



INIBIÇÃO DE ELASTASE POR EXTRATO AQUOSO E ETANOLICO DE *Moringa oleifera*.

Luiz Felipe BENTO de Sousa¹; Jorge Alexandre Nogueira SANTOS².

RESUMO

Proteases desempenham uma série de efeitos fisiológicos em seres humanos e caso tenham sua atividade enzimática desregulada, podem gerar diversas enfermidades. A elastase é uma protease com atividade proteolítica controlada pelo inibidor α -1-antitripsina (AAT) produzido pelo fígado. Mutações no gene SERPINA 1 causam deficiência desse inibidor e isso pode desencadear o aparecimento de diversas patologias em humanos como enfisema pulmonar e fibrose cística. Tendo em vista que plantas produzem diferentes metabólitos secundários que podem inibir proteases, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de extratos aquosos e etanólicos de *Moringa oleifera* sobre a atividade enzimática da elastase. Para o extrato aquoso foi observado inibição de 92,5 % na concentração de 230 μ g/ml na atividade enzimática da elastase, enquanto que o extrato etanólico inibiu 65 % da atividade enzimática na concentração de 163 μ g/ml.

Palavras-chave: Elaste; Proteases; Serpina 1

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Moringa Oleifera*

A *Moringa oleifera* é uma planta arbórea que pode atingir 10-12 metros de altura e pertencente à família Moringaceae. É uma planta nativa da Índia, mas também tem ampla distribuição na Jamaica, Nigéria e Paquistão. No Brasil é conhecida como “moringa”, “quiabo-de-quina” e em algumas regiões do país é conhecida como "Acácia branca". É uma planta muito bem adaptada no nosso país, principalmente no nordeste, pois é uma planta que resiste à seca e áreas onde o solo é pouco fértil. Sua propagação pode ser sexuada ou assexuada (Leone *et al.*, 2015).

1.2 Elastase

A elastase é uma serino protease com capacidade de hidrolisar componentes como a fibronectina, colágeno, elastina, lamininas e proteoglicanos, bem como proteínas do plasma. Essa enzima tem sua atividade enzimática regulada por uma glicoproteína denominada α 1 antitripsina (AAT) codificada pelo gene SERPINA1. Mutações nesse gene causam deficiência da AAT (Siedle *et al.*, 2003). A consequência disso é o desequilíbrio elastase/AAT que geram danos severos em diversos tecidos causando enfermidades como choque séptico, falência hepática, artrite reumatoide, enfisema pulmonar e fibrose cística (Johansson, 2002). Tendo em vista que plantas produzem

¹Bolsista Iniciação Científica, IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. E-mail: luizfelipebento12@gmail.com.

²Doscente Orientador, Coordenador do Lab. de Bioquímica, IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. E-mail: jorge.santos@ifsuldeminas.edu.br.

diferentes classes de compostos químicos que atuam como metabólitos secundários que podem inibir diversas enzimas, incluindo proteases, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de extratos aquosos e etanólicos da planta *Moringa oleifera* sobre a atividade da elastase por meio de ensaios enzimáticos de inibição.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os extratos aquosos e etanólicos das folhas de *Moringa Oleifera* foram preparados de acordo com a metodologia de Heidari-Sureshjani (2015). As folhas foram secas em uma estufa a 50°C por 24 horas e posteriormente triturados em um almofariz com a ajuda de um pistilo. O material triturado foi submetido à maceração em água destilada na proporção de 1:10 p/v em geladeira por 48 h. A mistura foi filtrada em papel Whatman n°1 e obteve-se um extrato aquoso transparente e isento de partículas que depois foi congelado até o seu uso. O mesmo procedimento foi utilizado para preparação do extrato etanólico utilizando-se álcool etílico 99,9% para maceração. Para os ensaios enzimáticos foi utilizada a enzima elastase de pâncreas de porco (E.C.3.4.21.36) e o substrato Succinil-ala-ala-ala-p-nitroanilida, ambos adquiridos da empresa Sigma Aldrich. Elastase na concentração de 20 µg/ml foi previamente incubada em tubos de ensaio com diferentes concentrações dos extratos aquosos e etanólicos, em tampão fosfato de sódio 100 mM, temperatura de 37°C, pH 7,5 por 10 minutos. Após esse procedimento foi adicionado em cada tubo 25 uL do substrato na concentração de 1mg/ml e prosseguiu-se a incubação por mais 5 minutos. A reação foi cessada pela adição de ácido acético 30% e a concentração do produto cromogênico formado p-nitroanilina livre foi determinada medindo a absorbância a 410 nm através de um espectrofotômetro modelo V-M5, marca Bel Photonics. Tampão fosfato de sódio 50 mM, pH= 7,5 foi utilizado como controle negativo. O composto epigallocatequina-3-galato (EGCG) foi utilizado como controle positivo, onde foi construída uma curva dose-resposta com concentrações variando entre 10 e 100 µg/ml. A porcentagem de inibição foi calculada através da equação:

