



## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DO PRODUTO DA OXIDAÇÃO CATALÍTICA DO ADOXAL

Viviane Moitim Pereira

<sup>1</sup> – Instituto Federal de Educação e Tecnologia do Espírito Santo, Campus- Alegre

### RESUMO

O adoxal é um aldeído aromático que apresenta nuances amarelo claro, podendo ser até mesmo incolor, sendo obtido principalmente a partir de rotas sintéticas, possui uma ligação dupla trissubstituída, que pode ser funcionalizada. Alguns aldeídos apresentam atividade antifúngica e/ou antimicrobiana e podem também ter uma vasta utilização em diversas áreas. Uma bactéria muito estudada é a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), uma bactéria gram-positiva que em contato com alimentos, pode produzir enterotoxinas, que são um dos principais motivos das intoxicações por meio de alimentos em humanos e seu uso indevido de contribui para o estabelecimento de cepas multirresistentes, gerando uma grande preocupação de saúde pública. O objetivo deste trabalho foi estudar um sistema catalítico baseado em Pd (II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na oxidação do adoxal e avaliar a ação bactericida do produto sintetizado. As reações foram realizadas na presença de peróxido de hidrogênio como agente oxidante, acetonitrila como solvente e catalisadas por acetato de paládio (II). O sistema proposto formou promoveu a conversão do substrato em cerca de 93% e seletividade para o produto de aproximadamente 100%, sendo o produto oriundo da oxidação da sua dupla ligação trissubstituída propondo a eficiência do catalisador frente o sistema catalítico. Tanto o adoxal quanto seu produto foram testados frente a *Staphylococcus aureus*, pelo método de difusão em disco, onde as bactérias foram incubadas 24 horas em estufa com temperatura controlada em 37±1°C, as quantidades do produto e do adoxal usadas no teste bactericida foi de 10mL, mas na concentração testado, ambos não apresentaram atividade biológica contra a cepa avaliada. Diante dos resultados obtidos, pode-se dizer que o sistema catalítico se mostrou eficiente para oxidação da ligação dupla presente no aldeído, visto que alcançou rendimentos atrativos para o conseguimento de produtos. No entanto o produto obtido não apresentou atividade bactericida na concentração estudada e outros ensaios biológicos devem ser realizados em concentrações diferentes, e também em outras espécies de bactérias.

**Palavras-chave:** Adoxal, Catálise, Oxidação.

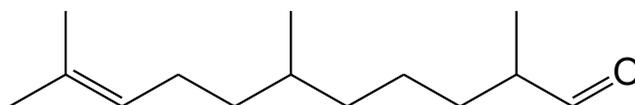
### 1 INTRODUÇÃO

A catálise teve início a partir do século XIX, inserida por John Jacobs Berzelius, o qual explicou o aumento da taxa de uma reação química quando determinadas substâncias, intituladas “catalisadores”, encontravam-se presentes na reação (MENINI, 2016). No Brasil, a catálise começou a ser introduzida em meados dos anos 60, tendo o CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) como pioneiro (MÉRETTE, 2000).

Os sistemas catalíticos são classificados em dois grandes grupos: homogêneo e heterogêneo. Os sistemas homogêneos apresentam o substrato e o catalisador na mesma fase, distintamente os sistemas heterogêneos caracterizam-se pela presença do substrato e do catalisados em fases distintas no meio reacional (ATKINS, 2010).



Figura 1: Estrutura do adoxal



Fonte: CHRMICALBOOK, 2017.

O adoxal (Figura 1) é um aldeído aromático que apresenta nuances amarelo claro, podendo ser até mesmo incolor. É muito utilizado pela indústria de perfumaria por apresentar um aroma frutado amadeirado, sendo obtido principalmente a partir de rotas sintéticas (CHERMICALBOOK, 2017). Os aldeídos possuem uma vasta utilização na produção de medicamentos, vitaminas e fragrâncias (KHAZAEI *et al.*, 2014). Alguns aldeídos apresentam atividade antifú antifúngica e/ou antimicrobiana e podem também ter aplicação como defensivos agrícolas (VIEIRA, 2012).

A *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva em formato cocoide, sendo aeróbia, ou anaeróbia facultativa, pertencente ao filo firmicutes. A *S. aureus* está presente na microbiota nasal humana (LEE *et al.*, 2018) e também é encontrada naturalmente na pele. Em contatos com alimentos, pode produzir enterotoxinas (VAN AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006), que são um dos principais motivos das intoxicações por meio de alimentos em humanos (LAMAITA *et al.*, 2005).

