

Genus *Crotalaria* L. (Leguminosae)

Genus *Crotalaria* L. (Leguminosae).

Pacheco, J. S., * Silva-López, R. E. S.

Laboratório de Química
de Produtos Naturais, Instituto
de Tecnologia de Fármacos, FIOCRUZ,
Avenida Brasil 4365, Manguinhos,
Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo

As leguminosas do gênero *Crotalaria* são nativas da Índia, com ampla adaptação às regiões tropicais do mundo. O nome *Crotalaria* refere-se ao chocalho das vagens secas, semelhante ao da cobra cascavel (*Crotalus sp.*). São arbustos de crescimento ereto e determinado e seu principal emprego é a adubação verde. Além disso, também podem ser usadas como plantas-armadilhas em solos infestados por nematóides e em regiões endêmicas da Dengue, na fixação do nitrogênio em sistemas de cultivo rotativo e na indústria de papel e fibras. Apesar da grande toxicidade de suas sementes, devido a presença de alcalóides pirrolizidínicos, inibidores de proteases e outros compostos, muitas moléculas têm sido isoladas e purificadas e seus potenciais de aplicação estudados. Diversos extratos de algumas espécies de *Crotalaria* foram ensaiados contra bactérias, insetos e parasitos e os resultados foram bastante promissores. Este trabalho tem como objetivo compilar estes resultados e discutir as possíveis aplicações biotecnológicas da *Crotalaria*.

Abstract

Legumes of the genus *Crotalaria* are native to India, with broad adaptation to tropical regions of the world. The name of *Crotalaria* refers to the rattle of dry pods, similar to the rattlesnake (*Crotalus sp.*). They are shrubs growing upright and determined, and its main job is the green manure. Furthermore, they can also be used as trap plants in soils infested with nematodes in endemic regions of Dengue in nitrogen fixation in crop rotation systems, industry and paper fibers and phytoremediation. Despite the high toxicity of its seeds due to presence of monocrotaline, protease inhibitors and other compounds, many molecules have been isolated and purified and its potential application has been studied. Extracts of some *Crotalaria* species were tested against bacteria, insects and parasites and the results were very promising. This paper aims to compile these results and discuss the possible biotechnological applications of *Crotalaria*.

*Correspondência:

E-mail: rlopez@far.fiocruz.br

Unitermos: *Crotalaria*, toxicidade,
potencial farmacológico.

Key Words: *Crotalaria*, toxicity,
pharmacological purposes.

Introdução

A família Leguminosae ou Fabaceae compreende 650 gêneros e aproximadamente 18.000 espécies. Sua morfologia é bastante variada, englobando árvores de grande porte, arbustos, ervas e trepadeiras. Sua característica marcante são frutos que, quando secos, abrem-se para liberarem as sementes. Esta família é subdividida em três importantes subfamílias: *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* e *Papilionoideae* (HEYWOOD, 1971). As 600 espécies conhecidas de *Crotalaria sp* pertencem a subfamília *Papilionoideae* e representam plantas herbáceas, arbustivas, eretas, pouco ramificadas. As folhas são simples, alternadas, lanceoladas a obovadas, com a superfície ligeiramente pilosa, o caule é glabro, as flores geralmente são amarelas, às vezes estriadas com vermelho, dispostas em ráceros vistosos, com cálice maior que a corola, as vagens são cilíndricas de 4 a 6 cm de comprimento e se propaga por sementes, as quais apresentam variação na cor do tegumento (Figura 1) (ANDRADE et al., 2008). A grande maioria das espécies de *Crotalaria* está adaptada para o clima tropical e apenas um número restrito ocorre em regiões temperadas (FLORES; TOZZI, 2008).

Figura 1- Representante do gênero *Crotalaria*: *Crotalaria spectabilis*



Foto: Valério Francisco Morelli Amaral, PAF - Farmanguinhos

As plantas do gênero *Crotalaria* são principalmente empregadas na adubação verde, mas são também utilizadas para diversos outros fins, embora seu uso medicinal

seja bastante restrito devido ao alto teor de alcalóides em determinadas partes do vegetal, que representam um importante papel na defesa química destas plantas, já que são tóxicos para os vertebrados e impalatáveis para os insetos e herbívoros (FLORES et al., 2009). Contudo, apesar do reconhecido efeito tóxico atribuído a estes tipos de alcalóides, em muitos países, incluindo a Colômbia, algumas espécies de *Crotalaria* são usadas na medicina popular (PENALOZA et al., 2008).

