

ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA REAÇÃO DE ACETILAÇÃO DO EUGENOL (ACETATO DE 4-ALIL-2-METOXIFENIL)

Josefa Aqueline da Cunha Lima^a; Jadson de Farias Silva^a; Cosme Silva Santos^a; Romário Jonas de Oliveira^a; Juliano Carlo Rufino de Freitas^{ab}

^a Universidade Federal Rural do Pernambuco, Departamento de química, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, cep 42171900, Recife-PE, Brasil

^b Universidade Federal de Campina grande, Centro de educação e Saude, Acesso professora Maria Anita Furtado Coelho, s/n, Sítio Olho D'água da Bica, cep 58175000, Cuite-PB, Brasil.

akelinecunha@gmail.com; jadson_nf@hotmail.com; cosme.quimica_21@hotmail.com; romario.jonas@live.com

julianocrufino@yahoo.com.br

Resumo: O acetato de eugenila é produto natural pertencente à classe dos fenilpropanoides, encontrado em diversos óleos essenciais, que apresenta atividades biológicas diversas, sendo elas: anticancerígena, acaricida, antioxidante e no setor industrial é utilizado como aromatizante. Pode ser obtido através de seu precursor, o eugenol, que é um produto natural extraído da árvore do cravo da Índia que ao ser submetido a reação de acetilação leva ao acetato de eugenila. No presente trabalho foi avaliado dois métodos de obtenção do acetato de eugenila, sendo o método A (convencional, sob agitação) enquanto que o método B (utilizando o equipamento de ultrassom), em ambos os métodos foram empregados o anidrido acético como agente acetilante em meio básico. O acetato de eugenila foi obtido pelo método B em um curto tempo reacional quando comparado ao método A e foi caracterizado pelas técnicas espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 comprovando a formação do acetato de eugenila uma vez que os sinais presentes nos espectros estão de acordo com dados da literatura.

Palavras-chave: óleos essenciais, Eugenol, Reação de acetilação.

Introdução

Os óleos essenciais são fontes de matéria-prima sustentável para o preparo de produtos com maior valor agregado, além do mais, os mesmos apresentam uma variedade de atividades biológicas. O óleo essencial do cravo extraído dos botões desta árvore (*Eugenia caryophyllata*) apresentam em sua composição três constituintes majoritários que são eles: eugenol (83,6%), acetato de eugenila (11,6%) e cariofileno (4,2%) (COSTA et al., 2011). O acetato de eugenila (acetato de 4-alil-2-metoxifenil) é produto natural pertencente a classe dos fenilpropanóides (AFFONSO et al., 2014) que ocorre naturalmente em quantidades pequenas em alguns óleos essenciais de louro (*Laurus nobilis*), cravo-da Índia (*Eugenia caryophyllata*), cássia (*Cassia fistula*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (BURDOCK, 2010).

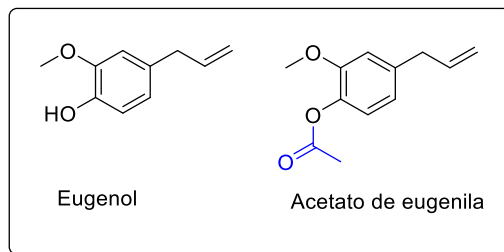


Figura 1: Estrutura química do eugenol e do acetato de eugenila.

A literatura relata a diversas atividades biológicas para o acetato de eugenila sendo estas, anticancerígena contra células da próstata e câncer escamoso oral (CARRASCO et al., 2008), acaricida contra os ácaros da sarna humana (PASAY et al., 2010), antioxidante (VANIN et al. 2014), apresenta também elevado potencial toxicológico ($LC_{50} = 0,1178 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) quando comparado com o seu precursor, o eugenol (CANSIAN et al., 2014). Outra aplicação memorável do acetato de eugenila é no setor industrial alimentício atuando como aromatizante. (TOPAL et al., 2017) De acordo com o *Joint Expert Committee on Food Additives-JECFA* (Comité Misto de Peritos em Aditivos Alimentares) o acetato de eugenila é considerado seguro e teve seu uso autorizado em alimentos pela *European Food Safety Authority-EFSA* (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos) e atualmente está listado na base de dados de aromatizantes das substâncias da União Europeia (LERIN et al., 2015).

