

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* NO CONTROLE DE *Aedes aegypti*

Tayane Crisley da Conceição Silva, Alex Bruno Lobato Rodrigues, Ryan da Silva Ramos, Irlon Maciel Ferreira, Francisco de Souza Soares.

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal do Amapá, 68902-280, Macapá, Amapá, Brasil, tayanecrisley91@gmail.com; alex.rodrigues@unifap.br; ryanquimico@hotmail.com; irlon.ferreira@gmail.com; fs19sousa@gmail.com.

Resumo

A dengue é uma doença de grande virulência para saúde populacional do Brasil tornando-se uma problemática e um desafio para a sociedade. O controle de mosquitos baseado em inseticidas tem sido o principal método para mitigar a transmissão de arbovírus. Assim, o objetivo foi executar um estudo da composição química e de *docking* molecular (DM) das principais substâncias presentes no óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe no controle de *Aedes Aegypti*. Nesse sentido, foram realizados estudos químicos através de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas e *docking* molecular na região dos ligantes do Hormônio Juvenil. O rendimento foi de 0,042% em 3 horas de hidrodestilação. Os constituintes químicos majoritários encontrados nos rizomas de gengibre foram: Carvacrol (31,70%), Timol (16,52%), γ -Terpineno (15,93%), σ -Cimeno (10,27%), no entanto, o DM demonstrou potencial de inibição do hormônio juvenil oriundo da ação sinérgica de seus constituintes fitoquímicos minoritários, Acetato de timol, Acetato de carvacrila e Cariofileno, concluindo que, os óleos essenciais do gengibre podem apresentar atividade inseticida para o controle do vetor do *Ae. aegypti*.

Palavras-chave: *Zingiber officinale* Roscoe; Dengue; Controle de vetores, Inseticidas, *Aedes aegypti*.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra/ Química.

Introdução

A Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela são doenças arbovirais que assolam o Brasil no quesito de saúde pública. Conhecido por sua grande capacidade de adaptação em várias regiões e alto poder de transmissibilidade da virulência da cepa infectante, o *Aedes. aegypti*, originalmente do continente Africano, disseminou-se pelo mundo a partir do século XVII e, a partir de então, foram documentados casos de doenças provocadas pelo vetor em quase todos os continentes, com exceção da Antártida (FIOCRUZ, 2023a; OPS, 2020). A dengue está entre as doenças que mais chama atenção pelo fato da sua suscetibilidade ainda em pleno século XXI, sendo então, uma arbovirose importante a ser estudada, pois, afeta diretamente o homem e seu meio, além de se constituir em um sério problema de saúde pública no mundo, onde as condições do meio ambiente favorecem sua reprodução, o seu desenvolvimento e a sua proliferação do principal mosquito vetor, o *Ae. aegypti* (MARINHO et al., 2022; NADEEV et al., 2020).

Na fase adulta, as fêmeas dos mosquitos necessitam de altos níveis de hormônio juvenil para prepará-las para a digestão do sangue. O estudo do hormônio juvenil e sua função têm implicações práticas em diversas áreas, incluindo controle de pragas e manejo de insetos. Dessa forma, compreender os mecanismos de ação desse hormônio pode permitir o desenvolvimento de métodos para interromper o desenvolvimento de insetos indesejados e controlar populações (ALOMAR et al., 2021).

No Brasil, o controle dos mosquitos é feito a partir de inseticidas organofosforados e piretróides. Estes compostos sintéticos apresentam desvantagens como alto custo, resistência populacional dos mosquitos e elevada toxicidade para humanos, delimitando, assim, seu uso e recomendação. Os inseticidas sintéticos incluem uma ampla gama de produtos que podem ser extremamente tóxicos tanto para alvos quanto para não-alvos, podendo tornar uma população resistente ao não ter o controle efetivo e sustentável da população de mosquitos vetores, tornando-se uma tarefa desafiadora (FIOCRUZ, 2023b; NADEEV et al., 2020b; OPAS/OMS, 2023).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Uma vez resistente, os surtos de arboviroses transmitidos pelo *A. aegypti* sobrecarregam regularmente os sistemas de saúde, e a situação pode se tornar mais grave se não houver uma detecção precoce e a atenção médica oportuna a pacientes com dengue grave ou outras arboviroses são fundamentais para reduzir letalidade por essas doenças. Assim, nos últimos anos, estudos com extratos de plantas consideradas medicinais tem surgido como alternativa promissora, pois, são de fontes naturais. Dentre os produtos obtidos das plantas, encontram-se os óleos essenciais (OEs) de algumas espécies de plantas aromáticas que possuem propriedades biológicas e farmacológicas, como antimicrobiana, inseticida, analgésica e anti-inflamatória (OPAS/OMS, 2023).

