

**Síntese, caracterização e bioensaio toxicológico do 2-(4-Alil-2-Metoxifenoxi) acetato de etila****Synthesis, characterization and toxicological bioense of 2- (4-Alyl-2-Metoxyphenoxi) ethyl acetate**

DOI:10.34117/bjdv6n9-151

Recebimento dos originais: 10/08/2020

Aceitação para publicação: 08/09/2020

**Herbert Igor Rodrigues de Medeiros**

Bacharel em Farmácia  
Universidade Federal da Paraíba  
Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455  
e-mail: igorpls\_15@hotmail.com

**Bruna Barbosa Maia da Silva**

Bacharel em Farmácia  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Rua Dom Manuel de Medeiros, Recife - PE, 52171-900  
e-mail: brunambsilva1@gmail.com

**Carlos Eduardo Rodrigues Aguiar**

Ensino Médio Completo  
Universidade Federal de Campina Grande  
Sítio Olho D'água da Bica, s/n, Cuité – PB, 58175-000

**Thiago Araújo de Medeiros Brito**

Graduado em Farmácia  
Universidade Federal da Paraíba  
Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455  
e-mail: thiago.farmacia.brito@gmail.com

**Fernando Emanuel de Sousa Ferreira**

Bacharel em Farmácia  
Universidade Federal da Paraíba  
Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455  
e-mail: ferdnan2010@hotmail.com

**Natan Dias Fernandes**

Bacharel em Farmácia  
Universidade Federal da Paraíba  
Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455  
e-mail: natandhias@gmail.com

**Érika Paiva de Moura**

Bacharel em Farmácia  
Universidade Federal da Paraíba

Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455  
e-mail: erikapivascc@hotmail.com

**Francisco Cesino de Medeiros Júnior**

Doutor em Zootecnia  
Instituto Federal do Maranhão  
Estr. Puraque - Zona Rural, Codó - MA, 65400-000  
e-mail: cesinocaico@yahoo.com.br

**RESUMO**

O eugenol (4-alil-2-metoxifenol) é um composto orgânico volátil e componente majoritário do óleo do cravo-da-índia. O eugenol é muito utilizado na odontologia, por possuir propriedades bactericidas, servindo como antisséptico bucal, além de ser utilizado como anestésico, antifúngico, dentre outras aplicações. Com base em suas propriedades, o trabalho apresentou como objetivo sintetizar um novo composto a partir do eugenol, e avaliar a sua toxicidade frente a larvas da *Artemia salina* Leach. O composto 2-(4-alil-2-metoxifenoxi) acetato de etila foi sintetizado a partir da reação de alquilação do eugenol com bromoacetato de etila, posteriormente foi purificado, caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C), enquanto que a CL<sub>50</sub> das artêmias foi determinada através do *software* POLO-PC. Como resultado, o 2-(4-alil-2-metoxifenoxi) acetato de etila foi obtido em bom rendimento, na forma de um óleo parcialmente turvo, caracterizado e a CL<sub>50</sub> encontrada através do *software* POLO-PC, com 95% de confiança, foi de 285,576 µg/mL, considerada uma toxicidade moderada. Assim, é evidente que o potencial biológico do eugenol é muito promissor e que modificações em sua estrutura podem otimizar essas atividades, de forma a melhorar as interações com determinado alvo biológico, bem como contribuir na busca de um novo candidato a fármaco.