$$\% \text{ inibição} = |\text{Abs controle} - \text{Abs extrato}| / \text{Abs controle} \times 100\%$$

Todas as medidas foram realizadas em triplicata. Os dados foram apresentados em termos de média \pm desvio padrão. Todos os valores encontrados foram comparados ao controle positivo (EGCG) através do teste t de Student, utilizando como hipótese nula a diferença entre as médias. O limite de significância para todas as análises estatísticas foi de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos de *Moringa Oleifera* utilizados neste trabalho apresentaram inibição significativa sobre a atividade enzimática da elastase. Para o extrato aquoso foi observado inibição de 92,5 % na concentração de 230 µg/ml (figura 1). O extrato etanólico inibiu 65 % na concentração de 163 µg/ml

(figura 2).

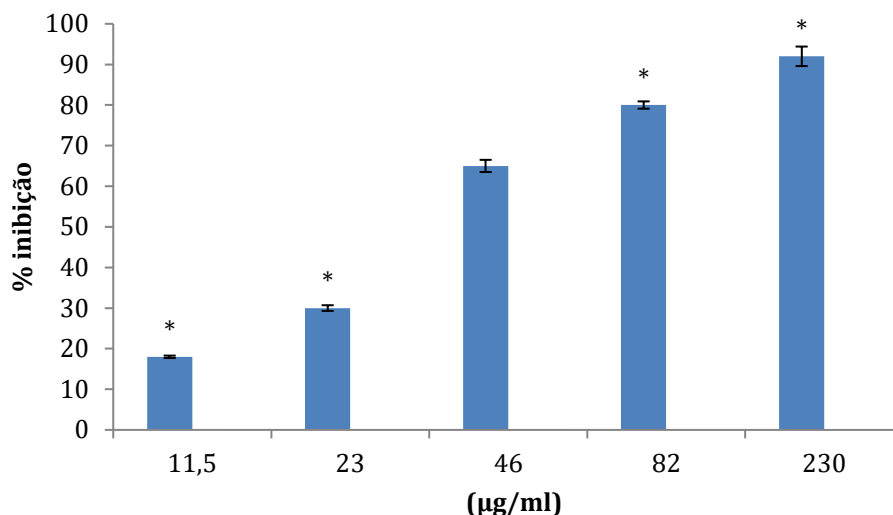


Figura 1. % de inibição da elastase por extrato aquoso de *Moringa Oleifera*. Barras de erros são expressados como desvio padrão, n=3. Asterisco representa diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao controle positivo EGCG na concentração de 100 µg/ml.