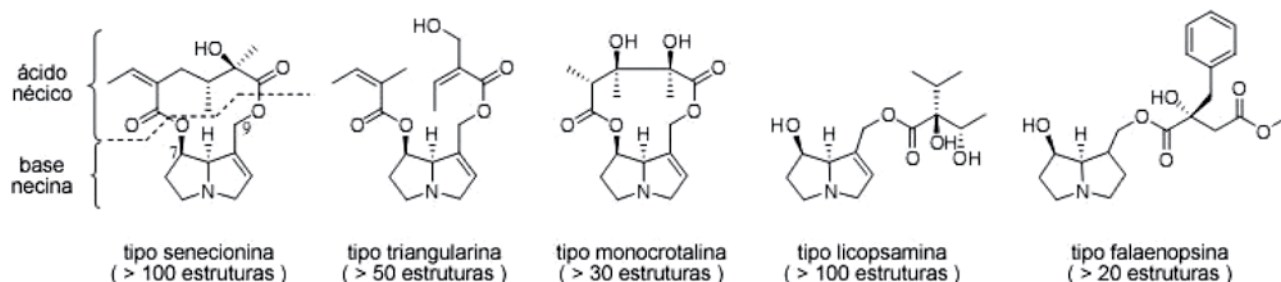
Toxicidade

Os alcalóides pirrolizidínicos (APs) constituem uma importante classe de metabólitos secundários de plantas distribuídas por todo o mundo e em uma grande diversidade de espécies vegetais, sendo particularmente encontrados em exemplares das famílias Asteraceae, Boraginaceae e Fabaceae. Nem todos os APs são tóxicos, mas os que afetam a saúde humana possuem em sua estrutura ésteres e 1,2 hidroximetildihidropirrolizidina insaturado (HDP) (MATTOCKS, 1986). Os APs potencialmente tóxicos, exibem de características essenciais em sua estrutura, como: 1) um anel pirrólico insaturado; 2) um ou dois grupos hidroxila ligados ao anel; 3) um ou dois grupamentos ésteres e 4) a molécula de ácido ramificada. Apesar da sua rica diversidade todos compartilham uma estrutura em comum: são alcalóides compostos por necina esterificada com um ou mais ácidos nécicos. Até o momento, mais de 500 APs estruturalmente diferentes são conhecidos. Eles podem ser agrupados de acordo com o número de ligações ésteres ou de acordo com sua porção base (WINTER; SEGALL, 1989; THODEN et al., 2009). Considerando-se a quimiosistemática e a análise biogenética, quase todos os APs podem ser classificados em cinco diferentes grandes grupos estruturais (WHO, 1989; KEMPF et al., 2010). Os APs tóxicos são constituídos de um grande grupo de compostos relacionados (cerca de 160 são conhecidos) que ocorrem em plantas, principalmente em espécies do gênero *Crotalaria* (Fabaceae), *Senecio*, *Heliotropium*, *Trichodesma*, *Symphytum*, *Echium* e a outros gêneros relacionados às famílias Asteraceae e Boraginaceae. As estruturas químicas de alguns alcalóides que são potencialmente tóxicos para saúde humana, apresentam-se na figura 2. Os alcalóides puros são em sua maioria sólidos cristalinos, alguns amorfos e alguns pouco so-

lúveis em água, mas todos eles dissolvem-se em meio ácido. São bastante estáveis, mas estão sujeitos à hidrólise em solução alcalina e decomposição enzimática. Ocorrem em algumas espécies de plantas quando estas murcham ou secam (WHO, 1989; KEMPF et al., 2010).

Como mencionado anteriormente, as espécies do gênero *Crotalaria* (Fabaceae) possuem altos teores de APs que, além de serem uma importante linha de defesa no vegetal, são potencialmente hepatotóxicos, neurotóxicos e carcinogênicos para animais e humanos, constituindo as principais toxinas do gênero *Crotalaria* associadas com casos de doenças e intoxicações, quando metabolizados em pirróis nucleofílicos (CULVENOR, 1978). Após a ingestão da planta e absorção intestinal de suas moléculas, essas são metabolicamente ativadas no fígado e convertidas em eletrófilos muito reativos, capazes de reagir com macromoléculas celulares formando adutos com DNA e dando assim início à ação tóxica aguda ou crônica e causando efeitos mutagênicos no sistema microsomal de mamíferos (KEMPF et al., 2010). Os APs podem entrar na cadeia alimentar humana como contaminantes de grãos, ou através de produtos de origem animal como leite, ovo e mel, ou ainda, podem ser consumidos como constituintes de algumas ervas medicinais (KEMPF et al., 2010). Alguns de seus adutos acumulam-se no tecido animal e seus metabólitos podem ser liberados na corrente sanguínea e se distribuir por todos os tecidos, já que atravessam facilmente as membranas citoplasmáticas e a barreira hematoencefálica, podendo causar danos muito tempo após o período inicial de ingestão. Estes alcalóides também são conhecidos por exibirem efeitos teratogênicos e abortivos. A ingestão crônica dos APs pode induzir a diversos tipos de cânceres em animais experimentais e, seus metabólitos diversos, também demonstram efeitos mutagênicos em *Salmonella typhimurium*. Entretanto, ainda não existem registros de associação clínica entre o câncer e a exposição humana aos APs (PRAKASH, 1999).

A monocrotalina é um alcalóide extraído das sementes de *Crotalaria spectabilis* e sua manifestação toxicológica, por sua ingestão, geralmente consiste de lesões hepáticas e pulmonares. Os animais que são suscetíveis a essa intoxicação podem apresentar sinais clínicos neurológicos. Os testes de toxicidade aguda em animais de laboratório são destinados ao grau de toxicidade do xenobiótico, fornecendo suporte para avaliar o risco de intoxicação causada por um agente. Wang (2002) mostra que a ativação metabólica da monocrotalina *in vitro* ou *in vivo* gera o metabolito ativo 6,7-dihidro-7,1-hidroxi-metil-5H-pirrolizina (DHP), este produz um derivado de DHP que forma adutos com DNA após a ativação metabólica da monocrotalina. A formação destes adutos durante esta metabolização sugere um importante papel na genotoxicidade deste alcalóide. Além da monocrotalina, outros APs, como a junceína e a tricodesmina, foram isolados de diferentes populações de *Crotalaria juncea*. É importante ressaltar que a *Crotalaria juncea* L. é uma das leguminosas mais cultivadas para fins de adubação verde, obtenção de fibra vegetal e confecção de rações animais nos trópicos. Embora a junceína esteja presente em quantidades superiores a da tricodesmina nas sementes de *C. juncea*, seus teores não demonstraram toxicidade para o consumo animal (JI et al., 2005). Outros alcalóides de outras espécies também foram isolados e caracterizados como a nilgirina, um alcalóide do tipo senecionina que carece de um átomo de carbono na posição 1' e é o principal alcalóide encontrado em *C. naragutensis* (ATAL et al., 1968) junto com a integerrimina, a usaramina e um derivado acetilado da integerrimina (MATTOCKS; NWUDE, 1988). Já em *C. lachnosema*, outra espécie também endêmica da Nigéria, foram encontrados dois APs: a dicrotalina e seu derivado acetilado (MATTOCKS; NWUDE, 1988). As estruturas destes alcalóides foram elucidadas, mas seus possíveis papéis biológicos e suas toxicidades ainda não foram estudados.