Na comunidade acadêmica/científica o acetato de eugenila vem sendo bastante citado, além do mais o mesmo apresenta um número considerável de publicações nos últimos anos como pode ser observado na **figura 2** que mostra os gráficos referentes aos itens publicados e o número de citações publicadas por ano na plataforma de busca de periódicos “*Web of Science*” utilizando o palavra-chave “Eugenyl acetate”(WEB OF SCIENCE, 2018).

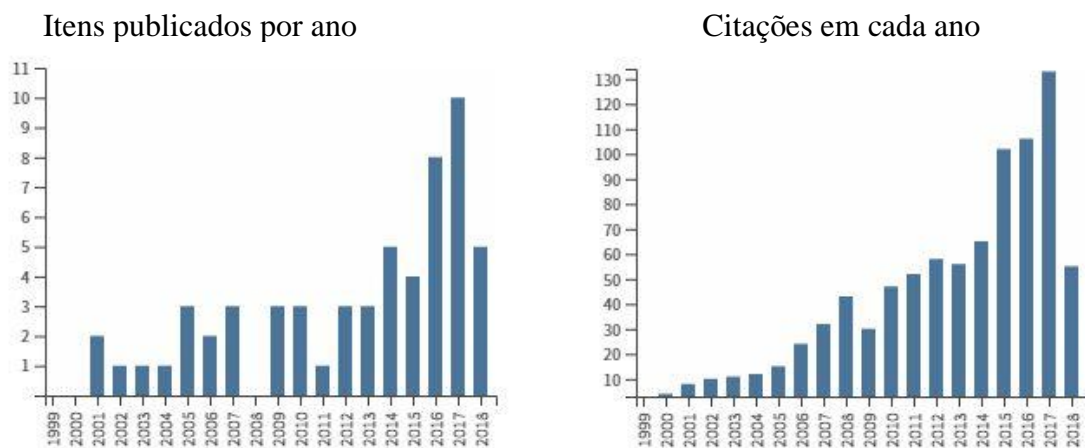


Figure 2: Gráficos referentes aos itens publicados por ano e o número de citações publicadas por ano, obtidos na plataforma de busca de periódicos “Web of Science” utilizando a palavra-chave “Eugenyl acetate”.

De origem natural o acetato de eugenila também pode ser obtido de forma sintética. Um dos métodos mais comum e mais utilizado na obtenção de ésteres seja em nível industrial ou laboratorial é através da esterificação de Fischer, a qual se refere ao aquecimento de um ácido carboxílico e um álcool na presença de catalisador ácido (McMURRY, 2011). Um dos reagentes mais utilizados para este fim é o anidrido acético, que devido a este reagente a reação recebe o nome de acetilação, a qual se fundamenta na proteção da hidroxila fenólica por meio do anidrido acético na presença de catalisadores ácidos ou básicos (Figura 3) (BURDOCK, 2010). Além disso, a literatura também retrata a obtenção do acetato de eugenila por meio enzimático.

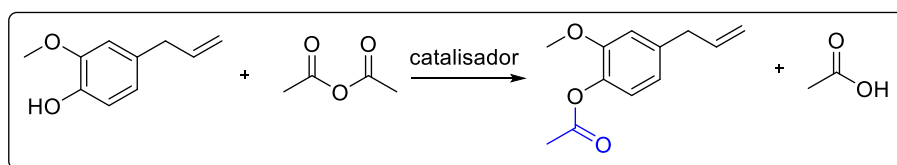


Figura 3: Reação de acetilação do eugenol

Considerando as diversas propriedades biológicas que o acetato de eugenila apresenta e que a reação de acetilação é uma das metodologias mais requisitadas para este fim, o presente trabalho se objetivou em realizar um estudo comparativo entre os métodos convencional (sob agitação) e utilizando o equipamento de ultrassom na reação de acetilação do eugenol.

