ATCC 326 e NCL 612). Propõe-se que o  $\alpha$ -pineno passe por duas reações bioquímicas distintas: uma hidroxilação (causada por enzimas hidroxilases) que converte o mesmo em verbenol e uma desidroalogenação (causado por enzimas desidrogenase), o qual transforma o verbenol em verbenona. O produto de biotransformação, obtido após 6 h de reação com rendimento de 16.5%, foi identificado por meio de CG-EM.



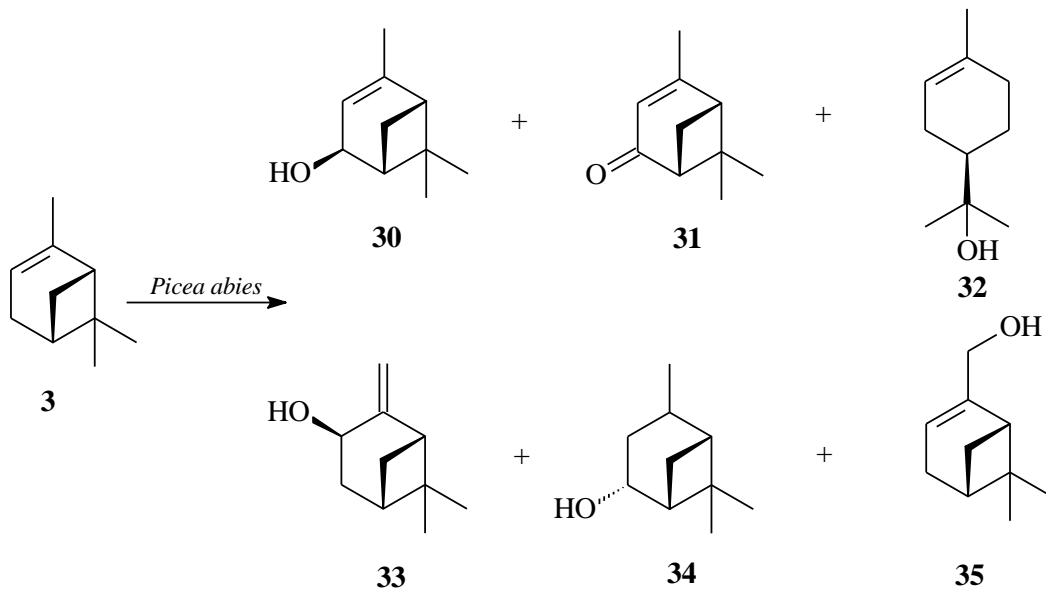
**Esquema 6:** Biotransformação do  $\alpha$ -pineno por *Aspergillus niger* ATCC 326 e NCL 612.

O citrol é constituído por uma mistura de geraniol (**24**) e nerol (**25**) que são biotransformados em citral, uma mistura de geranial (**26**) e neral (**28**) de acordo com Wolken *et al.* (2001). Este apresentou a reação de biotransformação catalisada por esporos do fungo *Penicillium digitatum* ATCC 201167, que apresentou também a formação do ácido gerânico (**27**) pela substância **26**. De acordo com as identificações realizadas por CG-MS outra substância também foi formada, a 6-metilept-5-en-2-ona (**29**) (Esquema 7). Extrato dos esporos do fungo converteram as substâncias por atividade  $\text{NAD}^+$  dependente, que é uma coenzima presente nas células dos seres vivos, utilizado como transportador de elétrons nas reações de oxi-redução.



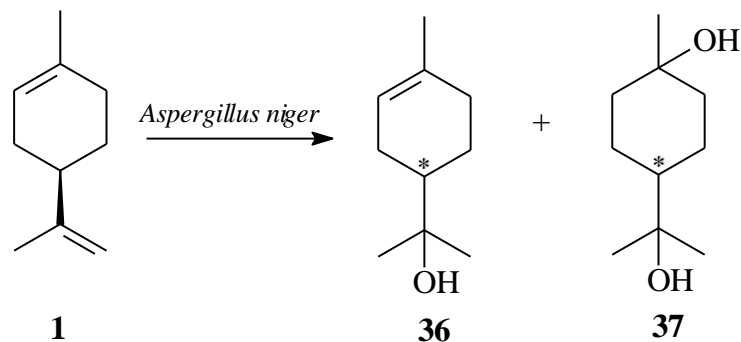
**Esquema 7:** Biotransformação do citrol em citral e em 6-metilept-5-en-2-ona e do geranial em ácido gerânico por *Penicillium digitatum* ATCC 201167.

Lindmark-Henrikson *et al.* (2002) descreveram a transformação do (*R*)-(+)- $\alpha$ -pineno (**3**) (Esquema 8) em uma mistura constituída principalmente de (*R*)-*trans*-verbenol (**30**) (35-45%), (*R*)-(+)-verbenona (**31**) (20-25%), (*R*)-(+)- $\alpha$ -terpineol (**32**) (5-10%), (*S*)-(-)-*trans*-pinocarveol (**33**) (5-10%), (*R*)-*cis*-verbenol (**34**) (5%), (*S*)-(+)-mirtenol (**35**) (7-9%) e outros produtos minoritários utilizando culturas em suspensão de *Picea abies*. Os produtos foram identificados pelo método de CG-EM.

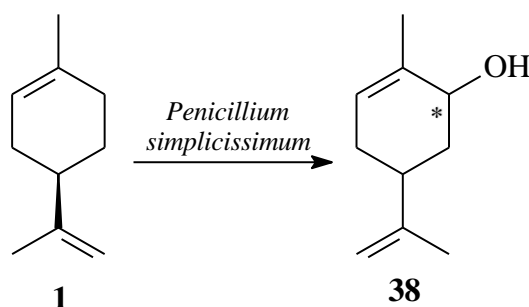


**Esquema 8:** Biotransformação do (*R*)-(+)- $\alpha$ -pineno por *Picea abies*.

Toniazzo *et al.* (2006) realizaram um estudo com 17 linhagens de micro-organismos para verificar a biotransformação do (*R*)-(+)-limoneno (**1**) e a correlação dos marcadores genéticos (sequência de DNA que mostra a variação das características genéticas indivíduos da mesma espécie) RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Não foi possível estabelecer uma correlação das características genéticas e a capacidade de biotransformação entre indivíduos da mesma espécie. No entanto, das 17 estirpes, 3 apresentaram formação do  $\alpha$ -terpineol (**36**) (0,68% e 0,13%) e 1-metil-4-(2-hidroxi-2-propil)-1-cicloexanol (**37**) por duas linhagens de *A. niger* (Esquema 9) e *cis*-carveol (**38**) (0,18%) por *Penicillium simplicissimum* (Esquema 10). A identificação foi realizada por CG-EM.

