

# 11ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS & 8º Simpósio de Pós-Graduação

## INIBIÇÃO DE ELASTASE POR EXTRATOS FOLIARES DE *SEDUM DENDROIDEUM*: um estudo *in vitro*

Lais G. CASALOTI<sup>1</sup>; Jorge A. N. SANTOS<sup>2</sup>

### RESUMO

A atividade desregulada de proteases em seres humanos está relacionada com uma série de doenças. A elastase de neutrófilos é uma protease controlada pelo inibidor  $\alpha$ 1-antitripsina (AAT) que é produzido naturalmente pelo fígado. Mutações no gene SERPINA 1 causam deficiência desse inibidor e a consequência disso é o aparecimento de diversas patologias em humanos. Ambos extratos apresentaram grande efeito inibitório sobre a elastase, com valores de IC<sub>50</sub> de  $8.1 \pm 1.4 \mu\text{g mL}^{-1}$  (extrato aquoso) e  $3.3 \pm 0.6 \mu\text{g mL}^{-1}$  (extrato etanólico). Estes resultados sugerem que os extratos de *Sedum dendroideum* podem ser uma fonte potencial de compostos bioativos para a descoberta de novos inibidores para a elastase.

**Palavras-chave:** Bálsamo; Inibidores; Proteases.

### 1. INTRODUÇÃO

A elastase é uma protease produzida principalmente pelo pâncreas e neutrófilos e possui a propriedade de hidrolisar componentes da matriz extracelular, como colágeno, elastina, laminina e proteoglicanos (THOMSON & KAPADIA, 1979). A atividade proteolítica da elastase neutrofílica é estritamente regulada pelo inibidor proteico endógeno denominado  $\alpha$ -1-antitripsina (AAT). Mutações no gene SERPINA 1, locus Pi, localizado no cromossomo 14 (14q31-32) causam deficiência da AAT (SIEDLE, et al., 2003). Sem a presença do seu inibidor natural, a elastase em abundância gera lesões teciduais, já que esta enzima é a principal protease liberada pelos neutrófilos em processos inflamatórios.

Em humanos, a atividade desregulada de proteases está relacionada com diversas condições patológicas como câncer, processos inflamatórios, trombose, artrite, doenças de pele e enfisema pulmonar. Por essa razão a atividade de proteases precisa ser controlada e regulada (RAWLINGS et al, 2004). Pesquisas recentes têm revelado que proteases se tornaram alvos importantes para o desenvolvimento de fármacos.

A prospecção de compostos bioativos a partir de produtos naturais encontra nas espécies vegetal a principal e mais promissora fonte de novos compostos que possam agir como inibidores de proteases. Para se proteger contra animais e insetos herbívoros, as plantas geralmente produzem metabólitos secundários que incluem terpenos, polifenóis, taninos, peptídeos e proteínas (IBANEZ et al, 2012). Muitos desses compostos metabólitos são de inibidores de proteases e provocam uma diminuição do processo de absorção dos aminoácidos essenciais para o desenvolvimento dos insetos (CUCCILIONI et al, 2009).

<sup>1</sup> Bolsista Fapemig- IFSULDEMINAS-Campus Inconfidentes –Email: [lais00casaloti@gmail.com](mailto:lais00casaloti@gmail.com)

<sup>2</sup> Orientador- IFSULDEMINAS- Campus Inconfidentes – Email: [jorge.santos@ifsuldeminas.edu.br](mailto:jorge.santos@ifsuldeminas.edu.br)

A espécie *Sedum dendroideum*, popularmente conhecida como bálsamo é uma planta pertencente a ordem Saxifrales, Moc. et Sessé ex DC, família Crassulaceae é uma espécie perene, suculenta, sublenhosa e xerófita, originária da África do Sul, de clima tropical seco (EPAGRI,1998). No Brasil, está amplamente adaptada e é denominada popularmente de bálsamo (MILANEZE & GONÇALVES, 2001).

