

Extração e Detecção de Lectina Ligadora de Quitina a partir de Entrecasca de *Stryphnodendron adstringens* (MIMOSOIDAE).

Saulo F. Oliveira¹(IC), Luiz H. M. Caldas¹ (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), Verônica T. S. Batinga¹ (PQ), Roberto A. Sá¹ (PQ). sauloquimicaefisica@yahoo.com.br

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

Barbatimão, proteína, metabólito primário, lectina, Stryphnodendron adstringens.

Introdução

As lectinas, proteínas, por terem a habilidade de se ligar a mono e oligossacarídeos, via pontes de hidrogênios, apresentam vários efeitos biológicos: ação contra insetos, fungos e bactérias¹.

Stryphnodendron adstringens, conhecido como "barbatimão" é uma planta nativa do Nordeste; sua casca é muito útil na medicina popular como antiinflamatória e cicatrizante². Este trabalho objetivou detectar e extrair produtos naturais (proteínas) de *Stryphnodendron adstringens* do Agreste pernambucano.

Resultados e Discussão

A entrecasca de *S. adstringens* foi coletada no município de Caruaru, Estado de Pernambuco. O pó da entrecasca (10 g) foi submetido à extração de proteínas a 10 % (p/v) em NaCl 0,15 M, por 2, 8 e 16 h a 4 °C e centrifugada a 8.000 rpm a 4 °C. Os extratos salinos resultantes foram submetidos à determinação de atividade hemaglutinante (AH) com eritrócitos de coelho e humanos. 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 que estão próximos às porções hidrofóbicas de monossacarídeos¹.

A quantificação das proteínas totais dos extratos foi realizada 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 nm³.

AH específica (AHE) foi determinada pela razão AH/concentração de proteínas (mg/mL). ES₂, ES₈ e ES₁₆ mostraram elevada AHE com eritrócitos de coelho (564, 588 e 522, respectivamente). ES₈, com AHE mais elevada, foi escolhida para o processo de purificação parcial.

A purificação foi iniciada com a precipitação de proteínas solúveis no ES₈, utilizando sulfato de amônio⁴. O (NH₄)₂SO₄, altamente hidrofílico, remove a camada de solvatação das proteínas fazendo com que as mesmas precipitem⁵. As frações obtidas (F₁, F₂, F₃ e F₄, 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. F₄ apresentou a melhor AHE (270034,0), constituindo material adequado para a caracterização lectínica. ES₈ e F₄ aglutinaram eritrócitos glutarizados de coelho e de todos os tipos sanguíneos do sistema ABO. Eritrócitos de coelho, rotineiramente utilizados na determinação da atividade lectínica, foram selecionados para os ensaios de hemaglutinação de ES₈ e F₄ devido à facilidade de obtenção e menor risco em sua manipulação.

A AH de F₄ 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

A entrecasca de *S. adstringens* apresentou atividade lectínica, melhor obtida por extração com 8 h de agitação em NaCl 0,15 M e purificação parcial através da precipitação com sulfato de amônio 60-80 %. Os resultados sugerem que uma preparação lectínica de *S. adstringens* específica para N-acetilglicosamina pode ser fonte de isolamento de uma lectina com potencial para ligar superfícies celulares ricas nesse glicano.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro

¹ Van, D., J. M.; Peumans, W. J.; Barre, A. J.; Rougé, P. J. Critical Reviews in Plant Sciences, **1998**, 17(6): 575-592.

² Lorenzi, H. Nova Odessa: I. Plant, **2000**.

³ Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. J. B. C. **1951**, 193: 265-275

⁴ Green, A. A.; Hughes, W. L. M in E, **1995** New York: v.1, pp. 67-90.

⁵ Kennedy, J. F.; Paiva, P. M. G.; Correia, M. T. S.; Cavalcanti, M. S. M.; Coelho, L. C. B. B. Carbohydrate Polymers, **1995**. 26: 219-30.