Figura 2 – Principais estruturas dos grupos de alcalóides pirrolizidínicos (APs) em espécies vegetais tóxicas

Ref: KEMPF et al., 2010.

Outros componentes químicos isolados

Os estudos fitoquímicos de diversas espécies deste gênero têm permitido identificar, isolar e caracterizar um grande número de metabólitos secundários, dentre eles vários tipos de alcalóides, como os quinolidizínicos e os pirrolizidínicos, além de aminas, flavonóides, polissacarídeos, chalconas, taninos condensados e catéquicos, lectinas e dentre outras substâncias, como inibidores de proteases, além de estudar seus possíveis efeitos farmacológicos (WINK; MOHAMED, 2003). As chalconas representam, no gênero *Crotalaria*, uma importante e diversa classe de constituintes. As 20,20-dimetil cromeno dihidrochalconas são muito raras na natureza como metabólitos secundários de plantas. Já as cromeno dihidrochalconas que contém o sistema 20,20-dimetil-benzopirano são encontradas em muitos produtos naturais e exibem uma variedade de atividades biológicas tais como: anti-HIV, inseticidas, antiinflamatórias, e são usadas também no tratamento dos sintomas da bulimia. Da *C. ramosissima* foram isoladas três destes compostos: as cromeno chalconas, dihidrochalconas e as cromeno dihidrochalconas. Além disso, foram também sintetizadas as cromeno dihidrochalconas com um grupo funcional sensível (20,20-dimetil-benzopirano), obtendo-se chalconas naturais, dihidrochalconas e cromeno chalconas como intermediários neste processo. A atividade leishmanicida de todos esses compostos foi investigada, revelando que a presença do sistema 20,20-dimetil-benzopirano na estrutura os torna mais potentes que quando comparados com

as chalconas simples (NARENDER et al., 2004). O mesmo grupo de pesquisa isolou uma chalcona prenilada das partes aéreas de *C. orixensis*, a crotaorixina, que exibiu importante efeito inibitório da maturação do esquistossoma de *Plasmodium falciparum* (NARENDER et al., 2005). Este efeito também foi observado para outras chalconas preniladas, isoladas de *C. medicagenia* e *C. ramosissima* (NARENDER et al., 2005; NARENDER et al., 2007). Finalmente, uma trimetoxichalcona foi isolada também das partes aéreas de *C. ramosissima* e sua estrutura elucidada, embora sem descrição de suas possíveis aplicações e as atividades farmacológicas (RAO et al., 2007). Da *Crotalaria burhia*, Buch.-Ham, foram isolados compostos relacionados às chalconas, os rotenóides, e dentre eles os elliptona, deguelina, toxicarol, rotenona, sumatrol e tefrosina; contudo sem investigar suas funções biológicas (UDDIN, KHANNA, 1979). Os rotenóides ocorrem naturalmente e apresentam um núcleo tetrahydrocromeno [3,4-b] chromeno *cis*-fundido. Seu representante mais conhecido é a rotenona, um potente inibidor do transporte mitocondrial de elétrons. Os rotenóides isolados de outras plantas foram eficazes na indução de morte de agentes etiológicos de doenças tais como malária, dracunculíase e amebíase (KAMAL; MATHUR, 2010), os de *Crotalaria*, possivelmente, podem apresentar os mesmos efeitos farmacológicos.

Muitos estudos têm demonstrado uma grande variedade de flavonóides e seus derivados em diferentes órgãos de várias espécies de *Crotalaria*. Nos extratos totais de