Os óleos essenciais são produzidos por meio do metabolismo secundário das plantas e são apresentados como fontes de materiais com atividade biológicas, cujo as moléculas possuem ação fagocinética, repelente, inseticida, além de serem capazes de alterar a regulação do crescimento, com produtos para serem utilizados no controle e redução de riscos epidêmicos. Essas propriedades são atribuídas aos diversos compostos químicos voláteis, tais como, os ácidos, aldeídos e terpenos, possuindo assim, grande importância por serem considerados compostos altamente bioativos, também denominados fitoalexinas. Além destes, existem os terpenos e fenilpropanóides que são sintetizados por espécies vegetais que podem apresentar propriedades inseticidas (ROCHA et al., 2022; SANTOS et al., 2020, 2023).

Nessa perspectiva, as técnicas de ancoragem molecular (*docking* molecular) fornecem estimativas da energia livre de ligação entre a proteína e o ligante, antes mesmo que esses sejam sintetizados. É uma técnica computacional que permite identificar quais estruturas apresentam maior chance de se ligarem a um determinado alvo. Esta importante ferramenta tem sido usada para filtrar compostos que não servem para serem designados como alvo, e desenhar os possíveis candidatos que apresentariam uma boa interação com o sítio ativo do receptor (RAMOS et al., 2020). Portanto, o objetivo deste trabalho visa desenvolver um estudo químico e de *docking* molecular para avaliar o potencial inseticida botânicos e ambientalmente seguros do óleo essencial extraído dos rizomas da planta da flora brasileira denominada de *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre) no controle do *Aedes Aegypti*.

Metodologia

A extração do óleo essencial

O rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) foi adquirido no comércio local de Macapá, Amapá, Brasil, para o processo de extração do óleo essencial. Na sequência, foram pesados 1000 g do material vegetal e realizado a desidratação em temperatura ambiente por 07 dias. Em seguida foi subdividido em pequenas porções para diminuir a área e facilitar o processamento com a adição de 1L de água destilada e, por fim, foi submetido à extração por hidrodestilação em aparelho Clevenger por 3 horas. O processo de extração do óleo essencial foi desenvolvido de acordo com Magalhães (2020) por meio de técnicas de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger e consistiu no processamento do material vegetal e a transferência com o auxílio de um funil para um balão de fundo chato de 5L. Após esse período, foi suspenso o aquecimento e realizada a coleta da amostra e o rendimento expresso em massa do óleo/massa do material vegetal (MAGALHÃES, 2020).

Caracterização do perfil fitoquímico óleo essencial

A caracterização do perfil fitoquímico do óleo essencial de gengibre se deu pelas propriedades físico-química do perfil fitoquímico analisadas, tais como: a cor e aparência. Para verificar a cor foi empregada a técnica visual sob um fundo branco comparando a cor do óleo essencial com cores conhecidas e para verificar a aparência foi feito a inspeção do óleo no que diz respeito a sua transparência ou limpidez.

Determinação dos constituintes químicos

A composição química do óleo essencial foi determinada por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (GC-MS) de marca Shimadzu, modelo CGMS-QP 5050A, em coluna DB-5HT da marca J & W Scientific, coluna com comprimento de 30 m, diâmetro de 0,32 mm, espessura do filme 0,10 µm e nitrogênio como gás carreador. O aparelho foi operado sob pressão interna da coluna de 56,7 kPa, razão do split 1:20, fluxo do gás na coluna de 1,0 mL.min.⁻¹ (210°C), temperatura no injetor de 220 °C, e no detector de 240 °C.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Análise de Docking molecular na região do Hormônio Juvenil.