Estudos apontam que o gênero *Sedum* apresenta compostos de distintos grupos químicos como polissacarídeos (SENDL et al.,1993), triterpenóides com atividade hepatoprotetora (AIMIN, et al.,1998), alcalóides piperídínicos (HALIN et al., 1985) e através de uma análise fitoquímica com a espécie *Sedum dendroideum* foi possível identificar a presença de Kaempferol, uma importante molécula com propriedades farmacológicas (COUTINHO, MUZITANO, & COSTA, 2009).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O extratos foram preparados a partir das folhas de *Sedum dendroideum* seguindo a metodologia de Heidari-Sureshjani (2015), em que folhas frescas e sadias do vegetal foram coletadas no bairro Furnas (latitude 22° 26' 27" e longitude 46° 21' 03"), localizadas no município de Bueno Brandão.

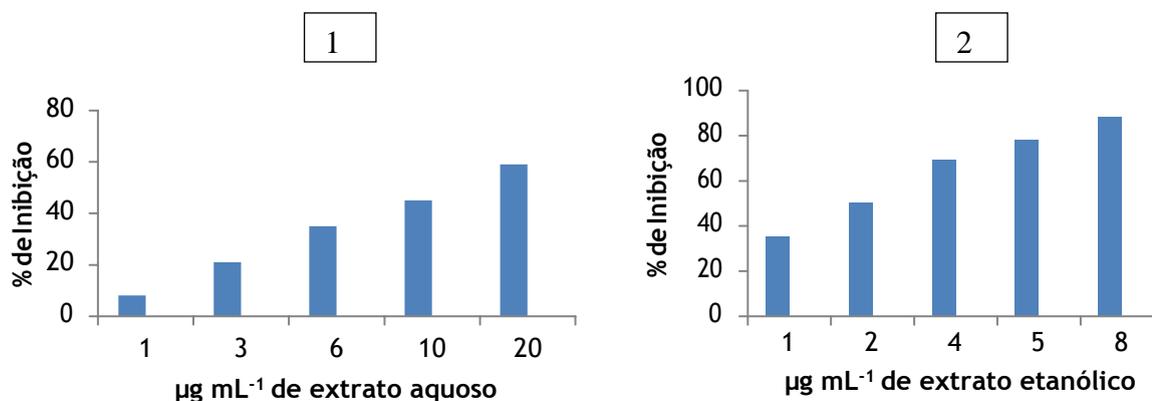
Para os ensaios de inibição foram utilizados a enzima elastase de pâncreas de porco (E.C 3.4.21.36,  $\geq 4$  U/mg) e seu substrato cromogênico N-Succinil-AlaAla-Ala-p-nitroanilida (THOMSON & KAPADIA, 1979) que foram adquiridos da empresa Sigma Aldrich. A enzima (na concentração final de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi incubada em tampão fosfato de sódio (50 mM, pH= 8) com os extratos da planta em diferentes concentrações (variação de 1 para  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o extrato aquoso e variação de 1 para  $8 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o extrato etanólico) à 25° C para um volume total final de 990  $\mu\text{L}$ . Após 30 minutos, 10  $\mu\text{L}$  de substrato para uma concentração final de 10  $\mu\text{M}$  foi adicionado na mistura e a hidrólise do substrato cromogênico foi monitorada por 5 minutos utilizando-se um espectrofotômetro V-M5 Bel Photonics no comprimento de onda de 410 nm. Como controle negativo foi utilizado tampão fosfato 50 mM, pH 8, e como controle positivo epigallocatequina-3-galato (EGCG).

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os dados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os valores do parâmetro de inibição IC50, que é a concentração de extrato que inibe 50% da atividade enzimática, foram determinados pela porcentagem de inibição remanescente versus a concentração de extrato e calculados por regressão não linear utilizando o programa GraFit 5.0 (LEATHERBARROW, 1992). A porcentagem de inibição foi calculada pela equação:  $\% \text{ inibição} = (|\text{Abs controle} - \text{Abs extrato}| / \text{Abs controle}) \times 100$

### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os gráficos 1 e 2 apresentam a porcentagem de inibição em função de diferentes

concentrações de extratos aquoso e etanólicos. Esses extratos inibiram a elastase com diferentes intensidades.