O uso indevido de agentes antimicrobianos contribui para o estabelecimento de cepas multirresistentes, gerando uma grande preocupação de saúde pública (NASEER *et al.*, 2021), sendo esse um dos motivos da busca por novos produtos com potencial bactericida. Diante do exposto, este trabalho propõe a funcionalização do adoxal e a avaliação da atividade bactericida do produto sintetizado.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os testes catalíticos foram realizados no laboratório de Fitoquímica e Catálise do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) – Campus de Alegre. Os reagentes, solventes e catalisadores foram obtidos de maneira comercial e utilizados sem tratamento prévio.



## 2.1 Transformação química do adoxal

Os testes catalíticos foram realizados em reator de vidro bitubulado equipado com septo para amostragem periódica de amostras, imergido em banho de silicone termostaticado a 80°C e sob agitação magnética a 850 rpm em sistema de refluxo. Nos ensaios, o adoxal (substrato) foi estudado na presença de acetato de paládio(II) ( $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , catalisador) em acetonitrila ( $\text{CH}_3\text{CN}$ , solvente) e o agente oxidante utilizado foi o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Para a reação, utilizou-se 1,0mmol de adoxal, 0,05mmol de  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , e 4,0mmol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (35% v/v).  $\text{CH}_3\text{CN}$  foi usada como solvente no meio e o volume reacional final foi de 5,0mL. O tempo reacional total foi de 90 minutos.

## 2.2 Avaliação da reação, isolamento e caracterização do produto

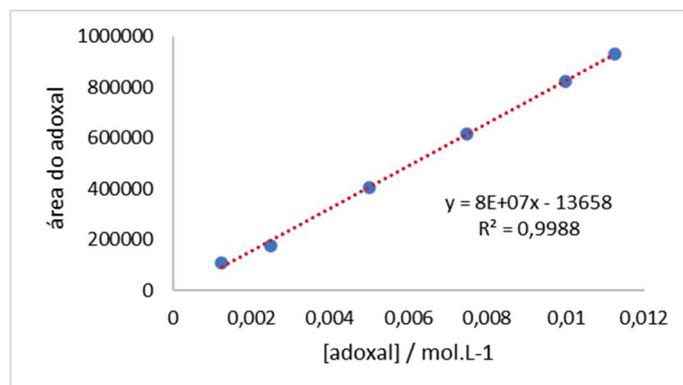
Todo o processo reacional foi monitorado através da análise por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG/DIC), modelo QP2010-Plus (Shimadzu), com coluna capilar de sílica fundida (30m x 0,25mm) com fase estacionária RTx-5MS (Crossbond - Carbowax- polietilenoglicol) (0,25 mm de espessura do filme) e com detector de ionização em chama. Todas as amostras foram diluídas 20 vezes para posterior injeção no cromatógrafo (50 $\mu\text{L}$  de reação diluída em 1000 $\mu\text{L}$  de etanol). Para as análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizou-se o equipamento modelo QP20101-Plus (Simadzu), equipado com coluna capilar apolar RTx-5MS (Crossobond - Carbowax – polietilenoglicol) com 30 metros de comprimento e diâmetro de 0,25mm. Para as análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de carbono ( $^{13}\text{C}$ ) e hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) foi utilizado o aparelho modelo DRX-400 Avance (Bruker). As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado. O isolamento do produto reacional foi realizado por cromatografia em coluna de sílica gel (*mesh* 70-230). Como eluentes, foram realizados gradientes de polaridade usando proporções diferentes de hexano:diclorometano.

## 2.3 Quantificação e determinação da conversão e seletividade

Para determinar a conversão e seletividade da reação, usou-se uma curva analítica. O Gráfico 1 foi construído a partir de diferentes concentrações do adoxal e está representado abaixo:



Gráfico 1: Curva analítica do adoxal.



Fonte: Próprio autor.

A equação da reta fornecida pela curva analítica foi usada para determinar a concentração residual de adoxal nas amostras e para os cálculos de conversão.

A conversão é um dos parâmetros significativos dentro da catálise, que mostra o quanto de reagente está sendo transformado em produto. Para o cálculo de conversão foi utilizado a Equação 1:

$$\% \text{ conversão} = \left[ 1 - \frac{[\text{adoxal}]_{\text{residual}}}{[\text{adoxal}]_{\text{inicial}}} \right] \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

#### 2.4 Teste da atividade bactericida do produto da oxidação catalítica do adoxal

O ensaio bactericida para o estudo da reação catalítica do adoxal foi realizado no laboratório de Microbiologia do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) – Campus de Alegre. Todos os materiais usados foram adquiridos comercialmente sem tratamento prévio.