**Palavras-chave:** Eugenol; 2-(4-alil-2-metoxifenoxi) acetato de etila; Toxicidade.

**ABSTRACT**

Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) is a volatile organic compound and a major component of clove oil. Eugenol is widely used in dentistry, as it has bactericidal properties, serving as a mouthwash, in addition to being used as an anesthetic, antifungal, among other applications. Based on its properties, the work aimed to synthesize a new compound from eugenol, and to evaluate its toxicity against larvae of *Artemia salina* Leach. The compound 2- (4-allyl-2-methoxyphenoxy) ethyl acetate was synthesized from the alkylation reaction of eugenol with ethyl bromoacetate, later it was purified, characterized by Hydrogen and Carbon Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>H NMR and NMR) <sup>13</sup>C), while the LC<sub>50</sub> of the brine shrimp was determined using the POLO-PC software. As a result, ethyl 2- (4-allyl-2-methoxyphenoxy) acetate was obtained in good yield, in the form of a partially cloudy oil, characterized and the LC<sub>50</sub> found through the POLO-PC software, with 95% confidence, was 285,576 µg / mL, considered a moderate toxicity. Thus, it is evident that the biological potential of eugenol is very promising and that changes in its structure can optimize these activities, in order to improve interactions with a specific biological target, as well as contribute to the search for a new drug candidate.

**Keywords:** Eugenol; 2- (4-allyl-2-methoxyphenoxy) ethyl acetate; Toxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

O eugenol (4-alil-2-metoxifenol) é um composto orgânico volátil do tipo fenilpropanóide, obtido na forma de um óleo amarelado extraído principalmente do óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*), sendo o componente majoritário (70 a 80%) da extração do óleo do cravo-da-índia onde e o odor agradável do mesmo, deriva do eugenol (MOHAMMADI NEJAD, ÖZGÜNEŞ, BAŞARAN, 2016; MARCHESE et al, 2017).

O óleo do cravo-da-índia tem sido usado na medicina tradicional chinesa a mais de 2000 anos, para diversos fins como, por exemplo, agente antiespasmódico, antibacteriano e antiparasitário (KAMATOU, VILJOEN, 2012). Estudos sobre o óleo de *Eugenia caryophyllata* e o eugenol, seu principal componente, relataram atividades farmacológicas interessantes, tais como ações anestésicas e analgésicas, sendo relatado também atividades do tipo antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antitumoral, antimutagênica, repelente, entre outras (ZHENG, LAM, 1992; HARBORNE, BAXTER, 1993; MIYAZAWA, HISAMA, 2001; OGENDO et al., 2008). Adicionalmente, o eugenol também é muito utilizado para fins ortodônticos, como antisséptico na higiene bucal, devido ao seu efeito bactericida (KAPLAN, et al., 1999).

Diante da promiscuidade que os compostos naturais e de seus derivados apresentam, a análise de suas toxicidades é um parâmetro indispensável para dar continuidade as pesquisas, fazendo com que os bioensaios de toxicidade sejam rotineiros. Um dos bioensaios que vem ganhando destaque é o da utilização de um crustáceo, a *Artemia salina* Leach. A *Artemia salina*, é um microcrustáceo encontrado em águas salgadas, possuindo uma grande distribuição geográfica e uma alta adaptabilidade (ATES et al., 2016; RAJABI et al., 2015). Os cistos da *Artemia salinam* podem ser adquiridos no comércio por um preço acessível, e estes se mantem viáveis por anos em armazenamento seco (POMPILHO, MARCONDES & OLIVEIRA, 2014).

O bioensaio envolvendo a *Artemia salina* é considerado um método simples, de fácil manuseio e baixo custo, pois não é necessário a utilização de equipamentos especiais, e acomoda facilmente um alto número de náuplios (larva), amparando a validação estatística garantindo a confiabilidade do método. Outra vantagem deste bioensaio é devido o mesmo não requer soro animal e, portanto, pode substituir os experimentos científicos empregado ratos e camundongos, além de ser um método rápido, simples e sensível a substâncias tóxicas (RAJABI et al., 2015). Este bioensaio é amplamente utilizado para avaliar a atividade larvicida (LUNA et al., 2005), fungicida (NINO, CORREA, MOSQUERA, 2006), citotóxica (CHOHAN et al., 2010), antioxidante (SARAIVA et al., 2011), dentre outros.