C. sessiliflora L. foram identificados e isolados os quatro flavonóides 2',4',5,7-tetrahydroisoflavona, 2',4',7-trihidroxiisoflavona, 4',7-dihidroxiisoflavona e isovitexina, sendo que 2',4',7-trihidroxiisoflavona e 4',7-dihidroxiisoflavona nunca haviam sido descritos em outras espécies de *Crotalaria* (YOO et al., 2004). Já em *C. pallida* foram isolados derivados de flavonóides da casca da planta como apigenina, genisteína, isoflavona alpina e os pterocarpanos como os crotafuranos A, B e E. Estes crotafuranos exibiram importante atividade antiinflamatória em modelos murinos, pois diminuíram a produção de NO - que é um bactericida eficaz - em macrófagos e em células microgliais, bem como inibiram a liberação de β -glicuronidase e lisozima por neutrófilos, que são enzimas importantes na defesa contra bactérias (WENG, 2003). Continuando os estudos sobre a investigação da atividade antiinflamatória dos constituintes de *C. pallida* e *C. assamica*, o mesmo grupo isolou das cascas de *C. pallida* uma nova isoflavona, a 5,7,40-trihidroxi-20-metoxisoflavona e outros já conhecidos constituintes como β -sitosterol, lupeol, morina, weigtheona, 20-hidroxigenisteína, daidzeína e 20-hidroxidaidzeína. Outros quatro novos constituintes foram isolados das sementes de *C. assamica*: a taxifolina, naringenina, quercetina-7-O- β -d-glicopiranosídeo e naringenina-7-O- β -d-glicopiranosídeo. A apigenina, 2-hidroxigenisteína, daidzeína, e 20-hidroxidaidzeína exibiram efeito inibitório sobre a liberação de β -glicuronidase e lisozima por neutrófilos ativados, mas apenas a apigenina e 20-hidroxidaidzeína inibiram a produção de ânion superóxido de neutrófilos ativados. Além disso, este estudo também evidenciou o poder inibitório da apigenina e do crotafurano E na produção de NO por macrófagos ativados e de interferon-gama em células microgliais. Os flavonóides de *Crotalaria* suprimiram a liberação de mediadores químicos por células inflamatórias e sendo assim demonstraram alto potencial no tratamento e na prevenção de doenças inflamatórias centrais e periféricas associadas com excesso de produção de mediadores químicos (KO et al., 2004).

Das partes aéreas de *C. emarginella* foram isolados e caracterizados dois triterpenos, o ácido 3 α -hidroxi-arbor-12-ene-28-carboxílico e o ácido 2 β ,3 β ,21-trihidroxi-arbor-12-ene-29-carboxílico, denominados respectivamente de ácido crotálico e ácido emarginélico. Em

ensaios de rastreamento da atividade biológica, o ácido crotálico exibiu significativo efeito antiinflamatório na dose de 10 mg/kg de peso corporal, além de baixa hepatotoxicidade (BAHAR et al., 2006). Estes resultados apontaram que a atividade antiinflamatória dos exemplares de *Crotalaria* deve-se à sinergia entre vários de seus constituintes.

A *C. sessiliflora* contém em suas partes aéreas compostos com importante atividade antioxidante, que foram isolados de extratos etanólicos; dentre eles: ácido eucômico, ácido hidroxieucômico, hidroquinona, vite-xina, orientina, isoorientina, (2R)-eriodictiol-7-O- β -D-glicopiranosídeo e galato epigalocatequina. Isolados, todos eles exibiram importante efeito na inibição da peroxidação do ácido linoléico, sendo a maior atividade observada para a orientina e a isoorientina. Já a maior atividade protetora contra a peroxidação de lipídeos de membrana usando *Staphylococcus aureus* como modelo celular, foi observada para o ácido hidroxieucômico e epigalocatequina (MUN'IM et al., 2003). É importante chamar a atenção para o fato da peroxidação de lipídeos de membrana ser o passo inicial da destruição celular ocasionada por radicais livres nos seres vivos.

As fibras de glicomananas são polissacarídeos hidrossolúveis usados como aditivos alimentares, emulsificantes e espessantes comerciais. Possuem um vasto emprego no controle da constipação, diabetes tipo II, obesidade, hipercolesterolemia e acne, embora não sejam recomendados pela Organização Mundial da Saúde como suplementos nutricionais por causar riscos à saúde. Estão presentes em pequenas quantidades no caule de dicotiledôneas e compreendem cerca de 40% do peso seco das raízes de *Konjac* (KATSUARAYA et al., 2003). Uma glicomanana foi isolada a partir do fracionamento da hemicelulose, em soluções alcalinas, das fibras de *C. juncea* L. Este polissacarídeo é composto por glicose, manose e xilose (1.2:1:0.07), possui uma cadeia principal de ligações (1-4) de β -D-glicopiranosose e manopiranosose, e uma ramificação de xilose a cada 6 resíduos de açúcar (PARESH et al., 1976). Embora o gênero *Crotalaria* não apresente grandes quantidades desta fibra alimentar, a extração desta fonte é uma importante alternativa para a obtenção das glicomananas para fins alimentares.



As lectinas, também chamadas de hemaglutininas, são glicoproteínas amplamente encontradas na natureza que se ligam reversível e especificamente a carboidratos na membrana de células eucarióticas e de microorganismos, promovendo sua aglutinação. Devido a esta propriedade, estas proteínas têm sido caracterizadas pela capacidade de aglutinar hemácias e de identificar os grupos sanguíneos. São principalmente expressas em plantas e especialmente nas sementes da família das leguminosas. Estão associadas na defesa contra predadores e patógenos e nas interações simbióticas entre planta hospedeira e microorganismos fixadores de nitrogênio (DE HOFF et al., 2009). Estas proteínas foram primeiramente isoladas de sementes de *C. juncea* (ERSSON et al., 1973) e posteriormente caracterizadas como uma lectina galactose específica com 120 kDa, contendo 9.8% de carboidrato (manose, N-acetil-D-glicosamina, fucose e xilose) (ERSSON, 1977). Esta lectina foi imobilizada em colunas cromatográficas para purificação de partículas virais, com sucesso, do vírus bovino da diarreia; o que proporcionou um salto no conhecimento desta patologia no gado (MORENO-LOPEZ et al., 1981). Além disso, ela também se mostrou potente inibidora do receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas. É sabido que este receptor e seu ligante medeiam à ativação da reparação do dano vascular e são importantes na gênese da placa de ateroma. Portanto, a lectina de *C. juncea* pode ser uma importante arma contra a doença coronariana isquêmica (HELDIN; RONNSTRAND, 1983). A crotalarina, uma lectina de 110 kDa que liga resíduos de N-acetil-D-galactosamina monoespecífica para eritrócitos humanos do sorogrupo A, foi extraída de sementes de *C. striata*, e sua sequência de aminoácidos N-terminal demonstrou estreita similaridade com a mesma sequência de *C. juncea*, que não é uma lectina sorogrupo sanguíneo específica (KHANG et al., 1990). Ao contrário das lectinas anteriores, uma pequena lectina de 30 kDa foi purificada de *C. pallida*, demonstrando atividade aglutinante com eritrócitos dos sorogrupos A e B. Embora o N-terminal desta lectina seja idêntico ao da lectina de *C. striata*, elas diferem nas propriedades hemaglutinantes (REGO et al., 2002). Finalmente, uma pequena lectina de 30 kDa foi purificada de *C. paulina* que aglutina tanto eritrócitos humanos e bovinos. Ela foi capaz de inibir o crescimento *in vitro* de

