



ESTUDO *IN SILICO* DE INTERAÇÕES ENTRE CITRAL:2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA

Ana Flávia B. Silva¹; Walter C. C. Bigui¹; Nicholas A. B. Bento²; Heberth de Paula³; Othon S. Campos¹; Lucas S. Soares⁴; Adilson V. Costa¹; Vagner T. de Queiroz¹

¹ Departamento de Química e Física, Grupo de Pesquisa de Estudos Aplicados em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS), Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre, ES, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Energia, Universidade Federal do Espírito Santo, CEUNES, s/n, 29932-540 São Mateus, ES, Brasil.

³ Departamento de Farmácia e Nutrição, Grupo de Modelagem Molecular e Atividades Enzimáticas (GEMMA), Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre, ES, Brasil.

⁴ Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Campus Rio Paranaíba, Rodovia MG 230, km 7, 38810-000, Rio Paranaíba, MG, Brasil.
ana.fb.silva@edu.ufes.br

Palavras-Chave: Interações Intermoleculares, Dinâmica Molecular, Teoria do Funcional da Densidade.

Introdução

O citral (CIT) é um monoterpreno oxigenado constituído por uma mistura de dois isômeros geométricos: *E*-citral (geranial) e *Z*-citral (neral). Esse composto é naturalmente encontrado em diversas espécies vegetais, entre elas, em óleos essenciais de frutas cítricas (FOURTAKE *et al.*, 2021). Devido às suas propriedades, o CIT possui ampla aplicação nas indústrias de perfumaria e farmacêutica (YANG; LI; ZHANG, 2018), além de apresentar atividades anti-inflamatória (LIN *et al.*, 2008), antibacteriana (DAI *et al.*, 2023), antifúngica (MELO *et al.*, 2020) e acaricida (SABAHI; KELLY; GUZMAN-NOVOA, 2021). Apesar do seu elevado potencial biológico, sua aplicação ainda é limitada por sua alta volatilidade, baixa estabilidade e suscetibilidade à degradação química, especialmente em condições de oxidação e baixos valores de pH (HUANG *et al.*, 2024). Além disso, devido ao seu caráter hidrofóbico, o CIT apresenta baixa dispersibilidade em sistemas aquosos (0,59 g L⁻¹ a 25 °C), o que dificulta a sua incorporação em formulações aquosas e reduz a sua estabilidade durante o armazenamento (FOURTAKE *et al.*, 2021; PUBCHEM, 2026).

Para contornar essas limitações, a formação de complexo de inclusão (CI) utilizando ciclodextrinas (CDs) como materiais encapsulantes tem sido avaliada para melhorar as propriedades físicas de compostos voláteis, como o CIT, por meio da formação de estruturas supramoleculares (SILVA *et al.*, 2024). As CDs são oligossacarídeos que apresentam uma cavidade interna hidrofóbica, capaz de encapsular moléculas convidadas, e uma superfície externa hidrofílica (FOURTAKE *et al.*, 2021). Dentre as CDs naturais, a β CD é a CD natural mais empregada para a preparação de CIs devido ao seu baixo custo de produção em comparação com as α - e γ -CDs. No entanto, a β CD apresenta a menor dispersibilidade em água (18,5 mg mL⁻¹). Para solucionar esse problema, derivados com maior dispersibilidade



em água, como a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) ($> 600,0 \text{ mg mL}^{-1}$) podem ser quimicamente sintetizadas (BREWSTER; LOFTSSON, 2007).

A formação do CI entre o CIT em CDs pode ser identificada por diferentes técnicas experimentais, as quais incluem ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, difração de raios X, análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial (FOURTAKA *et al.*, 2021). Embora técnicas experimentais permitam confirmar a formação dos CIs, elas apresentam limitações na caracterização detalhada das interações intermoleculares e na compreensão do comportamento dinâmico do sistema em nível molecular. Nesse contexto, ferramentas computacionais têm se destacado na investigação de complexos, capazes de avaliar, prever e compreender interações intermoleculares por meio de diferentes metodologias, como simulações de dinâmica molecular (DM) e cálculos de química quântica (KOU *et al.*, 2024).

