

## Inibição da DNA-topoisomerase I por Derivados do Diterpeno *trans*-Desidrocrotonina

Lidiane Aparecida de Almeida (IC)<sup>1</sup>, Juliana do Nascimento Lunz (IC)<sup>1</sup>, Andressa Esteves-Souza (PQ)<sup>1,2</sup>, Aurea Echevarria (PQ)<sup>1</sup>, Maria Aparecida Medeiros Maciel (PQ)<sup>3</sup>, Ângelo da Cunha Pinto (PQ)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, ICE, UFRRJ, Seropédica, RJ; <sup>2</sup>Instituto de Química, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ;

<sup>3</sup>Departamento de Química, UFRN, Natal, RN

Palavras Chave: *trans*-desidrocrotonina, DNA-topoisomerase I, atividade citotóxica e-mail: aesteves@ufrj.br

### Introdução

A *trans*-desidrocrotonina (DCTN), um diterpeno do tipo 19-*nor*-clerodano, tem sido evidenciado como principal princípio ativo da Sacaca.<sup>1</sup> Atualmente, a DCTN tem sido alvo de muitos estudos e várias atividades biológicas atribuídas a esta substância, entre elas as atividades antitumoral, antifúngica, citotóxica, antimicrobiana e antiulcerogênica.<sup>2</sup>

Os relevantes resultados de atividade citotóxica contra o carcinoma de Ehrlich e a leucemia K562 apresentada pelos derivados da DCTN,<sup>3</sup> incentivou-nos a avaliar a ação inibidora destas substâncias sobre a DNA-topoisomerase I.

### Resultados e Discussão

**Síntese:** Os derivados 1-8 foram obtidos a partir de reações de modificação da DCTN envolvendo o C-2 do anel A.<sup>3</sup> Os derivados obtidos encontram-se na Figura 1.

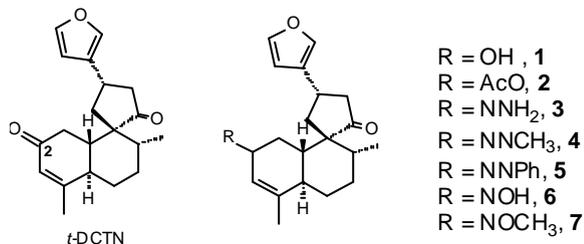


Figura 1. DCTN e derivados

**Inibição da DNA-topoisomerase I** A avaliação da inibição da atividade da DNA-topoisomerase foi realizada através do ensaio de relaxamento do DNA pBR322, segundo a metodologia descrita na literatura.<sup>4</sup> O ensaio envolveu a incubação em estufa a 37°C, de DNA, enzima, água, tampão de reação, a DCTN e os derivados 1-7, por 30 minutos. Ao fim da incubação foi adicionado 1µL da solução de SDS (4 µL SDS 10% + 4 µL glicerol 50% + 4 µL azul de bromofenol). Logo após, retirou-se 10 µL da solução final, azul, e aplicou-se em gel de agarose (1%).

Após a corrida da eletroforese, a revelação foi realizada utilizando-se brometo de etídeo (5µg/mL) por 30 minutos e, em seguida o gel foi lavado com

H<sub>2</sub>O, levado ao transiluminador e fotografado. O controle positivo utilizado foi a campotecina 20µM.

Os resultados de citotoxicidade já obtidos anteriormente indicam o derivado 5 como sendo os mais ativos contra os tipos de células cancerígenas estudadas. Os derivados 1, 3, 6 e 7 apresentaram citotoxicidade razoável contra as células de Ehrlich e/ou K562.

**Tabela.** Inibição da Atividade da enzima DNA-topoisomerase I

Composto	Dose no ensaio	
	20mM	0,2mM
DCTN	+++	n.a.
1	n.a.	n.a.
2	++++	n.a.
3	++++	++++
4	n.a.	n.a.
5	++++	++++
6	++++	n.a.
7	++++	++++

\* n.a.: não ativo

O estudo da inibição da DNA-topoisomerase I (Tabela) corroborou com os resultados de citotoxicidade encontrados. Na dose de 20µM somente o derivado 2 não apresentou atividade. Quando a dose foi diminuída para 0,2µM somente os compostos 3, 5 e 7 mantiveram sua ação inibidora sobre a enzima.

### Conclusões

Os resultados obtidos permitem sugerir que os compostos estudados são promissores agentes antiproliferativos e possivelmente, agem através da inibição da DNA-topoisomerase I.

### Agradecimentos

CAPES/CNPq

<sup>1</sup> Maciel, M.A.M et al. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, 70, 40.

<sup>2</sup> Grynberg, N.F. et al. *Planta Med.* **1999**, 65, 1.

<sup>3</sup> Esteves-Souza, A. et al *BMOS* **2005**.

<sup>4</sup> Esteves-Souza, A. et al *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 492.