Xanthomonas axonopodis pv. *phaseoli* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (PANDO et al., 2004), que são bactérias causadoras de infecções em culturas de feijões e frutas, e limitam a produção agrícola em várias regiões do nosso país (NAKATANI et al., 2009).

Os inibidores de proteases são estratégias bastante eficientes na regulação da atividade proteolítica das plantas e também na defesa contra predadores e patógenos, visto que estes organismos não possuem sistema imunológico (SILVA-LÓPEZ, 2009). Em sementes de *C. paulina* foi purificado um inibidor peptídico de tripsina do tipo Kunitz com 20 kDa, capaz de inibir eficientemente as tripsinas humana, bovina e suína e fracamente a atividade da quimiotripsina bovina (PANDO et al., 1999). Outro inibidor peptídico de tripsina denominado de CpaTI com 32.5 kDa, surpreendentemente termoresistente, foi purificado de sementes de *C. pallida*. Este é um fraco inibidor da atividade da quimiotripsina, elastase e papaína, e inibiu em diferentes graus as enzimas digestivas de intestinos de lagartas e besouros que atacam culturas de importância econômica como *Spodoptera frugiperda*, *Alabama argillacea*, *Plodia interpunctella*, *Anthonomus grandis* e *Zabrotes subfasciatus*. As enzimas digestivas mais afetadas por este inibidor foram as de *Callosobruchus maculatus*, o besouro denominado carunjo-do-feijão e de *Ceratitis capitata*, a mosca do mediterrâneo que é uma praga freqüente e de alta importância econômica para os fruticultores. Quando adicionado à dieta destes insetos, o CpaTI causou importante mortalidade, tanto nos indivíduos adultos quanto nas larvas (GOMES et al., 2005). Estes resultados reforçam o papel destes inibidores de proteases na defesa das plantas e na sua possível utilização no controle de pragas, já que podem ser adicionados ao genoma de plantas e conferir resistência às mesmas.

Principais aplicações

À medida que as moléculas foram isoladas, descritas, purificadas e caracterizadas no gênero *Crotalaria*, suas propriedades farmacológicas foram sendo investigadas, assim como uma grande diversidade de funções e suas possíveis aplicações foram reportadas. Dentre estas, a modulação da resposta imune, seu poder antioxidante, efeitos microbicidas e como inibidores da digestão e do



crescimento de insetos e larvas. Tradicionalmente, os exemplares do gênero *Crotalaria* são muito importantes na agricultura como planta forrageira, adubação verde e em consórcios de culturas, pois atenuam os problemas de erosão e melhoram a fertilidade do solo, visto que a incorporação das suas partes aéreas tem sido uma forma de adicionar matéria orgânica e fixar nitrogênio ao solo (ANDRADE et al., 2008). Como mencionado anteriormente, são usadas como plantas-armadilhas em solos infestados por nematóides e em regiões endêmicas da dengue, na indústria de papel e de fibras e para confecção de rações animais. Existem descrições do uso das espécies *C. spectabilis* e *C. juncea* no uso popular em pequenas comunidades da América do Sul e na Índia, para tratar diversas doenças de pele como sarna, impetigo e psoríase (MAREGESI et al., 2007). A principal restrição ao uso medicinal refere-se ao grande teor de alcalóides em seus órgãos – estes importantes estratégias na defesa química da *Crotalaria* (FLORES et al., 2009).

O efeito nematicida da *Crotalaria spp* foi inicialmente comprovado quando utilizado como adubo verde, ao promover a melhora das propriedades físico-químicas do solo, ativa dos microorganismos antagonistas e possui substâncias, como a monocrotalina, que suprime o crescimento destes organismos (EVERALDO et al., 2008). A introdução de *Crotalaria grahamiana* como planta forrageira em culturas de milho e feijões, diminuiu significativamente a infestação por nematóides formadores de galhas como o *Meloidogyne javanica* nas culturas e no solo; e também interferiu no crescimento de nematodóides indutores de lesões como *Pratylenchus zaei*, *P. thornei*, *P. pseudopratensis*, *Helicotylenchus pseudorobustus* e *Scutellonema brachyurus*, aumentando a produção destas culturas. É importante ressaltar que nematóides dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus* são os responsáveis por cerca de 8% das perdas globais de cultivos (DESAEGER et al., 2001). A *C. juncea* também foi efetiva no cultivo de abóboras em solos infestados por *M. incognita*, embora o número de nematodóides não tenha sofrido importante redução, apesar do crescimento do cultivo aumentar significativamente (WANG et al., 2004). Além disso, foi purificada das raízes de *C. pallida* uma proteína de 15 kDa que inibe a atividade da papaína, a CpPRI, que pertence a família 10 das proteínas relacionadas a patogênese (PR-10). Esta proteína inibiu proteases digestivas do

