

## Produtos Naturais como Potentes Inibidores da Catepsina V

Richele P. Severino<sup>1,2</sup> (PQ)\*, Paulo C. Vieira<sup>2</sup> (PQ), Rafael V. C. Guido<sup>3</sup> (PQ),  
Adriano D. Andricopulo<sup>3</sup> (PQ), Dieter Brömme<sup>4</sup> (PQ).

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Goiás, Catalão, GO, Brasil. <sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil. <sup>3</sup> Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil. <sup>4</sup> Department of Oral Biological & Medical Sciences, University of British Columbia, Vancouver, Canadá. \* e-mail: richeleps@yahoo.com.br

Palavras Chave: produtos naturais, alcalóides, flavonóides, inibidores, catepsina V.

### Introdução

A natureza, especialmente os vegetais, são fontes ricas de substâncias com grande variedade estrutural e com alto potencial farmacológico<sup>1</sup>. O uso de receptores específicos como enzimas alvo, através de ensaios bioquímicos, representa uma ótima estratégia na identificação de substâncias bioativas, como inibidores enzimáticos<sup>2</sup>.

Existem crescentes evidências da contribuição das catepsinas lisossomais nos eventos proteolíticos relacionados à progressão tumoral, ao desenvolvimento e progressão das doenças cardiovasculares, incluindo a aterosclerose e a formação de aneurismas, e na reabsorção óssea (osteoporose).

Em situações patológicas, a catepsina V é considerada um potente marcador de diagnóstico de tumores no cólon<sup>3</sup> e está diretamente associada ao processo de desenvolvimento da aterosclerose<sup>4</sup>.

Este trabalho tem como objetivo avaliar produtos naturais e derivados sintéticos como inibidores específicos de catepsina V.

### Resultados e Discussão

A triagem química inicial foi feita utilizando quatro diferentes enzimas (catepsinas K, V, L e S) e cerca de 300 compostos foram testados, entre produtos de origem natural e derivados sintéticos, com o objetivo de identificar classes de substâncias capazes de interagir efetivamente com as enzimas estudadas. Os ensaios foram realizados em um espectrofluorímetro ( $\lambda_{em}$  460 nm e  $\lambda_{ex}$  355 nm) com leitor de placa de ELISA (96 poços), utilizando substrato fluorogênico Z-FR-MCA. Os compostos foram dissolvidos em DMSO e testados inicialmente numa concentração única de 25  $\mu$ M/poço.

Dentre os compostos testados, destacou-se a atividade dos flavonóides e alcalóides frente à catepsina V. Depois de selecionados os compostos com melhor atividade (Figura 1) determinaram-se os valores de potência ( $IC_{50}$ ), as constantes de afinidade ( $K_i$ ) e o mecanismo de ação (Tabela 1). Posteriormente realizaram-se estudos de modelagem molecular para a catepsina V.

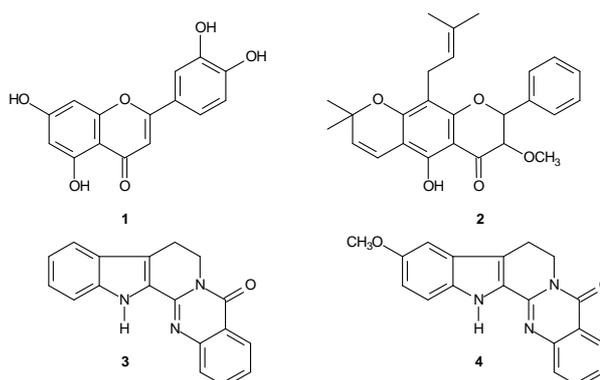


Figura 1. Estrutura química dos compostos avaliados frente à catepsina V.

Tabela 1. Valores da potência ( $IC_{50}$ ), da constante de afinidade e mecanismo de ação para alguns inibidores.

Inibidor	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)	Mecanismo de ação
1	2,5 $\pm$ 0,5	*	*
2	13,5 $\pm$ 5,3	*	*
3	4,8 $\pm$ 0,6	3,0	competitivo
4	1,8 $\pm$ 0,2	0,6	competitivo

\* Experimentos ainda não realizados.

### Conclusões

Os alcalóides indolpiridoquinazolinicos (2 e 4) apresentaram um mecanismo de ação do tipo competitivo, proporcionando o entendimento do modo de ligação e dos padrões de reconhecimento molecular na enzima alvo, além de mostrar a potencialidade dos produtos naturais como inibidores da catepsina V.

### Agradecimentos

FAPESP, CAPES e CNPq.

<sup>1</sup>Hostettmann, K.; Queiroz, E. F.; Vieira, P. C.; Princípios Ativos de Plantas Superiores, Editora da UFSCar, 2003.

<sup>2</sup>Rouh, A. M.; Chem. Engin. News, 2003, 13: 77-107.

<sup>3</sup>Santamaria, I.; Velasco, G.; Cazorla, M.; Fueyo, A.; Campo, E.; Lopez-Otin, C.; Cancer Res., 1998, 58: 1624-1630.

<sup>4</sup>Yasuda, Y.; Li, Z.; Greenbaum, D.; Bogoy, M.; Weber, E.; Brömme, D.; J. Biol. Chem., 2004, 279: 36761-36770.