

# Identificação de novos inibidores da enzima Nucleosídeo Hidrolase de *Leishmania donovani*

Millena S. Ceroulo (IC)<sup>1</sup>, Rodrigo C. da Silva (PG)<sup>1</sup>, Isabela T. Ximenes (PG)<sup>1</sup>, Maria Cecilia B.V. de Souza (PQ)<sup>1</sup>, Fernanda C. S. Boechat (PQ)<sup>1</sup>, Marcela C. Moraes (PQ)<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Fluminense, Departamento de Química Orgânica, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil

\*e-mail: [mcmoraes@id.uff.br](mailto:mcmoraes@id.uff.br)

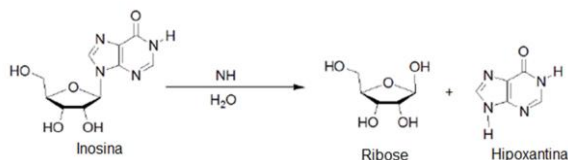
Palavras Chave: *Leishmania donovani*, estudos cinéticos, imobilização enzimática, cromatografia líquida, triagem de inibidores.

## Introdução

Leishmanioses são doenças negligenciadas que afetam principalmente as populações economicamente vulneráveis, podendo ser causada por diferentes espécies de protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania*. A leishmaniose visceral é considerada a forma mais grave da doença, podendo ser fatal. O tratamento atual da leishmaniose apresenta desvantagens como resistência à fármacos, elevado custo e toxicidade. Sendo assim, é imprescindível o desenvolvimento de novos fármacos eficientes e seguros para o tratamento desta doença. *Leishmania donovani*, protozoário que causa a leishmaniose visceral, é altamente dependente da via de salvação de purinas para a obtenção de nucleosídeos. A Nucleosídeo Hidrolase (LdNH) é uma enzima chave desta via e, por isso, tem sido considerada um alvo promissor para a busca por novos fármacos para o tratamento da leishmaniose. Neste trabalho, um ensaio de atividade previamente desenvolvido no grupo foi empregado na identificação e caracterização de novos inibidores desta enzima.

## Resultados e Discussão

A enzima LdNH catalisa a hidrólise da ligação glicosídica C-N de ribonucleosídeos, como a inosina, levando a formação da ribose livre e das bases nitrogenadas correspondentes, como a hipoxantina (Esquema 1).



**Esquema 1.** Reação catalisada pela enzima LdNH

Neste trabalho, a enzima LdNH foi imobilizada covalentemente em partículas magnéticas comercializadas pela Sigma<sup>®</sup> (terminação amino, 10 μM) através da formação de bases de Schiff e empregada em ensaios de triagem, nos quais a hipoxantina formada é diretamente quantificada através de um método cromatográfico previamente desenvolvido e validado. A separação

cromatográfica de inosina e hipoxantina foi realizada utilizando-se uma coluna C18 (150 × 4,6 mm) e como fase móvel uma solução aquosa de Trietilamina (1% v/v, pH 6,0 acidificada com AcOH)/Metanol (95:5), 0,80 mL.min<sup>-1</sup> e λ = 249 nm. Nos ensaios de triagem, uma série com 22 ribonucleosídeos quinolônicos foi avaliada através da determinação do percentual de inibição a 200 μmol.L<sup>-1</sup>. Doze compostos apresentaram inibição superior a 70% nestas condições e suas capacidades inibitórias (IC<sub>50</sub>) estão sendo investigadas (Figura 1).

Composto	R <sub>1</sub>	IC <sub>50</sub> (μM)
1	F	7,78±1,17
2	Cl	99,6±22,1
3	Br	8,29±1,88
4	H	5,31±1,53
5	CF <sub>3</sub>	*

Composto	R <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> (μM)
6	F	*
7	Cl	15,28±2,91
8	Br	*
9	H	*
10	CF <sub>3</sub>	*

Composto	R <sub>3</sub>	IC <sub>50</sub> (μM)
11	F	6,60±0,52
12	Cl	2,57±0,22

**Figura 1.** Estruturas dos ribonucleosídeos identificados como inibidores da LdNH e valores de IC<sub>50</sub> determinados até o momento. Campos indicados com (\*) representam valores ainda não obtidos.

O novos compostos bioativos identificados demonstraram IC<sub>50</sub> entre 2,57 ± 0,22 e 138,1 ± 39,9 μmol.L<sup>-1</sup> e os respectivos mecanismos de inibição serão determinados.

## Conclusões

Através da nova metodologia desenvolvida, doze inibidores da enzima LdNH foram identificados e estão sendo caracterizados neste estudo, através de uma metodologia confiável, que permite a reutilização da enzima em diversos ensaios. Os valores de IC<sub>50</sub> obtidos evidenciam que os ribonucleosídeos avaliados são potentes inibidores da LdNH.

## Agradecimentos

FAPERJ, CNPq e CAPES

[1] de Moraes, M. C. et al. *J. Chrom. A.* 2012, 1232, 110–115.

[2] Figueroa-Villar, J. D. & Sales, E. M. *Chem. Biol. Interact.* 2017, 263, 18–27.