Os bioensaios de letalidade frente à *Artemia salina* utilizam como indicador de toxicidade a  $CL_{50}$ , ou seja, a concentração necessária para matar 50% dos indivíduos, considerado parâmetro de avaliação da ação biológica. Amostras com valores de  $CL_{50}$  inferiores a 100  $\mu\text{g/mL}$  são considerados altamente tóxicas, valores entre 100 e 500  $\mu\text{g/mL}$  são moderadamente tóxicas, entre 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  são levemente tóxicas e acima de 1000  $\mu\text{g/mL}$  possuem baixa toxicidade (MERINO et al., 2015).

Adicionalmente, este bioensaio é bastante utilizado também como indicador de toxicidade aguda, se tornando essencial para estudos de substâncias que possam indicar uma possível atividade biológica, como em extratos e frações advindos de produtos naturais, sendo constantemente aplicado na verificação da segurança do uso de plantas na medicina popular, facilitando o direcionamento de estudos na descoberta de novos fármacos (POMPILHO, MARCONDES, OLIVEIRA, 2014).

Frente ao exposto, é evidente que o potencial biológico do eugenol é promissor e modificações em sua estrutura podem otimizar essas atividades, de forma a melhorar as interações com determinado alvo biológico, bem como contribuir na busca de um novo candidato a fármaco. À vista disso, o presente estudo tem por objetivo realizar uma modificação estrutural na molécula do eugenol, purificar, elucidar sua arquitetura molecular e verificar seu potencial toxicológico frente ao microcústáceo *Artemia salina* Leach.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 INSTRUMENTAÇÃO, SOLVENTES E REAGENTES

Os equipamentos utilizados foram os basais e rotineiros de todo laboratório de síntese orgânica. Especificamente, as análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN® modelo *Unity Plus-300* utilizando como solvente o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Este espectrômetro foi calibrado usando tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e todas as constantes de acoplamento ( $J$ ) foram descritas em hertz (Hz). 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. As estruturas dos compostos foram geradas através do software *ChemBioUltra*® versão 12.0.

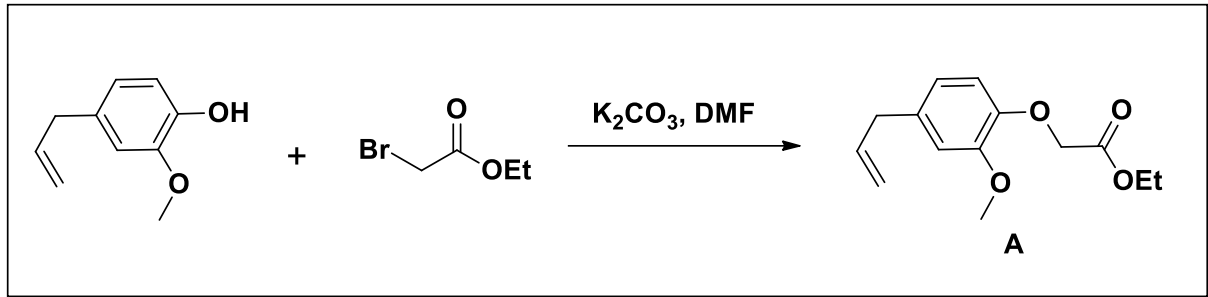
O monitoramento da reação foi realizado através da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub> da Merck. Para visualização das placas, as mesmas foram colocadas em solução básica de permanganato. A purificação foi realizada através 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 diferentes proporções. 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*. O reagente bromoacetato de etila foi adquirido da empresa Sigma Aldrich.

## 2.2 REAÇÃO DE MODIFICAÇÃO DO EUGENOL

A primeira etapa do estudo foi realizada no Laboratório Aplicado de Síntese Orgânica (LASO) do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Cuité/PB e constituiu-se na adição de uma função éster no oxigênio do grupo hidroxila, conectado na posição orto em relação ao grupamento metoxi no anel aromático do eugenol, através de uma reação de alquilação com bromoacetato de etila para obtenção do composto **A**.

