

## Isolamento e Caracterização de proteínas de Interesse Biológico em Sementes de *Caesalpinia Pulcherrima* Linn.

Renata Chastinet Braga\*<sup>1,2</sup> (PQ), Renato de Azevedo Moreira<sup>1,3</sup> (PQ), Leila Maria Beltramini<sup>4</sup> (PQ)  
\*r\_chastinet@hotmail.com

<sup>1</sup> Universidade Federal do Ceará, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Fortaleza, CE.

<sup>2</sup> Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, Unidade de Limoeiro do Norte, Limoeiro do Norte, CE.

<sup>3</sup> Universidade de Fortaleza, Centro de Ciência da Saúde, Fortaleza, CE.

<sup>4</sup> Universidade de São Paulo – São Carlos, Instituto de Física, São Carlos, SP.

Palavras Chave: Inibidor de Proteases, Lectina, Isolamento.

### Introdução

*Caesalpinia pulcherrima* é uma árvore conhecida popularmente como flamboianzinho, flamboiant-mirim, flor-de-pavão, barba de barata ou brado de estudante. As sementes *C. pulcherrima* são ricas em proteínas, apresentando cerca de 26,6% da massa das sementes íntegras<sup>1</sup> e estas ainda não foram exploradas em pesquisas científicas. Considerando que sementes de leguminosas são uma importante fonte de proteína e o estudo das propriedades dos compostos tais como lectina e inibidores de proteases são de considerável interesse<sup>2,3,4</sup>, neste trabalho são relatados os isolamento e caracterização parcial de duas proteínas de interesse, presentes nos cotilédones de sementes de *C. pulcherrima*: um inibidor de proteases e uma lectina galactose ligante.

### Resultados e Discussão

O inibidor de proteases serínicas de *C. pulcherrima* (IniCPTI) foi isolado através de cromatografia de exclusão molecular em superdex-75 HR seguida por troca iônica, é um inibidor de massa molecular aparente de 20,9 kDa e atividade contra tripsina e quimotripsina sugerindo ser um inibidor do grupo serino protease. O IniCPTI apresentou na interação com tripsina uma  $K_a$  de  $1,92 \times 10^4$  e  $K_d$  de  $3,03 \times 10^{-5}$  por ressonância plasmônica de superfície. Esta proteína apresentou estrutura alfa (18%) e é rica em estruturas beta (30%) e outras contribuições (52%). O espectro de CD demonstrou modificações na estrutura em temperaturas acima de 60 graus, indicando baixa estabilidade térmica. As características apresentadas indicam que o IniCPTI deve ser classificado como do tipo Kunitz.

A lectina isolada de cotilédone de *C. pulcherrima* (CaeLec) é galactose comprovada por cromatografia de afinidade em galactomananas de *C. pulcherrima*. A CaeLec apresenta maior atividade a pH 5 perdendo toda sua atividade a pHs acima de 6. Sua estrutura estimada por CD apresenta um alto conteúdo de estrutura desordenada (62%), o que dificulta o melhor entendimento da sua estabilidade com a variação de temperatura por esta técnica.

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Cromatografias de afinidade indicam que a CaeLec não apresenta especificidade por carbono anomérico, uma vez que apresentou afinidade por galactose ligada alfa ou beta, interagindo melhor com açúcares complexos que com açúcares simples. A CaeLec apresenta características incomuns para as lectinas de leguminosas como o excessivo grau de desordenação da estrutura e o ótimo de atividade pH 5.

### Conclusões

O IniCPTI é um inibidor de proteinases serínicas de sementes de *C. pulcherrima*, com massa molecular aparente de 20,9 kDa e atividade para quimotripsina e tripsina. Sua estrutura secundária estimada indicou 18 % de  $\alpha$ -hélice, 30 % de folha  $\beta$  e 52 % de outras contribuições, baixa estabilidade a altas temperaturas e extremos de pH.

Foi isolada uma lectina ligante a galactose de *C. pulcherrima*, CaeLec, com massa molecular aparente de 61,1 kDa e atividade hemaglutinante com hemácias tratadas enzimaticamente, sendo o pH 5,0 o melhor para sua atividade. Sua estrutura estimada apresentou 62 % de estrutura desordenada, 6 %  $\alpha$ -hélice, 16 % de folha  $\beta$  e 17 % de volta  $\beta$ . Demonstrou interação com oligossacarídeos e polissacarídeos contendo galactose sem apresentar preferência com relação ao carbono anomérico.

### Agradecimentos

Agradecemos a FUNCAP, CAPES e CNPQ que financiaram este trabalho e ao Instituto de Física da USP- São Carlos pela colaboração nas análises.

<sup>1</sup>Omode, A. A.; Fatoki, O. S.; Olaogun, K. A. *J. Agric. Food Chem.*, **1995**, *43*, 2850-2853.

<sup>2</sup>Batista, I. F. C.; Oliva, M. L. V.; Araujo, M. S.; Sampaio, M. U.; Richardson, M.; Fritz, H.; Sampaio, A. M. *Phytochemistry*, **1996**, *414*, 1017-1022.

<sup>3</sup>Bueno, N. R.; Fritz, H.; Auerswald, E. A.; Mentele, R.; Sampaio, M.; Sampaio, C. A. M.; Oliva, M. L. V. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **1999**, *261*: 838-843.

<sup>4</sup>Teles, R. C. L.; Freitas, S. M.; Kawano, Y.; Souza, E. M. T.; Arêas, E. P. *G. Spectrochimica Acta Part A*, **1999**, *55*: 1279-1289.