

Imobilização da enzima Nucleosídeo Hidrolase de *Leishmania donovani* em nanopartículas magnéticas

Pedro R. C. Medeiros (IC)¹, Pamella C. O. Oliveira (PG)¹, Martin Albino (PQ)², Gilberto A. Romeiro (PQ)¹, Luzineide W. Tinoco (PQ)³, Claudio Sangregorio (PQ)², Marcela C. Moraes (PQ)^{1,*}

*mcmoraes@id.uff.br

¹Departamento de Química Orgânica, UFF – Niterói, RJ; ²Instituto de Química Ugo Schiff, UNIFI – Florença, Itália; ³IPPN, UFRJ – Rio de Janeiro, RJ.

Palavras-Chave: Imobilização, Partículas Magnéticas, Nucleosídeo Hidrolase, *Leishmania donovani*.

Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é a forma mais grave das leishmanioses e é causada pelo protozoário *Leishmania donovani* (Ld). O elevado custo e a falta de eficácia dos atuais tratamentos para a LV evidenciam a necessidade de se desenvolver novos fármacos. A enzima Nucleosídeo Hidrolase (NH) atua na via de salvação de purinas e é fundamental para a biossíntese de RNA e DNA pelo Ld. Assim, a enzima LdNH, que catalisa a hidrólise da ligação N-glicosídica de ribonucleosídeos, como inosina, levando a formação da ribose livre e da correspondente base nitrogenada, como a hipoxantina (Figura 1), pode ser considerada um alvo promissor na busca de novos potenciais fármacos.¹

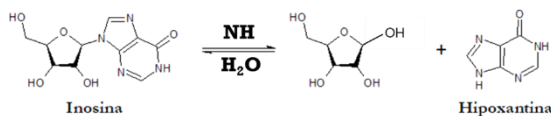


Figura 1: Exemplo de reação catalisada pela LdNH

Nos ensaios de triagem de inibidores enzimáticos, o uso de partículas magnéticas (PMs) como suportes sólidos para imobilização de macromoléculas tem sido amplamente utilizado devido à fácil funcionalização e à propriedade paramagnética.² A fácil retenção e recuperação da PM recoberta com o alvo biológico torna este suporte muito interessante no desenvolvimento de metodologias de triagem.³ Neste trabalho, a enzima LdNH foi imobilizada em nanopartículas magnéticas (NPMs) de diferentes tamanhos, buscando desenvolver novas metodologias de triagem de inibidores. A imobilização da LdNH na superfície das NPMs funcionalizadas com grupos -NH₂ foi realizada por meio de bases de Schiff, utilizando o glutaraldeído como agente espaçador.

Resultados e Discussão

A imobilização da enzima em NPMs foi avaliada considerando: rendimento mássico do processo de imobilização, reusabilidade e determinação da constante de Michaelis-Menten através de estudos cinéticos. Em todos os ensaios, a atividade da enzima foi monitorada por um método cromatográfico através da quantificação da hipoxantina formada⁴.

XVII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química -Regional Rio de Janeiro (XVIIERSBQ-Rio)

A menor NPM, de 25 nm, apresentou o maior rendimento e menor valor de K_m (Tabela 1). A combinação desses dados mostra que esse material foi mais eficiente na imobilização da enzima e na preservação de sua mobilidade conformacional.

Tabela 1. Estudo da imobilização LdNH em NPMs.

	RM	Massa LdNH	K _m (μmol.L ⁻¹)
25 nm	53%	13,2 μg	486,5 ± 30,0
57 nm	11%	2,3 μg	797,3 ± 71,7
105 nm	38%	7,9 μg	839,4 ± 54,7

RM: Rendimento mássico

Na etapa seguinte, avaliou-se a capacidade de reutilização das NPMs recobertas com a LdNH em 5 ciclos reacionais consecutivos (Figura 2).

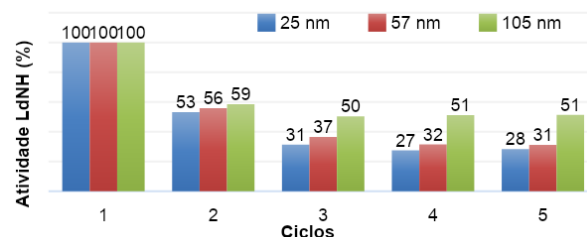


Figura 2: Estudo de reuso das NPMs.

De modo geral, todas as NPMs apresentaram comportamento semelhante no ensaio. Contudo observa-se uma tendência entre os tamanhos: quanto maior o tamanho, menor é a perda de atividade ao longo dos ciclos.

Conclusões

Os resultados mostram que a NPM de 25 nm apresentou melhor performance na imobilização, porém seu menor tamanho resultou em maior perda no ensaio de reuso, que pode estar associada à diferença em resposta magnética de cada NP.

Agradecimentos

CNPq, FAPERJ, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001 e CAPES PrInt.

¹ Figueroa-Villar, J.D. e Sales, E.M. *Chem.-Biol. Interact* **2017**, *263*, 18.

² Ximenes, I. A. T.; Oliveira, P. C. O.; Wegermann, C. A. e Moraes, M. C. J. *Pharm. Biomed. Anal.* **2021**, *204*, 114286.

³ Lima, J. M.; Furlani, I. L.; Guimarães da Silva, L. R.; Valverde, A. L. e Cass, Q.B. *Anal. Methods*, **2020**, *12*, 4116.

⁴ De Faria, R.A.; Oliveira, P.C.O.; de Carvalho, M.D.P.; Peixoto, B.S.; Severino, V.G.P.; Tinoco, L.W.; Rodrigues, S.V.; de Moraes, M.C. J. *Pharm Biomed Anal* **2022**, *211*, 114614.