Metodologia

Equipamentos e análise dos dados

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN® modelo Unity Plus-300 utilizando como solvente o clorofórmio deuterado (CDCl_3). Este espectrômetro foi calibrado usando tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de ^1H e ^{13}C . A chapa de agitação com aquecimento e a manta aquecedora foram da marca Visaton modelo 754A e 102E, respectivamente. O solvente foi removido utilizando um evaporador

rotativo da Büchi Rotavapor modelo R-114 conectado a uma bomba de vácuo modelo KNF Neuberger, e o solvente remanescente foi removido utilizando uma bomba de alto vácuo da Edwards modelo RV3. O aparelho de irradiação de ultrassom utilizado, foi o Ultracleaner 1400A com frequência ultrassônica de 40 KHz e potência ultrassônica 135 W, seu temporizador marca de 0 a 30 minutos e aquecimento de até 60°C.

Materiais, solventes e reagentes

A reação foi monitorada através da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F254 da Merck. Para visualização das placas, as mesmas foram colocadas em placa sob luz ultravioleta. A purificação foi realizada através da cromatografia líquida em coluna utilizando sílica-gel 60 (Merck, 70-230 mesh) como fase estacionária e sistemas hexano:acetato de etila como fase móvel numa coluna de vidro em nas proporções 95:5 hexano/acetato. Os solventes comerciais foram purificados de acordo com os protocolos descritos por Perrin e Amarego (1996). O hexano e o acetato de etila foram destilados com coluna de vigreux. Os reagentes, anidrido acético e acetato de sódio foi adquirido da empresa Sigma Aldrich.

Reação de acetilação do Eugenol

Método A- a reação de acetilação do eugenol constituiu-se na proteção da hidroxila fenólica presente no eugenol originando o composto desejado, acetato de eugenila (figura 1). Em um balão de fundo redondo de 100 ml, foram adicionados o eugenol (1,0 mmol; 0,164g), acetato de sódio (0,33mmol; 0,027g) e anidrido acético (3,0 mmol; 0,306g), a mistura reacional ficou sob agitação durante 3 horas sob temperatura ambiente . Após o fim da reação a mistura reacional foi vertida para um funil de separação e foram adicionados 100 ml de água e 200 mL de acetato de etila. A camada orgânica combinada foi lavada com H₂O (2 x 50 mL) e salmoura (2 x 30 mL), seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. A purificação do composto foi realizada por cromatografia líquida.

Método B- Em um balão de fundo redondo de 100 ml, foram adicionados o eugenol (1,0 mmol), acetato de sódio (0,33mmol) e anidrido acético (3,0 mmol), a mistura reacional foi adicionado no banho de ultrassom durante 1,25 horas sob temperatura ambiente. O tratamento da mistura reacional segue o mesmo descrito no *método A*.

Resultados e discussão

A reação de acetilação foi realizada por dois métodos diferentes, no *método A* a reação foi realizada sob agitação enquanto que no *método B* a reação foi realizada energia do ultrassom:

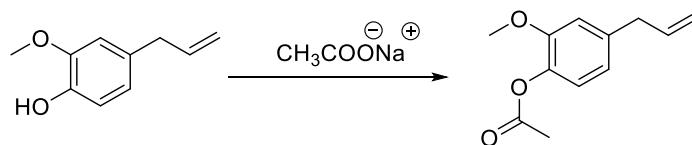


Tabela 1: Resultados de tempo e rendimento referente aos métodos A e B.

Método	Tempo	Rendimento
A	3h	88%
B	1,25h	90%

De acordo com tabela 1 foi possível constatar que ambos os métodos levam ao produto desejado com bons rendimentos, no entanto no *método B* utilizando o equipamento de banho de ultrassom apresentou o menor tempo reacional quando comparado com o método A isso se deve ao fato de que a energia de ultrassom ela promove aceleração de alguns processos químicos, uma vez que esta se baseia no processo de criar, aumentar e implodir cavidades de vapor e gases, denominados cavitação, em um líquido, onde a temperatura de cada implosão no interior da cavidade é cerca de 5500°C, enquanto que ao redor da cavidade é cerca de 2100°C com pressão é estimada em torno de 500 atm (MARTINES et al., 2000). São condições extremas quando comparados a agitação convencional a qual possui apenas a energia cinética referente a movimentação das moléculas.

