

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TERMITICIDA DA LECTINA DE *Croton campestris*.

Silva, D.R. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO) ; Melo, A.S. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO) ; Napoleão, T.H. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO) ; Gomes, F.S. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO) ; Coelho, L.C.B.B. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO) ; Paiva, P.M.G. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO) ; Sá, R.A. (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO)

RESUMO

Croton campestris (CC) é uma planta do Agreste Pernambucano, indicada na medicina popular para o tratamento de artrose, reumatismo e etc. Lectinas são proteínas que se ligam a carboidratos, propriedade que está relacionada ao seu papel como proteínas de reserva, de defesa contra microrganismos fitopatogênicos, insetos e outros. O trabalho teve como objetivo isolar lectinas e avaliar a atividade termiticida frente a cupins da espécie *Nasutitermes corniger* do extrato salino (ES) e lectina (PII) de CC. O ES apresentou uma atividade hemaglutinante específica de 7,728UH/mL. A fração 40% (PF2) foi escolhida para a purificação da lectina. ES e PF2 foram capazes de aglutinar eritrócitos de coelhos e humanos. A atividade inseticida revela que o ES e PII induziram 100% de mortalidade dos cupins.

PALAVRAS CHAVES

Lectina; Campestris; Termiticida

INTRODUÇÃO

O gênero *Croton* detém expressiva relevância econômica, alicerçada em seu conteúdo de óleos essenciais e diversas substâncias ativas como terpenos, flavonóides e alcalóides. As espécies desse gênero são empregadas com frequência na medicina popular demonstrando algumas propriedades terapêuticas comprovadas. Os estudos existentes centrados em espécies de *Croton* são ainda escassos e dizem respeito às áreas de fitoquímica e farmacologia. *Croton campestris* é uma planta utilizada na medicina popular, sendo popularmente conhecido como “velame do campo” na região do Agreste de Pernambuco, seu uso é feito através do chá da folha do velame do campo, sendo indicados para o tratamento de Escrofulose, eczemas, artrismo, artrose e etc. Os metabólitos secundários de plantas são conhecidos por suas ações repelentes ou atraentes nas interações intraespécies e interespcies. Além disto, eles podem apresentar ação farmacológica tranquilizante, antiviral, inseticida, com as mais diversas aplicações, tanto na terapêutica médica, como na indústria de cosméticos e outras. O papel ecológico dos térmitas é dos mais importantes, entretanto, cerca de 10% das espécies conhecidas estão registradas como pragas. Os problemas com cupins vêm crescendo e causando prejuízos cada vez maiores em diversas áreas urbanas no Brasil. Os danos às estruturas de madeira e a outros materiais causados pelos cupins chegam a mais de US\$ 3 bilhões anualmente. O termo lectina que significa selecionado refere-se à habilidade dessas proteínas ligarem-se seletivamente e reversivelmente a carboidratos. Sabe-se que o principal componente do trato digestivo dos insetos são carboidratos, sendo assim as lectinas tornam-se uma forte ferramenta para o tratamento e controle destas infestações nas zonas urbanas.

