

Proteasas de Bromeliaceae. V. Separación y Purificación de Sulfhidril-Proteasas presentes en frutos de *Bromelia balansae* Mez

CLAUDIA L. NATALUCCI**, NORA S. PRIOLO,
LAURA M.I. LOPEZ y N.O. CAFFINI

Laboratorio de Botánica Aplicada, Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata, calles 47 y 115, 1900 La Plata, Argentina

RESUMEN. La trituración de frutos semimaduros de *Bromelia balansae* Mez (Bromeliaceae) en presencia de acetona fría (-20°C) permite obtener una preparación enzimática cruda, que al ser tratada con buffer fosfatos de pH 6,4 conteniendo EDTA y cisteína 5 mM produce una solución con actividad proteolítica apreciable y con máxima acción hidrolítica sobre caseína dentro de un rango de pH entre 6,25 y 8,50. Esta solución enzimática cruda se purificó por cromatografía de exclusión molecular (Sephadex G-75 Superfino) y de intercambio iónico (DEAE- y CM-Sepharosa), con lo que se obtuvieron tres fracciones proteolíticamente activas.

SUMMARY. "Proteases of Bromeliaceae. V. Separation and Purification of Sulfhydryl Proteases from Fruits of *Bromelia balansae* Mez". Almost ripe fruits of *Bromelia balansae* Mez (Bromeliaceae) were blade homogenized within cold (-20°C) acetone, providing a crude preparation that could be partially solubilized in phosphate buffer (pH 6,4) containing EDTA and cysteine 5 mM. Solutions hydrolize casein (maximum activity pH 6.25-8.50), the activity being enhanced by addition of cysteine. The crude enzyme was purified by molecular sieve chromatography (Sephadex G-75, Superfine) and ion exchange chromatography (DEAE- and CM-Sephrose). Three proteolitically active fractions were thus obtained.

Las proteasas ocupan holgadamente el primer lugar en el mercado mundial de enzimas¹, debido en buena parte a la variedad de aplicaciones que han demostrado poseer². En el campo de la farmacoterapia las enzimas proteolíticas de origen vegetal son tradicionalmente empleadas como agentes antiinflamatorios³, pero estudios muy recientes llevados a cabo con bromelina⁴⁻⁶

alientan crecientes expectativas acerca de su uso como citostáticos.

Las Bromeliáceas constituyen una familia en la que la presencia de proteasas en cantidades superiores a las fisiológicamente necesarias parece ser una característica distintiva. Esto ocurre al menos dentro del género *Bromelia*, integrado por unas cincuenta especies americanas⁷, en ocho de las cua-

* El presente trabajo ha recibido el apoyo de la CIC de la Prov. de Buenos Aires y fue presentado en el X Congreso Farmacéutico Argentino, San Luis, Argentina, octubre de 1988.

** Miembro de la Carrera del Investigador de la CIC de la Prov. de Buenos Aires, Argentina.

PALABRAS CLAVE: Bromeliaceae; *Bromelia balansae* Mez; Enzimas proteolíticas; Fitoproteasas; Hidrolasas; Proteasas de frutos; Sulfhidril-proteasas.

KEY WORDS: Bromeliaceae; *Bromelia balansae* Mez; Proteolytic enzymes; Plant proteases; Hydrolases; Fruit proteases; Sulfhydrylproteases.