As simulações de DM permitem comparar de forma abrangente os modos de interação entre a molécula hóspede e hospedeiras com diferentes características estruturais ao longo do tempo, permitindo avaliar trajetórias, alterações conformacionais, flexibilidade estrutural, estabilidade dos complexos e efeitos do solvente (ALOMARI *et al.*, 2025; KE *et al.*, 2024). Já os cálculos baseados na Teoria do Funcional da Densidade (DFT) possibilitam a investigação das propriedades eletrônicas dos sistemas, fornecendo informações sobre energias de interação, distribuição eletrônica, natureza das forças intermoleculares e características das ligações químicas. Assim, a combinação de DM e DFT fornecem uma abordagem complementar para uma compreensão detalhada das propriedades estruturais, eletrônicas e energéticas dos sistemas investigados. Além de ampliarem a compreensão molecular dos sistemas estudados, essas ferramentas apresentam vantagens relacionadas à otimização do planejamento experimental para a obtenção de informações com menor demanda de recursos e tempo (XIAO *et al.*, 2024). Nesse contexto, este estudo teve como objetivo investigar a estabilidade da interação entre CIT e 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (CIT/HP β CD), em diferentes solventes, dimetilsulfóxido (DMSO) e água (H_2O), por meio de simulações de DM ao longo de 500 ns. Adicionalmente, as interações entre a CIT e a HP β CD foram caracterizadas por cálculos baseados na DFT.

Material e Métodos

As simulações de DM foram realizadas no software Gromacs 2024.4, utilizando a HP β CD como receptor e a CIT como ligante. A topologia molecular e as cargas parciais atômicas do tipo AM1-BCC foram calculadas utilizando o programa ACPYPE (WANG *et al.*, 2006). O sistema foi solvatado utilizando o modelo de água TIP3P em uma caixa dodecaédrica (JORGENSEN *et al.*, 1983). Os átomos pesados foram restringidos utilizando uma constante de força de $1000 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$. A minimização de energia foi realizada utilizando o algoritmo *steepest descent*, com 50.000 iterações. Posteriormente, o sistema foi submetido a uma etapa de condicionamento de 100 ps (100.000 passos com incremento temporal de 2 fs), seguida por um protocolo de equilíbrio em duas etapas. Inicialmente, o

equilíbrio do sistema foi realizado sob o conjunto NVT (número de partículas, volume e temperatura). Posteriormente, foi realizado o segundo estágio de equilíbrio sob o conjunto NPT (número de partículas, pressão e temperatura), empregando o termostato V-rescale a 300 K e o barostato C-rescale a 1 atm (BERNETTI; BUSSI, 2020; BUSSI; DONADIO; PARRINELLO, 2007). As ligações envolvendo átomos de hidrogênio foram restringidas pela técnica LINCS (HESS *et al.*, 1998), enquanto as interações eletrostáticas de longo alcance foram tratadas pelo método PME (Particle Mesh Ewald). Após a etapa de equilíbrio, foi executada a simulação de 500 ns.

Todos os cálculos de DFT foram realizados com o pacote ORCA 6.1.1. Os cálculos de DFT para o complexo CIT/HP β CD foram realizados utilizando o funcional Minnesota 06-2X (ZHAO; TRUHLAR, 2008). A estrutura do complexo utilizada para os cálculos foi proveniente das simulações de DM. O cálculo das integrais molecular foram realizadas pelo método RIJ-COSX — juntamente com a opção "Z_GridX_RHS 3". Para estudar a interação intermolecular envolvida no complexo CIT/HP β CD foram realizados cálculos de interações não covalentes (NCI) utilizando o software MultiWFN 3.8 (LU, 2024) em conjunto com o VMD versão 1.9.3 (PRACHT *et al.*, 2024), com um valor de gradiente de densidade reduzida (RDG) de 0,5.

