

Purificação e atividade biológica de enzima do látex de *Asclepias curassavica*

JESSIKA DE BRITO BELTRAO (Autor), CARMEM APARECIDA DE PAULA (DEACL) (Orientador)

A pesquisa em produtos naturais é uma das áreas mais tradicionais da Farmácia. Em uma revisão realizada entre 1981 e 2002 observou-se que de um total de 868 fármacos, 91 são de origem biológica ou proteica. A *Asclepias curassavica* L. é uma planta perene sul-americana e popularmente empregada no tratamento de feridas. Os glicosídeos cardiotônicos e enzimas proteolíticas fazem parte dos constituintes bioativos presentes no látex desta espécie vegetal. O presente trabalho mostra a purificação de uma enzima, a asclepaína, presente no látex da planta *Asclepias curassavica* L. coletada em pastagens da região de Ouro Preto. A purificação da asclepaína envolveu três etapas: precipitação com sulfato de amônio, cromatografia por troca iônica em CM-Sepharose e cromatografia por fase reversa em C8-Sepharose. Os experimentos de caracterização da asclepaína mostraram que essa enzima apresenta uma massa molecular de 24,5kDa, uma temperatura ótima na faixa de 30 a 40°C e um pH ótimo igual a 6,5. A enzima exibiu uma significativa atividade gelatinolítica, fibrinogenolítica e fibrinolítica. A enzima exibiu atividade gelatinolítica e eficientemente hidrolisou as cadeias A α seguida da hidrólise da cadeia B β do fibrinogênio. O coágulo de fibrina também se mostrou um excelente substrato para a enzima estudada. A classe da asclepaína foi avaliada empregando os inibidores TPCK, PMSF, N-etilmaleimida, TLCK, E64, e ácido iodoacético. A atividade da enzima foi completamente inibida com 3,12 μ M de E-64 e significativamente inibida pela iodoacetamida e ácido iodoacético em concentrações acima de 12,5 μ M, indicando que a asclepaína é uma cisteína protease. Os resultados obtidos sobre as características bioquímicas e farmacológicas da asclepaína traz grande motivação para no futuro avaliar se essa enzima possui atividade cicatrizante, principalmente voltado para o debridamento de feridas graves, como queimaduras e úlceras de decúbito. Apoio financeiro: UFOP/PIP, CiPharma/EF/UFOP e FAPEMIG.

Instituição de Ensino: Universidade Federal de Ouro Preto