



International Joint Conference Radio 2019

Radiomarcção de lectina extraída de *Schinus terebinthifolia*

Oliveira R. C.^a, Patriota L. L. S.^a, Oliveira M. L.^b, Napoleão T. H.^a

^aUniversidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco.

^b Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste, Av. Professor Luiz Freire, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco.

roliveira.bolsista@cnen.gov.br

Introdução: Lectinas são glicoproteínas largamente distribuídas na natureza, encontradas em animais, plantas e microrganismos, e que apresentam a característica de se unir a sítios específicos, como os receptores glicano-específicos da superfície celular [1]. É devido a esta especificidade que atualmente as lectinas têm sido amplamente utilizadas como ferramentas inovadoras em pesquisas biomédicas [2]. A literatura também mostra o uso de lectinas em estudos não-clínicos e clínicos como biossensores ou medicamentos para o tratamento do câncer, isto devido ao fato de que estas lectinas são capazes de identificar glicanos aberrantes expressos pelas membranas das células neoplásicas [3]. A literatura mostra que diversas lectinas eliminam células tumorais por meio da ativação de apoptose, das caspases, bem como coadjuvante da quimioterapia por meio de ativação da autofagia, dentre outros processos para eliminação das células cancerígenas [4-6]. Por ser um potente agente antitumoral, a lectina das folhas de *Schinus terebinthifolia* (SteLL), se acoplada a um radiotraçador apropriado, pode representar uma importante ferramenta na Medicina Nuclear.

Pouco se conhece em relação aos mecanismos de radiomarcção de lectinas. Porém, de acordo com o reportado na literatura acredita-se que, por pertencerem ao mesmo grupo, estas seguem o mesmo comportamento das proteínas e podem ser acopladas aos radionuclídeos por diversas vias [7]. Dentre estas vias estão as que envolvem o acoplamento do radionuclídeo, por meio de grupos prostéticos, aos grupos N-terminal ou aos radicais amina, ambos dos aminoácidos lisina proteico. Outras opções são a alquilação redutiva e a substituição nucleofílica, sendo estas as preferíveis quando radiomarcando proteínas com flúor-18 [7]. Quando se trata de ^{99m}Tc, três vias são possíveis para radiomarcção: a via direta, a via pré-radiomarcção e a pós-radiomarcção, sendo a primeira a mais usada por apresentar bom rendimento e facilidade de realização. Na via direta, a proteína a ser radiomarcada é tratada com agente redutor (ex. cloreto estanhoso), que converte as pontes dissulfeto em tióis livres, os quais possuem afinidade por ^{99m}Tc [8]. Diversos solventes podem ser aplicados para a via envolvendo cloreto estanhoso, como ácido clorídrico (HCl), salina, água, dentre outros [9]. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi, com base na literatura, estudar procedimento para radiomarcção da lectina extraída de folhas da planta *Schinus terebinthifolia* com ^{99m}Tc, a qual tem comprovada ação antineoplásica, a fim de obter uma molécula alternativa aos radiofármacos convencionais e contribuir para os recentes conhecimentos acerca de radiomarcção de lectinas.

Metodologia: A metodologia deste trabalho foi adaptada de Patrício e colaboradores, onde todas etapas ocorrem na bancada, em temperatura ambiente [6]. 90 mg de SteLL foram diluídas em 10 mL de salina a 0,9%. Desta solução retirou-se alíquota de 150 µL, sendo esta incubada em 80 µL/mL de cloreto estanhoso (SnCl₂ · 2H₂O) 1:1 em água ou em HCl 37%, em triplicata. Após 20 minutos, cerca de 180 ± 3 µCi de ^{99m}Tc (100µL) foi adicionado à mistura e homogenizado, em seguida aguardando-se 10 minutos. Para identificação da lectina radiomarcada foi realizada cromatografia em camada delgada (CCD), usando como fase estacionária papel Whatmann 3MM Chr (GE Healthcare, EUA), de tamanho 10x2,5 cm. Neste processo foi aplicado 2 µL do produto a 2 cm da base da fase estacionária, a qual

foi submetida a corrida cromatográfica com fase móvel de acetonitrila (Merck, EUA). Após a corrida, as fases estacionárias foram secas e submetidas separadamente a análise em activímetro, modelo Curiementor da PTW (Alemanha). Segundo Patrício e colaboradores, a lectina radiomarcada, por ter maior peso molecular do que o tecnécio livre, deverá ficar localizada no ponto de aplicação da amostra e não deverá se mover com a passagem da fase móvel [6].

