



## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DE DERIVADOS DE TIMOL, DO CARVACROL E DO EUGENOL

### Synthesis and evaluation of carrapaticida activity of thymol, carvacrol and eugenol derivatives

**Autores:** Andre Costa BATTISTI<sup>1</sup>, Adalberto Manoel da SILVA<sup>2</sup>, André Luis Fachini de SOUZA<sup>3</sup>, Viviane Milczewski<sup>3</sup>.

**Identificação autores:** <sup>1</sup>Bolsista CNPq, licenciatura em química; <sup>2</sup>Orientador IFC-Campus Araquari, <sup>3</sup>Coorientador IFC-Campus Araquari.

### RESUMO

O presente projeto procurou produzir produtos semi-sintéticos orgânicos preferencialmente que possuam atividade biológica, através de reações click, utilizando como composto de partida o timol, carvacrol e eugenol. Os compostos estão presentes nos óleos essenciais extraídos do orégano (*Origanum Vulgare*) tanto para o timol, quanto carvacrol e cravo da Índia (*Eugenia caryophyllata*) para o eugenol. Os derivados foram produzidos via reações de cicloadição, utilizando o timol, o carvacrol e o eugenol propargilados e benzilazidas. Seis compostos foram sintetizados com rendimentos entre 62 a 77%, caracterizados por técnicas espectroscópicas (IV, RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C) e espectrométrica (EM), assim como, avaliados quanto a sua atividade carrapaticida, por meio de testes biológicos *in vitro*.

**Palavras-chave:** Óleo essencial; Reação “Click”; Síntese.

### ABSTRACT

The present project seeks to produce preferably used semi-synthetic products that have biological activity, by click, using as starting compound or thymol, carvacrol and eugenol. The compounds present in the essential oils extracted from oregano (*Origanum Vulgare*) for both thymol, carvacrol and clove (*Eugenia caryophyllata*) for eugenol. Taxes were used through charge collection, use of propargylated thymol, carvacrol and ouugenol and benzylazides. They are synthesized compounds ranging from 62 to 77%, characterized by spectroscopic (IR, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR) and spectrometric (MS) techniques, such as the activity rate of their tick activity, by means of biological clinical tests *in vitro*.

**Keywords:** Essential oil; Click reaction; Synthesis

### INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

As plantas medicinais possuem um grande papel no tratamento e cura de inúmeras doenças, por meio da utilização de seus óleos essenciais como fonte de

moléculas modelo para a descoberta de novos fármacos ainda mais eficientes, sendo assim, algo interessante para a comunidade científica.

As fontes para a obtenção de fármacos são variadas e neste contexto destacam-se os produtos naturais, os quais são as fontes mais importantes de agentes anti-infecciosos, antitumorais e anti-inflamatórios (Newman e Cragg, 2007). Aproximadamente 35% dos fármacos disponíveis são de origem natural e destes 80% são produtos naturais modificados ou fármacos semi-sintéticos.

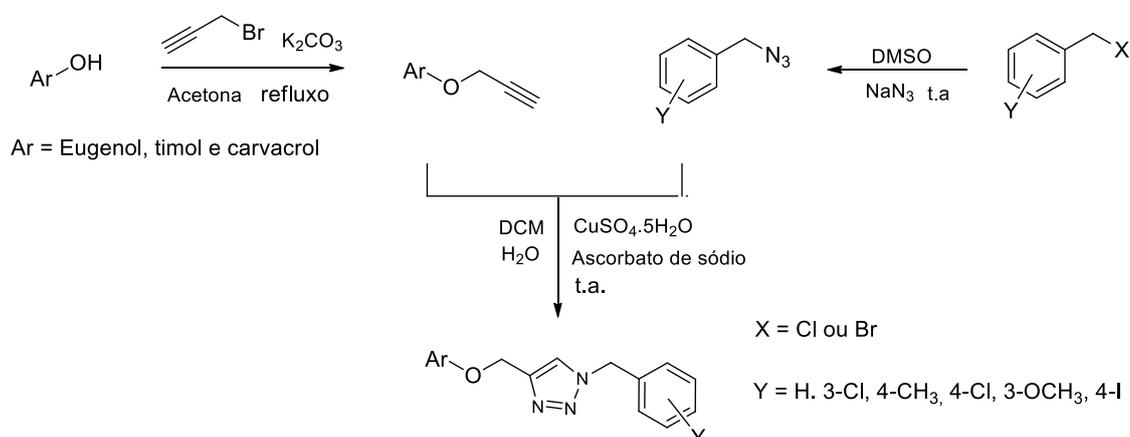
A semi-síntese destaca-se como processo de modificação de estruturas de compostos conhecidos afim de alterar, melhorar ou produzir efeitos farmacológicos em compostos puramente naturais. Introduce-se então o conceito química "click" que propõem acelerar as descobertas de novas substâncias com propriedades úteis para a farmacologia.

