

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL QUÍMICO DE PLANTAS DO GÊNERO *Zanthoxylum* L. POR CLAE-DAD BUSCANDO INIBIDORES ESPECÍFICOS DE CATEPSINA L

Emerson F. Marques (IC)^{*1}, Richele P. Severino (PQ)¹, Paulo C. Vieira (PQ)¹, João B. Fernandes (PQ)¹, M. Fátima das G. F. da Silva (PQ)¹,

¹Departamento de Química – Laboratório de Produtos Naturais – UFSCar; *emerson_marques27@hotmail.com

Palavras Chave: catepsina L, *Zanthoxylum*, ensaios biológicos.

Introdução

Os vegetais são fontes de substâncias com grande variedade estrutural e com alto potencial farmacológico. A busca racional por fármacos de origem vegetal tem como uma de suas bases a triagem onde se utiliza uma grande variedade de espécies vegetais para testes em modelos biológicos específicos¹.

As catepsinas são enzimas, que além do seu papel fisiológico normal, estão envolvidas em vários processos patológicos. Estudos demonstraram que a catepsina L está relacionada a distúrbios capilares, acantose e hiperproliferação epidermal, estando diretamente associada ao desenvolvimento de carcinomas epiteliais. Ratos deficientes em catepsina L mostraram alterações no coração e são afetados por cardiomiopatia dilatada, principal causa de infartos e transplantes do coração².

Assim, para a busca de inibidores da catepsina L, investigaram-se várias espécies vegetais pertencentes ao gênero *Zanthoxylum*.

Resultados e Discussão

Na triagem realizada foram utilizadas seis espécies do gênero *Zanthoxylum* e a catepsina L como alvo molecular. Os ensaios biológicos foram realizados em um espectrofluorímetro de placa de ELISA (96 poços) monitorando a hidrólise do substrato fluorogênico Z-FR-MCA.

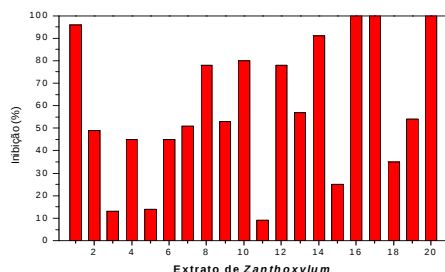


Gráfico 01. Porcentagem de inibição dos extratos de *Zanthoxylum* a 250 µg por poço

Os extratos que apresentaram inibição da atividade enzimática acima de 70% foram analisados por CLAE-DAD, sendo o perfil cromatográfico determinado por eluição gradiente exploratória utilizando o método desenvolvido por SNYDER e DOLAN³.

Os cromatogramas obtidos em eluição gradiente com ACN demonstraram um perfil químico distinto para as diferentes espécies de *Zanthoxylum*, porém há a incidência de algumas bandas nas diferentes espécies.

Dentre os extratos avaliados, destacam-se os extratos das folhas de *Z. acuminatum* em CH₂Cl₂ e MeOH, que apresentaram 100% de inibição. Estes extratos foram analisados detalhadamente por CLAE-DAD verificando as similaridades de composição química entre eles (Figura 01 e 02).

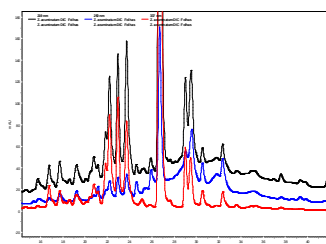


Figura 01. Cromatograma do extrato ZAFD de folhas de *Z. acuminatum* (CH₂Cl₂)

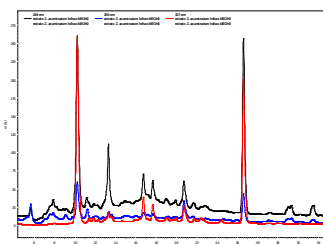


Figura 02. Cromatograma do extrato ZAFM de *Z. acuminatum* (CH₃OH)

Análises de RMN de ¹H 1D e 2D dos extratos das folhas, indicaram sinais característicos de anéis cumarínicos com substituição em H-7. As análises dos espectros de 2D apresentam correlações características de substituintes monoterpênicos.

Em sequência empregou-se uma técnica de extração em coluna C₁₈ baseado em SPE cartucho para o extrato em diclorometano, obtendo-se 4 frações. As frações foram ensaiadas frente à catepsina L e as mais ativas foram analisadas por CLAE-DAD e RMN de ¹H. Os resultados sugerem que estas frações são extremamente enriquecidas com cumarinas, substâncias que apresentam alta inibição conforme dados já obtidos pelo grupo.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que o uso integrado das análises por CLAE-DAD com os ensaios bioquímicos com a catepsina L fornece uma boa e eficiente metodologia no biomonitoramento de atividade biológica. Os resultados indicam que o uso desta metodologia levou a substâncias que podem ser de grande interesse na busca de protótipos para o desenvolvimento de fármacos.

Agradecimentos



¹Walz, M.; Kellermann, S.; Bylaite, M.; Andre,B.; Ruther, U.; Paus, R.; Kloepper, J. E.; Reifenberger, J.; Ruzicka,T. *Exp. Dermatology*. **2007**, 16, 715–723.

²Clardy, J.; Walsh, C. *Nature*, **2004**, 432, 829-837.

³Snyder, L.R.; Dolan, J.W.; *J. Chromathography A*, **1996**, 721, 3-14