

ISSN: 2319-0124

## INIBIÇÃO DE SERINO PROTEASE POR *Solanum paniculatum*

**Bianca G. CANDIDO<sup>1</sup>; Karen E. BARBOSA<sup>2</sup>; Jorge A. N. SANTOS<sup>3</sup>**

### RESUMO

A elastase é uma serino protease liberada durante respostas imunológicas em que ocorre um grande recrutamento de neutrófilos. O desequilíbrio entre a elastase neutrofílica e o seu inibidor endógeno (AAT), está associado ao surgimento de enfermidades nesse órgão como a fibrose cística e a lesão pulmonar aguda. Não há cura para os problemas causados por esse desequilíbrio. Nesse sentido, evidencia-se que várias pesquisas têm passado a buscar nos últimos anos, moléculas naturais ou sintéticas que possam controlar a ação da elastase neutrofílica em substituição a  $\alpha$ -1-antitripsina. O estudo de compostos bioativos encontrados em espécies vegetais se tornou a principal e mais promissora fonte de novas moléculas com potencial para inibição de proteases. O objetivo deste trabalho, foi examinar os efeitos de extratos aquosos e etanólicos de *Solanum paniculatum* sobre a atividade enzimática da protease elastase. Para o extrato aquoso, foi observado inibição de 42,3, % na concentração de 443,2  $\mu$ g/ml. O extrato etanólico inibiu 56,7 % na concentração de 203,5  $\mu$ g/ml. Estes resultados sugerem que os extratos de *S. paniculatum* podem ser uma fonte potencial de compostos bioativos para a descoberta de novos inibidores para a elastase.

### Palavras-chave:

Enzimas; Elastase; Inibição.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Proteases

Proteases, peptidases ou proteinases referem-se à classe de enzimas hidrolases que catalisam a clivagem de ligações peptídicas e são responsáveis por diversas funções nos sistemas biológicos. De acordo com a natureza química do sítio catalítico e o resíduo de aminoácido no mesmo, é possível evidenciar as principais famílias: as aspartil-, cisteíno-, glutamil-, metalo-, serino-, asparagino e treonino-proteases (PÓLGAR, 2005). A elastase é uma serino protease liberada durante respostas imunológicas em que ocorre um grande recrutamento de neutrófilos, sendo relevante também sua capacidade de degradar um grande número de componentes da matriz extracelular (SIEDLE et. al., 2003). A liberação excessiva de elastase neutrofílica resulta em destruição do parênquima pulmonar e o inibidor endógeno  $\alpha$ -1-antitripsina (AAT) é o responsável por impedir essa destruição.

---

Bolsista PIBIC/CNPq, IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes. E-mail: [bianca.genghini@gmail.com](mailto:bianca.genghini@gmail.com).

<sup>2</sup> Estudante USP – *Campus* Ribeirão Preto. E-mail: [karen.barbosa34@usp.br](mailto:karen.barbosa34@usp.br)

<sup>3</sup> Orientador, IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes. E-mail: [jorge.santos@ifsuldeminas.edu.br](mailto:jorge.santos@ifsuldeminas.edu.br).

O desequilíbrio entre a protease elastase neutrofílica e o seu inibidor endógeno (AAT), está associado ao surgimento de enfermidades nesse órgão como a fibrose cística e a lesão pulmonar aguda. A deficiência de ATT representa um distúrbio genético com grande incidência na população, afetando um a cada 2000-5000 pessoas. Não há cura para os problemas causados por esse desequilíbrio. O tratamento utilizado atualmente se constitui em uma terapia de reposição intravenosa da  $\alpha$ -1-antitripsina que apresenta altos custos, se tornando cada vez mais inacessível à população (CAMELIER, 2008). Moléculas bioativas provenientes de plantas possuem grande potencial para inibição de proteases de interesse clínico (CASALOTTI & SANTOS, 2019; CRAIK et al., 2011). Metabólitos secundários produzidos por plantas agindo como inibidores de serino proteases, incluindo a elastase foi descrito por SIN & KIM, 2005.

### **2.3 *Solanum paniculatum***

*Solanum paniculatum* é uma planta pertencente à ordem *Solanales* e a família *Solanaceae*, popularmente conhecida como jurubeba, comum em quase todo o Brasil. O gênero *Solanum* é tradicionalmente empregado como agente anti-herpes e anticâncer em diferentes países. No Brasil, a planta *S. paniculatum* tem amplo uso medicinal, sendo usada para o tratamento de infecções virais, 5 distúrbios hepáticos e gastrointestinais (VALADARES et al., 2009).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Os extratos aquosos e etanólicos brutos foram preparados a partir dos frutos de *Solanum paniculatum* de acordo com a metodologia de Heidari-Sureshjani (2015). Os frutos colhidos na Escola-Fazenda do Campus Inconfidentes foram secos 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. Seguiu-se o mesmo procedimento 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 o Succinil-ala-ala-ala-p-nitroanilida adquiridos da empresa Sigma Aldrich. Elastase na concentração de 20  $\mu$ g/ml foi previamente incubada em tubos de ensaio com diferentes concentrações dos extratos aquosos (0; 27,7; 55,4; 110,8; 221,6 e 443,2  $\mu$ g/ml) e etanólicos (0; 12,7; 25,4; 50,8; 101,8 e 203,2  $\mu$ g/ml), 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  $\mu$ L do substrato na concentração de 1mg/ml e prosseguiu-se a incubação por mais 5 minutos. A reação foi cessada pela adição de ácido