Compostos naturais são modificados nas reações "click", expandindo seu potencial medicinal, deste modo empregou-se reações click em compostos presentes em óleos essenciais na busca de novos compostos, que possuem atividade biológica e posterior análise *in vitro*.

## METODOLOGIA

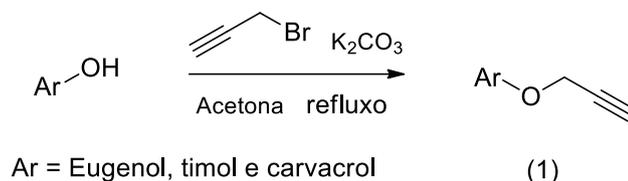
Tanto o óleo essencial do orégano, quanto o óleo essencial do cravo da Índia foram extraídos por hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger modificado e purificado por coluna de cromatografia obtendo o carvacrol, eugenol e timol, identificado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (Brochini et al., 1999), o qual utilizou-se como substrato para as seguintes reações.

A síntese se desenvolveu de acordo com o esquema 1.



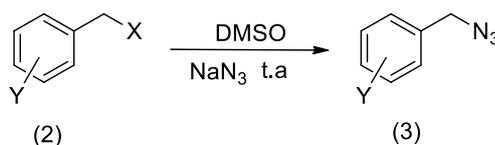
Esquema 1. Proposta de síntese dos derivados triazólicos.

A primeira etapa do processo envolveu a reação de alquilação do carvacrol, eugenol e timol, utilizando o brometo de propargila, o que resultou no éter (1), conforme esquema 2 (Olagnier et al., 2007).



Esquema 2: Propargilação do Carvacrol

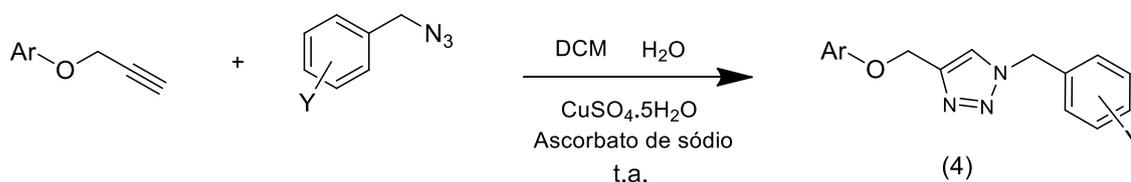
Seis benzilazidas (3) foram preparadas a partir de haletos benzílicos comerciais (2) via substituição nucleofílica bimolecular com a azida de sódio, conforme mostrado no Esquema 3 (Gallardo et al., 2007).



Onde, X= Cloro (Cl) ou Bromo (Br) e Y = H, 3-Cl, 4-CH<sub>3</sub>, 4-Cl, 3-OCH<sub>3</sub>, 4-I.

Esquema 3: Síntese de Azidas

Numa etapa subsequente, o composto de estrutura (1) foi acoplado às benzilazidas (3) sintetizadas via reação “click” originando os seis compostos com estrutura geral 4 (Sall et al., 2011), Esquema 4.



Esquema 4: Reações Click

Todos os compostos sintetizados foram purificados por cromatografia de coluna e suas estruturas foram elucidadas pelas técnicas de determinação estrutural: espectroscopia no infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C) e espectrometria de massas (EM) e as temperaturas de fusão foram determinadas.