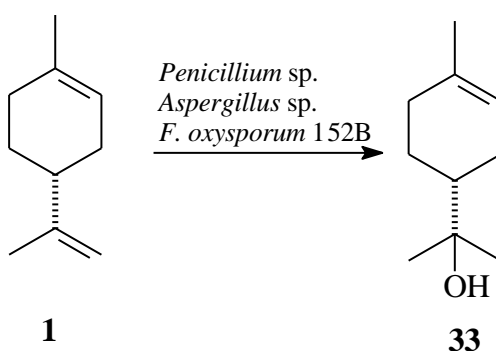


**Esquema 9:** Biotransformação do limoneno por *Aspergillus niger*. \* = estereoquímica não definida no artigo de origem



**Esquema 10:** Biotransformação do limoneno por *Penicillium simplicissimum*. \* = estereoquímica não definida no artigo de origem.

Maróstica Jr. *et al.* (2007) desenvolveram um estudo utilizando os fungos *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Fusarium oxysporum* 152B cultivados em água residual de mandioca e posteriormente, eles transferiram os micélios para um meio mineral e óleo essencial de suco de laranja ocorrendo a biotransformação do *R*-(+)-limoneno (**1**) presente no teor de 94,29% no óleo do suco, em *R*-(+)- $\alpha$ -terpineol (**33**), substância esta que apresenta um odor floral (Esquema 11). A espécie que obteve maior rendimento foi o *Fusarium oxysporum* 152B com 448,7 mg/L, o método de identificação do produto foi CG-EM.

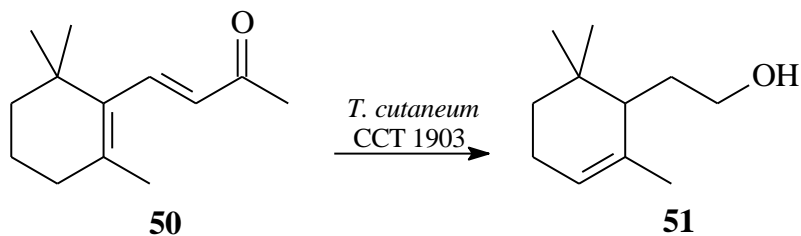
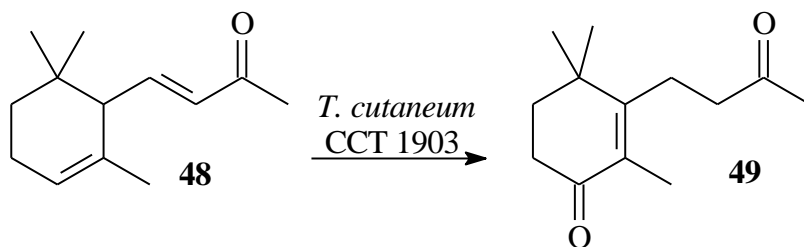
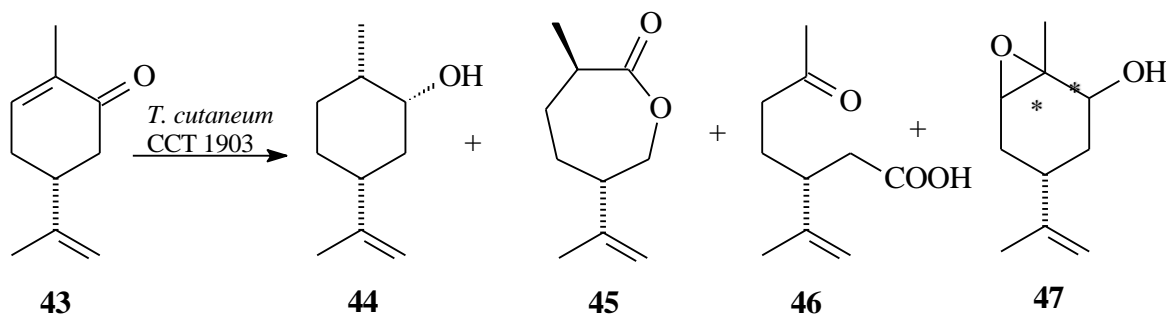
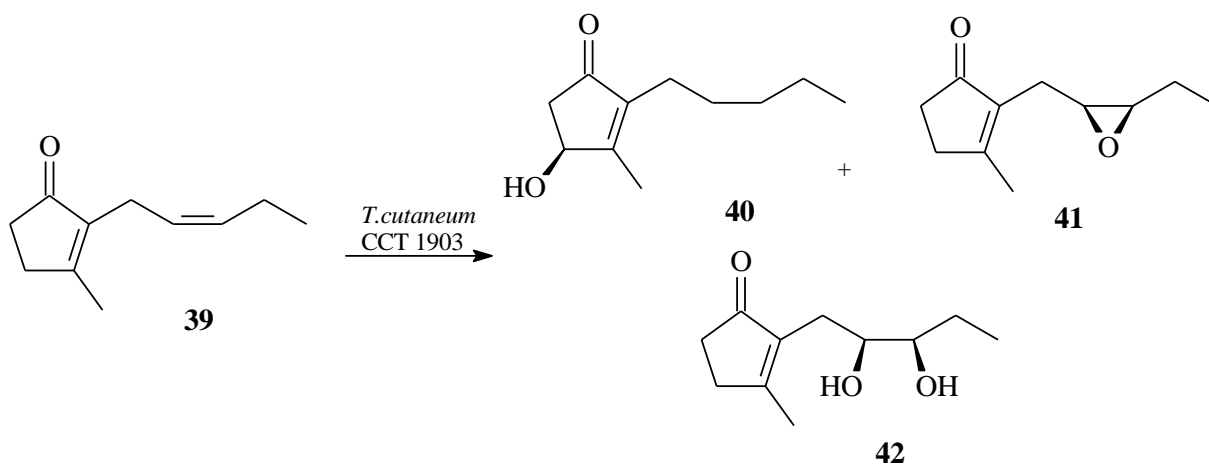


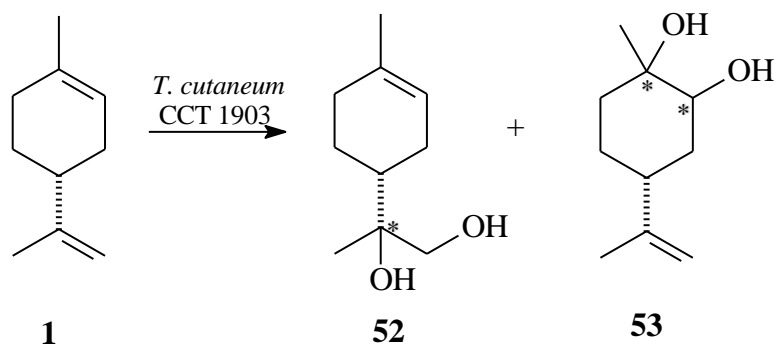
**Esquema 11:** Biotransformação do *R*-(+)-limoneno por *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Fusarium oxysporum* 152B.