Resultados e Discussão

Inicialmente foi analisado se a cavidade da HP β CD possui dimensões suficientes para acomodar a molécula de CIT. O volume de Van der Waals da CIT é 106 Å³, durante os 500 ns de simulação, o volume médio da cavidade foi de 291 $\pm$ 116 Å³. Nesse sentido, a cavidade da HP β CD possui espaço suficiente para receber o CIT no processo de inclusão. Após a verificação do espaço suficiente para inclusão do CIT no interior da cavidade da HP β CD, o comportamento conformacional do complexo CIT/HP β CD foi analisado durante 500 ns para verificar a sua estabilidade em DMSO e H₂O. A escolha destes solventes está relacionada à técnica experimental de RMN ¹H, visto que estes solventes deuterados podem ser utilizados para a realização da análise do complexo (SHEN *et al.*, 2024; SILVA *et al.*, 2024). Ao longo da trajetória, foram selecionados seis *snapshots* representativos ao longo da simulação, evidenciando as alterações conformacionais do complexo CIT/HP β CD (Figura 1).

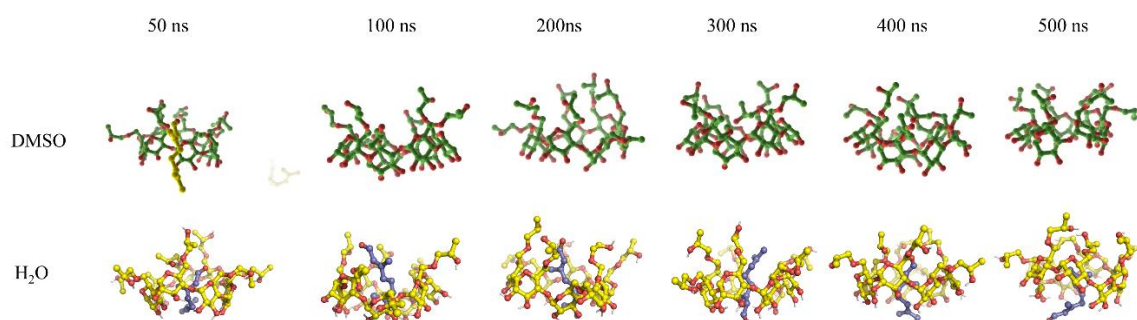


Figura 1 - Alterações conformacionais do complexo CIT/HP β CD observadas em intervalos ao longo de 500 ns em DMSO e H₂O.



A simulação de DM em DMSO demonstra que a molécula de CIT permaneceu encapsulada na cavidade da HP β CD durante aproximadamente 50 ns. Após esse intervalo, a análise da trajetória evidenciou sua saída gradual da cavidade, indicando uma baixa estabilidade do complexo nesse meio. Já na simulação de DM em meio aquoso (H₂O) observa-se alta flexibilidade do sistema durante os 500 ns analisados. Embora a CIT sofra alterações conformacionais ao longo da trajetória, este permaneceu no interior da cavidade da HP β CD. Esse comportamento indica que, apesar da flexibilidade conformacional do sistema, as interações intermoleculares entre o CIT e HP β CD são suficientes para manter a estabilidade do sistema em meio aquoso.

As interações intermoleculares envolvidas no processo de encapsulação do complexo CIT/HP β CD foram realizados cálculos de DFT utilizando o valor de corte de RDG = 0,5. Na Figura 2 observa-se que a estabilização entre o CIT e a HP β CD é predominantemente governada por interações intermoleculares de Van der Waal, resultado consistente com a natureza predominantemente hidrofóbica da cavidade. Além disso, também foram observadas regiões de repulsão no interior da cavidade da HP β CD, atribuídas à proximidade entre os grupos hidroxila e seus átomos de oxigênio.

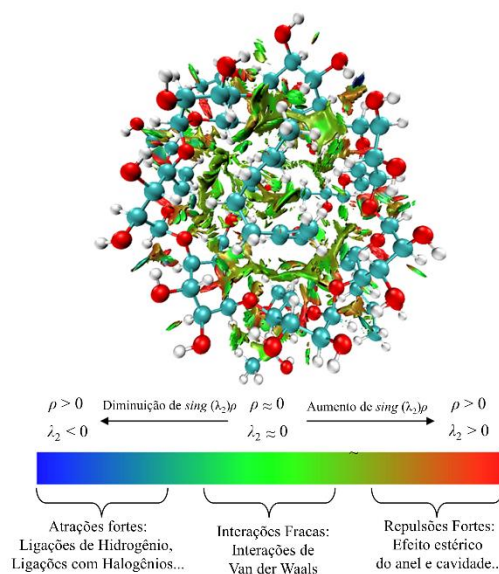


Figura 2 - Interações não covalentes do complexo entre CIT e HP β CD mostrando a isosuperfície (A), o gráfico RDG exibindo os pontos de 0,5 (B) e a legenda de cores para a análise de NCI (C).