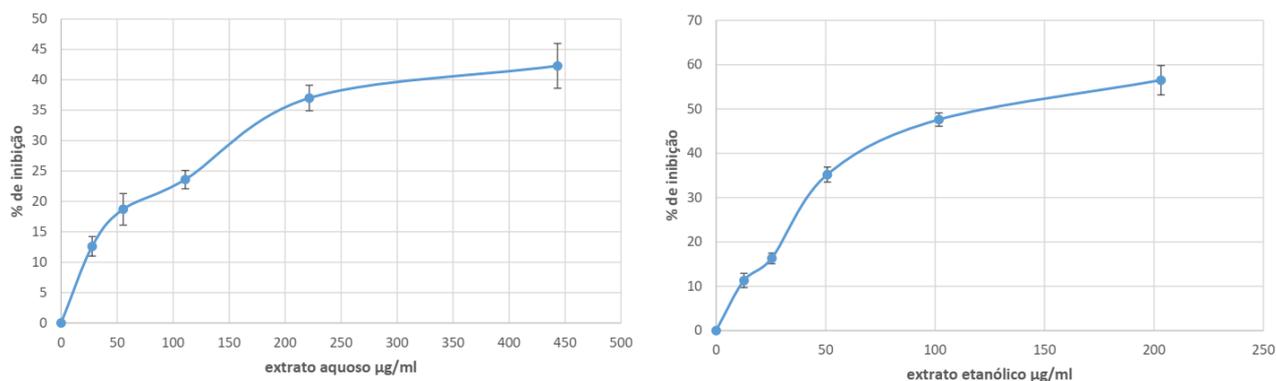
acético 30% e a concentração do produto cromogênico formado p-nitroanilina livre foi determinada medindo a absorbância a 410 nm através de um espectrofotômetro modelo V-M5, marca Bel Photonics. Tampão fosfato de sódio 50 mM, pH= 7,5 foi utilizado como controle negativo e o composto epigallocatequina-3-galato como controle positivo (PIENTAWEEERATCH et.al., 2016; AMBARWATI et al., 2022). A porcentagem de inibição foi calculada através da equação:

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

Todas as medidas foram realizadas em triplicata. Os dados foram apresentados em termos de média  $\pm$  desvio padrão.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os extratos de *Solanum paniculatum* utilizados neste trabalho apresentaram inibição sobre a atividade enzimática da elastase (Figura 1). Para o extrato aquoso foi observado inibição de 42,3 % na concentração de 443,2  $\mu\text{g/ml}$ . O extrato etanólico apresentou inibição um pouco mais efetiva em uma dose menor de extrato, sendo de 56,7 % na concentração de 203,5  $\mu\text{g/ml}$ .



**Figura 1. % de inibição da elastase pelo extrato aquoso e etanólico de *Solanum paniculatum*. Barras de erros são expressados como desvio padrão, n=3.**

Em um estudo realizado recentemente mostrou-se que extratos de *Solanum lycopersicum* Mill. inibem elastase com grande intensidade (AMBARWATI et al., 2022). Estudos também já mostraram que terpenos e flavonóides inibem a elastase produzida por neutrófilos humanos (SIEDLE et al., 2003; JAKIMIUK et al., 2021).

### 4. CONCLUSÕES

Os extratos aquosos e etanólicos de *Solanum paniculatum* apresentaram efeitos inibitórios sobre a atividade da enzima elastase. Estes estudos preliminares serão importantes para pesquisas posteriores sobre a elastase ou outras enzimas de interesse clínico da mesma classe.

## 5. REFERÊNCIAS

- AMBARWATI, N.S.S., ARMANDARI, M.O., WAHYU WIDAYAT, W., YESI DESMIATY, Y., BERNA ELYA, B., AYUN ERWINA ARIFIANI, A.E., ISLAMUDIN AHMAD, I., In vitro studies on the cytotoxicity, elastase, and tyrosinase inhibitory activities of tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) extract, **J Adv Pharm Technol Res**, 13(3):182-186, 2022.
- CAMELIER, Aquiles A. et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency: diagnosis and treatment. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, n. 7, p. 514-527, 2008.
- 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. Julho de 2019.
- CRAIK, C. S.; PAGE, M. J.; MADISON, E. L. Proteases as therapeutics. **Biochemical Journal**, v. 435, n. 1, p. 1-16, 2011.
- JAKIMIUK, K., GESEK, J., ATANASOV, A.G. AND TOMCZYKA, M., Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase, **J Enzyme Inhib Med Chem**, 36(1): 1016–1028, 2021.
- PIENTAWEEERATCH, S., PANAPISAL, V., TANSIRIKONGKOL A.; Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and silymarin: an in vitro comparative study for anti-aging applications. **Pharmaceutical Biology**, v.54, n.9, p.1865-1872, 2016.
- POLGÁR, L. The catalytic triad of serine peptidases. **Cellular and molecular life sciences CMLS**, v. 62, n. 19-20, p. 2161-2172, 2005.
- 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.
- SIN, B.Y.; KIM, H.P., Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. **Archives of pharmacal research**, v. 28, n. 10, p. 1152-1155, 2005.
- VALADARES, Ydia M. et al. Antiviral activity of *Solanum paniculatum* extract and constituents. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 64, n. 11-12, p. 813-818, 2009.