A seleção da estrutura cristalográfica do hormônio juvenil complexado com o controle positivo metil(2E,6E)-9-[(2R)-3,3-dimetiloxirano-2-il]-3,7-dimetilnona-2,6-dienoato, (JHIII), no *AutoDock* 4.2/Vina 1.1.2 e *PyRx* 0.8.30 (<https://pyrx.sourceforge.io>) nos estudos de docking molecular baseado em protocolo padrão estabelecido por Ramos e colaboradores (2019), sendo baixada com o código PDB 5V13, com resolução de 1,87 Å. O JHIII foi utilizado como ligante de controle positivo. Estudo de *docking* via *PYRX* foi realizado usando os ligantes e a estrutura da proteína preparadas usando o software *Discovery Studio* 5.0. A validação do *docking* molecular do ligante foi realizada mediante download da estrutura cristalina da proteína, a estrutura do PDB 5V13 por comparação entre o ligante cristalográfico e a melhor conformação obtida com *docking* molecular (estrutura do PDB ID: 1QON), com base no valor da distância entre os átomos da proteína sobreposta (RMSD). As coordenadas x, y e z dos receptores foram determinadas de acordo com a região média do sítio ativo, usadas para o centro da grid podem ser observadas na tabela seguinte (RAMOS et al., 2019).

Tabela 1 - Dados de protocolos usados aqui para validação de *docking* molecular

Enzima	Ligante	Coordenadas do centro do Grid	Dimensões do Grid (Points)
Hormônio Juvenil (JHIII) (PDB código: 5V13)	metil(2E,6E)- 9-[(2R)-3,3- dimetiloxirano- 2-il]-3,7- dimetilnona- 2,6-dienoato	X= 213.483 Y= 2.850 Z= 353.222	42 x 40 y 24 z

Fonte: Autora (2022).

Resultados

Rendimento do óleo essencial

A extração do óleo essencial rendeu óleos essenciais de coloração amarela, com variação de teor de 0,42 mL (m/m) de óleo realizada em 3 horas, para cada 1000 g de amostra desidratada e volume de 5 Litros a 100 °C. Assim, o rendimento da extração foi calculado diante da quantidade de óleo essencial que foi obtido a partir de uma massa determinada do vegetal, onde partiu-se, cujo valor foi de 1000g dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe sendo obtido e o rendimento m/m foi de 0,042% semelhante ao rendimento encontrado na literatura bem como amarela e a limpidez.

Características fitoquímicas dos óleos essenciais

Os constituintes químicos majoritários encontrados nesta presente pesquisa para o óleo essencial de rizomas de gengibre estão descritos na Tabela 4. O cromatograma do óleo essencial de gengibre mostra os componentes majoritários e minoritários presentes a partir dos espectros na Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas (CG-EM), apresentando então, os picos selecionados e identificados por meio dos respectivos espectros de massa. Essa técnica permitiu realizar a separação das misturas individuais, uma das técnicas utilizadas para determinar, quantitativamente e qualitativamente as frações individuais das 20 substâncias.

Tabela 2 - Compostos identificados na amostra de gengibre.

Pico	Composto	T _R (min.)	Área (%)	Índice de Retenção Linear
01	α-Felandreno	6.328	1.33	969
02	β-Mirceno	8.307	1.82	958
03	(+)-2-Careno	9.338	2.19	948
04	σ-Cimeno	9.713	10.27	1042
05	Limoneno	9.812	0.38	1018
06	Eucaliptol	9.944	2.37	1059
07	γ-Terpineno	11.068	15.93	998
08	4-Tujanol	11.407	0.40	1041

