

## Ensaio analítico para avaliação da atividade enzimática e triagem de inibidores da ornitina descarboxilase

---

<https://espacoalexandria.ufrj.br/category/artigos>

Publicado em 25 de setembro de 2023.

A ornitina descarboxilase (ODC) é uma enzima importante na síntese das poliaminas envolvidas no controle de crescimento e requeridas para uma variedade de eventos biológicos como síntese de proteína, replicação do DNA e divisão celular. Esta pesquisa investigou a importância da ODC como alvo promissor para o tratamento de diversos tipos de câncer e outras doenças infecciosas, selecionando o método adequado para triagem de potenciais inibidores e contribuindo para acelerar a descoberta de novos medicamentos.

---

Analytical assays to evaluate enzymatic activity and screening of inhibitors for ornithine. Luzineide W. Tinoco, Bruno M. S. Santos, Jhones M. S. Soares, Fernanda G. Finelli. *Front. Anal. Sci.* 2:1018080, 2022.

Resenha:

A ornitina descarboxilase (ODC) tem a função de catalisar a descarboxilação da ornitina e produzir putrescina. A ODC é ativada como homodímero e depende de piridoxal 5-fosfato (PLP) como cofator. Um aumento na concentração de poliaminas, tem sido associado à carcinogênese. Portanto, há interesse em identificar inibidores desta via como potenciais quimioterápicos e agentes quimiopreventivos. O inibidor da ODC mais conhecido em mamíferos é a  $\alpha$ -difluorometilornitina (DFMO), um composto altamente seletivo que faz a alquilação do Cys-360 (um resíduo do sítio ativo ODC). Embora o DFMO tenha sido desenvolvido para o tratamento do câncer, a Organização Mundial da Saúde recomenda seu uso associado com nifurtimox para o tratamento de tripanossomíase africana humana. Diversos métodos para determinar a atividade da ODC são encontrados na literatura, como por exemplo, as análises com marcadores radioativos, ensaios colorimétricos usando enzimas auxiliares para detectar liberação de  $\text{CO}_2$  ou  $\text{H}_2\text{O}_2$ , separações cromatográficas com derivação de putrescina, espectrometria de massa e técnicas espectroscópicas.

Devido à sua importância em diversas funções celulares e ampla distribuição em diversos organismos vivos, desde a década de 70 existe grande interesse terapêutico na inibição do ODC, com o consequente esgotamento da biossíntese de poliamina. A reação da ODC pode ser inibida por cofator (PLP), substrato (ornitina) ou produtos análogos (putrescina). A  $\alpha$ -difluorometilornitina (DFMO), análogo da ornitina, é o inibidor mais importante e mais conhecido da ornitina descarboxilase.

Embora a enzima ODC não seja eficaz sozinha para o tratamento de câncer, ela é utilizada em combinação com outros medicamentos. Há diversos ensaios clínicos onde ela é usada como agente quimiopreventivo ou como coadjuvante para o tratamento do

neuroblastoma. Além do cofator, substrato e análogos de produtos de reação ODC, outras classes de inibidores (benzotiazóis, indóis, bisbiguanida e ditioamidina) com diferentes modos de ligação foram identificados, indicando sítios alostéricos na enzima. A identificação dessas novas classes de inibidores foi feita a partir de uma triagem enzimática de alto rendimento com diversas moléculas diferentes, demonstrando a importância deste método para identificar inibidores de ODC mais seletivos e potentes, com uma melhor farmacocinética.

Existem várias metodologias na literatura para avaliar a atividade enzimática da ODC. Os métodos mais usados são baseados na detecção de CO<sub>2</sub> radiomarcado ou DMFO radiomarcado ligado à enzima ornitina descarboxilase, captura do CO<sub>2</sub> para a conversão de NADH em NAD com o uso de fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC) e malato desidrogenase (MDH), na quimiluminescência ou detecção colorimétrica de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzido pela oxidação da putrescina por amina oxidases, e na deriva por análise pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ou espectrometria de massa (MS) e fluorescência. Todavia, não havia uma compilação de métodos existentes na literatura, o que tornava difícil escolher o método mais adequado para avaliar a atividade da ODC e a triagem de inibidores. Portanto os autores fizeram uma breve descrição dos principais métodos encontrados, descrevendo suas vantagens e possíveis aplicações.

Ainda que a ODC seja importante como alvo terapêutico, a identificação de novos inibidores a partir da triagem de compostos é limitada pela dificuldade de avaliar a atividade da ornitina descarboxilase de alto rendimento. Isto tem sido um desafio para as descarboxilases, pois tanto o substrato como o produto não são diretamente detectados por técnicas espectroscópicas, processos de derivação ou conversão em complexos detectáveis por espectrofotometria. Os estudos mostraram que apenas o PEPC-MDH e o ensaio de fluorescência provaram ser adequados para HTS devido suas relevâncias biológicas, sensibilidades e viabilidades econômicas. No entanto, apenas no PEPC-MDH as condições experimentais e de automação foram avaliadas e otimizadas para atender aos critérios de uma HTS de alta qualidade. Uma alternativa promissora são os ensaios de HTS para ODC, baseados nos processos de enzimas de ligação empregando bibliotecas de compostos ou fragmentos moleculares. Nas últimas décadas, essa técnica tem se mostrado promissora, originando diversos compostos que estão em fases de testes e alguns medicamentos que já estão sendo comercializados.

Você pode ler o artigo “Analytical assays to evaluate enzymatic activity and screening of inhibitors for ornithine decarboxylase” em: <https://doi.org/10.3389/frans.2022.1018080>

### Referência Bibliográfica

TINOCO LW, da Silva Santos BM, Soares JMdS and Finelli FG (2022), Analytical assays to evaluate enzymatic activity and screening of inhibitors for ornithine decarboxylase. **Front. Anal. Sci.** 2:1018080. doi: 10.3389/frans.2022.1018080

Por Ana Beatriz Costa Ferreira  
Graduanda do curso de Farmácia da UFRJ