



## **ESTUDO DAS FOLHAS DE SACACA (*Croton cajuçara* Benth.) COMO BIOINSETICIDA CONTRA AS LARVAS DE *Aedes aegypti***

A. C. R. Melo

Gerência da de Educacional da Área de Química e Meio Ambiente – CEFET-AM

Av. Sete de Setembro, 1975, Centro CEP 69000-000 Manaus-AM

E-mail: acrm@cefetam.edu.br

### **RESUMO**

A Sacaca (*Croton cajuçara* Benth.), planta aromática nativa da Região Amazônica, que na língua Tupi significa “feitiço”, é utilizada há séculos pelos índios contra males do fígado e dos intestinos, vem sendo empregada também para emagrecimento, baixar o colesterol e no combate ao diabetes pela população da Amazônia. As enfermidades transmitidas por insetos vetores, como malária, dengue e leishmaniose, afetam profundamente a vida do homem, principalmente nas regiões tropicais. Além dos efeitos adversos dos inseticidas sintéticos ao meio ambiente, a maioria destes insetos tem se tornado fisiologicamente resistentes a muitos desses produtos. Uma nova vertente de pesquisas tem sido dirigida ao desenvolvimento de bioinseticidas naturais e biodegradáveis. O material botânico foi seco e submetido à maceração por 24 h com etanol. O extrato bruto obtido foi destilado à pressão reduzida para evaporação do solvente. Em seguida foram realizados bioensaios “in vitro”, com concentrações de 1 a 0,25 ppm. Larvas de *Aedes aegypti* foram adicionadas ao extrato etanólico diluído em água e colocados em recipientes fechados. Após 24 horas de incubação, as larvas remanescentes foram contadas e os resultados expressos em porcentagem. Os ensaios foram feitos usando o controle como referência. A fração etanólica testada contra *A. aegypti* apresentou uma atividade “in vitro” baixa, com mortalidade de apenas 25% das larvas. Neste trabalho, são apresentados os resultados iniciais de uma investigação química e biológica para o emprego da Sacaca, até então conhecida somente por seu potencial medicinal, a fim de incentivar o seu plantio, pois a espécie é de fácil cultivo, tendo em vista a sua importância para o aproveitamento racional e a preservação da biodiversidade regional.

**PALAVRAS-CHAVES:** Sacaca, *Croton cajuçara* Benth, *Aedes aegypti*, bioensaios.

## 1. INTRODUÇÃO

O tratamento, cura e prevenção de doenças através de plantas é tão antigo quanto à espécie humana, que muitas vezes é o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais. As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (Maciel, 2002; Melo, 2003; Veiga Junior, 2005).

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, tanto em congressos como em periódicos nacionais e internacionais, além do surgimento de novos periódicos específicos sobre produtos naturais ativos. Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido elucidar rapidamente estruturas moleculares complexas de constituintes naturais, até há pouco tempo difíceis de serem identificados (Cechinel Filho; Yunes, 1998; Falkenberg et al., 2002).

Cechinel Filho e Yunes (1998) ressaltaram outro aspecto que é a quantidade de plantas existente no planeta, sendo que a maioria é desconhecida sob o ponto de vista científico, onde entre 250-500 mil espécies, somente cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem menor avaliadas sob os aspectos biológicos.

### 1.1. A busca por um controle natural de doenças

Um país como o Brasil, com tantas peculiaridades e pluralidade climáticas e geográficas, abriga uma diversidade enorme de plantas e insetos. Segundo Viegas Junior (2003) inseticidas são substâncias químicas utilizadas para matar, atrair e repelir insetos, sendo sua descoberta, isolamento, síntese, avaliação toxicológica e impacto ambiental um vasto tópico de pesquisas no mundo inteiro e que tem se desenvolvido bastante nas últimas décadas.

A substituição em nível internacional dos agrotóxicos por bioinseticidas está associada à maior conscientização dos impactos ambientais dos defensivos e fertilizantes nos ecossistemas e no homem. (Viegas Junior 2003; Acordo SUDAM/PNUD, 2000). A busca por novos inseticidas constitui-se num campo de investigação amplo. A grande variedade de substâncias presentes na flora continua sendo um enorme atrativo na área de controle de insetos, principalmente levando-se em consideração que apenas uma pequena parcela de plantas foi investigada com tal finalidade (Vieira; Fernandes, 1999).

O tratamento das doenças por meio de drogas é muito antigo, acredita-se que tenha até precedido a escrita. Os primeiros relatos na literatura sobre o uso de drogas extraídas de plantas referem-se à terapia de doenças infecciosas. Diversos povos na Antiguidade já utilizavam forma terapêutica de algumas plantas.

O grande avanço na terapia com drogas, contudo, somente aconteceu no século passado, com a implantação da indústria química na Alemanha. Os laboratórios que produziam corantes para o setor têxtil começaram a investigar drogas contra as enfermidades conhecidas (Melo, 2003).

A evolução da quimioterapia está ligada inevitavelmente ao avanço dos métodos usados. Por séculos, novas drogas para uso humano eram descobertas, testadas e administradas em animais ou no próprio paciente. Posteriormente, com o advento do cultivo do parasita *in vitro*, os ensaios foram substituídos por estes novos sistemas, uma vez que, nos ensaios *in vivo* o custo é mais alto e, além disto, mais recentemente, o trabalho com animais, está sujeito a fortes restrições governamentais. Os ensaios *in vitro* têm a vantagem de requerer somente miligramas dos compostos a serem testados (Temporal, 2001).

Segundo Simas et al (2004) o dengue é uma infecção reemergente que vem preocupando as autoridades sanitárias de todo o mundo em virtude de sua circulação nos cinco continentes e da grande potencialidade para assumir formas graves e letais. No período compreendido entre 1955 e 1995 foram registradas cerca de três milhões de casos de febre hemorrágica do dengue e 58 mil mortes. Com o surgimento de formas resistentes do mosquito aos inseticidas convencionais utilizados, tem crescido a procura por extratos vegetais e substâncias naturais que sejam efetivas no combate ao mosquito adulto e/ou à larva de *Aedes aegypti* e que sejam isentas de toxicidade para o meio ambiente. Resistência a inseticidas convencionais é um dos principais obstáculos ao controle de insetos pestes de importância na agricultura e na medicina. A resistência resulta no aumento da frequência de aplicação de inseticida, dosagens crescentes, rendimentos diminuídos, danos ambientais e surgimento de doenças, quando os vetores não podem ser controlados.

Plantas, como organismos que co-evoluem com insetos e outros microorganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico. Inúmeras substâncias acumulam-se no vegetal para sua defesa contra microorganismos, algumas delas sendo denominadas de fitoalexinas (Vieira; Fernandes, 1999; Simas et al, 2004).

## **1.2. *Croton cajuçara* Benth uma planta da Amazônia**

A grande extensão da Amazônia e sua posição no Trópico Úmido conferem a região potenciais energéticos e econômicos de alta relevância. A Floresta Amazônica abriga a mais notável e diversificada fonte de produtos naturais do planeta. *Croton cajuçara* Benth é conhecida popularmente pelo nome de sacaca, pertence à família Euphorbiaceae, e é bastante utilizada, há muito tempo, na medicina popular. O chá, preparado a partir das folhas ou cascas, tem sido empregado para alívio de problemas do fígado e intestino, sendo também usado contra diabetes e eficiente na redução do colesterol. A sacaca, além de ser utilizada como fitoterápico, produz um óleo denominado linalol, componente majoritário, que corresponde a 41%. O óleo citado poderá ser um substituto ou complementar do óleo originário do pau-rosa (Sousa, 2003; Abrantes, 2006).

O comércio do óleo essencial do pau-rosa (essência do perfume Chanel nº 5) teve uma acentuada redução, em decorrência da proibição, por parte do IBAMA, do corte de árvores nativas e sua exploração extrativista, devido à ameaça de extinção das espécies. Ressalta-se, ainda, que os óleos essenciais, matéria-prima básica na indústria de aromas, igualmente encontram aplicações em setores de primeira necessidade, como as indústrias alimentares e farmacêuticas. Por isto, há quase trinta anos, é realizada uma busca entre espécies da Amazônia por fontes alternativas de linalol, o que resultou no interesse pela sacaca (Sousa, 2003; Ângelo, et al., 2006; Abrantes, 2006). Em experimento conduzido durante o ano de 1995, na Sede da Embrapa Amazônia Ocidental, o óleo essencial de folhas de plantas de sacaca cultivadas foi extraído por hidrodestilação e analisado por cromatografia a gás. O rendimento em óleo variou de 0,31 a 0,40% (base seca) e o teor de linalol encontrado variou de 30,12 a 44,70%, dependendo do acesso testado. (Sá Sobrinho et al., 1998).

Neste trabalho, descrevemos o fracionamento do extrato hidroalcoólico das folhas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth) guiado pelo ensaio biológico larvicida, para determinar a(s) fração(s) ativa(s) contra o mosquito transmissor do dengue. A fim de propor a investigação química e biológica para o emprego da sacaca como bioinseticida, a fim de incentivar o seu plantio, pois a espécie é de fácil cultivo, tendo em vista a sua importância para o aproveitamento racional e a preservação da biodiversidade regional.

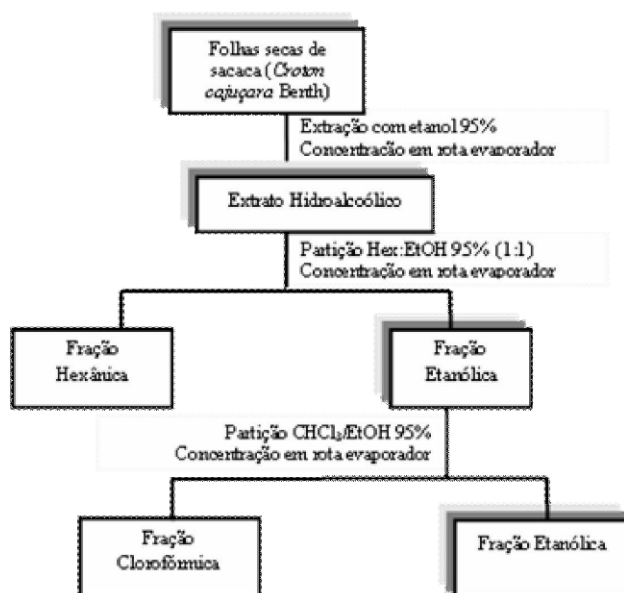
## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Procedimentos Gerais**

A espécie vegetal utilizada para a elaboração de extratos, conforme a disponibilidade no ambiente, foram folhas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth).

## 2.2. Extratos Vegetais

As folhas da sacaca foram obtidas de um espécime localizado no perímetro urbano de Manaus - AM. As folhas foram secas a temperatura ambiente e moídas, como descrito por MATOS (1988). O material botânico após seco e moído foi submetido à maceração por 24 h com etanol 95% em um frasco Mariotte, por três vezes consecutivas. O extrato hidroalcoólico obtido foi destilado à pressão reduzida para evaporação do solvente e, em seguida, submetido à partição líquido-líquido em hexano. A fase inferior hidroalcoólica foi novamente seca em evaporador rotativo, ressuspensa em etanol 95% e extraída com clorofórmio (Esquema 1). Após a obtenção de cada uma das três partições orgânicas secas, as frações hexânica e clorofômica foram reservadas para testes posteriores e a fração etanólica foi ensaiada sobre larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*. A preparação dos extratos foi realizada no Centro Federal de Educação Tecnológica do Amazonas (CEFET-AM).



Esquema 1: Extração e fracionamento do extrato hidroalcoólico das folhas secas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth).

## 2.3. Mosquitos

Para realização dos testes biológicos, foram selecionados larvas de terceiro estágio *Aedes aegypti*, mantidas sob condições controladas de temperatura, umidade relativa e tempo de exposição à luz e cedidas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

## 2.4. Ensaios Larvicidas

Os ensaios biológicos “in vitro” foram realizados em recipiente (copos descartáveis) contendo água destilada e o extrato etanólico das folhas da sacaca com concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 ppm. Após 30 min de homogeneização foi adicionado água destilada e dez larvas de terceiro estágio de *A. aegypti*, os recipientes foram fechados com tela de tecido e amarrados com elástico. Em todos os ensaios foram mantidos controles dos solventes e da água utilizada. Todos experimentos foram realizados em triplicatas. A leitura foi realizada após 24 h, verificando-se o número de larvas mortas. Os dados obtidos foram usados para determinação das concentrações letais 50% (CL<sub>50</sub>).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das três partições (hexânica, clorofórmica e etanólica) obtidas a partir do extrato hidroalcoólico das folhas secas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth), somente a fração etanólica foi usada para os testes biológicos. As demais frações deveriam ser submetidas aos testes, caso a fração etanólica demonstrasse atividade satisfatória, seguida de análises cromatográficas, a fim de determinar as substâncias ativas presentes.

No entanto, o que se observou foi a fração etanólica apresentar uma concentração letal média de apenas 25% sendo considerada inativa contra larvas de *Aedes aegypti* (Tabela 1).

Assim, estes resultados, apesar de preliminares para uma comprovação do potencial larvicida da espécie, criam perspectivas para investigações futuras relacionadas à estrutura e atividade de extratos e frações de outras partes da planta.

Tabela I – Concentrações letais após 24 h de incubação ( $CL_{50}/24$  h) da fração etanólica das folhas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth).

| Amostra | Concentração (ppm) | $CL_{50}/24$ h (%)        |
|---------|--------------------|---------------------------|
| 1       | 0,25               | Não foi possível calcular |
| 2       | 0,50               | Não foi possível calcular |
| 3       | 0,75               | 10                        |
| 4       | 1,0                | 25                        |

### 4. CONCLUSÕES

A fitoterapia constitui uma forma de medicina que vem crescendo visivelmente ao longo dos anos. Talvez o principal fator a contribuir consideravelmente para o crescimento em questão consista na evolução dos estudos científicos, particularmente os estudos químicos e farmacológicos, que comprovam, cada vez mais, a eficácia das plantas medicinais, principalmente aquelas empregadas na medicina popular com finalidades terapêuticas.

Os resultados referentes ao uso do extrato hidroalcoólico das folhas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth) como bioinseticida, ainda não foram conclusivos. A fração etanólica testado contra *A. aegypti* apresentou uma atividade “in vitro” baixa, com mortalidade de apenas 25% das larvas. Entretanto, a necessidade de se chegar aos compostos puros responsáveis pelos efeitos biológicos apresentados pelos extratos, leva a uma obrigatória integração entre a química e a farmacologia molecular, cujo elo reflete a enorme contribuição que a natureza pode fornecer, o que justifica a urgência com que se buscam alternativas para os produtos inseticidas sintéticos convencionais. Neste trabalho, os resultados obtidos mostraram a necessidade de futuras investigações química e biológica em outras partes da planta.

## 5. AGRADECIMENTOS

A autora agradece aos alunos do Curso de Química de Produtos Naturais de 2004 do CEFET-AM por serem os precursores deste trabalho, ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia por ceder as larvas de *aedes aegypti* para realização deste trabalho e ao Centro Federal de Educação Tecnológica do Amazonas (CEFET-AM) pelo apoio financeiro.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abrantes, J. S. **Bio(sócio) Diversidade e empreendedorismo ambiental na Amazônia**. Rio de Janeiro: Garamond, 2002. 127p.

Acordo SUDAM/PNUD. **Estudo de Mercado de Matéria- Prima: corantes naturais (cosméticos, indústria de alimentos), conservantes e aromatizantes, bio-inseticidas e óleos vegetais e essenciais (cosméticos e oleoquímica)**. Belém, 2000.

Ângelo, P. C. S. et al. **Embrapa avalia fonte alternativa de linalol: a sacaca**. Disponível em: <http://www.fazendeiro.com.br/Cietec/artigos/ArtigosTexto.asp?Codigo=2104> Acesso em: 04 Out 2006.

Barreto Junior, A. G. et al. **Cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (Copaifera multijuga) e da sacaca (Croton cajucara)**. Quím. Nova., São Paulo, v. 28, n. 4, 2005.

Cechinel Filho, V.; Yunes, R. A. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade**. Quím. Nova., São Paulo, v. 21, n. 1, 1998.

Falkenberg, M. B. et al. In: Simões et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4 ed. Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2002. p.- 165-181.

Lovatto, P. B. et al. **Extracts effect of wild plants of the Solanaceae family on Brevicoryne brassicae control in cabbage (Brassica oleracea var. acephala)**. Cienc. Rural., Santa Maria, v. 34, n. 4, 2004.

Maciel, M. A. M. et al. **Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies**. Quím. Nova., São Paulo, v. 25, n. 3, 2002.

Matos, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 1988. 128 p.

Melo, A. C. R. **Estudo fitoquímico e avaliação in vitro da atividade leishmanicida de Gustavia elliptica M. (LECYTHIDACEAE)**. Manaus: Universidade Federal do Amazonas/ICE, 2003.

Sá Sobrinho, A. F. et al. **Linalol, Principal Componente Químico de Óleos Essenciais da Folha da Sacaca (Croton cajuçara Benth) e da madeira do Pau-Rosa (Aniba duckei Kostermans)**. Comunicado Técnico. Nº15. dez/98, p. 1-4.

Simas, N. K. et al. **Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvívora de Myroxylon balsamum (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides**. Quím. Nova., São Paulo, v. 27, n. 1, 2004.

Sousa, J. N. **Produção de mudas de sacaca (Croton Cajuçara Benth.)**. Manaus, AM: Comunicado Técnico Nº19. dez/2003.

Temporal, R. M. **Estudos de Derivados Amidínicos em Leishmania amazonensis: avaliação de toxicidade e do efeito na interação parasito-hospedeiro**. 2000. Tese (Doutorado em Ciências). Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2001.

Veiga Junior, V. F. et al. **Plantas medicinais: cura segura?**. Quím. Nova., São Paulo, v. 28, n. 3, 2005.

Viegas Junior, Cláudio. **Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos.** Quím. Nova., São Paulo, v. 26, n. 3, 2003.

Vieira, C.P.; Fernandes, B.J. Plantas inseticidas. In: Simões, C.M. et al. (Org.). **Farmacognosia – da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis : UFRGS/UFSC, 1999. p.739–754.