Os derivados do carvacrol sintetizados foram avaliados quanto a atividade carrapaticida. Foram realizados testes biológicos *in vitro*, utilizando-se dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente. Foram testadas as concentrações de 50%, 75% e 100% de DMSO como controles para a dissolução dos compostos sintetizados, sendo a porcentagem restante da solução a água destilada.

Para a determinação da letalidade, utilizou-se testes de imersão de adultos (TIA) em triplicata (FAO,2004), utilizando-se DMSO na concentração de 100% como solvente e seis compostos derivados do carvacrol na concentração de 20% (v/v). Fêmeas ingurgitadas de carrapatos bovinos (*Rhipicephalus microplus*) foram banhadas nestas soluções durante 5 minutos, seguido de incubação em estufa a 27°C durante 15 dias. Após a postura, os ovos foram pesados e incubados em tubos de ensaio nas mesmas condições descritas acima até eclosão. Como controle, os carrapatos foram banhados em água destilada.

A eficácia reprodutiva dos carrapatos foi determinada a partir da estimativa do percentual de eclosão dos ovos (CHAGAS et al, 2016).

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

O carvacrol e o eugenol apresentavam aspecto líquido, viscoso e amarelado, enquanto o timol sólido branco. Eles foram estruturalmente modificados gerando produtos de síntese sólidos de coloração esbranquiçada.

Foram sintetizados 6 compostos derivados, cujos rendimentos variaram de 65 a 77 %. Esses compostos foram avaliados frente a atividade carrapaticida.

Antes de testarem os compostos sintetizados, foram avaliados os efeitos do solvente (DMSO) sobre os carrapatos bovinos *Rhipicephalus microplus* nas concentrações 50%, 75% e 100%, observando-se que não houve diferença significativa na taxa de mortalidade e na eficiência reprodutiva quando comparada aos resultados utilizando água destilada como controle.

Todos os compostos na concentração testada apresentaram uma taxa de mortalidade de fêmeas adultas similar àquela apresentada pelo controle.

Entretanto, ovos provenientes do tratamento com fêmeas ingurgitadas com os compostos 6 e 5 apresentaram as menores taxas de eclosão, com valores de aproximadamente 10% e 20%, respectivamente. Por outro lado, o composto 4 resultou

na maior taxa de eclosão (70%), seguido dos compostos 1 (60%), 3 (40%) e 2 (30%), conforme tabela 1.

**Tabela 1** – Compostos analisados e respectiva eficácia reprodutiva

Compostos analisados	Eficácia reprodutiva
Hidrogênio (1)	60%
3-Cloro (2)	30%
4-Metil (3)	40%
4-Cloro (4)	70%
3-Metoxi (5)	20%
4-Iodo (6)	10%

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de reações “click” executado neste trabalho mostrou-se eficiente com rendimento do produto puro acima de 62%, tornando possível a síntese de novos compostos, que foram testados *in vitro* com relação à atividade carrapaticida.

Os resultados sugerem que apesar dos compostos sintetizados não terem efeito sobre a mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, o composto 6 resultou na menor taxa de eclosão de ovos (10%).

Por fim, aguarda-se por análises dos compostos faltantes, tanto do carvacrol, eugenol e timol, assim como, de seus derivados e os materiais propagilados.

### REFERÊNCIAS

CHAGAS, A.C.S.; OLIVEIRA, M.C.S.; GIGLIOTI, R.; SANTANA, R.C.M.; BIZZO, H.R.; GAMA, P.E.; CHAVES, F.C.M. Efficacy of 11 Brazilian essential oil on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2016.

ESCOBAR, R. G. Eugenol: Propriedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Ver Cubana Estomatol*, v. 39, 2002.

Newman, D. J. and Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* 2007, 70, 461.

MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; SILVA, R.A.; BARROS, R.S.; SOUSA, R.N.; SOUSA, L.C.; BRITO, E.S.; SOUZA-NETO, M.A. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology*, 2010, 167, 1-7.