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

09	β -Linalol	12.631	0.22	1082
10	Terpinen-4-ol	16.129	1.22	1137
11	Tujan-2-ona	16.317	0.53	1073
12	Éter timol metílico	18.378	7.70	1231
13	Timol	21.338	16.52	1262
14	Carvacrol	21.921	31.70	1262
15	Acetato de timol	23.432	0.86	1421
16	Acetato de carvacrol	24.266	1.69	1421
17	Cariofileno	26.549	2.75	1494
18	Humuleno	27.981	0.53	1579
19	3-terc-Butul-4-hidroxianisol	28.980	0.51	1417
20	Óxido de cariofileno	33.034	1.09	1507

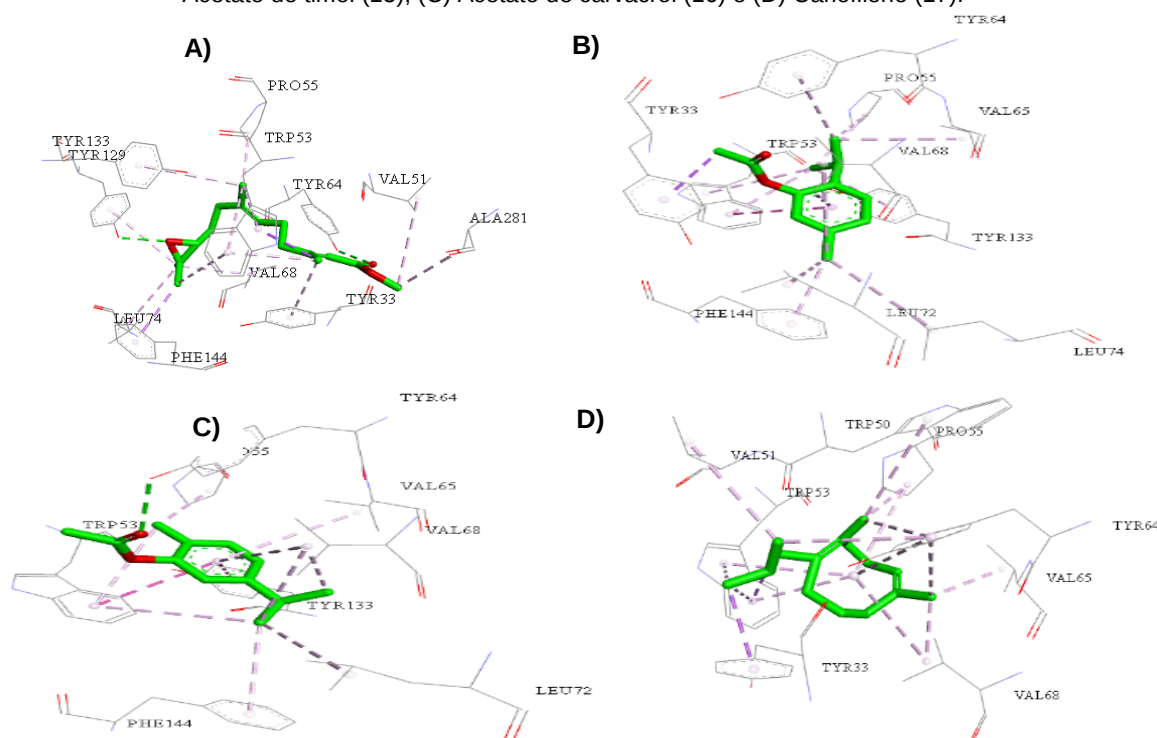
T_R: Tempo de retenção dos compostos na coluna em minutos.

Fonte: Autora (2022).

Análise do docking molecular na região do Hormônio Juvenil.

A validação do protocolo de docking molecular foi feita por meio da similaridade de conformação da pose do modelo cristalográfico (verde) com o modelo virtual (vermelho). A partir de cada conformação espacial, são obtidas energias livres de ligação (entre ligante e alvo), onde a menor energia é considerada a mais provável para justificar a conformação da interação. Os resultados demonstraram que o valor da distância entre os átomos da proteína sobreposta (RMSD) foi equivalente a 0,95 Å para o hormônio juvenil.

Figura 1 - Resultados das interações com a proteína de ligação ao hormônio juvenil do mosquito: (A) JH3, (B) Acetato de timol (15), (C) Acetato de carvacrol (16) e (D) Cariofileno (17).