Estudos de biotransformações realizados por Pinheiro *et al.* (2007), utilizaram células inteiras do fungo *Trichosporum cutaneum* CCT1903 e substâncias aromáticas como substratos. Com o *cis*-jasmona (**39**) formou 4-hidroxijasona (**40**), 7,8-epoxijasona (**41**) e 7,8-di-idroxijasona (**42**). Utilizando (*R*)-(-)-carvona (**43**) foi formado (1*S*, 2*R*, 4*R*)-neoisodihidrocarveol (**44**), (6*R*)-isoprenil-(3*R*)-metil-2-oxo-oxepanona (**45**), ácido (3*R*)-isopropenil-6-oxoheptanóico (**46**) e 2,3-epoxi-(5*R*)-isopropenil-2-metilciclohexenol (**47**). A  $\alpha$ -ionona (**48**) formou  $\alpha$ -homo-ciclogeraniol (**49**) e a  $\beta$ -ionona (**50**) formou 4-oxo-7,8-di-hidro- $\beta$ -ionona (**51**). Utilizando o (*R*)-(+)-limoneno (**1**) foi formado (+)-(4*R*)-*p*-1-meten-1-en-8,9-diol (**52**) e



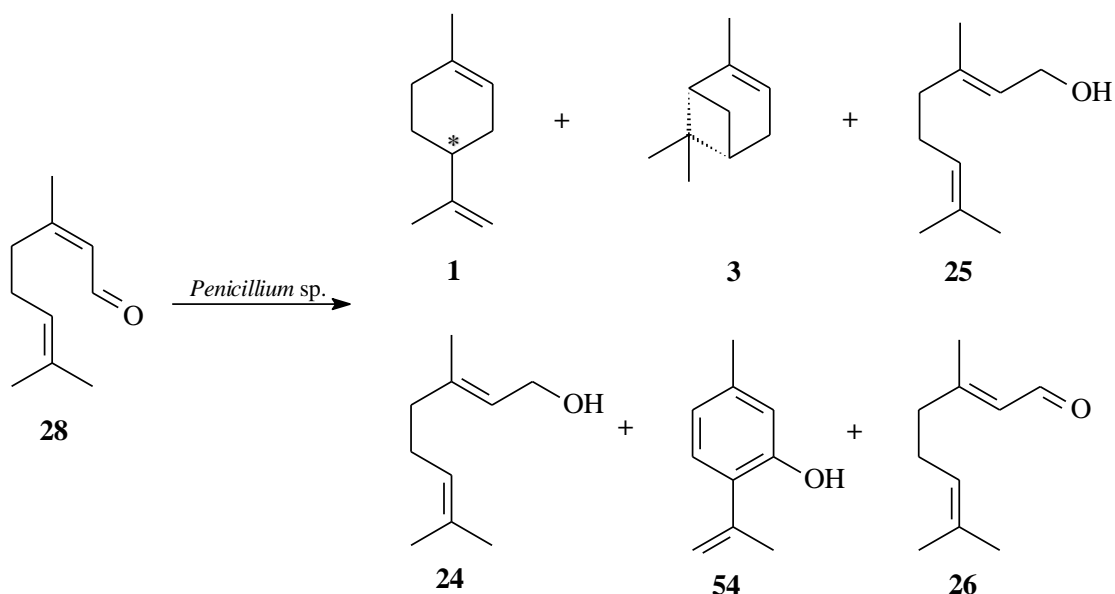
(+)-limoneno-1,2-diol (**53**) (Esquema 12). Os métodos de identificação utilizados foram CG-EM, RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , gCOSY, HSQC e HMBC.





**Esquema 12:** Diferentes reações de biotransformação empregando o fungo por *Trichosporum cutaneum* CCT 1903, tendo como substrato a *cis*-jasmona (**39**), (*R*)-(-)-carvona (**43**),  $\alpha$ -ionona (**48**),  $\beta$ -ionona (**50**) e (*R*)-(+)-limoneno (**1**), formando seus respectivos produtos. \* = estereoquímica não definida pelo artigo de origem.

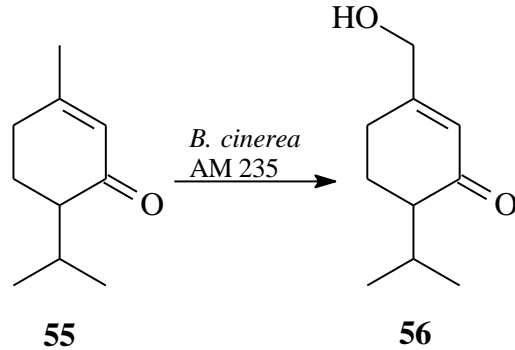
Esmaili *et al.* (2010) apresentaram um estudo de biotransformação do citral (**28**) utilizando estirpes de *Penicillium* sp. obtendo os seguintes produtos: timol (**54**) (21,5%), geranial (**26**) (18,6%), nerol (**25**) (13,7%), geraniol (**24**) (6,8%),  $\alpha$ -pineno (**3**) (3,7%) e limoneno (**1**) (3,1%) (Esquema 13), a identificação foi realizada por CG-EM.



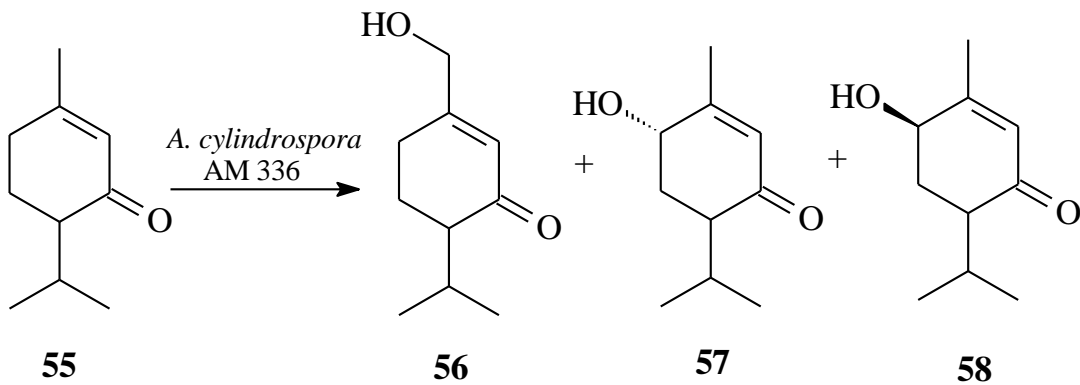
**Esquema 13:** Biotransformação do citral por *Penicillium* sp. \* = estereoquímica não definida pelo artigo de origem.