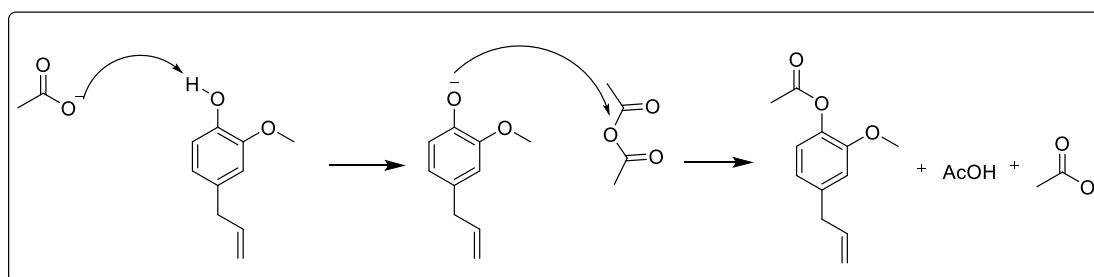


Figura 4: Mecanismo da reação de acetilação do eugenol em meio básico.

Uma vez obtido o acetato de eugenila (figura 5), com os respectivos aspectos físicos, líquido transparente, sua estrutura foi confirmada através das técnicas espectroscópicas de ressonância

magnética nuclear (RMN) de hidrogênio e carbono 13. De acordo com o espectro de RMN ^1H o somatória das integrais sob cada sinal esta de acordo com o numero de hidrogênios presente na molécula (14). O espectro de RMN ^1H apresentou 8 sinais referente aos hidrogênios quimicamente diferente, tais sinais estão coerentes com os dados da literatura para a estrutura em questão (BARBOSA et al.,2012). É possível constatar a ausência do pico largo referente a hidroxila fenólica do eugenol (δ 4-12 ppm), outro pico característico que evidencia a acetilação do eugenol que esta presente no espectro é o sinal em δ 2,29ppm, do tipo simpleto referente a metila do grupo acetil. O sinal do H7 aparece também na forma de simpleto devido o mesmo pertencer ao grupo metoxi, a presença do oxigênio torna o sinal mais desblindado (3,8 ppm) devido ao efeito eletronegativo que este heteroátomo exerce. Os hidrogênios mais desblindados (presentes na ligação dupla e no anel aromático) apresentam deslocamentos químicos mais altos na faixa de 5,0- 6,9 ppm consequência direta do efeito anisotrópico dos elétrons pi .

