

## Purificação e caracterização química de uma $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6) solúvel em água isolada do corpo de frutificação de *Agaricus brasiliensis*.

Taynara Lopes Silva<sup>1\*</sup> (IC), Andrea C. Ruthes<sup>2</sup> (PG), Estefânia Viano da Silva<sup>1</sup>, Ana Helena P. Gracher<sup>2</sup> (PG), Philip A. J. Gorin<sup>2</sup> (PQ), Marcello Iacomini<sup>2</sup> (PQ), Elaine R. Carbonero<sup>1</sup> (PQ). \* e-mail: taynara1203@gmail.com

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão, Catalão-GO, 75704-020, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 81531-980, Brasil.

Palavras Chave: *Agaricus brasiliensis*,  $\beta$ -glucana, purificação.

### Introdução

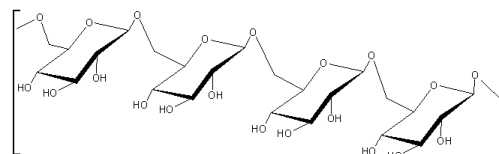
As glucanas são os homopolissacarídeos mais comuns em basidiomicetos, podendo ser lineares ou ramificadas, e apresentar diferentes configurações e massa molecular. Além disso, podem ser solúveis ou insolúveis em água, dependendo da sua conformação, ligações químicas e massa molecular. Diversos trabalhos têm sugerido que as diferenças encontradas na atividade são extremamente dependentes da solubilidade, tamanho, ramificações e conformação das moléculas, sendo estes fatores decisivos para alcançar um potencial efeito biológico<sup>1</sup>. Diante do exposto, o conhecimento da estrutura química fina desses polissacarídeos se torna imprescindível quando se deseja aplicá-los para fins terapêuticos. Devido as diversas aplicações biológicas apresentadas por estes polímeros, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção da  $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6) solúvel em água isolada do cogumelo medicinal *Agaricus brasiliensis*, visando estabelecer metodologias adequadas para o isolamento, purificação e caracterização estrutural destas biomoléculas.

### Resultados e Discussão

Os basidiomas desidratados de *A. brasiliensis* (500 g) foram deslipidificados com clorofórmio-metanol (CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 4:1, v/v), sob refluxo, durante 3 horas a ~60°C. Com a finalidade de obter os polissacarídeos, os basidiomas deslipidificados foram extraídos, sucessivamente, com água destilada a 4°C por 6 h (x 6) e KOH 2% a 100 C por 6h (x6), sendo os extratos polissacarídeos obtidos separados dos materiais residuais por centrifugação. Os extratos aquosos e alcalinos (frações W e K2, respectivamente) resultantes foram neutralizados, dialisados, concentrados em rotaevaporador e os polissacarídeos precipitados por adição de excesso de EtOH (3:1; v/v), os quais foram coletados por centrifugação, dialisados e liofilizados (frações EP-W e EP-K2). A partir da fração EP-W foram isoladas e caracterizadas, em estudos anteriores, uma fucogalactana<sup>2</sup> e uma  $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6) insolúvel em água, sendo a última comercializada em países como Japão e China, devido a sua ação imunoestimulante<sup>3</sup>. O outro extrato obtido (fração EP-K2) foi ressuspendido em água destilada e submetido ao processo de congelamento e posterior

degele a 4°C, resultando na formação de frações solúveis (S-K2) e insolúveis em água fria (I-K2). A fração S-K2 apresentou glucose como principal monossacarídeo e um perfil de eluição heterogêneo por HPSEC. Com a finalidade de purificação, esta fração foi submetida a diferentes procedimentos de purificação (precipitação com solução de Fehling e diálises em membranas com diferentes limites de exclusão), visando à otimização do isolamento da  $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6) solúvel em água (Fig.1). Análises de composição monossacarídica, metilação (GC-MS), HPSEC e análises espectroscópicas foram utilizadas na caracterização estrutural deste polímero. O espectro de RMN-<sup>13</sup>C deste homopolímero apresentou sinais característicos de uma  $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6):  $\delta$  102,8 (C1), 73,0 (C2), 75,7 (C3), 69,7 (C4), 74,9 (C5), 68,8 (C6),

Figura 1. Estrutura da  $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6).



### Conclusões

*A. brasiliensis* é um dos mais importantes cogumelos medicinais devido, principalmente, a presença da  $\beta$ -glucana (1 $\rightarrow$ 6). No entanto, a glucana utilizada para fins terapêuticos é isolada a partir de extrações aquosas, sendo esta insolúvel em água. Tendo em vista que a solubilidade é um dos fatores decisivos para alcançar um potencial efeito biológico, ensaios biológicos estão sendo realizados para uma correlação entre a estrutura e a atividade.

### Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup>Moradali, M. F.; Mostafavi, H.; Ghods, S. e Hedjaroude, G. A. *Int. Immunopharmacol.*, **2007**, *7*, 701-724.

<sup>2</sup> Komura, D. L.; Carbonero, E.R.; Gracher, A. H. P.; Baggio, C. H.; Freitas, C. S.; Marcon, R.; Santos, A. R. S.; Gorin, P. A. J. e Iacomini, M. *Bioresource Technol.* **2010**, *101*, 6192-6199.

<sup>3</sup>Kawagashi, H.; Inagaki, R.; Kanao, T.; Mizuno, T.; Shimura, K.; Ito, H.; Hagiwara, T. e Nakamura, T. *Carbohydr. Res.* **1989**, *186*, 267-273.