MATERIAL E MÉTODOS

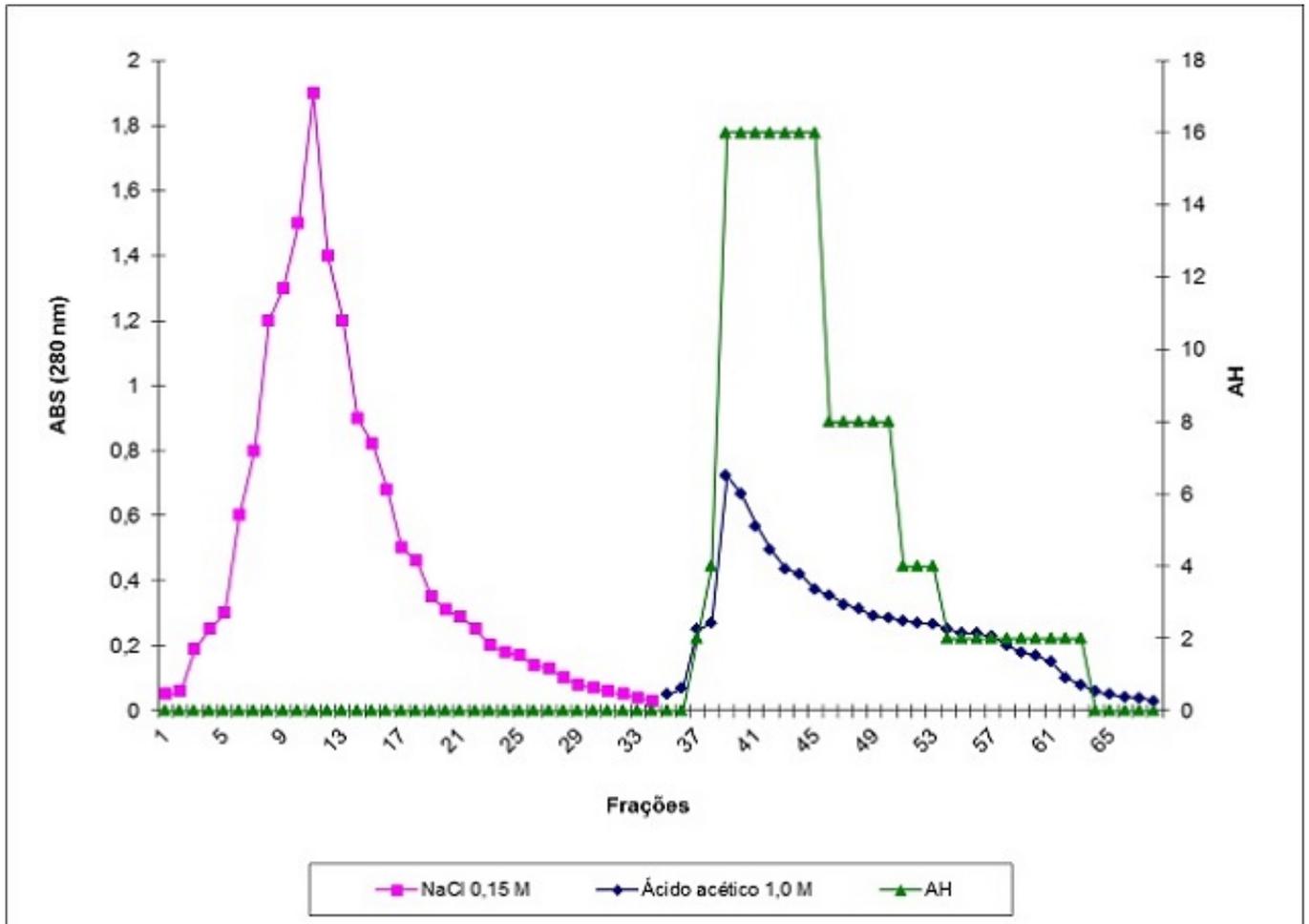
Para a preparação de extratos salinos (ES) utilizou-se 24g da farinha das Folhas de *Croton campestris* em 480 ml de NaCl 0,15 molar. A extração foi realizada em temperatura ambiente e em repouso por 48hrs. A Atividade Hemaglutinante (AH) foi realizada segundo a metodologia (adaptada) descrita por DERÓN DE LA BARCA, OCHOA E VALENCIA (1985), usando placas de microtitulação contendo em cada poço 50µl do líquido extrator, 50µl do extrato bruto (EB) seguida de diluição seriada e posteriormente acrescidos 50 µl de eritrócitos de coelho tratados com glutaraldeído a atividade permaneceu em repouso durante 45 minutos em temperatura ambiente. A precipitação

proteica foi de acordo com a técnica de Green & Hughes (1995) obtendo-se a melhor fração proteica com uma saturação de 20-40% (F2) do sal sulfato de amônio. A quantificação protéica foi realizada de acordo com Lowry et al. A Cromatografia em coluna de quitina foi empacotada com 10 mL de quitina e equilibrada com NaCl 0,15M. Uma alíquota de 2,0 mL de F2 foi aplicada à coluna cromatográfica, que foi lavada com NaCl 0,15 M até a obtenção de uma absorbância (280 nm) menor que 0,05. A eluição foi efetuada com ácido acético 1,0 M. O pico proteico eluído com ácido acético contendo AH foi definido como a lectina de *C. campestris*. As soluções de PII (lectina isolada) foram dialisadas em NaCl 0,15 M. A Atividade termiticida foi avaliada através do método de Kang et al. (1990). Foram utilizados 200 µL das soluções-teste: ES e PII e o controle utilizado foi: NaCl 0,15 M. Das colônias de *N. corniger* mantidas no departamento de Agronomia da UFRPE foram coletados 20 cupins sendo estes: 16 operários e 4 soldados, todos mantidos à 28 °C; e em escuridão. Todos os testes foram feitos em quintuplicatas e a avaliação foi diária durante 18 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

