



Perfil Químico e Atividade Acaricida *in silico* e *in vitro* do Óleo Essencial de *Cymbopogon citratus*.

Mateus Feitosa Santos¹, Eldon Carlos dos Santos Colares² Isabela Cavalcante do Nascimento¹,
Sulcimilena Mady Flores¹, Márcio Laranjeira Anselmo¹, Rhanna Victória Amaral da Silva¹

¹ Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET), Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

² Pharbox, Manaus- Distribuidora de Medicamentos.

mateusfeitosa035@gmail.com

RESUMO

O uso de produtos de origem vegetal tem sido uma alternativa importante para a indústria de alimentos e farmacêutica. Entre estes, os óleos essenciais têm apresentado diversas propriedades farmacológicas, destacando-se o gênero *Cymbopogon* pertencente à família Poaceae que abriga a espécie *Cymbopogon citratus*, conhecida popularmente como capim limão, principalmente pela alta toxicidade em produtos pesticidas e suas propriedades microbiológicas. Nesse viés, este trabalho objetivou avaliar o perfil químico e a atividade acaricida *in silico* e *in vitro* do óleo essencial das folhas de *Cymbopogon citratus* coletadas em Itacoatiara. O óleo essencial foi obtido a partir da extração por hidrodestilação das folhas frescas em aparelho de Clevenger, avaliados *in silico* por modelagem molecular usando o software Gold da Hermes e por fim analisados *in vitro* para avaliar a toxicidade em *S. pontifica* para atividade acaricida e inibição enzimática de Acetilcolinesterase. O óleo essencial obtido com rendimento 0,97%, apresentou como componentes majoritários o Limoneno (10,2%), Dialil dissulfeto(22,4%), Safrol (8,76%), Dilapiol (11,8%), 1 nitro 2 feniletano (9,8%) e Metileugenol(21,3%). O Óleo apresentou capacidade citotóxica tanto para atividade acaricida *in vitro*, quanto para acetilcolinesterase *in silico*. Obtendo-se um produto promissor para etapas seguintes de investigação.

Palavras-Chave: Óleo essencial; Acaricida; Acetilcolinesterase; Modelagem Molecular.

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais vêm sendo utilizados pela humanidade desde os tempos remotos com o intuito de tratar males e enfermidades. No estudo da Química dos Produtos Naturais destacam-se os óleos essenciais, produtos produzidos pelas plantas com diferentes atividades biológicas e com amplo espectro de ação (TARIQ et al.,2019; NATU;TATE.,2019).

Entre os gêneros botânicos que se destacam na produção de óleos essenciais destaca-se o gênero *Cymbopogon* pertencente à família Poaceae que abriga a espécie *Cymbopogon citratus*, conhecida popularmente como capim limão (CORTEZ et al.,2015). O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* é composto por diversos metabólitos de interesse clínico dentre estes destacam-se o citral e o geranial, esta espécie é conhecida por suas diferentes atividades farmacológicas: alelopática, citotóxica, antiespasmódica e entre outras (RANADE.,2015).

Atualmente as indústrias vêm desenvolvendo produtos utilizando insumos vegetais onde umas das propriedades biológicas de interesse é a atividade acaricida , uma vez que os óleos essenciais e extratos de diversas plantas têm atuado como importantes acaricidas naturais o que pode reduzir o uso de agroquímicos que causam danos aos plantios e aos diferentes ecossistemas (RANADE.,2015).



Química no cotidiano: relação entre o ensino e pesquisa 17 a 19 de junho de 2024

Um dos métodos pelos quais a indústria farmacêutica investiga a interação de uma substância com um alvo é por meio dos estudos *in silico* através do (Docking molecular) e da Química Computacional. Trata-se de um método de predição e simulação da interação de uma molécula bioativa com um sítio ativo, que utiliza softwares específicos (BRAGA.,2015).

Até o presente momento, ainda não foram encontrados relatos na literatura acerca da atividade acaricida *in silico* e *in vitro* do óleo essencial das folhas de *Cymbopogon citratus* frente ácaros de grãos armazenados como o *Suidasia pontifica* Oudemans (1905) espécie de interesse clínico.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil químico e a atividade acaricida *in silico* e *in vitro* do óleo essencial das folhas de *Cymbopogon citratus* coletadas em Itacoatiara.

3. METODOLOGIA

3.1 Coleta do vegetal

As folhas de *Cymbopogon citratus* foram coletadas no Campus 1 da UFAM em Itacoatiara, levadas para o laboratório de Química de Produtos Naturais, foram limpas com auxílio de uma flanela e pesadas.