A alquilação do eugenol foi baseada no protocolo reacional descrito por Spurg e Waldvogel (2008), com algumas modificações, onde em um balão de fundo redondo de 125 mL foram adicionados o eugenol (4,65 mL; 30 mmol), carbonato de potássio (6,22g; 45 mmol) e N,N-dimetilformamida (80 mL). Logo após foi adicionado bromoacetato de etila (3,70 mL; 33,3 mmol) e a mistura reacional foi agitada durante 18 h à temperatura ambiente. Depois foi adicionado H<sub>2</sub>O (100 mL) e ao sistema bifásico formado foi adicionado acetato de etila (2 x 130 mL). A camada orgânica combinada foi lavada com H<sub>2</sub>O (3 x 65 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. A figura (1) mostra as condições reacionais para a reação de alquilação do eugenol.

Figura 1. Reação de alquilação do 4-álil-2-metoxifenol (A).



Fonte: Próprio autor, 2020.

### 2.3 ELUCIDAÇÃO DA ARQUITETURA MOLECULAR

Uma vez obtido o produto, sendo o final da reação verificado por meio de Cromatografia de Camada Delgada (CCD), o mesmo foi caracterizado na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco – Recife/PE, através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C) com um equipamento models Unitty Plus (400 MHz, 100 MHz e 128 MHz) utilizando trimetilsilano (TMS) como padrão interno e clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>) como solvente.

### 2.4 BIOENSAIO TOXICOLÓGICO

O bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach foi baseado no protocolo descrito por Meyer e colaboradores (1982). Foram utilizados 40 mg da amostra com a adição de 50 µL de dimetilsulfóxido. Posteriormente, a solução foi homogeneizada e o volume completado para 20 mL com água salinizada filtrada (água salina artificial preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1 L de água destilada) em pH = 8,0. Desta solução foram retiradas alíquotas de 62,5, 125, 250, 312,5, 500, 562,5, 750, 1000, 1125, 1250 e 1875 µL que foram transferidas para outros balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com o mesmo solvente, obtendo-se concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 450, 500 e 750 µg/mL para a solução da amostra.

O teste foi acompanhado por controle positivo, onde utilizou-se o dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) e controle negativo utilizando apenas água marinha artificial e dimetilsulfóxido. Os cistos da *Artemia salina* (20 mg) foram incubados sob iluminação artificial por 48 horas para que houvesse a eclosão das larvas (metanúplios), e estas, separadas em nove grupos com 10 artêmias cada.

O primeiro e o segundo grupo receberam a solução controle positivo (solvente e dicromato de potássio) e controle negativo (solvente e dimetilsulfóxido) e as oito seguintes receberam a

solução aquosa do composto em diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas. Após este período, foram contabilizadas as larvas vivas e mortas. O experimento foi realizado em triplicata para cada concentração.

Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL<sub>50</sub>), foi utilizada a análise através do software POLO-PC (Copyright LeOra Software 1987).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O 2-(4-alil-2-metoxifenoxi) acetato de etila (A), foi obtido na forma de um óleo parcialmente turvo com rendimento de 67%. Os dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C corroboram com os valores encontrados na literatura Labarrios e colaboradores (1999), com RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 6,80 – 6,67 (m, 3H, ArH), 6,02 – 5,88 (m, 1H, ArCH<sub>2</sub>CH=), 5,12 – 5,05 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4,65 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4,26 (q, J = 6,0 Hz, 2H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,34 (d, J = 9,0 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>), 1,29 (t, J = 6,0 Hz, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) e RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) δ 14,1 (C-11), 39,8 (C-12), 55,8 (C-7), 61,1 (C-10), 66,8 (C-8), 112,5 (C-3), 114,6 (C-6), 115,7 (C-14), 120,3 (C-5), 134,4 (C-4), 137,4 (C-13), 145,6 (C-1), 149,6 (C-2), 169,1 (C-9).

A adição da porção éster foi planejada de modo que a toxicidade do eugenol fosse atenuada, uma vez que na literatura, há histórico de fármacos que possuem uma porção éster, como por exemplo o ácido acetilsalicílico (AAS), que quando comparado ao ácido salicílico, seu precursor que não possui a função éster, é menos tóxico e menos irritante (JEFFREYS, 2008).

A avaliação da toxicidade do composto foi realizada frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, no qual o valor da taxa de mortalidade da solução variou entre 0 e 100 %, visando determinar a concentração letal para matar 50% das larvas (CL<sub>50</sub>) conforme a Tabela (1).

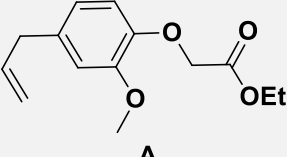
**Tabela 1.** Concentrações utilizadas frente as artêmias para a obtenção da CL<sub>50</sub>.

Concentração	Taxa de Mortalidade
25 µg/mL	0%
50 µg/mL	0%
100 µg/mL	6%
150 µg/mL	17%
200 µg/mL	26%
250 µg/mL	40%
300 µg/mL	63%
400 µg/mL	97%
500 µg/mL	100%
750 µg/mL	100%

Fonte: Próprio autor, 2020.

Deste modo, a  $CL_{50}$  encontrada através do software POLO-PC, com 95% de confiança, foi de 285,576  $\mu\text{g/mL}$  com intervalo de confiança nos limites 278,426 a 292,715  $\mu\text{g/mL}$ , conforme a Tabela (2).

Tabela 2 – Resultado do teste de toxicidade frente à *Artemia salina*.

Composto	$CL_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Intervalo de Confiança
 <p style="text-align: center;">A</p>	285,576	278,426 a 292,715 $\mu\text{g/mL}$

Fonte: Próprio autor, 2020.

De acordo com Merino et al. (2015), o valor da  $CL_{50}$  igual a 290,774  $\mu\text{g/mL}$  implica que o composto A apresenta uma toxicidade moderada. Rabelo (2010) encontrou para o eugenol uma  $CL_{50}$  igual a 18,53  $\mu\text{g/mL}$ , onde diante disto, confirma que a introdução do grupo éster atenuou a toxicidade do eugenol, corroborando com o esperado. Assim, este resultado servirá como motivação para futuros estudos de atividade biológica ou farmacológica e em modificações na sua estrutura, de forma a melhorar seu potencial terapêutico e então contribuir na busca de um novo candidato a fármaco.

#### 4 CONCLUSÃO

O 2-(4-allyl-2-metoxifenoxi) acetato de etila foi obtido na forma de um óleo amarelado com rendimento de 65%, utilizando o protocolo modificado de Spurg e Waldvogel. Este composto foi caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono e os dados obtidos estão de acordo com os descritos na literatura. Os resultados do teste com *Artemia salina* do 2-(4-allyl-2-metoxifenoxi) acetato de etila indicou que este composto foi moderadamente tóxico, com uma  $CL_{50}$  igual a 285,576  $\mu\text{g/mL}$ . Com isto, a introdução da porção éster no eugenol confirma que, este grupamento atenuou a sua toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach e fornece subsídios para continuar modificando a estrutura do eugenol a fim de obter um composto mais eficiente e menos tóxico.



