

Avaliação da Atividade Antibacteriana em *B. cereus* das Frações de Nicotinato de Sacarose separadas por HPLC semi-preparativo.

Victor Zanardi R. dos Santos (PG)*; Crispin Humberto Garcia-Cruz (PQ); Maurício Boscolo (PQ).

*vzrs_mogirp@yahoo.com.br

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas (IBILCE-UNESP). Laboratório de Sucroquímica e Química Analítica. Rua Cristóvão Colombo, 2265. Bairro: Jardim Nazareth. CEP: 15054-000. São José do Rio Preto – SP.

Palavras Chave: Sucroquímica, Nicotinato de sacarose, sacarose, antibiograma, disco-difusão.

Introdução

Os sucroésteres são ésteres derivados de sacarose e podem ser aplicados em diversas áreas tecnológicas. Um dos possíveis usos é como agente antimicrobiano¹ e neste sentido foi testado o nicotinato de sacarose, um éster piridínico inédito na literatura sobre a bactéria Gram-positiva *Bacillus cereus*, utilizando a metodologia do antibiograma por difusão de disco. Esse produto foi sintetizado a partir da reação de transesterificação da sacarose com o nicotinato de metila, composto derivado do ácido nicotínico também conhecido como niacina ou vitamina B que é uma substância hidrossolúvel que possui um papel importante para o corpo humano². A síntese foi realizada em meio alcalino em solvente aprótico (DMSO) e o nicotinato de sacarose foi purificado e separado por HPLC semi-preparativo Dionex P680, em coluna C₁₈ Shimadzu (2,5 cm x 25 cm, 10 µm de partícula), detector de arranjo de diodos Dionex UVD-340U operando em 225nm, utilizando gradiente de água (A) e metanol (B) de 0 a 60% de B de 0 à 135 min. Foram separadas seis frações cromatográficas, todas apresentando o mesmo espectro eletrônico que o reagente de partida (nicotinato de metila), o que indica a substituição nucleofílica das hidroxilas pelos grupos nicotinato. Após remoção do solvente por evaporação a vácuo, as frações foram submetidas aos testes de antibiograma e o método empregado foi o de disco-difusão em placas de Petri, onde a atividade antimicrobiana é medida a partir da formação de halos de inibição e o valor expresso é tamanho do diâmetro destes halos em cm. O *B.cereus* foi inoculado em meio caldo nutriente previamente esterilizado, incubado a 30°C por 24h. Depois do período de incubação, uma alíquota do caldo foi transferida para soluções de NaCl (0,85% p/v) previamente estéril para ajustar a turbidez de acordo com a escala colorimétrica de Mc Farland (1,5x10⁸ UFC/mL). Após o ajuste, a bactéria foi semeada em placas de Petri contendo PCA, com o auxílio de um SWAB previamente esterilizado. Os discos de difusão ficaram imersos nas frações durante 24h antes de serem introduzidos nas placas. Os experimentos de antibiograma foram realizados em duplicata.

Resultados e Discussão

A partir dos resultados obtidos dos antibiogramas (Tabela 1), pode-se observar que o aumento ou a diminuição da concentração das frações pouco influenciou no aumento do halo de inibição do nicotinato de sacarose sobre *B. cereus*. Esse fato pode ser explicado pela difusão do composto na placa de Petri. É possível que em diluições maiores, os compostos, por terem uma massa molecular alta, e por serem viscosos, se difundiram melhor na placa de Petri, compensando a menor concentração do produto. Tanto as frações menos substituídas (2, 3 e 4), quanto a mais substituída (6) apresentaram resultados estatisticamente semelhantes. O mecanismo de ação dos sucroésteres não está completamente elucidado. Há indícios de que esses compostos induzam autólise enzimática nas células bacterianas. As frações que apresentaram atividade antimicrobiana serão analisadas por espectrometria de massas e por ressonância magnética nuclear.

Tabela 1. Halos de inibição expressos em cm resultantes das diferentes concentrações das frações de nicotinato de sacarose sobre cultura de *B. cereus*.

Fração	Concentração		
	300 ppm	600 ppm	900 ppm
Fração 1	SA*	SA	SA
Fração 2	0,60±0,00	SA	0,70±0,14
Fração 3	SA	SA	0,70±0,14
Fração 4	0,70±0,00	0,65±0,07	0,75±0,21
Fração 5	SA	SA	SA
Fração 6	0,70±0,14	0,70±0,00	0,65±0,21

*SA = sem atividade

Conclusões

Os resultados obtidos são promissores quanto à bioatividade de alguns isômeros desta classe de compostos. Outros estudos sobre outras bactérias G+ e G- estão em andamento.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

¹ Polat, T.; Linhardt, R. J., *J. Surf. Deterg.* **2001**, *4*, 415.

² Bogan, K. L.; Brenner, C. *Annu Rev Nutr.* **2008**, *28*, 115