3.2 Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas frescas em aparelho de Clevenger, durante 4 horas, utilizando-se 800 gramas de folhas. Em seguida a amostra de óleo essencial foi centrifugada por 10 minutos a 3500 RPM. O rendimento foi calculado e a amostra foi mantida em tubo falcon tampado sob refrigeração até o momento de ser analisada.

3.3 Análise do óleo essencial

A análise química do óleo essencial foi realizada por meio da técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e a identificação dos constituintes ocorreu por meio do cálculo do Índice Aritmético e comparação dos espectros de massas com dados da literatura.

3.4 Ensaio acaricida *in vitro*

Para o ensaio acaricida, foram usados recipientes de vidro de 2,5 L que consistiram nas câmaras de fumigação, e foram inseridas três unidades, cada uma contendo 30 indivíduos adultos de *S. pontifica* e 5 mg de farinha de trigo. O óleo essencial foi aplicado nas doses: 0, 4, 0,8, 1,2, 1,6 e 2 $\mu\text{L/L}$ de ar em tiras de papel filtro e nada foi aplicado à testemunha. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado. Os ácaros mortos foram contabilizados após 24, 48 e 72 horas. A mortalidade corrigida foi calculada em função da mortalidade natural da população, que foi observada no tratamento controle. A análise estatística foi realizada por meio da análise no software R.

3.5 Ensaio acaricida *in silico*

A triagem virtual *in silico* foi realizada a partir da obtenção dos ligantes utilizando o software ChemDraw (versão 12) e posteriormente transformados em 3D no software Chem3D. Esses ligantes foram selecionados a partir dos compostos majoritários do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. Os arquivos foram salvos em formato mol.1 e armazenados em uma pasta na área de trabalho. Posteriormente foi obtido o arquivo 3D da proteína (alvo molecular) a partir do Protein Data Bank (PDB; CÓDIGO:1AX9) o qual também foi armazenado na pasta mencionada

anteriormente. O Alvo e os ligantes foram tratados para adição de cargas, retiradas de cofatores, e otimização das moléculas para posterior ancoramento (docking molecular).

O Docking molecular foi realizado utilizando o software Gold. Os parâmetros de docking consistiram na validação do alvo obtido do PDB, a fim de obter-se valores de RMSD (Desvio quadrático médio) abaixo de 2 Å. Foram testadas diferentes funções de pontuação e raios de busca dentro do sítio ativo do alvo. Após validação, o arquivo gold. foi utilizado para adicionar os ligantes desenhados e finalmente o ancoramento foi realizado.

Para análise dos resultados os diferentes arquivos log de cada molécula foram analisados e as funções de pontuação foram anotadas e os arquivos dos resultados salvos separadamente. Os arquivos foram analisados no software Discovery Studio para determinação das interações intermoleculares e assim predizer a afinidade dos ligantes frente ao alvo selecionado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento e composição química do óleo essencial.

O rendimento do óleo essencial foi de 0,97% e foram identificados quimicamente 79 constituintes químicos. Os compostos majoritários foram: Limoneno (10,2%), Dialil dissulfeto (22,4%), Safrol (8,76%), Dilapiol (11,8%), 1 nitro 2 feniletano (9,8%) e Metileugenol(21,3%). Estes resultados foram superiores aos obtidos por Cortez et al., (2015).

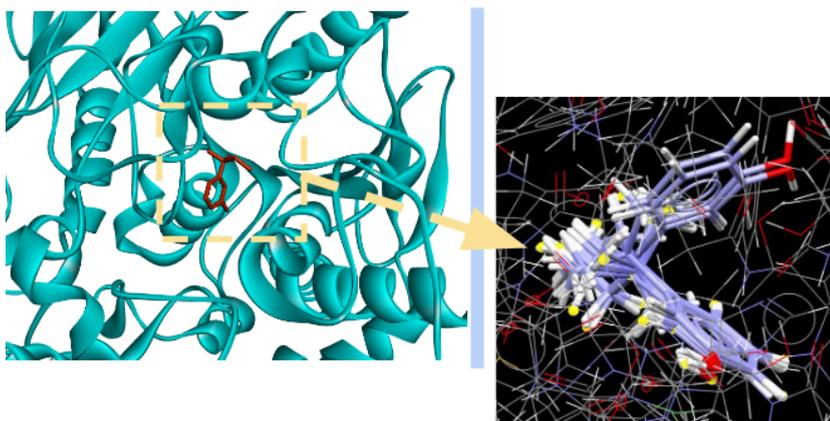
4.2 Atividade acaricida *in vitro*

O percentual de mortalidade dos ácaros apresentou o perfil dose dependente, além disso, apresentou maior taxa de mortalidade na concentração de 2 µL/L de ar para o tratamento em 48 horas. O óleo essencial causou mortalidade significativamente maior após 48h (39,24%) e 72h (38,25%), em comparação ao teste de 24h (30,28%).