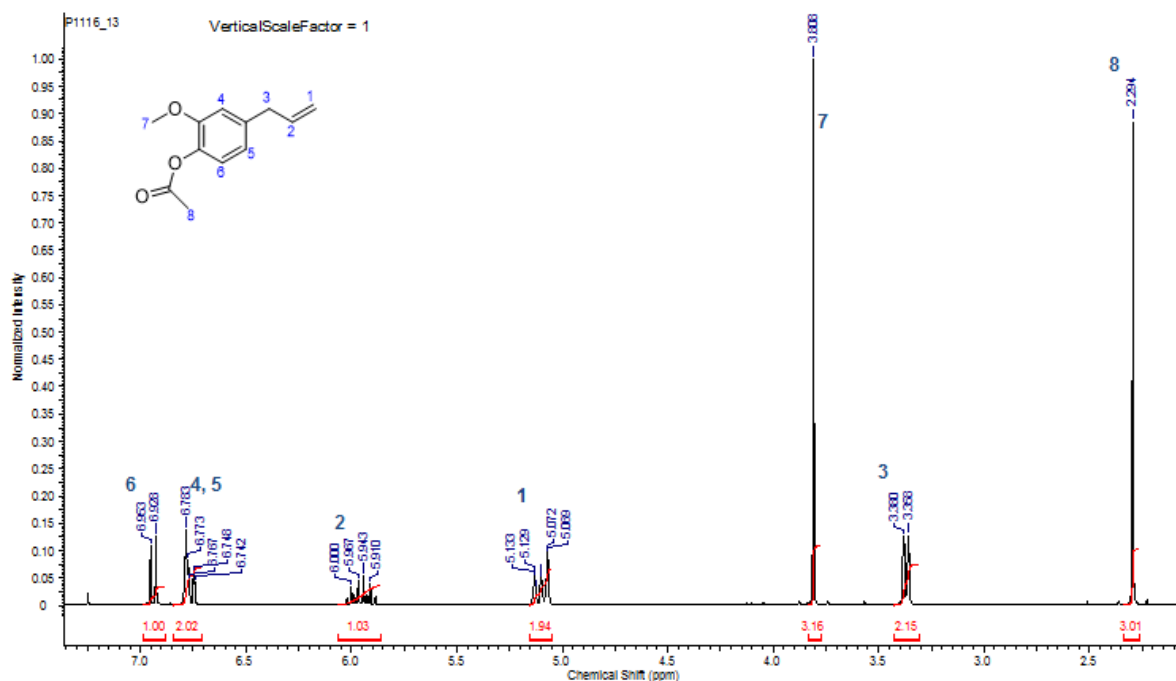


Figura 5: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3).

O espectro de RMN ^{13}C apresenta 12 sinais correspondentes aos carbonos quimicamente diferentes presente na estrutura em questão. Os carbonos sp^2 presentes no anel aromáticos e os carbonos alílicos aparecem em regiões mais desblindados devido ao efeito anisotrópico dos elétrons

pi tanto na dupla ligação quanto no anel aromático. O carbono carbonílico (C11) oriundo do grupo acetil aparece em δ 169,14ppm, considerado um pico chave neste espectro, uma vez que, confirma a conversão do da hidroxila fenólica pela grupo acetil, o carbono da metila (C12) é o sinal mais blindado da molécula e aparece em 20,6 ppm, seguido do carbono metilênicos (C3) 40,0 ppm e do carbono (C9) que sofre desblindagem do oxigênio presente no grupo metoxi aparecendo em 55,7ppm. Em suma, todos os picos estão de acordo com os dados expostos na literatura (BARBOSA et al.,2012).