Os cálculos de DFT permitiram compreender o processo de encapsulação e identificar as principais forças intermoleculares responsáveis pela estabilização do CIT na cavidade da HP β CD.



Conclusões

Dessa forma, a combinação entre a DM e DFT mostrou-se como abordagens eficientes para elucidar o comportamento estrutural, as interações intermoleculares e a estabilidade do complexo CIT/HP β CD, fornecendo informações que podem subsidiar estudos experimentais voltados ao desenvolvimento de sistemas de encapsulação para o CIT. Além de fornecer informações relacionadas ao mecanismo de encapsulação. As simulações evidenciaram que a estabilidade do complexo é dependente do solvente, sendo observada maior estabilidade em meio aquoso. Além disso, as análises de DFT indicaram que a estabilização do complexo é governada predominantemente por interações de Van der Waals, compatíveis com a natureza hidrofóbica da cavidade da HP β CD e com as características estruturais e de polaridade do CIT. Dessa forma, espera-se que a utilização de técnicas experimentais e computacionais sejam utilizadas em conjunto para a elucidação de estruturas supramoleculares capazes de melhorar as propriedades físico-químicas de compostos bioativos.

Agradecimentos

À FAPES, CAPES, CNPq e ao Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS-UFES-CNPq) e Grupo de Modelagem Molecular e Atividades Enzimáticas (GEMMA-CNPq) por sua valiosa colaboração.

Referências

- ALOMARI, N.; APARICIO, S.; MEYER, P.; ZENG, Y.; CUI, S.; GUTIÉRREZ, A.; ATILHAN, M. Synergistic Density Functional Theory and Molecular Dynamics Approach to Elucidate PNIPAM–Water Interaction Mechanisms. **Materials**, 18(11), 2498–2525, 2025.
- DAI, J.; BAI, M.; LI, C.; SAN CHEANG, W.; CUI, H.; LIN, L. Antibacterial Properties of Citral Against *Staphylococcus aureus*: From Membrane Damage to Metabolic Inhibition. **Food Biosci.** 53(1), 102770–102779, 2023.
- BERNETTI, M.; BUSSI, G. Pressure Control Using Stochastic Cell Rescaling. **J. Chem. Phys.** 153(11), 114107–114118, 2020.
- BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 59(7), 645–666, 2007.
- BUSSI, G.; DONADIO, D.; PARRINELLO, M. Canonical Sampling Through Velocity Rescaling. **J. Chem. Phys.** 126(1), 14101–14107, 2007.
- FOURTAKE, K.; CHRISTOFORIDES, E.; TZAMALIS, P.; BETHANIS, K. Inclusion of Citral Isomers in Native and Methylated Cyclodextrins: Structural Insights by X-ray Crystallography and Molecular Dynamics Simulation Analysis. **J. Mol. Struct.** 1234(2), 130169–130182, 2021.
- HESS, B.; BEKKER, H.; BERENDSEN, H. J.; FRAAIJE, J. G. LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations. **J. Comput. Chem.** 18(12), 1463–1472, 1998.
- HUANG, J.; YANG, Y.; LI, T.; YU, H.; CHEN, C.; ZHUANG, L.; TIAN, H. Synergistic Effect in the Ternary System of Citral Microemulsion Based on Self-Assembled Complex Surfactants. **Ind. Eng. Chem. Res.** 63(13), 5958–5969, 2024.
- JORGENSEN, W. L.; CHANDRASEKHAR, J.; MADURA, J. D.; IMPEY, R. W.; KLEIN, M. L. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. **J. Chem. Phys.** 79(2), 926–935, 1983.



KE, Q.; ZHU, J.; SU, D.; PAN, F.; MENG, Q.; KOU, X. Preparation, Physicochemical Characterization, and Computational Studies of Aldehyde Aroma Compounds/Cyclodextrin Inclusion Complexes. **Ind. Crops Prod.** 211(1), 118245–118261, 2024.

