

## Atividade imunoadjuvante e toxicidade *in vivo* e *in vitro* da saponina QS-21 isolada de *Quillaja saponaria* Molina.

Maria de Fátima Simão Jucá Cruz<sup>1</sup> (PG)\*, Gabriela Moysés Pereira<sup>1</sup>(PG), Camila Rodrigues Adão<sup>1</sup> (PG), Bernadete Pereira Da Silva<sup>1</sup> (PQ), José Paz Parente<sup>1</sup> (PQ).\* fatima.juca@ufrj.br

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais (NPPN), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Palavras-Chave: QS-21, Imunoadjuvante, saponina, toxicidade, *Quillaja saponaria* Molina.

### Introdução

A QS-21 é uma saponina natural, extraída das cascas da árvore *Quillaja saponaria* Molina (Figura 1). Esta espécie é nativa do Chile e seus extratos são usados em vacinas veterinárias, atualmente sob avaliação em ensaios clínicos em humanos<sup>1</sup>.

A atividade imunoadjuvante ou imunomoduladora é característica de saponinas triterpenoidais complexas. Esta classe de substâncias apresenta uma aglicona triterpênica e unidades de monoterpenos conectados aos carboidratos<sup>2</sup>.

Existem alguns estudos acerca do caráter hemolítico e da atividade imunoadjuvante dos extratos comerciais de *Quillaja saponaria* frente a diferentes antígenos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo o isolamento e caracterização da saponina QS-21 e a verificação de sua atividade imunoadjuvante contra o antígeno da ovalbumina, assim como a reversibilidade de seus efeitos colaterais, uma vez que este é um fator limitante para a sua utilização em vacinas experimentais.

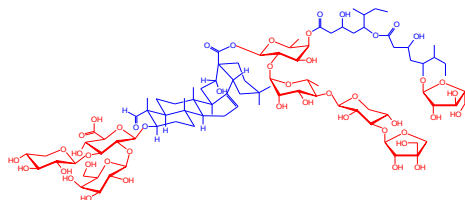


Figura 1: Saponina QS-21 isolada da *Quillaja saponaria* Molina.

### Resultados e Discussão

O extrato comercial Riedel De Haen® de *Quillaja saponaria* Molina (1g) foi submetido a cromatografia de troca iônica em coluna DEAE-celulose equilibrada em tampão 0,1M Tris-HCl pH 7,5. Após análises cromatográficas por exclusão em Sephadex G-50, foi obtida a substância purificada (QS-21, 150mg), que foi monitorada através de cromatografia por adsorção, com revelação com orcinol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e eluição em sistema de solvente CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (65:35:10). Através das análises de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e da comparação com a literatura, foi possível identificar a QS-21, que foi utilizada nos ensaios imunológicos<sup>3</sup>. Inicialmente foi realizada a fase de sensibilização. Camundongos

swiss webster foram imunizados três vezes por injeção subcutânea (100µg) em intervalos de uma semana, com QS-21 conjugada ao antígeno ovalbumina. Após uma semana foi realizado o desafio do antígeno, em que somente a proteína foi injetada na subplantar. As patas traseiras dos camundongos foram medidas, com um paquímetro, inicialmente e após os intervalos de 24h, 48h e 72h e as respostas de intradermo reação avaliadas<sup>3</sup> fornecendo uma atividade intensa e persistente, em comparação ao controle negativo. Os animais foram divididos em dois grupos onde o primeiro foi eliminado imediatamente e o segundo após o intervalo de uma semana. O aumento do baço e lesões no fígado foram observados no grupo 1 enquanto para o grupo 2 eliminado posteriormente, foi observado que os baços estavam nas suas dimensões normais e os fígados completamente recuperados.

Nos ensaios *in vitro* a atividade hemolítica foi verificada através de uma suspensão de células vermelhas sanguíneas humanas em diluição seriada contendo diferentes concentrações do adjuvante. Nas análises laboratoriais foi possível verificar uma elevada atividade hemolítica (7,5 µg/ml) da substância isolada do extrato comercial.

Os procedimentos experimentais estão de acordo com as recomendações CEUA/CIUCA/CONCEA.

### Conclusões

A atividade imunoadjuvante da QS-21 de *Quillaja saponaria* é significativa, porém acompanhada de efeitos colaterais, cuja reversibilidade foi observada ao final do experimento.

### Agradecimentos

Capes, CNPq, UFRJ.

<sup>1</sup> Liu, G.; Anderson, C.; Scaltreto, H.; Barbon, J.; Kensil, C. R. QS-21 structure/function studies: effect of acylation on adjuvant activity. *Vaccine*. **2002**, *20*, 2808.

<sup>2</sup> Mahato, S.B.; Sarkar, S.K.; Poddar, G. Triterpenoid saponins. *Phytochemistry*. **1988**, *27*, 3037.

<sup>3</sup> Oliveira- Freitas, E.; Casas C. P.; Borja-Cabrera G. P.; Santos, F. N.; Nico, D.; Souza, L. O. P.; Tinoco, L. W.; da Silva, B. P.; Palatnik, M.; Parente J. P.; Palatinik-de-Souza, C. B. Acylated and deacylated saponins of *Quillaja saponaria* mixture as adjuvants for the FML- Vaccine against visceral leishmaniasis. *Vaccine*. **2006**, *24*, 3909.