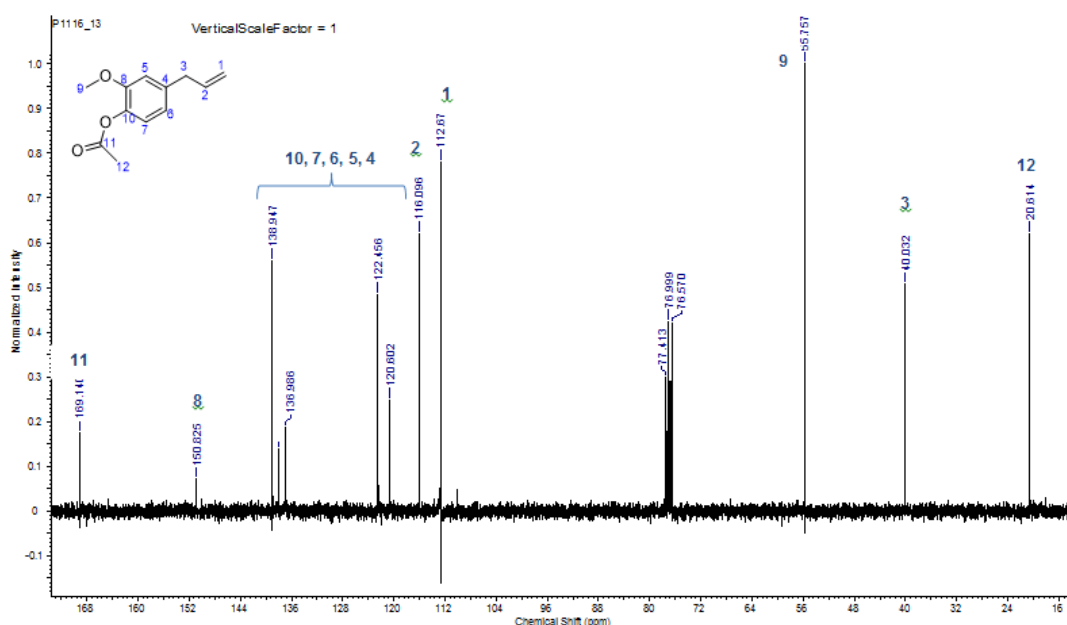


Figura 2: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

Conclusões

Em suma podemos concluir que o acetato de eugenila (Acetato de 4-aliil-2-metoxifenil) foi obtido por meio da reação de acetilação em meio básico a partir de dois métodos distintos. Os métodos consistiam em utilização do método convencional (apenas agitação) e sob radiação de micro-ondas, sendo este ultimo levou a formação do acetato de eugenila em menor tempo reacional e com maior rendimento, evidenciando que a utilização de fontes de energia como no caso o micro-ondas torna a síntese mais efetiva. A caracterização do composto obtido foi possível através da técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) de carbono (^{13}C) e hidrogênio (^1H) que foram utilizados, onde alguns os sinais/picos evidenciam a proteção da hidroxila fenólica presente no

eugenol um deste é o desaparecimento do pico largo da hidroxila e o surgimento de um simpleto (2,29ppm) em campo alto oriundo do grupo acetil em RMN ¹H enquanto que no espectro de carbono carbonílico do grupo acetil aparece como o sinal mais desblindado no espectro.

Referências

Affonso, R.S.; Lessa, B.; Slana, G. B. C. A.; Barboza, L.L.; Almeida, F. V.de; Lima, A. L. S.; Souza, F. R. de; França, T. C. C. Quantificação e Caracterização dos Principais Componentes do Extrato Etanólico de Cravo-da-Índia *Syzygium aromaticum* [L] Merr. et Perry. *Revista Virtual de Química*, V. 6, nº. 5, 2014, p. 1316-1331.

Barbosa, J.D.F.; Silva, V. B.; Alves, P. B.; Gumina, G.; Santos, R. L.C.; Sousa, D. P.; Cavalcanti, S. C.H. Structure–activity relationships of eugenol derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Research Article*, vol.68 1478-1483, 2012.

Burdock, G.A. *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*. 6^a ed.,USA: Taylor and Francis Group, p. 681, 2010.

Carrasco, H.A.; Espinoza, L.C.; Cardile, V.; Gallardo, C.; Cardona, W.; Lombardo, L.; Catalán K.M.; Cuellar, M.F.; Russod, A. Eugenol and its Synthetic Analogues Inhibit Cell Growth of Human Cancer Cells (Part I). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 19, nº. 3, p. 543-548, 2008.

Cansian, R. L.; Vanin, A. B.; Orlando, T.; Piazza, S. P.; Puton, B. M. S.; Cardoso, R. I.; Gonçalves, I. L.; Honaiser, T. C.; Paroul, N.; Oliveir, D. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. *Braz. J. Biol.* vol.77 nº.1, 2017.

Costa, A.R.T.I; Amaral, M.F.Z.J.I; Martins, P.M.II; Paula, J.A.M.I; Fiuza, T.S.III; Tresvenzol, L.M.F.I; Paula, J.R.I; Bara, M.T.FI. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

Lerin, L. A.; Catani, M.; Oliveira, D.; Massi, A.; Bortolini, O. ; Cavazzini, A.; Giovannini, P. P. Continuous ion-exchange resin catalysed esterification of eugenol for the optimized production of eugenyl acetate using a packed bed microreactor. *Royal Society of Chemistry*, 2015, 5, 76898–76903.

Martines, M. A. U.; Davolos, M. R.; Júnior, M. J. O efeito do ultra-som em reações químicas química nova, 23(2) (2000).

McMurry, J. Química Orgânica, 7^a.ed., Cengage Learning: São Paulo, 2011.

Pasay, C.; Mounsey, K.; Stevenson, G.; Davis, R.; Arlian, L.; Morgan, M.; Vyszynski-Moher, D.; Andrews, K.; McCarthy, J. Acaricidal activity of eugenol based compounds against scabies mites. Plos one, v. 5, n^o. 8, 2010.

Topal F.; Gulcinb I.; Dastanb A.; Guney, M. Novel eugenol derivatives: Potent acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. International Journal of Biological Macromolecules. 2017, 94, 845.

Web of Science, Disponível em : <https://clarivate.com/products/web-of-science/>. Acessado em maio 2018.