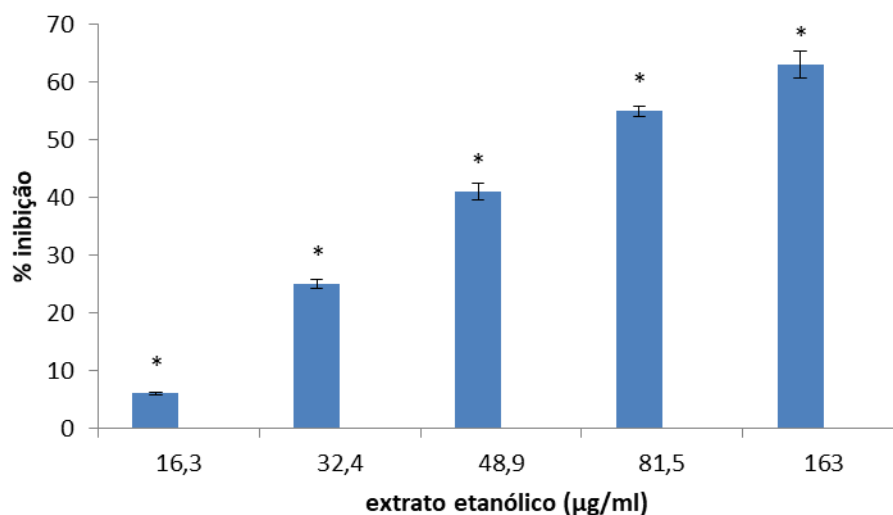


Figura 2. % de inibição da elastase por extrato etanólico de *Moringa Oleifera*. Barras de erros são expressados como desvio padrão, n=3. Asterisco representa diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao controle positivo EGCG na concentração de 100 µg/ml.

Com exceção da solução aquosa na concentração de 46 µg/ml, todos os outros valores de inibição apresentaram diferença significativa em relação ao controle positivo. Estudos de análise fitoquímica mostraram que o gênero *Sedum* produz uma grande variedade de metabólitos secundários como alcalóides, flavonoides e taninos (Saraiva *et al.*, 2018). Esses compostos podem estar envolvidos no processo de inibição da elastase e podem explicar os resultados encontrados em nosso trabalho. Flavonóides como inibidores de proteases, incluindo tripsina e elastase, são descritos na literatura por diversos autores (Sin e Kim, 2005; Middleton; Kandaswami; Theoharides, 2000).

4. CONCLUSÃO

Os extratos de *Moringa oleífera* mostraram resultados significativos de inibição sobre a atividade proteolítica da enzima elastase. Apesar de promissor, mais estudos são necessários para melhor conhecimento da farmacocinética dos compostos bioativos desta planta.

5. REFERÊNCIAS

CASALOTI, L.G.; SANTOS, J. A. N. Inibição de elastase por extrato foliar aquoso e etanólico de *Sedum Dendroideum*: Um estudo *in vitro*. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 04, Ed. 07, Vol. 04, pp. 140-147. 2019. Disponível em: DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/biologia/inibicao-de-elastase. Acesso em 21 de ago. de 2024.

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

JOHANSSON, S. U., Neutrophil multitarget functional bioassay to detect anti-inflammatory natural products. **J. Nat. Prod.**, v. 65, p. 32-41, 2002.

LEONE, A.; SPADA, A.; BATTEZZATI, A.; SCHIRALDI, A.; ARISTIL, J.; BERTOLI, S., Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 6, p. 12791-12835, 2015.

MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C., The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer. **Pharmacol Rev.**, 52:673-75, 2000.

SARAIVA, L. C. F.; MAIA, W.M.M.; LEAL, F.R.; FILHO, L.M.M.; FEITOSA, C.M.; Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleifera*. **Boletim Informativo Geum**, v. 9, n. 2, p. 12, 2018

SIEDLE, B., GUSTAVSSON, L., JOHANSSON, S., MURILLO, R., CASTRO, V., BOHLIN, L., MEFORT, I. The effect of sesquiterpene lactones on the release of human neutrophil elastase. **Biochemical pharmacology**, v. 65, n. 5, p. 897-903, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295202016520?via%3Dihub>. Acesso

em 21 de ago. de 2024.

SIN, B.Y., KIM, H.P., Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. **Archives of Pharmacal Research.**, 28(10): 1152-1155, 2005.