Grudniewska *et al.* (2010) investigaram a biotransformação da mistura racêmica de ( $\pm$ )-piperitona (**55**) (maior constituinte do óleo essencial de eucalipto, menta e espécies de cumbopogon), utilizando vários fungos. Utilizando o micro-organismo *Botrytis cinera* AM235 foi transformada em 7-hidroxipiperitona (**56**) (Esquema 14). Por *Absidia cylindrospora* AM336 formou a substância **56**, (+)-(4*S*,6*R*)-*trans*-6-hidroxipiperitona (**57**) e (+)-(4*S*,6*R*)-*cis*-6-hidroxipiperitona (**58**) (Esquema 15). Empregando o fungo *Absidia coerulea* AM93 formou as substâncias **56**, **57** e **58**. Pelo fungo *Absidia glayca* AM177 os produtos

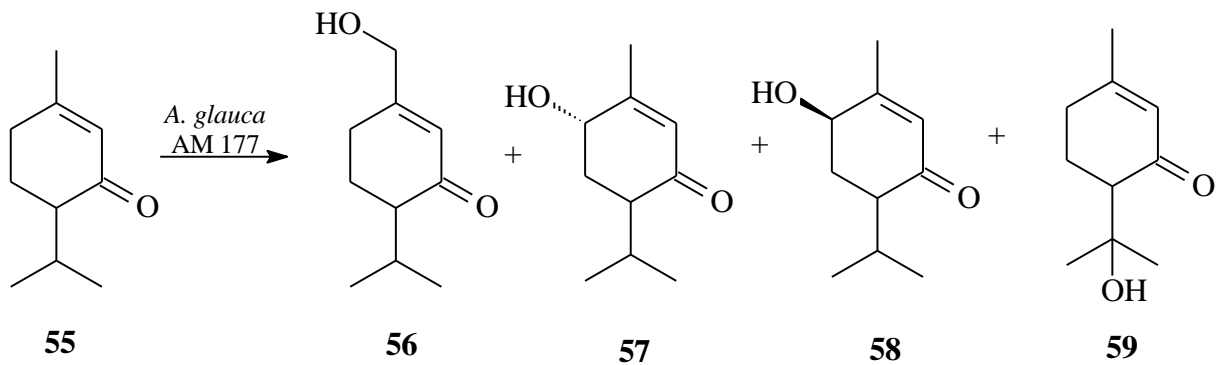
foram as substâncias **56**, **57**, **58** e 8-hidroxipiperitona (**59**) (Esquema 16). As técnicas de identificação dos produtos foram: RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, IV e ainda utilizou polarímetro automático para avaliar a atividade ótica dos produtos obtidos.



**Esquema 14:** Biotransformação da piperitona por *Botrytis cinerea* AM235.



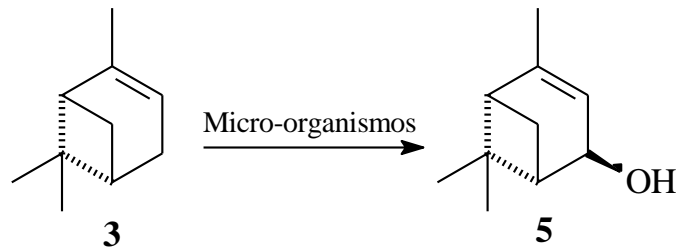
**Esquema 15:** Biotransformação da piperitona por *Absidia cylindrospora* AM336.



**Esquema 16:** Biotransformação da piperitona por *Absidia glauca* AM177.

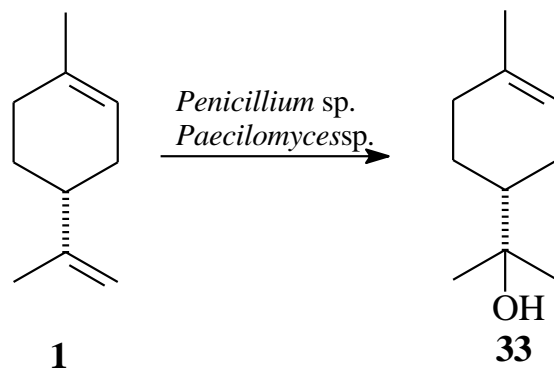
Rottava *et al.* (2010a) analisaram o potencial de biotransformação do  $\alpha$ -pineno (**3**) em verbenol (**5**) (usado no controle de insetos e na agricultura) por várias linhagens de microorganismos isoladas de resíduos industriais de sucos cítricos, solo e folhas de frutas cítricas, frutas (laranja, limão, bergamota e lima), caule de eucalipto e laranjeira. Das linhagens estudadas, as que apresentaram a biotransformação em verbenol foram: *Fusarium* sp. (caule

da laranjeira, laranja e resíduo industrial do suco de maçã); *Aspergillus* sp. (solo de frutas cítricas); *Penicillium* sp. (lima, resíduo industrial do suco de laranja e resíduo industrial do suco de maçã); *Rhizopus* sp. (solo de frutas cítrica) e *Paecilomyces* sp. (laranja) (Esquema 17). A identificação do produto foi realizada por CG-EM.

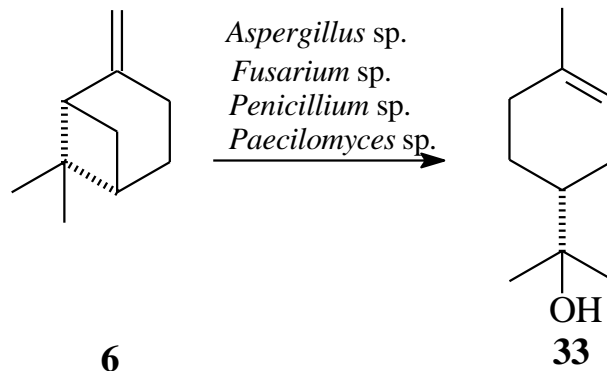


**Esquema 17:** Biotransformação do  $\alpha$ -pineno em verbenol por pelos fungos *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp.

Rottava *et al.* (2010b) descreveram o estudo sobre a biotransformação do *R*-(+)-limoneno (**1**) em  $\alpha$ -terpineol (**33**) pelos fungos *Penicillium* sp. e *Paecilomyces* sp. (Esquema 18) e a biotransformação do (-)- $\beta$ -pineno (**6**) em  $\alpha$ -terpineol (**33**) pelos fungos *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomyces* sp. e *Penicillium* sp. (Esquema 19) a identificação dos produtos foi realizada por meio de CG-EM.