Fonte: Autora (2022).

As interações entre o controle positivo (JHIII) e o hormônio juvenil foram observadas nas regiões da α -hélice (Tyr 33, Val 51, Trp 53, Tyr 64, Val 68, Tyr 129) e da β -folha (Leu 74, Phe 144) como demonstram os estudos de Ramos et al. (2019) ao fazer a identificação do potencial inibidor da atividade inseticida com a triagem virtual. Nesse sentido, nosso estudo reproduziu interações do

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Acetato de timol e Acetato de carvacrol com o hormônio juvenil nas regiões da α -hélice e β -folha, enquanto o Cariofileno apresentou interações apenas na região da α -hélice (RAMOS et al., 2019).

Discussão

O estudo revelou que o rendimento em peso do óleo essencial de gengibre diminuiu com o aumento do estágio de maturidade e o tempo de desidratação comparado com o da literatura, mas uma das hipóteses pode ser o método da desidratação escolhido comparado ao da estufa. Zaid e seus colaboradores (2022) obtiveram por meio da hidrodestilação, quatro variedades de rizomas de *Z. officinale* com variação de teor de 0,08% a 0,77% (p/p) com base no peso fresco, de cor amarela. Nesse sentido, o nosso volume extraído bem como o rendimento do óleo essencial de gengibre em relação aos da literatura estão bem próximos, uma vez que, se usou apenas metade do tempo descrito na literatura por outros autores para a extração dos óleos essenciais (ALMOHAIMEED et al., 2021; GOMES et al., 2016; SILVA et al., 2019; ZAID et al., 2022).

A Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas é importante para esse estudo, pois, foi realizada para fornecer informações mais detalhadas sobre as amostras obtendo o total de 20 constituintes químicos que variam desde monoterpenos até sesquiterpenos. Nesse sentido, as substâncias mais abundantes presentes nos extratos dos óleos essenciais de gengibre foram Carvacrol (31,70%), Timol (16,52%), γ -Terpineno (15,93%) e σ -Cimeno (10,27%). Pajaro-Castro e seus colaboradores (2017) testaram como repelentes contra insetos utilizando linalol e β -pineno que também são substâncias também são encontradas no óleo essencial de gengibre e os valores que os autores encontraram da concentração repelente 50 (RC₅₀) foram 0,11 μ L/cm² e 0,03 μ L/cm², respectivamente ao induzirem superexpressão do gene Hiscl2 em insetos adultos, e o β -pineno também promoveu a superexpressão de Grd e do gene Ace1 (PAJARO-CASTRO et al., 2017).

Quanto ao estudo computacional de *docking* molecular, os resultados mostram que o valor da distância entre os átomos da proteína sobreposta (RMSD) equivalente a 0,95 Å para o hormônio juvenil medida de significância e precisão do acoplamento do hormônio juvenil com os ligantes e do algoritmo de submostragem conformacional. Valores de RMSD inferiores a 2 Å apresentam protocolo otimizado proposto por Ramos e colaboradores (2020) com representatividade conformacional e acurácia na reprodução das poses de docagem molecular. O modelo proposto nesse estudo apresenta significância estatística, pois, ele foi proposto e validado por Ramos e colaboradores (2020) onde conseguiram através *docking* e outros, garantir a precisão e confiabilidade de previsões futuras no design e seleção de moléculas com atividade biológica para potenciais inibidores das enzimas acetilcolinesterase e hormônio juvenil (RAMOS et al., 2020).

Conclusão

Este estudo permitiu elucidar que o óleo essencial de gengibre, especialmente as frações majoritárias e minoritárias pode ser uma alternativa acerca da proposta para inseticida botânicos, possivelmente, tóxicos para os mosquitos, bem como, menos agressivos ao meio ambiente e a sociedade, comparado ao inseticida sintético utilizado no combate ao dengue. Este que por sua vez, com o passar dos anos, perdeu a sua força de mortalidade frente ao mosquito, tornando-o resistente e ainda mais virulento, sendo necessárias doses cada vez maiores no seu combate. Nesse sentido, é possível concluir que o óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe apresenta um potencial de inibição do hormônio juvenil de *Aedes aegypti* oriundo da ação sinérgica de seus constituintes fitoquímicos Acetato de timol, Acetato de carvacrol e Cariofileno.