KOU, X.; SU, D.; PAN, F.; XU, X.; MENG, Q.; KE, Q. Molecular Dynamics Simulation Techniques and Their Application to Aroma Compounds/Cyclodextrin Inclusion Complexes: A review. **Carbohydr. Polym.** 324(2), 121524–121541, 2024.

LIN, C.-T.; CHEN, C.-J.; LIN, T.-Y.; TUNG, J. C.; WANG, S.-Y. Anti-Inflammation Activity of Fruit Essential Oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata. **Bioresour. Technol.** 99(1), 8783–8787, 2008.

LU, T. A Comprehensive Electron Wavefunction Analysis Toolbox for Chemists, Multiwfn. **J. Chem. Phys.** 161(8), 82503–82543, 2024.

MELO, C. R.; OLIVEIRA, B. M. S.; SANTOS, A. C. C.; SILVA, J. E.; RIBEIRO, G. T.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; BACCI, L. Synergistic Effect of Aromatic Plant Essential Oils on the ant *Acromyrmex balzani* (Hymenoptera: Formicidae) and Antifungal Activity on its Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Agaricales: Agaricaceae). **Environ. Sci. Pollut. Res.** 27(14), 17303–17313, 2020.

PRACHT, P.; GRIMME, S.; BANNWARTH, C.; BOHLE, F.; EHLERT, S.; FELDMANN, G.; GORGES, J.; MÜLLER, M.; NEUDECKER, T.; PLETT, C.; SPICHER, S.; STEINBACH, P.; WESOLOWSKI, P. A.; ZELLER, F. CREST—A program for the exploration of low-energy molecular chemical space. **J. Chem. Phys.** 160(11), 114110–114137, 2024.

PUBCHEM. Citral. *PubChem Compound Summary*, CID 638011. National Center for Biotechnology Information, 2026. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/638011>. Acesso em: 29 jul. 2026.

SABAHI, Q.; KELLY, P. G.; GUZMAN-NOVOA, E. Carvone and Citral, two Promising Compounds for Controlling the Honey Bee Ectoparasitic Mite, *Varroa destructor*. **J. Appl. Entomol.** 146(8), 1003–1010, 2022.

SHEN, D.; CHANG, X.; ZHOU, L.; HAO, D.; FANG, Z.; SHAN, Y.; HUANG, L.; LI, G. Ultrasonic Preparation Of Citral/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Application As A Potential Antifungal Preservative In Strawberry Storage. **Food Control**, 155, 110046, 2024.

SILVA, R. R. A.; MARQUES, C. S.; MENDES, L. A.; FREITAS, P. A. V.; OLIVEIRA, T. V.; PINTO, L. M. A.; JAIME, C.; SOARES, N. F. F. Exploring Antimicrobial Hydroxypropyl- β -cyclodextrin Inclusion Complexes for Cheese Preservation: A Combined Theoretical and Experimental Study. **Food Bioprocess Technol.** 17(12), 4980–4999, 2024.

WANG, J.; WANG, W.; KOLLMAN, P. A.; CASE, D. A. Automatic Atom Type and Bond Type Perception in Molecular Mechanical Calculations. **J. Mol. Graph. Model.** 25(2), 247–260, 2006.

XIAO, Z.; YU, P.; SUN, P.; KANG, Y.; NIU, Y.; SHE, Y.; ZHAO, D. Inclusion Complexes of β -cyclodextrin with Isomeric Ester Aroma Compounds: Preparation, Characterization, Mechanism Study, and Controlled Release. **Carbohydr. Polym.** 333(1), 121977–121991, 2024.

YANG, Y.-H.; LI, X.-Z.; ZHANG, S. Preparation Methods and Release Kinetics of *Litsea cubeba* Essential Oil Microcapsules. **RSC Adv.** 8(52), 29980–29987, 2018.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. The M06 Suite of Density Functionals for Main Group Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, Noncovalent Interactions, Excited States, and Transition Elements: Two New Functionals and Systematic Testing of Four M06-class Functionals and 12 Other Functionals. **Theor. Chem. Acc.** 120(1), 215–241, 2008.