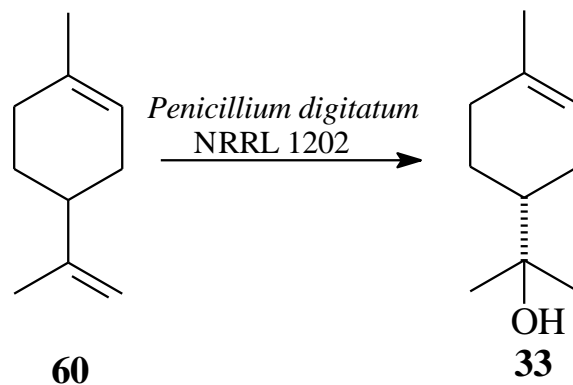


**Esquema 18:** Biotransformação do *R*-(+)-limoneno em  $\alpha$ -terpineol *Paecilomyces* sp. e *Penicillium* sp.



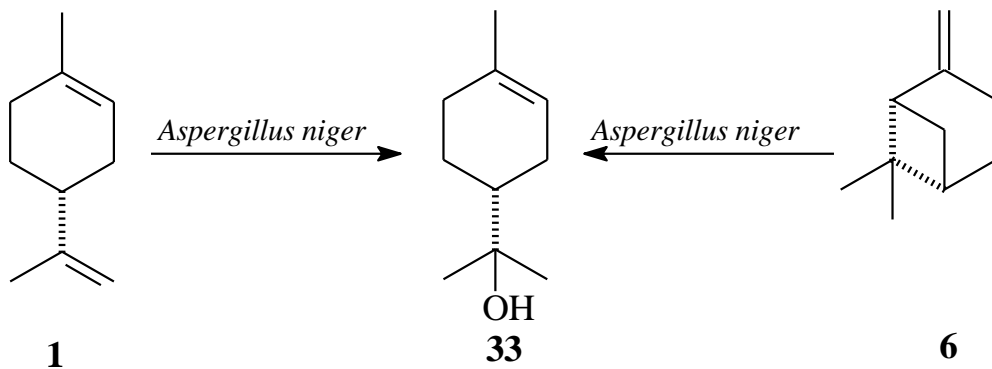
**Esquema 19:** Biotransformação do  $\beta$ -pineno em  $\alpha$ -terpineol pelos fungos *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomyces* sp. e *Penicillium* sp.

Badde *et al.* (2011) analisaram a composição química do óleo da casca da laranja e obteve que o mesmo é constituído por 96,1% de D-limoneno (**60**). Desta maneira, utilizou *Penicillium digitatum* NRRL 1202 para realizar a biotransformação em  $\alpha$ -terpineol (**33**) (Esquema 20). Para seu estudo, utilizou dois meios de cultivo diferentes, Malt Yest Broth (MYB) e Malt Extract Broth (MEB); desses foi verificado que o meio MYB apresentou maior potencial para a bioconversão com 53,1%, a identificação do produto foi realizada por CG-EM.



**Esquema 20:** Biotransformação do D-limoneno em  $\alpha$ -terpineol pelo fungo *Penicillium digitatum* NRRL 1202.

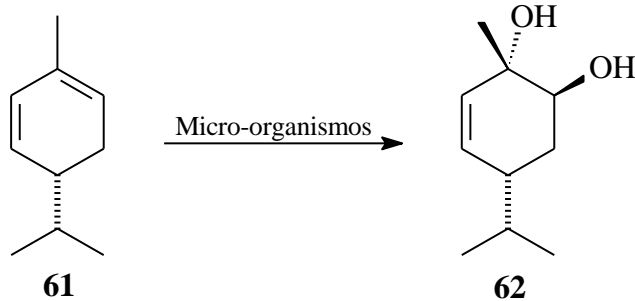
Rottava *et al.* (2011) apresentaram a biotransformação dos substratos *R*-(+)-limoneno (**1**) e (-)- $\beta$  pineno (**6**) (monoterpeno biciclo que é encontrado no óleo de madeira e um dos principais constituintes da terebintina, um resíduo de papel) em  $\alpha$ -terpineol (**33**) (Esquema 21), realizada por linhagens do fungo *A. niger*, o produto foi identificado por CG-EM.



**Esquema 21:** Biotransformação do *R*-(+)-limoneno e  $\beta$ -pineno em  $\alpha$ -terpineol por *Aspergillus niger*.

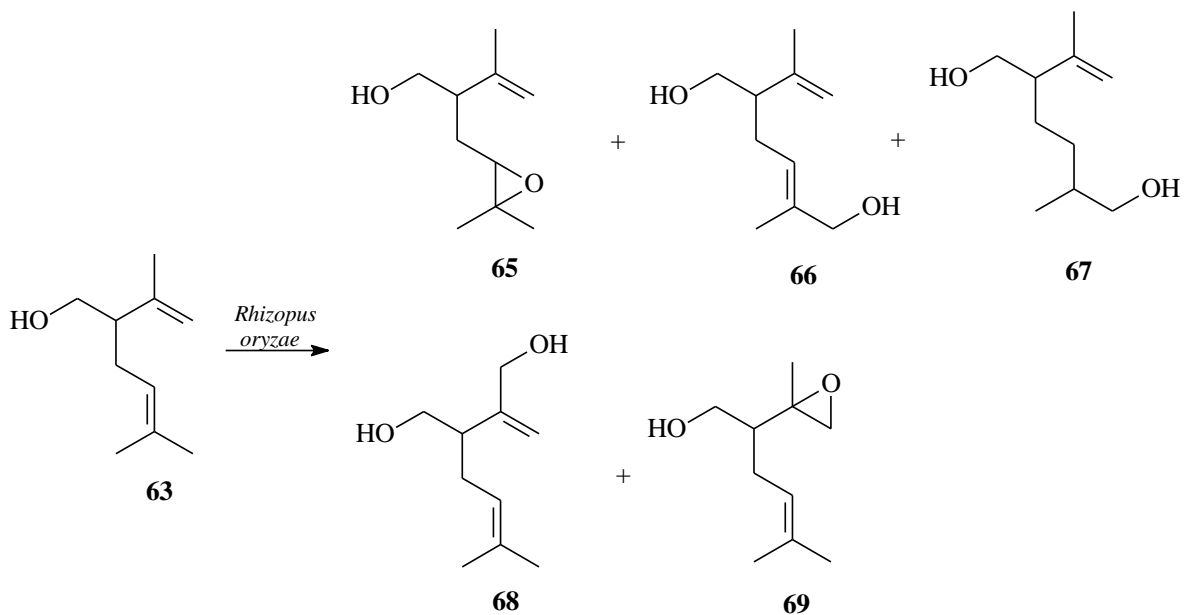
Iscan *et al.* (2012) desenvolveram um estudo sobre a biotransformação do (*R*)-(-)- $\alpha$ -felandreno (**61**) (apresenta atividades biológicas como antimicrobiano, hipercolesterolêmico e hiperlipidêmico) (Esquema 22) em 16 micro-organismos, o produto majoritário e gerado pela maior quantidade de fungos foi o 5-*p*-ment-1,2-diol (**62**) (61%) por *Corynespora cassicola* (DMS 62474 E DMS 62475), *Fusarium heterosporium*, *Yarrowia lipolytica*,