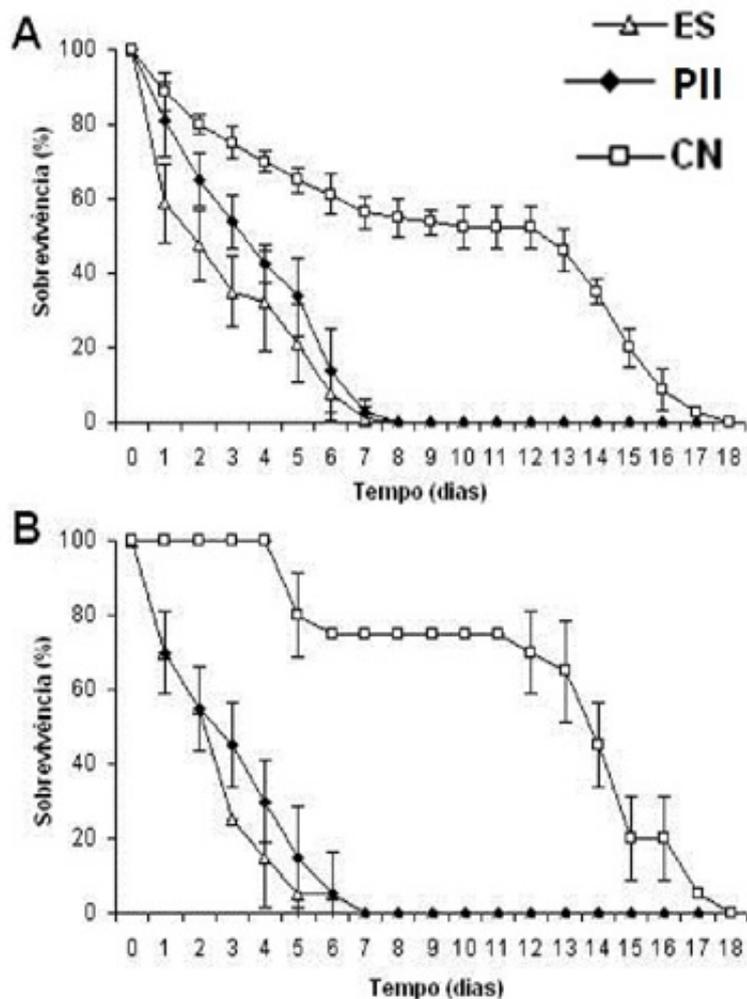
Foi observado que o melhor método de extração da lectina de *Croton campestris* é a partir do repouso, método também usado por Santana (2004) no isolamento de lectinas da *Macrotyloma axillare*. Observou-se que através da inibição por carboidratos a fração proteica (F2) foi inibida com N-acetilglicosamina (Figura 1), que estimulou a purificação da lectina através de cromatografia de afinidade em colunas de quitina. ES e PF2 aglutinaram eritrócitos de todos os tipos sanguíneos do sistema ABO, assim como eritrócitos glutarizados de coelho. Os ensaios termiticidas sugerem que a atividade do ES e Lectina (PII) se deve à sua toxicidade contribuindo para levar à morte dos cupins que se alimentaram de material contendo amostras proteicas. Foi observado que o contato com o ES e Lectina (PII) em todas as concentrações testadas induziu 100% de mortalidade dos operários e soldados em 7 dias de contato com os insetos (Figura 2). A ação tóxica de lectinas inseticidas tem sido relacionada à ligação dessas proteínas através de interações di-sulfetos e ligações de hidrogênio a glicoproteínas presentes no trato digestivo de insetos.

Figura 1



Cromatografia de PF2 (6,0 mg) em coluna de quitina equilibrado com NaCl 0,15 M, PII (lectina) foi obtido através de eluição com ácido acético 1,0 M.

Figura 2



Efeito do contato com o ES e (PII) em operários (A) e soldados (B) de *N. corniger*. Cada ponto representa a média de cinco experimentos

CONCLUSÕES

ES e a Lectina aglutinaram eritrócitos de todos os tipos sanguíneos do sistema ABO, em especial eritrócitos do tipo AB assim como eritrócitos glutarizados de coelho. A fração proteica foi inibida com N-acetilglicosamina, que estimulou a purificação da lectina (PII) através de cromatografia de afinidade em colunas de quitina. O contato com ES e Lectina (PII), induziu 100% de mortalidade dos cupins utilizados.

AGRADECIMENTOS

A FACEPE pelo apoio financeiro. Ao Laboratório de Química da UFPE-Campus Agreste. Ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ABREU, A. S.; BARBOSA, P. S.; MÜLLER, A. H. & GUILHON, G. M. S. P.; Constituintes químicos do caulee das cascas do caule de *Croton pullei* var *Glabrior* (Euphorbiaceae). *Revista Virtual de iniciação Científica, UFPA*, v. 1, n 2, p. 1-9, 2001.
- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981.
- LOWRY, O.H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275, 1951

RANAU, K. P.; FLORÊNCIO, D. C.; FERREIRA, C. P.; XAVIER, H. S. Estudo farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm.(Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, V.14, n.2, p.89-96,2004.

SANTANA, M. A. Isolamento, Propriedades bioquímicas e estudos biológicos da Lectina de semente da *Macrotyloma axillare* (E. Meyer.), Ouro Preto, Universidade federal de Ouro Preto, Centro de ciências exatas e biológicas, 2004.