SÍNTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANTIBACTERIANO

Autores: *PAIVA, L. M. M. de (IFRN) SILVA, F. F.M. da (IFRN) COSTA, A. K. de M. (IFRN)

RESUMO

O eugenol caracteriza-se como sendo um constituinte encontrado na composição química de algumas plantas e especiarias. É comumente reconhecido por apresentar atividades biológicas, dentre elas, atividades farmacológicas, odontológicas e anestésicas. Pesquisas mostram que o eugenol possui características antimicrobianas perante algumas bactérias. Desta forma, o presente estudo direcionou-se à produção de derivados do eugenol possibilitando a inibição das bactérias CG+ e BG-2.

Os derivados hexanoato de eugenila, butirato de eugenila, acetado de eugenila e benzoato de eugenila apresentaram halos de inibição de 10, 10, 9 e 10 mm respectivamente, sendo caracterizados inibidores intermediários e para o eugenol destilado, o halo apresentado foi de apenas 5 mm, ficando fora dos padrões aceitáveis de inibição antibacteriana, tendo resultados positivos apenas para os outros derivados.

PALAVRAS-CHAVE: *Eugenol, derivados, antimicrobiana.*

EUGENOL OF DERIVATIVES SYNTHESIS AND ITS POTENTIAL ANTIBACTERIAL EVALUATION

ABSTRACT

Eugenol is characterized as being a constituent found in the chemical composition of some herbs and spices. It is commonly recognized for having biological activities, among them, pharmacological activities, dental and anesthetic. Research shows that eugenol has antimicrobial characteristics against some bacteria. Thus, this study is directed to the production of eugenol derivatives enabling the inhibition of bacteria and CG + BG -2.

The hexanoate derivatives eugenila butyrate eugenila, Acetat of eugenila benzoate and eugenila exhibited inhibition halos of 10, 10, 9 and 10 mm respectively, characterized intermediates inhibitors and eugenol distillate, the displayed halo was only 5 mm, out of the acceptable standards of antibacterial inhibition, positive results only for other derivatives.

KEY-WORDS: *Eugenol, derivatives, antimicrobial.*

SINTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANTIBACTERIANO

1. INTRODUÇÃO

O eugenol é um composto aromático que está presente em algumas plantas e especiarias, dentre elas, na composição do óleo essencial do Cravo da Índia. Possui várias utilidades devido às suas propriedades naturais, sendo bastante utilizado na culinária, odontologia, produção de medicamentos e como anestésico natural (COSTA, 2004). Nos últimos anos, estudos mostram que o eugenol apresenta inúmeras atividades farmacológicas, ao qual, vem-se destacando atividades antimicrobianas. Desta, que sofre degeneração de proteínas e das membranas celulares das bactérias devido à estrutura fenólica do eugenol (ESCOBAR, 2002).

Por apresentar diversas utilidades e eficácia, é notória a necessidade de encontrar novas substâncias que possuam características antimicrobianas semelhantes ao eugenol, visto que, o mesmo por ser adquirido através de óleos essenciais de plantas, apresenta um alto valor comercial. Desta forma, derivados do eugenol começaram a ser sintetizados para abranger às necessidades de mercado. Com isso, este estudo teve como objetivo produzir derivados do eugenol e analisar seu potencial antibacteriano.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 SÍNTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL

A mistura de 0,01 mol de eugenol juntamente com 0,03 mol de anidrido acético e 0,01 mol de piridina sob agitação magnética à temperatura ambiente por 4 horas. Em seguida foi adicionado 20 mL de acetato de etila e realizada extração com solução aquosa de $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (20% m/V, 4x20 mL). Por fim, secou-se a fase orgânica da reação com Na_2SO_4 e concentrou-se em rotaevaporador.

2.2 PREPARAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

O meio Àgar Mueller- Hinton é um meio sólido padronizado, recomendado para a realização de testes antimicrobianos. O mesmo foi preparado seguindo a metodologia de padronização Kirby e Bauer, 1996, e pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Foi medido a massa de 35 g de meio de cultura para 1 L de água destilada, em seguida adicionado em um erlenmeyer de 1L. Para a homogeneização do meio de cultura, colocou-se o mesmo em banho maria até a diluição do sólido e ao término do procedimento, o meio foi autoclavado. Em seguida foi colocado em placas de petri (50 ml do meio) e posto na geladeira envolto de papel filme para conservação. Na Imagem 1 está representado o meio de cultura já preparado na placade petri.

Imagem 1: Placa de petri contendo meio de cultura para testes

Foto retirada pelo próprio autor

2.3 PREPARAÇÃO E AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA

Foram utilizados dois tipos de bactérias para o experimento, das quais, uma Gran-positiva CG+ (*Staphylococcus sp*) e uma Gran-negativa BG-2 (*Escherichia coli*), ambas preparadas seguindo o manual para atividade ANTIBIOGRAMA de Kirby; Bauer, 1996, para a replicação das bactérias o meio de cultura já preparado, foi retirado da geladeira 20 minutos antes para obter temperatura ambiente e evitar quaisquer dano nas bactérias. Com o auxílio de um swab, as bactérias CG+ e BG-2 foram retiradas das cepas e aplicadas suavemente sobre o meio de cultura, logo após, levadas à estufa de modelo 502 FANEM por um período de 24 horas a uma temperatura de 35°C.