Resultados: Os resultados obtidos para as condições de marcação estão expressos na Tabela 1. Como se pode observar, diferentes solventes podem gerar alterações no perfil de corrida dos compostos.

Tabela 1 : Perfil cromatográfico obtido por CCD.

	Solvente	Início da placa	Fim da placa
Atividade (%)	H ₂ O	78,84	22,92
	HCl	4,94	94,79

Quando utilizada água na dissolução do cloreto estanhoso, cerca de 78,84% da atividade detectada nas placas estava no ponto de aplicação, sugerindo que houve radiomarcção de SteLL. Ao fim da placa, a percentagem de 22,92% da atividade detectada corresponde ao tecnécio livre ou coloidal combinado ao cloreto estanhoso, o qual é mais leve do que o complexo radioisótopo-proteína [6]. Já quando avaliando o protocolo com HCl, podemos observar que o perfil se inverte, estando a maior parte da atividade distante do ponto de aplicação da amostra. Com base na literatura, este efeito pode ser resultado da desnaturação de SteLL pelo HCl, originando fragmentos radiomarcados, menores que a lectina em seu estado conformacional e que, conseqüentemente, tendem a se depositar ao fim da fase estacionária cromatográfica, junto com o tecnécio livre [10].

Conclusões: Foi obtido procedimento para radiomarcção da lectina SteLL. Nossos estudos sugerem que as condições de marcação, bem como as concentrações utilizadas de SteLL e cloreto estanhoso diluído em água possibilitaram a radiomarcção, podendo o complexo ^{99m}Tc- SteLL ser investigado futuramente.

Referências:

- [1] Nelson, D.L.; COX, M.M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6ª Ed., Porto Alegre: Artmed, 2014.
- [2] Cavada, B.S.; Barbosa, T.; Arruda, S.; Grangeiro, T.B.; Barral-Netto, M. Revisiting proteus: do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potential biotechnological uses of the Diocleinae subtribe lectins. *Current Protein and Peptides Science*, v 2, p. 1-13, 2001.
- [3] SILVA, L.C.N, et al. Cratylia mollis Lectin: A Versatile Tool for Biomedical Studies. *Current Bioactive Compounds*, v. 10, p. 44-54, 2014.
- [4] FERREIRA, S.A.et al. Sialic acid differential expression in nonmelanoma skin cancer biopsies. *Medical molecular morphology*, v.46(4), p.198-202, 2013.
- [5] BRUSTEIN, V.P.et al. Chemiluminescent detection of carbohydrates in the tumoral breast diseases. *Applied biochemistry and biotechnology*, v.166(2), p.268-275, 2012.
- [6] PATRICIO, B. F. C. et al. Radiolabeling of cramoll 1,4: Evaluation of the biodistribution. *IntJ of Pep*, v. 2011, p. 10–12, 2011.
- [7]MORRIS, O. et al. A review of approaches to ¹⁸F radiolabelling affinity peptides and proteins. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, n. April, p. 1–20, 2018.
- [8] LIU, S.; EDWARDS, D. S. ^{99m}Tc-Labeled Small Peptides as Diagnostic Radiopharmaceuticals . *Chemical Reviews*, v. 99, n. 9, p. 2235–2268, 2002.
- [9]TYNER, T.; FRANCIS, J. Stannous Chloride Dihydrate. *ACS Reagent Chemicals*, n. Ii, 2018.

[
1
0
]
Z
U
M
A
N
,
P
:
;

P
A