A bactéria usada foi a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), que foi ativada 48h antes da realização do teste. Para a ativação, foi preparado um meio de cultura em caldo Tryptic Soy Broth (TSB), onde foram utilizados 2 tubos de ensaio com 5mL cada de caldo (TSB) nos quais as colônias de bactérias foram inseridas através de raspagem da placa de petri onde estavam inativadas. Foram cultivadas até atingir à concentração de  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>. O número de células por mL foi determinado utilizando a curva padrão de crescimento, obtida por análise espectroscópica no UV/VIS (AGILENT CARY60 UV-VIS) e também o controle de crescimento usando caldo TSB. Para o pré-teste bactericida por difusão em disco, utilizou-se o meio ágar para a contagem de microrganismos em placas (Plate Cout Agar), após a preparação do meio de cultura (Plate Cout Agar), foi adicionado 1,0mL do caldo (TSB) contendo as bactérias ativas. Prosseguiu-se adicionando 20,0mL do preparado em 5 placas de petri de 140 mm esterilizadas. Cada placa de petri teve discos de papel estéril com 6 mm



inseridos para a aplicação do produto e do substrato a fim de fazer a comparação da atividade biológica do adoxal e do seu produto de oxidação. A quantidade de produto e de substrato usada foi de 10 $\mu$ L por disco de papel estéril.

Em seguida as placas de petri foram incubadas por 24 horas em estufa com temperatura controlada em 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C.

#### 2.4 Teste da atividade bactericida do produto da oxidação catalítica do adoxal

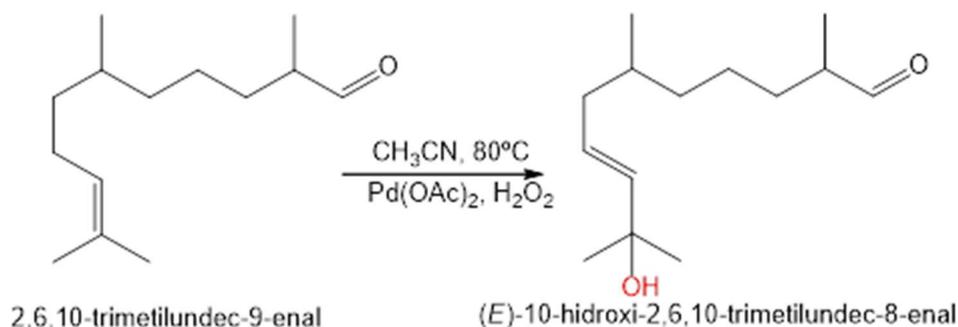
A bactéria usada foi a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), que foi ativada 48h antes da realização do teste. Para a ativação, foi preparado um meio de cultura em caldo Tryptic Soy Broth (TSB), onde foram utilizados 2 tubos de ensaio com 5mL cada de caldo (TSB) nos quais as colônias de bactérias foram inseridas através de raspagem da placa de petri onde estavam inativadas. Foram cultivadas até atingir à concentração de 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. O número de células por mL foi determinado utilizando a curva padrão de crescimento, obtida por análise espectroscópica no UV/VIS (AGILENT CARY60 UV-VIS) e também o controle de crescimento usando caldo TSB.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Ensaio Catalítico

Inicialmente, realizou-se os ensaios catalíticos na presença e na ausência do catalisador acetato de paládio (II), que foi importante para assegurar se a formação de produto pode ocorrer também na ausência do catalisador, ou se o uso do catalisador é imprescindível na formação e na seletividade do produto. O esquema da reação está representado a seguir:

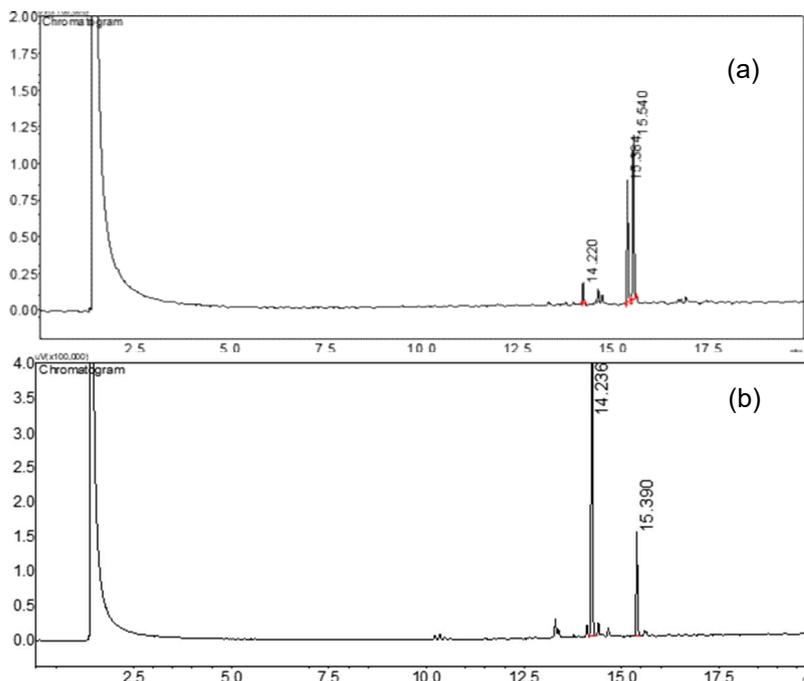
Esquema 1: Formação do produto da reação de oxidação do adoxal.