nematóide *Meloidogyne incognita* e exibiu importantes efeitos nematostáticos e nematicidas em ensaios *in vitro* (ANDRADE et al., 2010). Estas proteínas vegetais são induzidas por patógenos, danos teciduais e determinados estresses ambientais e são alocadas junto com as famílias de proteínas com atividade de inibidores de α -amilase e de tripsina (BREITENEDER; EBNER, 2001). Adicionalmente, os APs demonstraram expressivos efeitos nematicidas, ovicidas e repelentes de diferentes parasitos de plantas e nematóides de vida livre, contudo os efeitos foram mais pronunciados para os APs terciários do que para os oxidados, representando assim importantes candidatos para novas estratégias de manejo contra os nematóides de solo (THODEN et al., 2009). No entanto, o uso de APs como nematicida deve ser considerado com muito cuidado, devido à alta toxicidade aos humanos e animais.

As plantas expressam em suas sementes uma diversidade de pequenos peptídeos com funções de defesa, que são coletivamente denominados de defensinas. Em sementes de *C. pallida* foi purificado um peptídeo catiônico, o Cp-AMP, com 5340 Da, que inibiu o desenvolvimento do fungo filamentoso *Fusarium oxysporum* e de *Proteus sp*, uma bactéria gram-negativa. A identificação desta defensiva pode contribuir, num futuro próximo, para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos, como plantas transgênicas com aumentada resistência a fungos patógenos e/ou para a produção de antibióticos no controle de infecções bacterianas (PELEGRINI et al., 2009).

O poder tripanocida da *Crotalaria* foi demonstrado em uma espécie endêmica da Etiópia, a *Crotalaria phillipsiae*. Ensaios *in vitro*, usando extratos de caules feitos com diclorometano, foram capazes de induzir significante morte em tripomastigotas sanguíneos de *Trypanosoma brucei brucei* com valores de IC50 muito baixos e com índice de seletividade muito alto. Este protozoário é o agente causal de um importante problema de saúde pública na África, a doença do sono. Daí, esta planta pode servir como importante fonte de compostos tripanocidas para o tratamento desta enfermidade (NIBRET et al., 2009). Em muitos estudos, algumas espécies de *Crotalaria* usadas como adubação verde comportarem-se como excelentes plantas-armadilhas para atrair insetos que atacam e causam perdas em culturas de grande importância comercial, como no caso do crisopídeo

Chrysoperla externa, comumente encontrado em agroecossistemas cafeeiros e de citrus. O pólen de *Crotalaria* spp apresenta características nutricionais importantes para o crescimento destes predadores e constitui uma estratégia eficiente, racional, menos poluente e mais econômica do que o uso de inseticidas no controle de pragas (VENZON et al., 2006). Embora não tenha sido descrito em artigos científicos, a *Crotalaria* é usada principalmente nas comunidades rurais de várias regiões do Brasil, que apresentam focos de mosquitos infectados pelos vírus da dengue e que também apresentem casos da doença (<http://unisite.com.br/Politica/26178/Crotalaria.xhtml>).

Considerações finais

O gênero *Crotalaria* tem sido utilizado para diversos fins na agricultura, na indústria e no combate a vetores, mas devido á grande toxicidade dos APs, poucos estudos foram conduzidos a cerca da aplicabilidade farmacológica e biotecnológica das substâncias isoladas deste gênero. Portanto, o estudo de novas moléculas e daquelas previamente isoladas de *Crotalaria* constitui um novo e amplo campo de investigação sobre as funções destes componentes para que possam ser utilizados como possibilidades terapêuticas.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPERJ pela bolsa de estudos de Juliana da Silva Pacheco, e ao Valério F. M. Amaral pela foto.

Referências

ANDRADE, L.B.; OLIVEIRA, A.S.; RIBEIRO, J.K.; KIYOTA, S.; VASCONCELOS, I.M.; OLIVEIRA, J.T.; SALES, M. P. Effects of a novel pathogenesis-related class 10 (PR-10) protein from *Crotalaria pallida* Roots with papain inhibitory activity against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.58, p.4145-4152, 2010.

ANDRADE, D.A.V.; ORTOLANI, F.A.; MORO, J.R.; MORO, F.V. Aspectos morfológicos de frutos e sementes e caracterização

citogenética de *Crotalaria lanceolata* E. Mey (Papilionoideae - Fabaceae). *Acta Botânica Brasileira*, v.22, n.3, p.1150-1162, 2008.

ATAL, C.K.; SAWHNEY, R.S.; CULVENOR, C.C.J.; SMITH, L.W. Nilgirine, a new *crotalaria* alkaloid of senecionine type lacking the 1'-carbon atom. *Tetrahedron Letters*, v.9, n.54, p.5605-5608, 1968.

BAHAR, A.; AL-HOWIRIMY, T. A.; MOSSA, J.S. Crotalic and emarginelic acids: two tripterpenes from *crotalaria emarginella* and anti-inflammatory and anti-hepatotoxic activity of crotalic acid. *Phytochemistry*, v.67, n.10, p. 956-954, 2006.

BREITENEDER, H.; EBNER, C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *Journal Allergy and Clinical Immunology*, v.106, p.27-36, 2001.

CULVENOR, C.C.J. Pyrrolizidine alkaloids - occurrence and systematic importance in angiosperms. *Botaniska Notiser*, v.131, p.473-486, 1978.