Referências

- ALMOHAIMEED, H. M. et al. Synergistic Anti-inflammatory and Neuroprotective Effects of Cinnamomum cassia and Zingiber officinale Alleviate Diabetes-Induced Hippocampal Changes in Male Albino Rats: Structural and Molecular Evidence. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 8 set. 2021.
- ALOMAR, A. A.; EASTMOND, B. H.; ALTO, B. W. Juvenile hormone analog enhances Zika virus infection in *Aedes aegypti*. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

FIOCRUZ, F. O. C. **O mosquito *Aedes aegypti* faz parte da história e vem se espalhando pelo mundo desde o período das colonizações.** Disponível em: <<https://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/longatraje.html>>. Acesso em: 14 jul. 2023a.

FIOCRUZ, F. O. C. **Recorde de óbitos por dengue alerta para prevenção.** Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/aedes-aegypti-recorde-de-obitos-por-dengue-alerta-para-prevencao>>. Acesso em: 19 fev. 2023b.

GOMES, P. R. B. et al. Avaliação da atividade larvídica do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 18, n. 2, p. 597–604, 2016.

MAGALHÃES, C. H. A. **EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE AROEIRA DA PRAIA (*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI).** Maceió - AL: Universidade Federal de Alagoas, 2020.

MARINHO, V. H. S. et al. Development of an environmentally friendly formulation of silk fibroin combined with fatty acid from *Astrocaryum murumuru* Mart. effective against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 75, p. 103626, 1 set. 2022.

NADEEV, A. P. et al. Fatal dengue fever. **Arkhiv Patologii**, v. 82, n. 1, p. 52–55, 1 jan. 2020.

OPAS/OMS, O. P.-A. DA S. **Dengue.** Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/dengue>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

OPS, O. P. DE S. Controle do *Aedes aegypti* em cenário de transmissão simultânea de COVID-19. **Organização Pan-americana de Saúde**, p. 1–7, 2020.

PAJARO-CASTRO, N.; CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J. Neurotoxic Effects of linalool and β -pinene on *tribolium castaneum* herbst. **Molecules**, v. 22, n. 12, 1 dez. 2017.

RAMOS, R. et al. Identification of Potential Inhibitors from Pyriproxyfen with Insecticidal Activity by Virtual Screening. **Pharmaceuticals**, v. 12, n. 1, p. 20, 25 jan. 2019.

RAMOS, R. S. et al. Potential inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase and juvenile hormone with insecticidal activity: study of the binding mode via docking and molecular dynamics simulations. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 38, n. 16, p. 4687–4709, 1 nov. 2020.

ROCHA, T. S. et al. Variabilidade química de óleos essenciais de *Protium heptaphyllum*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e288111032835, 31 jul. 2022.

SANTOS, A. B. DA S. et al. Óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng como agentes larvídicas frente as larvas do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 22355–22369, 2020.

SANTOS, G. R. DOS S. et al. Potencial fungitóxico dos óleos essenciais de plantas do cerrado no controle dos fitopatógenos *Curvularia lunata* e *Rhizoctonia solani*. **Peer Review**, v. 5, n. 15, p. 112–127, 7 jul. 2023.

SARQUIS, I. R. et al. *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae) oil associated with silk fibroin, as alternative to traditional surfactants, and active against larvae of the vector *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, v. 157, 2020.

SILVA, S. et al. Antibacterial Activity of *Rosmarinus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Citrus aurantium bergamia*, and *Copaifera officinalis* Alone and in Combination with Calcium Hydroxide against *Enterococcus faecalis*. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.

ZAID, A. et al. Phytochemical Constituents and Antiproliferative Activities of Essential Oils from Four Varieties of Malaysian *Zingiber officinale* Roscoe against Human Cervical Cancer Cell Line. **Plants**, v. 11, n. 10, 1 maio 2022.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP).