



## INFLUÊNCIA DO pH DE EXTRAÇÃO NA ATIVIDADE DE INIBIDORES DE PAPAÍNA EM EXTRATOS PROTEÍCOS DE SEMENTES DE *Crotalaria pallida*

Kariane Rodrigues de Sousa(1) - Victor Paulo Mesquita Aragão (2) - Antonio Silvio do Egito (3) - Marlene Feliciano Mata (4) - Lúcia Betânia da Silva Andrade(5) -

1. Biologia/UVA/Bolsista CNPq/IC/UVA - 2. Biologia/UVA/Bolsista CNPq/IC/UVA - 3. Pesquisador Dr./Embrapa Caprinos - 4. Professora Dra./Biologia/Uva - 5. Profa. Dra. Orientadora/Biologia/UVA -

### PALAVRAS-CHAVE

crotalaria, inibidor de papaína, enzimas digestivas

### APOIO

CNPq/UVA/FINEP

### INTRODUÇÃO

Inibidores de enzimas digestórias são proteínas encontradas naturalmente em animais, microrganismos e plantas, sendo de larga ocorrência em sementes de leguminosas (RYAN,1990). Plantas do gênero *Crotalaria*, vulgarmente conhecidas como guizo-de-cascavel, são originárias da África e foram introduzidas no Brasil com a finalidade de cultivo de cobertura de solo e fornecimento de adubo verde, sendo consideradas atualmente como plantas invasoras, em face de sua ampla disseminação natural (DIAZ et al, 2003). Pesquisas relacionadas com inibidores de enzimas proteolíticas vêm se desenvolvendo largamente nos últimos anos com o intuito de melhor entender sua estrutura, especificidade e mecanismos de ação. A maioria das pesquisas refere-se ao estudo do envolvimento dessas proteínas inibidoras de proteases nos mecanismos de defesa de plantas e sua aplicação terapêutica em doenças como o câncer, diabetes e obesidade, entre outras (OLIVEIRA et al., 2007).

### OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do pH de extração na atividade de inibidores de papaína em extratos protéicos de sementes de *Crotalaria pallida*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *C. pallida* foram coletadas na Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici-Fortaleza. Para obtenção dos extratos totais protéicos, as sementes foram trituradas para obtenção de uma fina farinha que foi homogeneizada em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,0 ou tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,5, na proporção de 1:5 (m/v), por 30 minutos. Os homogenatos provenientes dos dois tampões de extração foram filtrados em tecido de trama fina e centrifugados a 10.000 x g por, 15 minutos. Os precipitados foram descartados e os sobrenadantes denominados extratos brutos (EB). A quantificação de proteínas solúveis foi feita pelo método de Bradford,1976, utilizando albumina sérica bovina (BSA) como padrão. A determinação de inibidores de proteinases cisteínicas (papaína) foi realizada seguindo a metodologia descrita por Abe et al, 1992.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa na concentração de proteínas totais (mg/mL) entre os dois tampões utilizados, sendo que a quantidade de proteínas extraídas foi de  $0,55 \pm 0,04$  mg/mL e  $0,6 \pm 0,02$  mg/mL para os tampões de pH 6,0 e 7,5, respectivamente. Os dados para atividade de inibidores de papaína mostraram que houve diferença significativa entre a porcentagem de inibição da papaína nos tampões utilizados, sendo que no extrato obtido com o tampão de pH 6,0, a inibição na atividade proteolítica foi de 50% e no obtido com o tampão pH 7,5, o índice de inibição chegou a 68%. As unidades de inibição (UI) e atividade específica (AE) também foram maiores nos extratos obtidos em pH 7,5 (UI =17 e AE = 28,3) em comparação aos extratos obtidos em pH 6,0 (UI =12,5 e AE = 22,7). Esses dados estão em acordo com os muitos relatos disponíveis na literatura que atestam a presença de inibidores de proteases cisteínicas em sementes de leguminosas.

### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos até o presente momento mostram que sementes de *C. pallida* são uma rica fonte de inibidores de proteinases cisteínicas e que esses inibidores precisam ser mais profundamente estudados com relação as suas características bioquímicas, sua bioatividade e possíveis aplicações biotecnológicas.

### REFERÊNCIAS

- ABE, M. et al. Corn kernel cysteine proteinase inhibitor as a novel cystatin superfamily member of plant origin. *European Journal Biochemistry*. v. 209, p. 933-937, 1992.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities for proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. v. 2, p. 248-254, 1976.
- DIAZ et al. Intoxication of *Crotalaria pallida* seeds to growin broiler chicks. *Veterinaria Human Toxicology*. v. 45, p. 4, 2003.
- OLIVEIRA, A. S. et al. Purification and characterization of a trypsin-papain inhibitor from *Pithecelobium dumosum* seeds and its in vitro effects toward digestive enzymes from insects pests. *Plant Physiology and Biochemistry*. v. 45, n. 10-11, 2007.
- RYAN, C. A. Proteases inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, v. 28, p. 424-449, 1990.