DESAEGER, J.; RAO, M.R. The potential of mixed covers of *Sesbania*, *Tephrosia* and *Crotalaria* to minimize nematode problems on subsequent crops. *Field Crops Research*, v.70, p.111-125, 2001.

DE HOOFF, P.L.; BRILL L.M.; HIRSCH, A.M. Plant lectins: the ties that bind in root symbiosis and plant defense. *Molecular Genetic Genomics*, v.1, n.282, p.1-15, 2009.

ERSSON, B. Phytohemagglutinin from Sunn hemp seeds (*Crotalaria juncea*). II. Purification by a high capacity biospecific affinity adsorbent and its physicochemical properties. *Biochimie Biophyscst Acta*, v.1, n.494, p.51-60, 1977.

ERSSON, B., ASPERG, K., PORATH, J. The phytohemagglutinin from sunn hemp seeds (*Crotalaria juncea*). Purification by biospecific affinity chromatography. *Biochimie Biophysics Acta*, v.2, n.310, p.446-452, 1973.

EVERALDO, A.L.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P.A.; FREITAS, L.G.; GARDIANO, C.G.; DHINGRA, O.D.; DALLEMOLE-GIARETTA, R. Efeito da Incorporação da Parte Aérea de Quatro Espécies Vegetais sobre *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, v.32, p.76-80, 2008.

- FLORES, A.S.; TOZZI, A. M.G.A. Phytogeographical patterns of *Crotalaria* species (Leguminosae-Papilionoideae) in Brazil. *Rodriguésia*, v.59, n.3, p.477-486, 2008.
- FLORES, A.S.; TOZZI, A.M.G.A.; TRIGO, J.R. Pyrrolizidine alkaloid profiles in *Crotalaria* species from Brazil: Chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.37, p.459-469, 2009.
- GOMES, C.E.M.; BARBOSA, A.E.A.D.; MACEDO, L.L.P.; PITANGA, J.C.M.; MOURA, F.T.; OLIVEIRA, A.S.; MOURA, R.M.; QUEIROZ, A.F.S.; MACEDO, F.P.; ANDRADE, L.B.S.; VIDAL, M.S.; SALES, M.P. Effect of a trypsin inhibitor from *Crotalaria pallida* seeds on *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil) and *Ceratitis capitata* (fruit fly). *Plant Physiology Biochemistry*, v.43, p.1095-1102, 2005.
- HEYWOOD, W. H. The Leguminosae, a systematic survey, 1-29. In: HARBORNE, J. B.; BOULTER, D.; TURNER, B.L. Chemotaxonomy of the leguminosae. Academic Inc. New York, 1971
- HELDIN, C.H.; RÖNNSTRAND, L.; EK, B. Characterization of the receptor for platelet-derived growth factor on human fibroblasts. Demonstration of an intimate relationship with a 185,000-Dalton substrate for the platelet-derived growth factor-stimulated kinase. *Journal of Biological Chemistry*, v.16, n.258, p.1054-1061, 1983.
- JI, X.; KHAN, I.; MOSJIDIS, J. A.; WANG, H.; LIVANT, P. Variability for the presence of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria juncea* L. *Pharmazie*, v.8, n.60, p.620-622, 2005.
- KAMAL, R.; MATHUR, N. Rotenoids from *Lablab purpureus* L. and their bioefficacy against human disease vectors. *Parasitology Research*, v.107, n.6, p.1481-1488, 2010.
- KATSURAYA, K.; OKUYAMAB, K.; HATANAKAB, K.; OSHIMAB, R.; SATOC, T.; MATSUZAKIC, K. Constitution of konjac glucomannan: chemical analysis and ¹³C NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, v.2, n.53, p.183-189, 2003.
- KEMPF, M.; REINHARD, A.; BEUERLE, T. Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required. *Molecular Nutrition Food Research*, v.54, p.158-168, 2010.
- KHANG, N.Q.; JEAN-LUC, G.; HOEBEKE, J. A blood group A specific lectin from the seeds of *Crotalaria striata*. *Biochimie Biophysica Acta*, v.2, n.1033, p.210-213, 1990.
- KO, H.H.; WENG, J.R.; TSAO, L.T.; YEN, M.H.; WANG, J.P.; LIN, C.N. Anti-inflammatory flavonoids and pterocarpanoid from *Crotalaria pallida* and *C. assamica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.4, p.1011-1014, 2004.
- MAREGESI, S.M.; NGASSAPA, O.D.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Ethnopharmacological survey of the Bunda district, Tanzania: Plants used to treat infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, v.113, p.457-470, 2007.
- MATTOCKS, A.R. Chemistry and toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids. London: Academic Press, 1986.
- MATTOCKS, A.R.; NWUDE, N. Pyrrolizidine alkaloids from *Crotalaria lachnosema* and *C. Naragutensis*. *Phytochemistry*, v.27, p.3289-3291, 1988.
- MORENO-LOPEZ, J.; KRISTIANSEN, T.; KARSNAS, P. Bovine viral diarrhea virus: affinity chromatography on *Crotalaria juncea* lectin. *Journal of Virological Methods*, v.5, n.2, p.293-300, 1981
- MUN'IM, A.; NEGISHI, O.; OZAWA, T. Antioxidative compounds from *Crotalaria sessiliflora*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v.2, p.410-414, 2003.
- NAKATANI, A.K.; LOPES, R.; CAMARGO, L.E.A. Variabilidade genética de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae summa*. *Phytopathology*, v.35, n.2, p.116-120, 2009.
- NARENDER, T.; SHWETA; GUPTA, S. A convenient and biogenetic type synthesis of few naturally occurring chromeno dihydrochalcones and their in vitro antileishmanial activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.14, p.3913-3916, 2004.
- NARENDER, T.; SHWETA; TANVIR, K.; RAO, M.S.; SRIVASTAVA, K.; PURI, S.K. Prenylated chalcones isolated from *Crotalaria* genus inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.10, p.2453-2455, 2005.