Fonte: Próprio autor.

Os resultados das reações estão demonstrados nos cromatogramas (Figura 2) e no Gráfico 2.

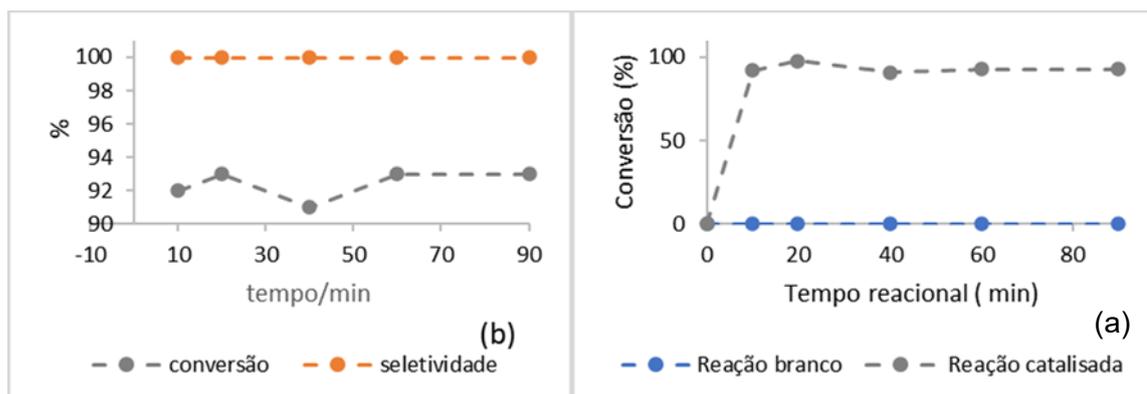
Figura 2. Cromatograma comparativo entre a reação de oxidação do adoxal na presença (a) e ausência do catalisador Pd (OAC)<sub>2</sub> (b).



Fonte: Próprio autor.

Nos cromatogramas acima, o pico com tempo de retenção ( $t_R$ ) em aproximadamente 14,2 refere-se ao adoxal, o  $t_R = 15,4$  é devido a presença de uma impureza do substrato e o  $t_R = 15,5$  é relativo ao produto de oxidação do adoxal. Observa-se na Figura 2a que o substrato foi consumido na sua maioria em um pequeno período de tempo (90 minutos) e formou-se majoritariamente um produto derivado da reação quando o processo ocorreu na presença de catalisador, por outro lado, na ausência de catalisador (Figura 2b) não foi observada a conversão do substrato, o que indica que para o processo reacional proposto é essencial a presença do catalisador no meio.

Gráfico 2: Curvas obtidas a partir da reação de oxidação do adoxal na presença e na ausência do catalisador Pd (OAC)<sub>2</sub> (a) e conversão do substrato e seletividade (b).



Fonte: próprio autor.  
ISSN: 2675-813X

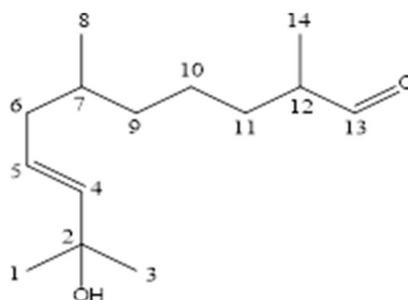


A partir das curvas representadas no Gráfico 2a, nota-se que o substrato apresenta conversão de aproximadamente 93% quando a reação é catalisada, enquanto na ausência de catalisador (curva azul) não houve conversão do substrato. Através do Gráfico 2b, observa-se que a seletividade para o produto da reação é aproximadamente 100%.