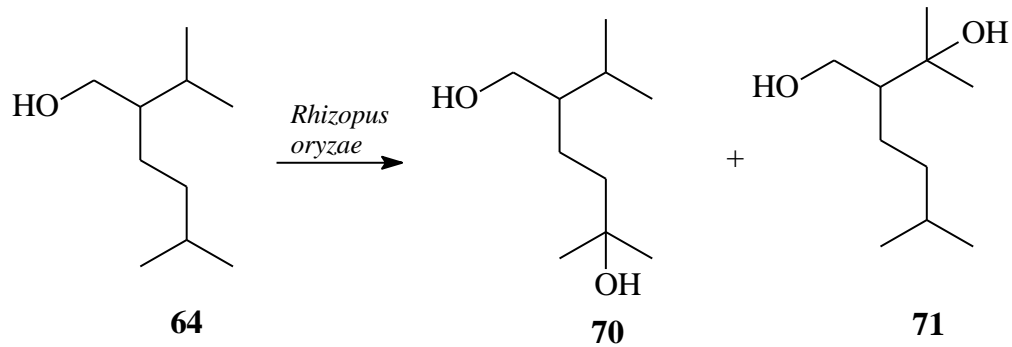
*Alternaria alternata*, *Neurospora crassa*, *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinera*, *Aspergillus flavus* e *Phanerochaete chrysosporium*. A identificação foi realizada por CG-EM, RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .



**Esquema 22:** Biotransformação do  $\alpha$ -felandreno por *Corynespora cassicola* (DMS 62474 E DMS 62475), *Fusarium heterosporium*, *Yarrowia lipolytica*, *Alternaria alternata*, *Neurospora crassa*, *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinera*, *Aspergillus flavus* e *Phanerochaete chrysosporium*.

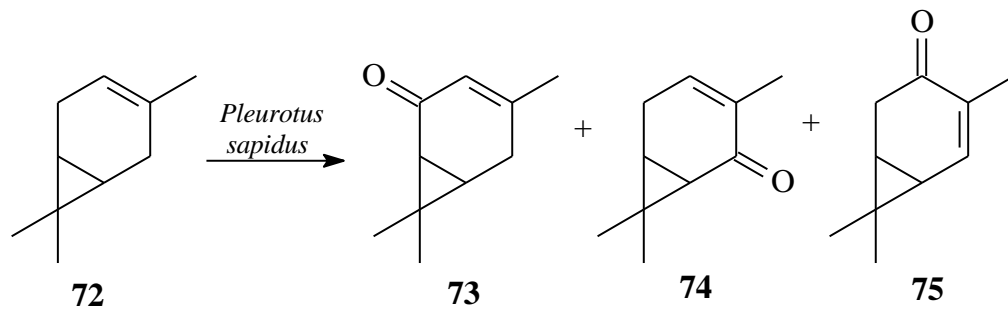
Daramwar *et al.* (2012) utilizaram *Rhizopus oryzae* para estudar a biotransformação do álcool monoterpênico ( $\pm$ )-lavandulol (**63**) e seu derivado ( $\pm$ )-tetraidrolavandulol (**64**). Foi constatado que o micro-organismo inicia a transformação por hidroxilação em grupos metil alílico ou por epoxidação de duplas ligações. Na utilização da substância **63** os substratos foram 2-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metil)-3-metilbut-3-en-1-ol (**65**); 2-metil-5-(prop-1-en-2-il)-hex-2-ona-1,6-diol (**66**); 2-metil-5-(prop-1-en-2-il)-hexano-1,6-diol (**67**); 2-2-(3-metilbut-2-enil)-3-metilenobutano-1,4-diol (**68**) e 5-metil-2-(2-metiloxiran-2-il)-hex-4-en-1-ol (**69**). Pelo mesmo fungo a substância **64** foi biotransformada em o 2-isopropil-5-metilexano-1,5-diol (**70**) e 2-isopentil-3-metilbutano-1,3-diol (**71**) (Esquema 23). Os produtos foram identificados por CG-EM, IV e RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .





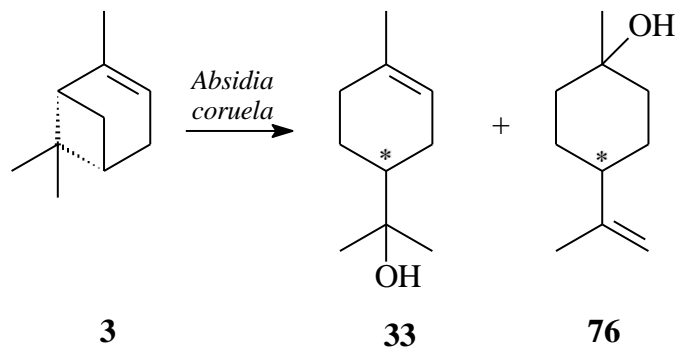
**Esquema 23:** Biotransformação do lavandulol (**63**) e tetraidrolavandulol (**64**) pelo fungo *Rhizopus oryzae*.

Lehnert *et al.* (2012) apresentaram um estudo sobre a bioconversão do car-3-eno (**72**) constituinte do óleo essencial de pinheiros, realizada pelo fungo *Pleurotus sapidus*, formando como produtos majoritários o car-3-en-5-ona (**73**) (25,3 mg/L), car-3-en-2-ona (**74**) (5,4 mg/L) e car-2-en-4-ona (**75**) (7,3 mg/L) (Esquema 24), a identificação dos produtos foi realizada por CG-EM e RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .



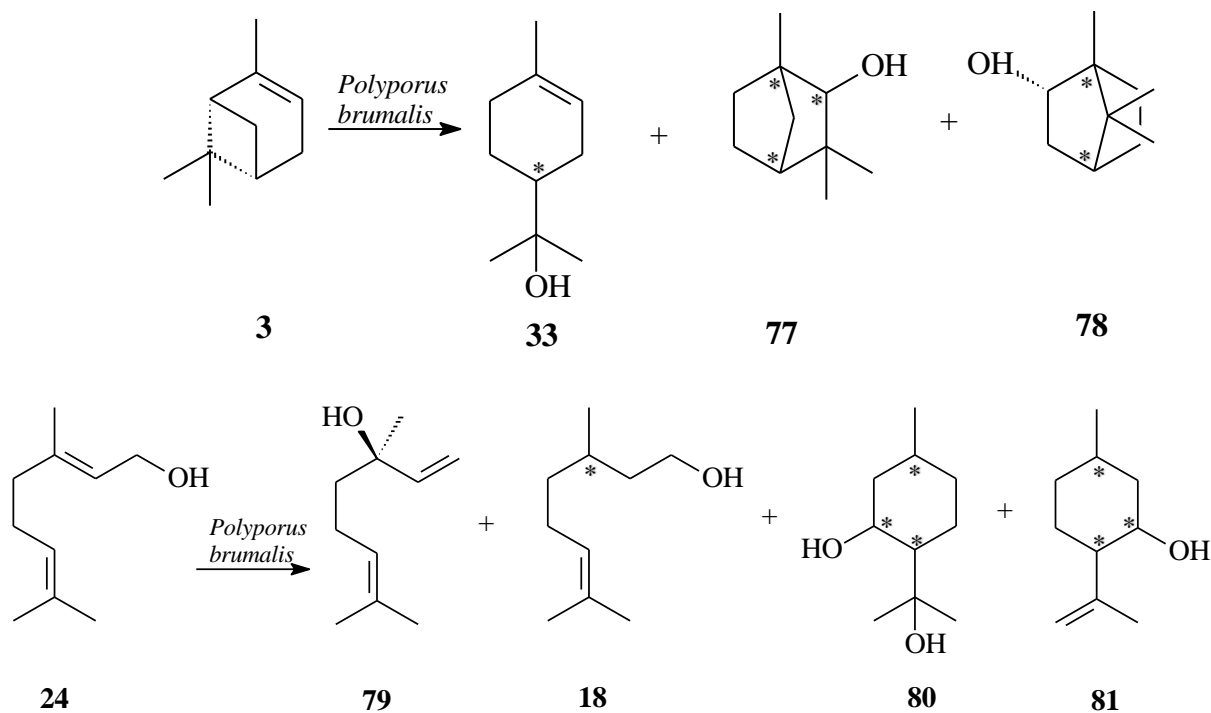
**Esquema 24:** Biotransformação do car-3-eno por *Pleurotus sapidus*.

Siddhardhar *et al.* (2012) desenvolveram um estudo de biotransformação, utilizando como substrato os enantiômeros ( $\pm$ )- $\alpha$ -pipeno (**3**) e como catalisador o fungo *Absidia corulea* MTCC 1335 (Esquema 25). Os produtos formados foram  $\alpha$ -terpineol (**33**) (54,69%) e o isoterpineol (**76**) (14,87%). A identificação dos produtos foi realizada através de CG-EM.



**Esquema 25:** Biotransformação do  $\alpha$ -pipeno por *Absidia corulea*. \* = estereoquímica não definida pelo artigo de origem.

Lee *et al.* (2015) apresentaram um estudo sobre utilizando o fungo *Polyporus brumalis* na biotransformação dos terpenos (-)- $\alpha$ -pineno (**3**) e geraniol (**24**). Os produtos gerados da reação do **3** foram  $\alpha$ -terpineol (**33**) (35,85%), fenchol (**77**) (5,54%) e borneol (**78**) (8,59%) e do **24** foram linalol (**79**), citronelol (**18**), *p*-mentano-3,8-diol (**80**) e isopulegol (**81**) (Esquema 26). A identificação foi realizada por CG-EM.



**Esquema 26:** Biotransformação do  $\alpha$ -pineno (**3**) e do geraniol (**24**) por fungos *Polyporus brumalis*. \* = estereoquímica não definida pelo artigo de origem.



#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Reações catalisadas por micro-organismos podem servir de avanço na ciência, uma vez que estes compõem uma grande classe de seres vivos. As reações de biotransformações apresentam inúmeras vantagens em relação a síntese química que utiliza reagentes específicos, que incluem regioseletividade, estereosseletividade, condições amenas e não utilização de oxidantes e redutores de alto custo. Como observado nos produtos apresentados, os fungos foram capazes de realizar hidroxilações, oxidações, epoxidações e ciclizações, tais reações de oxidação são provenientes normalmente do citocromo P450, que oxida os substratos em diferentes posições.

Os produtos apesar de obtidos em pequena quantidade, são muito importantes no estudo de novas substâncias que podem apresentar uma atividade biológica maior em relação ao substrato. A CG-EM foi usada como método de separação e identificação, no qual não é necessário o isolamento das substâncias. Outro método observado na identificação dos produtos foi a RMN, uma técnica muito utilizada na identificação de moléculas orgânicas que apresenta dados sobre os átomos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e presentes nas substâncias biotransformadas, além de outras técnicas que corroboram na caracterização dos produtos.

A biotransformação é uma área que está em crescimento e sabe-se que as enzimas são responsáveis pelas reações ocorridas entre o fungo e o substrato. No entanto, pouco se sabe sobre as etapas das reações, e como elas ocorrem, o que é um estudo de longo prazo, que poderá trazer novas descobertas para o tratamento de diversas doenças, inovação na indústria de cosméticos e alimentícias, uma vez que as substâncias são odoríferas e apresentam sabores e assim, a ciência vai avançando cada vez mais.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, R.; JOSEPH, R. Bioconversion of alpha pinene to verbenone by resting cells of *Aspergillus niger*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 52, p. 335-337, 2000.
- BADEE, A. Z. M.; HELMY, S. A.; MORSY, N. F. S. Utilization of orange peel in the production of  $\alpha$ -terpineol by *Penicillium digitatum* (NRRL 1202). **Food Chemistry**, v. 126, p. 849-854, 2011.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BASER, K. H. C.; BURCHBAUER, G. Essential oils: science, technology and applications. Estados Unidos: Taylor and Francis Group, 2010.
- BHATTI, H. N.; KHAN, S. S.; KHAN, A.; RANI, M.; AHMAD, V. U.; CHOUDHARY, M. I. Biotransformation of monoterpenoids and their antimicrobial activities. **Phytomedicine**, v. 21, p. 1597-1626, 2014.
- BICAS, J. L.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; GODOY, H. T.; PASTORE, G. M. Optimization of *R*-(+)- $\alpha$ -terpineol production by the biotransformation of *R*-(+)-limonene. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 1061-1070, 2008.
- CARDOSO, C. L.; MORAES, M. C.; CASS, Q. B. Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 175-187, 2009.
- DARAMWAR, P. P.; RINCY, R.; NILOFERJAHAN, S.; KRITHIKA, R.; GULATI, A.; YADAV, A.; SHARMA, R.; THULASIRAM, H. V. Transformation of ( $\pm$ )-lavandulol and ( $\pm$ )-tetrahydrolavandulol by a fungal strain *Rhizopus oryzae*. **Bioresource Technology**, v. 115, p. 70-74, 2012.
- ESMAEILI, A.; TAVASSOLI, A. Microbial transformation of citral by *Penicillium* sp. **Acta Biochimica Polonica**, v. 57, n. 3, p. 265-268, 2010.
- FRANCO, Y. O.; FRANCO, L. M. Biotransformação: importância e toxicidade. **Saúde em revista**, v. 5, n. 9, p. 69-76, Piracicaba, 2003.
- GRUDNIEWSKA, A.; GNILKA, R.; WAWRZENCZYK, C. Enantioselectivity of hydroxylation of racemic piperitone by fungi. **Chirality**, v. 22, p. 929-935, 2010.
- HEGAZY, M. E. F.; MOHAMED, T. A.; ELSHAMY, A. I.; MOHAMED, A. H. H.; MAHALEL, U. A.; REDA, E. H.; SHAHEEN, A. M.; TAWFIK, W. A.; SHAHAT, A. A.; SHAMS, K. A.; AZIM, N. S. A.; HAMMOUDA, F. M. Microbial biotransformation as a tool for drug development based on natural products from mevalonic acid pathway: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 2, p. 17-33, 2015.
- HULT, K.; BERGLUND, P. Enzyme promiscuity: mechanism and applications. **Trends in Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 231-238, 2007.