**REFERÊNCIAS**

- ATES, M.; DEMIR, V.; ARSLAN, Z.; CAMAS, M.; CELIK, F. Toxicity of engineered nickel oxide and cobalt oxide nanoparticles to *Artemia salina* in seawater. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 3, p. 70, 2016.
- BAGHERI, S.; SAHEBKAR, A.; GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; MALMIR, M.; IRANSHAHI, M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal *Ferula* species. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.
- CHOHAN, Z.; SUMRRA, S.; YOUSOUFI, M.; HADDA, T. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium(IV) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010
- HARBORNE, J.B.; BAXTER, H. **Phytochemical Dictionary**; Taylor and Francis: London, UK, 1993.
- JEFFREYS, D. Aspirin: The Remarkable Story of a Wonder Drug. Bloomsbury Publishing USA, Dec 1, p. 46-48, 2008.
- KAMATOU, G.P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol; from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. **Molecules**, v. 17, p. 6953-6981, 2012.
- KAPLAN, A.E.; PICCA, M.; GONZALEZ, M.I.; MACCHI, R.L.; MOLGATINI, S.L. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an *in vitro* evaluation. **Endodontics and Dental Traumatology**, v.15, p. 42-45, 1999.
- LABARRIOS, F.; GARDUÑO, L.; VIDAL, M. D. R.; GARCIA, R.; SALAZAR, M.; MARTINEZ, E.; DIAZ, F.; CHAMORRO, G.; TAMARIZ, J. Synthesis and Hypolipidaemic Evaluation of a Series of  $\alpha$ -Asarone Analogues Related to Clofibrate in Mice, **J. Pharm. Pharmacol**, v. 51, p.1-7, 1999.
- LUNA, J.; DOS SANTOS, A.; DE LIMA, M.; DE OMENA, M.; DE MENDONCA, F.; BIEBER, L.; et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.
- MARCHESE, A.; BARBIERI, R.; COPPO, E.; ORHAN, I. E.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. F.; IZADI, M.; MOHAMMAD ABDOLLAHI; MOHAMMAD NABAVI, S.; AJAMI, M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. **Critical Reviews In Microbiology**, Taylor & Francis Group, 2017.
- MERINO, F.; OLIVEIRA, V.; PAULA, C.; CANSIAN, F.; SOUZA, A.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.; DUARTE A.; KULIK J.; MIGUEL M.; MIGUEL O. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4 supl 3, p. 1031-1040, 2015.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MIYAZAWA, M.; HISAMA, M. Suppression of chemical mutagen-induced SOS response by alkylphenols from clove (*Syzygium aromaticum*) in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 umu test. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 4019–4025, 2001.

MOHAMMADI NEJAD, S.; ÖZGÜNEŞ, H.; BAŞARAN, N. Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. **Turk J Pharm Sci**, v. 14, n. 2, p. 201-206, 2017.

NINO, J.; CORREA, Y.; MOSQUERA, O. Antibacterial, antifungal, and cytotoxic activities of 11 Solanaceae plants from Colombian biodiversity. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 1, p. 14-18, 2006.

OGENDO, J.O.; KOSTYUKOVSKY, M.; RAVID, U.; MATASYOH, J.C.; DENG, A.L.; OMOLO, E.O.; KARIUKI, S.T.; SHAYYA, E. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. **J. Stored Prod. Res.**, v. 44, p. 328–334, 2008.

OJALA, T.; VUORELA, P.; KIVIRANTA, J.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R. A bioassay using *Artemia salina* for detecting phototoxicity of plant coumarins. **Planta Medica**, v. 65, n. 8, p. 715-718, 1999.

POMPILHO, W. M.; MARCONDES, H. C.; OLIVEIRA, T. T. Bioatividade de três espécies vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 473-480, 2014.

RABELO, W.F. Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*). 2010. **Dissertação** (Mestrado em química) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJI T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 20, 2015.

SARAIVA, A.; CASTRO, R.; CORDEIRO, R.; SOBRINHO, T.; CASTRO, V.; AMORIM, E.; et al. In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SPURG, A.; WALDVOGEL, S. R. High-Yielding Cleavage of (Aryloxy) acetates. FULL PAPER, **Eur. J. Org. Chem.** 2008, p. 337-342.

ZHENG, G.Q.; KENNEY, P.M.; LAM, L.K.T. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*). **J. Nat. Prod.**, v. 55, p. 999–1003, 1992.