ÁREA DE SUBMISSÃO: PRODUTOS NATURAIS E QUÍMICA MEDICINAL –
PNQM33

EFEITO INSETICIDA, BACTERICIDA E FUNGICIDA DA LECTINA DAS FOLHAS DE *Mussaenda alicia* (RUBIACEAE).

I.C.VILA-NOVA¹, P.M.P SILVA², J.S NASCIMENTO³ J.R.S.L. CAMAROTI²,
P.M.G. PAIVA², T.H. NAPOLEÃO², E.V. PONTUAL¹.

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.

² Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica.

³ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Departamento de Química Fundamental.

E-mail: bella_coimbra@hotmail.com

RESUMO- *Mussaenda alicia* (*mussaenda rosa*) é uma planta ornamental e seu potencial na medicina tem sido relatado. Este trabalho descreve a purificação parcial de lectina (proteínas ligadoras de carboidratos) de folhas de *Mussaenda alicia* e a investigação de preparações de folhas quanto à atividade inseticida contra *A. aegypti* e antimicrobiana contra bactérias e fungo de importância médica. O extrato salino de folhas aglutinou eritrócitos de coelho, indicando a presença de lectinas e foi utilizado como material de partida para purificação utilizando cromatografia de afinidade em coluna de quitina. Um único pico de proteínas adsorvidas (PQ) foi recuperado e também apresentou elevada atividade de lectina. O extrato não exerceu toxicidade aguda para larvas de *A. aegypti* no quarto estágio, não afetou a viabilidade dos embriões e não apresentou atividade antimicrobiana. Por outro lado, PQ foi agente bacteriostático (CMI: 0,05 mg/mL) para *Escherichia coli* e fungistático (CMI: 0,025 mg/mL) e fungicida (CMF: 0,1 mg/mL) para *Candida albicans*. Em conclusão, o extrato de folhas de *M. alicia* não apresenta efeito inseticida e nem atividade antimicrobiana. Contudo, a atividade de lectina isolada a partir do extrato de folhas foi tóxica para *E coli* e *C. albicans*, bactéria e fungo de interesse médico.

Palavras chave: *Aedes aegypti*; *Candida albicans*; *Escherichia coli*; Lectina; Planta medicinal.

ABSTRACT - *Mussaenda alicia* (*mussaenda rosa*) is an ornamental plant and its potential in medicine has been reported. This work describes a partial purification of lectin (carbohydrate binding proteins) from leaves of *Mussaenda alicia* and an investigation of leaf preparations regarding the insecticidal activity against *A. aegypti* and antimicrobial against bacteria and fungus of medical importance. The leaf salt extract agglutinated rabbit erythrocytes, indicating a presence of lectins and was used as the starting material for purification using chitin column affinity chromatography. A single peak of adsorbed proteins (PQ) was recovered and also

exhibited high lectin activity. The extract did not exert acute toxicity for A. aegypti larvae in the fourth stage, did not affect the viability of the embryos and did not present antimicrobial activity. On the other hand, PQ was bacteriostatic agent (IMC: 0.05 mg / mL) for Escherichia coli and fungistatic (IMC: 0.025 mg / mL) and fungicide (CMF: 0.1 mg / mL) for Candida albicans. In conclusion, the extract of leaves of M. alicia has no insecticidal effect and no antimicrobial activity. However, an isolated lectin activity from leaf extract to toxic to E coli and C. albicans, bacterium and fungus of medical interest.

Keywords: *Aedes aegypti*; *Candida albicans*; *Escherichia coli*; Lectin; Medicinal plant.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Mussaenda* (Rubiaceae) compreende cerca de 200 espécies que são utilizadas para fins ornamentais (ROSÁRIO, 1984). Poucos estudos relatam aplicações biotecnológicas da espécie *Mussaenda alicia*. A utilização indiscriminada de inseticidas para controle de populações de vetores de doenças e de antibióticos para tratar infecções tem acarretado no surgimento de insetos e microrganismos resistentes, respectivamente (Luna *et al.* 2004; SILVA, 2004). Nesse sentido, peptídeos têm sido apontados como candidatos promissores para utilização como novos inseticidas ou antibióticos. Lectinas (proteínas ligadoras de carboidratos), por exemplo, têm sido reportadas como agente inseticida, antibacteriano e antifúngico (JIMENEZ *et al.*, 2014). Este trabalho avaliou o extrato de folhas de *M. alicia* quanto à presença de lectinas, ao potencial inseticida contra *Aedes aegypti* e à atividade antimicrobiana contra microrganismos de interesse médico.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Folhas de *M. alicia* (10 g) foram homogeneizadas (16 h a 28°C) com NaCl 0,15 M (100 mL) e o extrato obtido foi avaliado quanto à concentração de proteínas (Lowry *et al.*, 1951) e atividade hemaglutinante (presença de lectinas) (Napoleão *et al.*, 2012), e submetido à cromatografia em coluna de quitina. A especificidade de ligação a carboidratos foi determinada submetendo o extrato de folhas e as frações eluídas da coluna com ácido acético (PQ) ao ensaio de atividade hemaglutinante em presença de monossacarídeos (0,2 M) ou glicoproteínas (0,5 mg/mL).

