

## Estudo do proteoma do 4-nerolidilcatecol em *Potomorphe umbellata*

Debora C. Baldoqui Bergamo<sup>1\*</sup>(PQ), Massuo J. Kato<sup>2</sup>(PQ), Vanderlan da Silva Bolzani<sup>1</sup>(PQ) e Maysa Furlan<sup>1</sup>(PQ). email: debobald@yahoo.com.br

<sup>1</sup>NUBBE- Núcleo de Biossíntese Bioensaio e Ecofisiologia de Produtos Naturais – Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – Unesp – C. P. 355 – 14800-900 – Araraquara, SP.

<sup>2</sup>Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo – Prof. Lineu Prestes 748 b 11 T – São Paulo, SP

Palavras Chave: *Potomorphe umbellata*, 4-nerolidilcatecol, biossíntese

### Introdução

O componente majoritário das folhas e raízes de *Potomorphe umbellata* é o 4-nerolidilcatecol, o qual apresenta atividade antioxidante, semelhante à atividade apresentada pelo  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E)<sup>3</sup>. Estudos prévios demonstraram que esta planta apresenta atividade protetora contra raios ultravioleta do tipo UVB<sup>2</sup>. O estudo biossintético prévio em *P. umbellata* resultou na determinação da enzima responsável pelo acoplamento das unidades terpênica e aromática envolvidas na formação do 4-nerolidilcatecol<sup>4</sup>, o que abriu precedentes para a purificação desta. A utilização de enzimas na síntese de substâncias bioativas vem de encontro aos pressupostos da chamada Química Verde, que busca eliminar o uso de solventes e reagentes, ou de geração de produtos e sub-produtos tóxicos, que são nocivos à saúde humana e/ou ao meio-ambiente.

### Resultados e Discussão

O extrato enzimático das folhas de *P. umbellata* foi obtido com tampão TRIS-HCl e submetido a precipitação fracionada com sulfato de amônio. A fração 20-40% foi submetida a uma coluna de sephadex G-100 eluída com tampão citrato. O acompanhamento da reação foi feito por espectrofotometria no UV a 280 nm. As frações que continham proteínas foram submetidas a ensaio enzimático e analisadas por eletroforese de gel de poliacrilamida bidimensional (SDS-PAGE). Somente as frações 50-53 mostraram formação do 4-nerolidilcatecol, quando estas foram incubadas com o ácido 3,4-diidroxibenzoico e o nerolidol (figura 1).

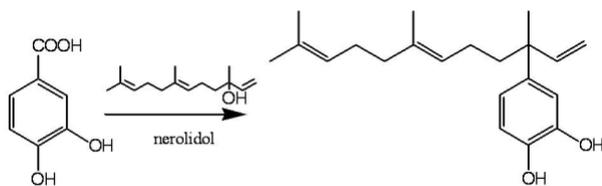
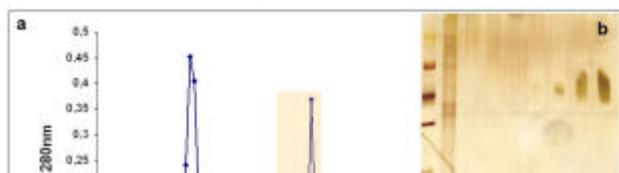


Figura 1. Rota biossintética para a formação do 4-nerolidilcatecol.

As frações ativas também foram analisadas em SDS-PAGE e foi possível observar a presença de apenas uma banda (figura 2).



### Conclusões

Os resultados mostrados sugerem que a cromatografia por filtração em gel foi uma excelente técnica para a purificação da proteína responsável pela síntese do 4-nerolidilcatecol. O problema dessa técnica é que além de diluir muito a amostra somente é possível purificar uma pequena quantidade por coluna. Outras técnicas estão sendo testadas para que se consiga purificar uma quantidade maior de proteína para que seja possível a caracterização da mesma, uma vez que a purificação da enzima envolvida no acoplamento dos precursores do 4-nerolidilcatecol trará subsídios para a otimização da obtenção do mesmo via engenharia genética.

### Agradecimentos

À FAPESP pela bolsa concedida e financiamento dos projetos. Ao CNPq pelas bolsas de pesquisa concedidas.

<sup>1</sup>Amorim, A. Z., Flores, C..A., Gomes, B. E., Marques, A. D. e Cordeiro, R. S. B. *Journal. of ethnopharmacology*, **1998**, 24, 1001.

<sup>2</sup>Ropke, C. D., Meirelles, R. R., silva, V. V., Sawada, T. C. D., Barros, S. B. *Photochemistry and Photobiology*, **2003**, 78, 436.

<sup>3</sup>Desmachelier, C., Barros, S., Repetto, M., Latorre, L. R., Kato, M. J., Coussio, J., Ciccía, G. *Planta Medica*, **1997**, 63, 561.

<sup>4</sup>Bergamo, D. C. B. **2003**, tese de doutorado, instituto de química, unesp.