Dos resultados encontrados foram calculados os valores de IC<sub>50</sub>. Para o extrato aquoso obteve-se 8,1 ± 1,4 µg mL<sup>-1</sup> e para o etanólico 3,3 ± 0,6 µg mL<sup>-1</sup>. Esses resultados sugerem que o extrato etanólico apresentou melhor poder de inibição sobre a elastase que o extrato aquoso.

Como descrito anteriormente, a espécie *Sedum dendroideum* produz uma grande variedade de metabólitos secundários e esses compostos podem estar envolvidos na inibição da elastase.

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicaram que os extratos aquosos e etanólicos de *Sedum dendroideum* tiveram uma atividade inibitória significativa sobre a atividade proteolítica da elastase, demonstrando ser necessário estudos mais específicos para identificar e isolar os compostos bioativos nos extratos da *Sedum dendroideum*, dado o potencial medicinal da referida planta.

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pela concessão da bolsa, insentivando a realização desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

AIMIN, H.; MINGSHI, W.; HONGYAN, H.; DECHENG, Z.; LEE, K. H. Hepatoprotective triterpenes from *Sedum sarmentosum*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 49, n. 8, p. 2607-10, 1998.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F. AND COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, 1 (3): 241-256, 2009.

CUCCIOLONI, M., MOZZICAFREDDO, M., ONFILI, L., CECARINI, V., ELEUTERI, A.M., ANGELETTI, M. Natural occurring polyphenols as template for drug design. Focus on serine proteases. **Chem Biol Drug Des.**, V. 74: 1-15, 2009.

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. S. A. CD **Plantas Mediciniais**. Versão 1.0. Itajaí, 1998. 1 CD-ROM.

HALIN, F.; SLOSSE, P.; HOOTELÉ, C. Sedum alkaloides – VII – Structure and synthesis of (+)-4-hydroxysedamine and (+)-4-hydroxyallosedamine. **Tetrahedron**, Oxford, v. 41, n. 14, p. 2891-7, 1985.

HEIDARI-SURESHJANI M.; YAZDI F. T.; MORTAZAVI, S.A.; BEHBAHANI, B.A.; SHAHID F. Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria "in vitro". **Journal of Paramedical Sciences**, v. 5, n.2, 2015.

IBANEZ, S., GALLET, C., DESPRÉS, L. Plant Insecticidal Toxins in Ecological Networks. **Toxins**, V. 4: 228-243, 2012.

LEATHERBARROW, R.J., GraFit Version 5.0., Erithacus Software Ltd, Staines, U.K. 1992.

MICROSOFT CORPORATION. Microsoft Office Excel, 2010, Windows 8. CD-ROM.

MILANEZE, M. A.; GONÇALVES, E. Caracterização morfo-anatômica das folhas de *Sedum dendroideum* DC, CRASSULACEAE In: **Simpósio Brasileiro De Farmacognosia**, 3., 2001, Curitiba. Anais. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia p. FB-23, 2001.

RAWLINGS, N.D.; TOLLE, D.P.; BARRETT, A.J. Evolutionary families of peptidase inhibitors. **Biochemistry Journal**, v.378, p.705–716, 2004.

SENDL, A.; MULINACCI, N.; VINCIERI, F. F.; WAGNER, H. Anti-inflammatory and immunologically active polysaccharides of *Sedum telephium*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 1357-62, 1993.

SIEDLE, L.G., GUSTAVSSON, L., JOHANSSON, S., MURILLO, R., BOHLIN, L., The effect of sesquiterpene lactonas on the release of human neutrophil elastase. **Biochem. Pharmacol**, v. 7559, p. 1-7, 2003.

THOMSON, A., KAPADIA, S.K., The Specificity of the S1 and S2 Subsites of Elastase, **Eur.J.Biochem**, v.102, p. 311-116, 1979.