A atividade larvicida foi avaliada incubando-se vinte larvas de *A. aegypti* no terceiro instar com extrato de folhas (20 mL) nas concentrações de 0,25%, 0,5%, 1% e 2% ou com NaCl 0,15 M (controle). Após 48 h, a taxa de sobrevivência (%) das larvas foi determinada. O efeito embriocida foi investigado de forma semelhante, substituindo-se as larvas por ovos de *A. aegypti*. Após 72 h de incubação, a taxa de eclosão (%) dos ovos foi determinada. O desenvolvimento das larvas que eclodiram foi acompanhado. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

O extrato de folhas e PQ foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Candida albicans*. A concentração mínima inibitória (CMI) foi definida como a menor concentração da amostra que promoveu redução maior ou igual a 50% em relação ao controle e foi determinada pelo teste de microdiluição em placa. Para determinar a concentração mínima bactericida (CMB) ou fungicida (CMF), alíquotas do controle e dos testes onde houve inibição do crescimento foram transferidas para placas de petri contendo meio de cultura sólido que foram incubadas (24 h a 37°C)..

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato de folhas apresentou atividade hemaglutinante de 32 e a cromatografia em coluna de quitina revelou apenas um pico (PQ) de proteínas adsorvidas após eluição com ácido acético 1 M (Figura 1). PQ apresentou atividade hemaglutinante específica de 16.384, correspondendo a um fator de purificação de 170 vezes em relação ao extrato.

Figura 1. Cromatografia de afinidade em coluna de quitina do extrato de folhas de *Mussaenda alicia* obtido em NaCl 0,15. As frações 52-57 corresponderam a PQ.

O ensaio de inibição com os açúcares revelou que a atividade hemaglutinante do extrato de folhas foi inibida por frutose, fucose, lactose, glicose, N-acetilglicosamina, N-acetilgalactosamina e ribose. Já a atividade de P_Q foi inibida pelo monossacarídeo glicose e pelas glicoproteínas ovoalbina e fetuína.

O extrato de folhas não foi capaz de matar larvas de *A. aegypti*, não apresentou atividade embriocida, não interferiu no desenvolvimento das larvas e nem apresentou efeito antimicrobiano. Por outro lado, P_Q inibiu o crescimento de colônias de *E. coli* (CMI: 0,05 mg/mL) e de *C. albicans* (CMI: 0,025 mg/mL), contudo causou mortalidade apenas desta última (CMF = 0,1 mg/mL). A ação antimicrobiana de lectinas tem sido creditada à sua capacidade de interação com componentes da parede celular dos microrganismos (PAIVA *et al.*, 2010).

4. CONCLUSÃO

O extrato de folhas de *M. alicia* não apresenta efeito inseticida e nem atividade antimicrobiana. Contudo, a atividade de lectina isolada a partir do extrato de folhas foi tóxica para *E. coli* e *C. albicans*, bactéria e fungo de interesse médico.

5. REFERÊNCIAS

JIMENEZ, P. *et al.* Effects of short-term heating on total polyphenols, antocyanins, antioxidant activity and lectins of different parts of dwarf elder (*Sambucus ebulus* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. v. 69. p. 168-174, 2014.

LOWRY, O.H *et al.* (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*

. v. 193, pp. 265–275.

NAPOLEÃO, T. H; GOMES, F.S.; LIMA T.A; SANTOS, N. D. L; SÁ, R. A;ALBUQUERQUE, A. C.; COELHO, L. C. B. B; PAIVA, P. M. G. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 65, p. 52-59, 2011.

PAIVA, P.M.G.; GOMES, F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; SÁ, R.A.; CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: VILAS, A.M. (Org.) Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology: *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Badajoz, Formatex Research Center, pp. 396-406, 2010.

ROSARIO, T. L. The ornamental mussaendas of the Philippines. Laguna: *Institute of Plant Breeding*, 1984.

SILVA, M.R.O. Detecção de atividade antifúngica de extratos de plantas do manguezal de Vila Velha, Itamaracá- PE. 2004. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco.

6. AGRADECIMENTOS

FACEPE, UFRPE, UFPE, CAPES, CNPQ.