ISCAN, G.; KIRIMER, N.; DEMIRCI, F.; DEMIRCI, B.; NOMA, Y.; BASER, K. H. C. Biotransformation of (-)-(*R*)- $\alpha$ -phellandrene: Antimicrobial activity of its major metabolite. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, p. 1525-1532, 2012.

LEE, SU-YEON; KIM, SEON-HONG; HONG, CHAN-YOUNG; PARK, SE-YEONG; CHOI, IN-GYU. Biotransformation of (-)- $\alpha$ -pineno and geraniol to  $\alpha$ -terpineol and *p*-menthane-3,8-diol by the white rot fungus, *Polyporus brumalis*. **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 7, p. 462-467, 2015.

LEHNERT, N.; KRINGS, U.; SYDES, D.; WITTIG, M.; BERGER, R. G. Bioconversion of car-3-ene by a dioxygenase of *Pleurotus sapidus*. **Journal of Biotechnology**, v. 159, p. 329-335, 2012.

LI, X.; KIM, Y. H.; JUNG, J. J.; KANG, J. S.; KIM, D. K.; CHOI, H. D.; SON, B. W. Microbial transformation of the bioactive sesquiterpene, cyclonerodiol, by the ascomycete *Penicillium* sp. and the actinomycete *Streptomyces* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, p. 1188-1192, 2007.

LINDMARK-HENRIKSSON, M.; ISAKSSON, D.; SJODIN, K.; HOGBERG, H. E.; VANEK, T.; VALTEROVÁ, I.; Transformation of  $\alpha$ -pinene using *Picea abies* suspension culture. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 3, p. 337-343, 2003.

MADYASTHA, K. M.; THULASIRAM, H. V. Transformation of a monoterpene ketone, (*R*)-(+)-pulegone, a potente hepatotoxin, in *Mucor piriformis*. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 47, p. 1203-1207, 1999.

MARÓSTICA JR, M. R.; PASTORE, G. M. Production of *R*-(+)- $\alpha$ -terpineol by the biotransformation of limonene from Orange essential oil, using cassava waste water as médium. **Food Chemistry**, v. 101, p. 345-350, 2007.

ONKEN, J.; BERGER, R. G. Biotransformation of citranelol by the basicomycete *Cystoderma carcharias* in na aeroted-menbrane bioreactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, p. 158-163, 1999.

PARSHIKOV, I. A.; SUTHERLAND, J. B. The use of *Aspergillus niger* cultures for biotransformation of terpenoids. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 2086-2100, 2014.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning. 4 ed, 2010.

PINHEIRO, L.; MARSAIOLI, A. J. Microbial monooxygenases applied to fragrance compounds. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 44, p. 78-86, 2007.

ROTTAVA, I.; CORTINA, P. F.; ZANELLA, C. A.; CANSIAN, R. L.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; ANTUNES, O. A. C.; OESTREICHER, E. G.; OLIVEIRA, D. Microbial Oxidation of (-)- $\alpha$ -pinene to verbenol production by newly isolated strains. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 2221-2231, 2010a.

ROTTAVA, I.; CORTINA, P. F.; GRANDO, C. E.; COLLA, A. R. S.; MARTELLO, E.; CANSIAN, R. L.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; ANTUNES, O. A. C.; OESTREICHER,

E. G.; OLIVEIRA, D. Isolation and screening of microorganisms for (*R*)-(+)-limonene and (-)- $\beta$ -pinene biotransformation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 719-732, 2010b.

ROTTAVA, I.; CORTINA, P. F.; MARTELLO, E.; CANSIAN, R. L.; TONIAZZO, G.; ANTUNES, O. A. C.; OESTREICHER, E. G.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA, D. Optimization of  $\alpha$ -terpineol production by the biotransformation of *R*-(+)- $\beta$ -limonene and (-)- $\beta$ -pinene. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.164, p. 514-523, 2011.

SANTOS, C. D.; CABOT, J. C. Persistent effects after camphor ingestion: A case report and literature review. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 48, n. 3, p. 298-304, 2015.

SCHWAB, W.; FISCHER, T.; WUST, M. Terpene glucoside production: Improved biocatalytic process using glycosyltransferases. **Engineering in Life Sciences**, v. 15, p. 376-386, 2015.

SIDDHARDHA, B.; KUMAR, M. V.; MURTY, U. S. N.; RAMANJANEYULU, G. S.; PRABHAKAR, S. Biotransformation of  $\alpha$ -pinene to terpineol by resting cell suspension of *Absidia corulea*. **Indian Journal of Microbiol**, v. 52, n.2, p. 292-294, 2012.

TONIAZZO, G.; LERIN, L.; OLIVEIRA, D.; DARIVA, C.; CANSIAN, R. L.; PADILHA, F. F.; ANTUNES, O. A. C. Microorganism screening for limonene bioconversion and correlation with RAPD markers. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 129-132, p. 1023-1033, 2006.

VAN DYK, M. S.; VAN RENSBURG, E.; MOLELEKI, N. Hydroxylation of (+)-limonene, (-)- $\alpha$ -pinene and (-)- $\beta$ -pinene by a *Hormonema* sp. **Biotechnology Letters**, v. 20, n. 4, p. 431-436, 1998.

VERLI, H.; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes receptores. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 95-102, 2005

WILDERMAN, P. R.; JANG, H. H.; MALENKE, J. R.; SALIB, M.; ANGERMEIER, E.; LAMIME, S.; DEARING, M. D.; HALPERT, J. R. Functional characterization of cytochromes P450 2B from the desert woodrat *Neotoma lepida*. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 274, p. 393-401, 2014.

WOLKEN, W. A. M.; VAN DER WERF, M. J. Geraniol biotransformation-pathway in spores of *Penicillium digitatum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, p. 731-737, 2001.