- NARENDER, T.; REDDY, K.P.; SHWETA; SRIVASTAVA, K.; MISHRA, D.K.; PURI, S.K. Total synthesis of munchiwarin, a triprenylated chalcone from *Crotalaria medicagenia*. *Organic Letters*, v.26, p.5369-5372, 2007.
- NIBRET, E.; SOPRER, F.; ASRES, K.; WINK, M. Antitripanosomal and cytotoxic activities of pyrrolizidine alkaloid-producing plants of Ethiopia, *Journal of pharmacie and pharmacology*, v.61. n.6, p. 801-808, 2009.
- PANDO, L.A.; DE CARVALHO, D.D.; TOYAMA, M.H.; DI CIERO, L.; NOVELLO, J.C.; PASCHOLATTI, S.F.; MARANGONI, S. Purification and characterization of a lectin from *Crotalaria paulina* seeds. *Protein Journal*, v.23, n.7, p.437-444, 2004.
- PANDO, L.A.; DI CIERO, L.; NOVELLO, J.C.; OLIVEIRA, B.; PASCHOLATTI, S.F.; WEDER, J.K.; MARANGONI, S. Isolation and characterization of a new trypsin inhibitor from *Crotalaria paulina* seeds. *IUBMB Life*, v.48, n.5, p.519-523, 1999.
- PARESH, C.; GUPTA, S.; SUBODH, K. S.; ABHINDRA, D. Glucomannan from the Fibre of Sunn Hemp (*Crotalaria juncea* LINN). *Carbohydrate Research*, v.48, p.73-80, 1976.
- PENALOZA A.; GIANN, C.; PELAEZ J.; CARLOS, A. Evaluation of biological activity of *Crotalaria juncea* extracts through a *Drosophila melanogaster* model. *Vitae*, v.15, n.2, p.279-284, 2008.
- PELEGRINI, P. B.; FARIAS, L.R.; SAUDE, A. C. M.; COSTA, F. T.; BLOCH, C.; SILVA, L. P.; OLIVEIRA, A. S.; GOMES, C. E. M.; SALES, M. P.; FRANCO, O.L. A novel antimicrobial peptide from *Crotalaria pallida* seed with activity against human and phytopathogens. *Current microbiology*, v.59, n.4, p. 400-4004, 2009.
- RAO, M.S.; NARUKULLA, R. A new trimethoxychalcone from *Crotalaria ramosissima*. *Fitoterapia*, v.78, n.6, p.446-447, 2007.
- PRAKASH, A.S.; PEREIRA, T.N.; REILLY, P.E.; SEAWRIGHT, A.A. Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutation Research*, v.2, p.53-67, 1999. REGO, E.J.; DE CARVALHO, D.D.; MARANGONI, S.; DE OLIVEIRA, B.; NOVELLO, J.C. Lectins from seeds of *Crotalaria pallida* (smooth rattlebox). *Phytochemistry*, v.60, p.441-446, 2002.
- SILVA-LÓPEZ, R. E. Inibidores de proteases oriundos de plantas: Uma abordagem útil para o desenvolvimento de novos fármacos. *Revista Fitos*, v.4, p.108-119, 2009.
- THODEN, T.C.; BOPPRÉ, M.; HALLMANNB, J. Effects of pyrrolizidine alkaloids on the performance of plant-parasitic and free-living nematodes. *Pest Management Science*, v.65, p.823-830, 2009.
- UDDIN, A.; KHANNA, P. Rotenoids in tissue cultures of *Crotalaria burhia*. *Planta Medica*, v.2, p.181-183, 1979.
- VENZON, M.; ROSADO, M.C.; EUZÉBIO, D.E.; SOUZA B.; SCHOEREDER, J.H. Suitability of leguminous cover crop pollens as food source for the green lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, v.35, n.3, p.371-376, 2006.
- WANG, K.H.; SIPES, B.S.; SCHIMITT, D.P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: a review. *Nematropica*, v.32, p.35-57, 2002
- WANG, K.H.; MCSORLEY, R.; GALLAHER, R.N. Effect of *Crotalaria juncea* Amendment on Squash Infected with *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*, v.36, n. 3, p.290-296, 2004.
- WENG, J.R.; TSAO, L.T.; YEN, M.H.; WANG, J.P.; LIN, C.N. Anti-inflammatory Constituents and New Pterocarpanoid of *Crotalaria pallida*. *Journal of Natural Products*, v.66, p.404-407, 2003.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Pyrrolizidine alkaloids: Health and safety guide. *Environmental Health Criteria. Health and Safety Guide*, v.80, n.26, 1989.
- WINK, M.; MOHAMED, G. Evolution of chemical defense traits in the leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the rbcl gene. *Biochemical Systematic Ecology*, v.31, p.897-917, 2003.
- YOO, H.S., LEE, J.S., KIM, C.Y., KIM, J. Flavonoids of *Crotalaria sessiliflora*. *Archives Pharmaceutical Research*. v.5, p.544-546, 2004.