### 3.2. Caracterização do produto da reação

A reação do adoxal na presença de Pd (OAc)<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> forneceu o (E)-10-hidroxi-2,6,10-trimetilundec-8-enal como produto altamente seletivo. O produto foi isolado por cromatografia em coluna, identificado por CG-EM e caracterizado por RMN de <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H. O produto é inédito e o processo de síntese descrito teve início com os estudos de LOPES (2020) em sua dissertação de mestrado acadêmico. A estrutura do produto encontra-se na Figura 3.

Figura 3: Produto obtido da reação de oxidação do adoxal catalisada por Pd (OAc)<sub>2</sub>.



Fonte: Lopes, 2020.

Os dados espectroscópicos do produto de oxidação do adoxal e os dados espectrométricos estão dispostos abaixo:

Dados espectroscópicos: RMN <sup>1</sup>H: 1.29 (6H, s), 5.57 (s), 2.35- 2.28 (1H, m), 1.99 (3H, dd), 1.63-1.69 (H1, m), 0.83 (3H, d), 0.96 (1H, d), 1.07 (4H, d), 1.17-1.24 (2H, m), 1.41-1.52 (2H, m), 2.28-2.35 (1H, m), 9.58 (1H, d).

RMN <sup>13</sup>C: 29.9 (C1, C3), 70.7 (C2), 139.5 (C4), 125.5 (C5), 39.6 (C6), 32.9 (C7), 19.5 (C8), 36.4 (C9), 24.4 (C10), 30.8 (C11), 46.4 (C12), 205.5 (C13).

CG-EM (m/z/ int. rel.): 208 (1,6) [M<sup>+</sup> - 2H<sub>2</sub>O], 207(0,76) [M<sup>+</sup> -2H<sub>2</sub>O - H] 193 (2,84) [M<sup>+</sup> - 2H<sub>2</sub>O -CH<sub>3</sub>], 149 (7,92) [M<sup>+</sup> - 2H<sub>2</sub>O - C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O], 109(100), 67(86).

### 3.3. Ensaio biológico

Foi realizado um pré-teste com o produto da reação e com o adoxal através do método de difusão em disco para avaliar a capacidade bactericida desses compostos. Após o período de incubação, os resultados foram analisados e não foi observado halo de inibição em volta dos discos que continham os compostos. Pode-se concluir que nem o produto, nem o adoxal inibiu



o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus*, portanto, esses compostos não apresentam atividade bactericida frente a esse patógeno para a concentração testada.

#### 4 CONCLUSÃO

No presente trabalho foi desenvolvido o produto (E)-10-hidroxi-2,6,10-trimetilundec-8-enal, derivado da síntese catalítica de oxidação do adoxal com conversão do substrato acima de 90% e seletividade superior a 95%. O produto e o substrato foram testados quanto às suas atividades biológicas, mas os resultados indicaram que, para a concentração testada esses compostos não foram ativos frente a bactéria *Staphylococcus aureus*. Dessa forma, pode-se fazer uma remodelação no estudo para avaliar a possibilidade bactericida em concentrações mais altas, ou distintos microrganismos.

#### REFERÊNCIAS

- Atkins, S.a., Inorganic Chemistry. Fifth Edition ed. 2010: **Oxford University Press**.
- KHAZAEI, Ardeshir *et al.* Solvent-Free Oxidation of Secondary Alcohols to Carbonyl Compounds by 1, 3-Dibromo-5, 5-Dimethylhydantoin (DBDMH) and 1, 3-Dichloro-5, 5-Dimethylhydantoin (DCDMH). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 25, n. 2, p. 361–364, 2014.
- LAMAITA, H. C. *et al.* Staphylococcus sp. counting and detection of staphylococcal enterotoxins and toxic shock toxin syndrome from cooled raw milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 5, p. 702–709, 2005.
- LEE, Andie S. *et al.* Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. May, p. 1–23, 2018.
- LOPES, RANIELI PAIVA. **Oxidação de Olefinas por Peróxido de Hidrogênio Catalisadas por Paládio (II)**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal do Espírito Santo - Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alegre, p.67.2020.
- MENINI, LUCIANA ALVES PARREIRA. **Oxidação Aeróbica de Alcóois Terpênicos naturais catalisada por sais de Paládio (II)**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química, Belo-Horizonte, p.125. 2016.
- MÉRETTE, Marcel. Post-Mortem of a Stabilization Plan: The Collor Plan in Brazil. **Journal of Policy Modeling**, v. 22, n. 4, p. 417–452, 2000.
- NASEER, Q. A. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles using lactobacillus bulgaricus and assessment of their antibacterial potential. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. 1–8, 2022.