

Investigação por Espectrofotometria de Preparações de Folhas de *Borreria verticillata* Quanto à Presença de Lectina ligadora de N-acetilglicosamina.

Luiz H. M. Caldas^{1*} (IC), Saulo F. Oliveira¹ (IC), Márcia. C. Cunha¹ (IC), Danilo. G. R. Silva¹ (IC), Thiago H. Napoleão² (PG), Michele D. C. Silva³ (PQ), Luana C. B. B. Coelho⁴ (PQ), Patrícia M. G. Paiva² (PQ), Roberto A. Sá¹ (PQ). lhcaldas12@hotmail.com

¹Centro Acadêmico do Agreste, UFPE, PE, Brasil. ²Depto. de Bioquímica, CCB, UFPE, PE, Brasil. ³Depto. de Ciências Animais, UFRSA, RN, Brasil

proteína, metabólito primário, lectina, *Borreria verticillata*.

Introdução

O termo *lectina* refere-se à habilidade dessas proteínas ligarem-se seletivamente e reversivelmente a carboidratos. Em vegetais as lectinas são frequentemente isoladas de sementes, folhas e entrecascas. Podendo ser de origem vegetal ou não, como N-acetilglicosamina¹. De acordo com esta especificidade, as lectinas apresentam várias propriedades biológicas como: inseticidas, antimicrobianas e antitumorais².

Borreria verticillata, é uma herbácea encontrada na região semiárida do Brasil. Seu uso na medicina popular envolve atividades antiinflamatória e cicatrizantes³. Suas atividades despertam o interesse quanto à investigação de moléculas ativas. O objetivo desse trabalho foi detectar atividade lectínica em extratos aquosos de folhas de *B. verticillata*.

Resultados e Discussão

Folhas de *B. verticillata* foram coletadas, secas e trituradas; o pó resultante foi submetido à extração protéica a 10 % (p/v) em NaCl 0,15 M, por 4, 8 e 16 h a 4 °C. Os materiais foram filtrados em gazes e centrifugados a 8.000 rpm, por 20 min. a 4 °C, resultando os extratos ES₄, ES₈ e ES₁₆. Os extratos foram avaliados quanto à determinação quantitativa de proteínas totais via espectrofotometria. O método utilizado foi o de Lowry. O princípio do método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico, (reagente Folin-Ciocalteu), que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (II), e produz um composto com absorção máxima em 750 nm⁴.

ES₈ apresentou elevada concentração protéica (4,8 mg/mL) e aglutinou eritrócitos glutarizados de coelho (cerca de 2¹⁸ unidade de hemaglutinação) e do sistema ABO. A AH está relacionada a especificidade e afinidades dos sítios de ligação das lectinas a carboidratos presentes nas paredes dos eritrócitos determinadas, principalmente, por pontes de hidrogênio, com a ajuda de forças de van der Waals e interações hidrofóbicas com resíduos de aminoácidos aromáticos. A AH específica (AHE) foi definida pela razão AH/concentração de proteínas (mg/mL). ES₄, ES₈ e ES₁₆ apresentaram melhor AHE com eritrócitos de coelho (541, 0,29 e 0,30, respectivamente), indicando que a atividade lectínica

foi consideravelmente sensível ao tempo de extração.

As proteínas presentes nos extratos foram precipitadas com a utilização de sulfato de amônio a uma saturação de 40 %. O (NH₄)₂SO₄, altamente hidrofílico, removeu a camada de solvatação das proteínas fazendo com que as mesmas precipitem⁵. As frações obtidas (PF₄, PF₈ e PF₁₆, respectivamente) foram submetidas à diálise exaustiva contra água destilada (4 h) e NaCl 0.15 M (8 h), seguida de determinação da AH e AHE. As proteínas parcialmente purificadas foram submetidas ao processo de diálise em membranas semipermeáveis, método baseado na separação de moléculas por diferenças de peso molecular; as proteínas ficam retidas dentro da membrana enquanto que moléculas menores - como carboidratos ou sais - presentes na amostra passam para a solução solvente. PF₄ apresentou melhor AHE (3.561), mostrando ser a fração com maior atividade lectínica.

A AH de PF₄ foi parcialmente inibida por N-acetilglicosamina (componente do polissacarídeo quitina) e totalmente inibida pelas glicoproteínas fetuína, ovoalbumina, tireoglobulina e azocaseína. A inibição com N-acetilglicosamina é um indicativo da presença de uma lectina e importante para purificação da lectina através de cromatografia de afinidade em colunas de quitina e de Agarose-N-acetilglicosamina.

Conclusões

B. verticillata possui em suas folhas atividade lectínica, detectada em extratos salinos e sensível ao tempo de extração; a precipitação com sulfato de amônio promoveu uma purificação parcial de lectina ativa presente no extrato com 8 h de agitação.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro

¹ Rameshwaram, N. R.; Nadimpalli, S. K. *J. of Chromatography B*. **2008**, *861*, 209–17.

² Van, D., J. M.; Peumans, W. J.; Barre, A. J.; Rougé, P. J. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **1998**, *17*(6): 575–592.

³ Mann, J.; Davidson, R. S.; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V.; Harborne, J. B. *N.P: their Chemistry and Biological Significance*. **1994**. 1^a ed. New York: Prentice Hall.

⁴ Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. *J. B. C.* **1951**, *193*: 265–275.

⁶ Green, A. A.; Hughes, W. L. *M in E*, **1995** New York: v.1, pp. 67–90.