

C. Ciências Biológicas - 3. Bioquímica - 6. Bioquímica

INIBIDORES DE PAPAÍNA E TRIPSINA EM FRAÇÕES PROTEICAS DE SEMENTES DE *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.)

Jamille Perdigão de Andrade Alves - Aluna de Ciências Biológica- UVA-Bolsista CNPq

Marlene Feliciano Figueiredo - Prof. Dra. Curso de Ciências Biológicas/Universidade Estadual Vale do Acaraú- UVA

Antonio Silvio do Egito - Dr. Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos

Hévila Oliveira Salles - Dra. Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos

Lúcia Betânia da Silva Andrade - Profa. Dra./Orientadora - Curso de Ciências Biológicas (UVA)

INTRODUÇÃO:

Libidibia ferrea (Mart. ex Tul.) é uma espécie nativa do Brasil e conhecida popularmente como pau-ferro ou jucá, ocorrendo no semiárido nordestino, principalmente nos estados do Ceará e Alagoas (LORENZI, 2002). Extratos aquosos de suas sementes possuem substâncias bioativas como enzimas, compostos anticoagulantes e larvicidas (CAVALHEIRO et al., 2009). Inibidores de proteases são abundantes em sementes de leguminosas e no Gênero *Caesalpinia*, inibidores de tripsina já foram identificados e isolados de algumas espécies (BHATTACHARYYA et al., 2007) não havendo relato para inibidores de papaína em *L. ferrea*. Nos vegetais, inibidores podem atuar como proteínas de reserva, na regulação da atividade de proteases endógenas ou como proteínas de defesa da planta contra organismos invasores, por inibição de suas enzimas proteolíticas. A seletividade e especificidade para a inibição de enzimas é uma característica importante que habilita os inibidores de proteases a ser utilizado como ferramentas para inativação de proteases-alvo, tornando-os moléculas candidatas para aplicações na área médica e biotecnológica, podendo atuar como agentes antimicrobianos, terapêuticos e na preservação de alimentos (BIJINA et al., 2011, DUBEY et al., 2007).

OBJETIVO DO TRABALHO:

Verificar a inibição da papaína e da tripsina por frações proteicas de sementes de *Libidibia ferreae* seu perfil eletroforético.

MÉTODOS:

Sementes de *L. ferrea* foram coletadas na área urbana do município de Sobral - Ce. As sementes foram descascadas e trituradas em uma farinha que foi delipidada com acetona. Um extrato proteico foi obtido pela suspensão da farinha em tampão Tris/HCl 50 mM pH 7,5 contendo NaCl 0,15 M, na proporção de 1:10 (m/v) e agitado por 3 horas. Após centrifugação a 10.000xg, por 30 minutos, o sobrenadante foi precipitado com sulfato de amônio em duas faixas de saturação, originando as frações F050 e F5090, respectivas a cada faixa de precipitação. As frações foram dialisadas contra água, liofilizadas, ressuspendidas (5mg/mL) no tampão de extração e usadas para testes de inibição da papaína (ABE et al., 1987) e tripsina (KAKADE et al, 1974). A porcentagem de inibição (% INB) foi calculada pela fórmula: % INB = 100 - [100 x (atividade residual/atividade do controle sem inibidor)]. As frações também foram avaliadas quanto à capacidade de inibição da coagulação do leite desnatado pela tripsina. Para eliminação da indesejada presença de proteases endógenas, as frações foram aquecidas por 3 minutos, a 100°C, e os testes feitos com as frações aquecidas (fa) e sem aquecimento (fna). O perfil de proteínas foi determinado por eletroforese em gel de poli(acrilamida) (SDS-PAGE).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O perfil eletroforético da F050 e F5090 mostrou a predominância de 3 bandas acima de 30 kDa na F050 e uma banda em torno de 20 kDa na F5090. A F050 não aquecida não foi capaz de inibir a atividade das enzimas, sugerindo a presença de proteases endógenas mascarando a atividade dos inibidores. Após o aquecimento, a F050 obteve maior efeito antitriptico (100 % INB) do que antipapainásico (77% INB). A F5090 também foi mais eficiente em inibir a tripsina (100% INB) do que a papaína (55 % INB) e a inibição foi verificada nas frações aquecidas e não aquecidas. Após 4 horas de incubação da tripsina com leite desnatado, observou-se a formação de um coágulo, o que não foi observado quando a tripsina foi pré-incubada por 10 minutos com as frações F050 e F5090. Esses resultados indicam que sementes de jucá são uma fonte de eficientes inibidores de enzimas proteolíticas, principalmente de inibidores de tripsina e essas moléculas possuem promissora aplicação como preservativo contra proteólise em várias aplicações biotecnológicas, especialmente na indústria de alimentos, como já sugerido por Sriket et al., (2011), que obteve eficiente prevenção na degradação do camarão por enzimas proteolíticas quando estas foram pré-incubadas com extratos de sementes ricos em inibidores de tripsina.

CONCLUSÕES:

Sementes de *L. ferrea* apresentam eficiente atividade inibitória para proteases, especialmente tripsina. Deste modo, estudos futuros visando o isolamento, caracterização bioquímica e avaliação da capacidade destas

moleculas em inibir outras enzimas proteoliticas disponiveis comercialmente poderao contribuir para a identificação de inibidores de proteases com provável aplicação na regulação da atividade de enzimas proteolíticas que podem causar a deterioração de alimentos.

Palavras-chave: Inibidor de protease, Protease serínica, Protease cisteínica.