Ao passar o período de 24 horas iniciou-se o teste bacteriológico, em que as mesmas foram retiradas das placas com auxílio de uma alça em platina devidamente flambada e resfriada. Em seguida, transferidas para um tubo de ensaio contendo solução salina (NaCl 0,85%) para diluição até atingir entre 0,08 e 1 em espectrofotômetro à 625 nm. Ao fim deste processo, embebeu-se um swab na suspensão bacteriana comprimindo-o no próprio tudo de ensaio para evitar o excesso de material, aplicou-se em movimentos uniformes sobre o meio de cultura até que toda superfície fosse preenchida. Após a secagem do meio, foram aplicados discos contendo amostras dos derivados do eugenol em concentrações de 20µL, juntamente com o controle positivo (amicacina-30mcg), e como solvente o DMSO em concentração de (100mg/ml).

As placas com os discos já aplicados, foram levadas à estufa bacteriológica por 24 e 48 horas para posterior análise dos resultados. Na Imagem 2 estão representados as placas de petri com os discos já aplicados e a leitura dos halos de inibição respectivamente.

Imagem 2: placas preparadas com os discos e leitura halos inibitórios

Foto retirada pelo próprio autor

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho se deram por meio do diâmetro apresentado nos halos inibitórios de cada disco. A Tabela 1, estão dispostos os resultados dos halos de inibição apresentados por cada derivado do eugenol frente as bactérias CG+ e BG-2.

Tabela 1: Halos inibitórios frente as bactérias CG+ e BG-2 com 24 e 48 horas

AGENTES	24 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	48 HORAS
	CG+	BG-2	CG+	BG-2
Amicacina	20 mm	10 mm	18 mm	9 mm
Controle	0	0	0	0

Eugenol (I)	5 mm	0	5 mm	0
Hexanoato de eugenila (II)	10 mm	0	10 mm	0
Butirato de eugenila (III)	10 mm	0	10 mm	0
Acetato de eugenila (IV)	9 mm	0	9 mm	0
Benzoato de eugenila (V)	10 mm	0	9 mm	0

Elaborada pelo autor

Os resultados acima mostram as reações das bactérias CG+ e BG-2 frente aos derivados do eugenol. Agentes que apresentam valor do halo de inibição igual ou superior a 8 mm, podem ser considerados antibacterianos intermediários (NAGABABU, LAKSHMAIAH, 2000). Seguindo este princípio, no período de 24 e 48 horas, os derivados de eugenol (II), (III), (IV) e (V) apresentaram halos superiores há 8 mm, sendo de 10, 10, 9, 10 mm, respectivamente, para a bactéria CG+. Quanto a espécie BG-2, os derivados do eugenol não apresentaram halo de inibição, sendo considerada resistente aos agentes antibacteriológicos sintetizados. A bactéria CG+ respondeu positivamente aos testes sendo considerada intermediária perante aos derivados do eugenol de uma escala que vai de 8 a 16 mm.

4. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste estudo, caracterizaram positivamente os derivados (hexanoato de eugenila II, butirato de eugenila III, acetato de eugenila IV e benzoato de eugenila V) como inibidores bacteriológicos intermediários, pois os mesmos apresentaram halos de 10, 10, 9, 10 mm frente as bactérias CG+ e BG-2 respectivamente. O eugenol destilado por apresentar halo de apenas 5 mm não foi considerado um bom inibidor antibacteriológico. Desta forma, foi possível avaliar o potencial antibacteriano de agentes sintetizados a partir do eugenol para serem utilizados como inibidores significativos frente as bactérias Gran-positiva (CG+) e Gran-negativa (BG-).

AGRADECIMENTOS

Agradecer ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte – Campus Apodi, pelo espaço cedido e ao CNPq pela concessão das bolsas para a realização do projeto.

REFERÊNCIAS

- BAEUR, A.; KIRBY, W. **Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method**. 1966. *Amer J Clin Pathol* 45: 493-496.
- COSTA, P. **A natureza e suas tecnologias - Óleos e plantas**. 2004. 178 f. Dissertação (Mestrado em energia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, Brasil- 2004.
- ESCOBAR, R. G. **Eugenol: Propriedades farmacológicas y toxicológicas**. Ventajas y desventajas de su uso. Ver *Cubana Estomatol*, v. 39, 2002.

NAGABABU, E; LAKSHMAIAH, N. **Inhibition of microsomal lipid peroxidation and monooxygenase activities by eugenol.** Free Radic. Res., v. 20, p. 253-66, 2000.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests;** Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.