4.3 Atividade acaricida *in silico* frente a acetilcolinesterase

A partir da validação do alvo os parâmetros do docking foram determinados, obtendo-se um valor de RMSD de 1,1115 Å. Em conjunto, a função de pontuação selecionada foi a ChemPLP em um raio de busca de 5,0. Além disso, a figura 1 mostra a sobreposição do ligante original confirmando a validação da metodologia de docking utilizada.

Figura 1. Visualização da sobreposição do ligante original na etapa de validação.



Fonte: Os autores.,(2024)

Os valores de pontuação fitness considerados no gold como parâmetro de afinidade tanto para o ligante original co-cristalizado quanto para os ligantes selecionados para análise foram: LIG original (Edrofônio)= 56.3669 fazendo ligação de hidrogênio com a HIS440. C01(limoneno)=



Química no cotidiano: relação entre o ensino e pesquisa 17 a 19 de junho de 2024

45.9479, fazendo outras interações com PHE330, HIS440 e TYR442, C02(Dialil dissulfeto)= 42.5075 fazendo outras interações com TYR442; PHE330; HIS440; TYR130 e LEU127, C03(Safrol)= 49.8891 fazendo ligação de hidrogênio com a SER122 e outras interações com TYR442 e PHE330, C04 (Dilapiol)= 61.5529 fazendo ligação de hidrogênio com a SER122 e outras interações com PHE331; PHE330; HIS440 e GLY117, C05(1 nitro 2 feniletano)= 49.9363 fazendo ligação de hidrogênio com SER122;TYR121 e outras interações com PHE330 e C06(Metileugenol)= 55.5514 fazendo ligação de hidrogênio com a SER122 e outras interações com TYR442;TYR121; PHE330; LEU127.

É possível notar que conforme descrito acima que todos os ligantes apresentaram valores de pontuação próximos ao do original, onde somente C04 foi capaz de superar o valor do padrão, indicando uma superioridade na afinidade de ligação. Além disso, com exceção de C01 e C02, todos os demais apresentaram ao menos 1 ligação de hidrogênio, altamente favorável e específica em estudos de relação estrutura-atividade. Em contrapartida aos resultados positivos, as análises das interações demonstraram a ocorrência de uma ligação desfavorável a qual pode interferir na estabilidade da interação. Porém somente este ponto não pode ser considerado para descartar uma molécula como promissora na análise de docking, uma vez que todos os outros parâmetros citados anteriormente devem ser considerados. Além do exposto, as demais ligações presentes indicam que todos os ligantes estão exatamente no sítio ativo da enzima acetilcolinesterase, selecionada para este estudo, indicada a partir dos aminoácidos do sítio catalítico.

5. CONCLUSÕES

O óleo essencial das folhas de *Cymbopogon citratus* apresentou em sua composição química, compostos de interesse farmacológico e potencial acaricida *in vitro*. O teste de atividade *in silico* apresentou atividade positiva, todavia devem ser realizados estudos mais aprofundados que possam investigar o mecanismo de ação dos compostos presentes no óleo essencial da espécie a fim de garantir a segurança de seu uso para testes em larga escala e o desenvolvimento de formulações com potencial acaricida.

REFERÊNCIAS

- BRAGA, R.C.; ALVES, V.M.; SILVA, M.F.B.; MURATOV, E.; FOURCHES, D.; LIAO, L.M.; TROPSHA, A.; ANDRADE, C.H. Pred-hERG: A novel web-accessible computational tool for predicting cardiac toxicity. **Mol. Inf.** 34, p. 698-701, 2015.
- CORTEZ LER, YAMAGUCHI MU, CORTEZ DAG, PESCO DCS. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae). **O Mundo da saúde.** 2015; 39(4): 433-40. ISSN 1980-3990.
- NATU KN ; TAKE PA. **J Essent Oil Res.** 2019;31(5):347-60.
- RANADE SS Capim-limão. **Internacional J. Farmacêutica. Ciência. Rev.** 2015; 35 :162–167.
- TARIQ S, WANI S, RASOOL W, SHAFI K, BHAT MA, PRABHAKAR A et al. **Microb Pathogenesis.**2019;134:1-20.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UFAM, ICET, FAPEAM, CNPq, FCF-USP.

