

## Avaliação do potencial antimalárico. Estudo da interação entre cromenos de *Peperomia obtusifolia* (Piperaceae) e o heme (FP).

Jonas da S. Mota (PG)<sup>1,2</sup>, Patrícia M. Pauletti (PQ)<sup>1</sup>, Ian Castro-Gamboa (PQ)<sup>1</sup>, Dulce H. S. Silva (PQ)<sup>1</sup>, Vanderlan da S. Bolzani (PQ)<sup>1</sup>, Massuo J. Kato (PQ)<sup>3</sup> e Maysa Furlan (PQ)<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>NuBBE – Núcleo de Biossíntese, Bioensaio e Ecofisiologia de Produtos Naturais - IQ - Unesp – Araraquara, SP.

<sup>2</sup>UEMS – Dourado, MS. <sup>3</sup>IQ – USP, São Paulo, SP.

\*jsmota@ig.com.br

Palavras Chave: hemeina, antimalárico, Piperaceae, cromenos.

### Introdução

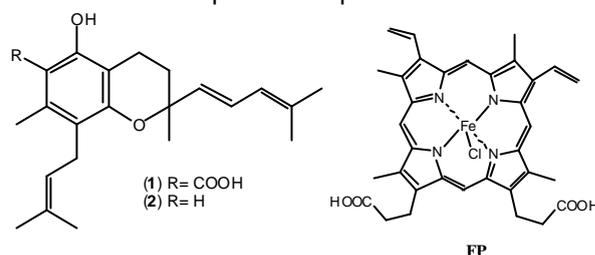
O *Plasmodium*, agente etiológico da malária, degrada hemoglobina para a síntese de proteínas liberando heme (FP) tóxico, que é armazenado na forma de um polímero inerte chamado hemozoína ou pigmento malárico, onde o grupo propionato do FP liga-se ao Fe<sup>3+</sup> de outro FP. Sendo assim, substâncias capazes de inibir a polimerização de FP podem servir de modelos na terapia da malária<sup>1</sup>.

### Resultados e Discussão

**Fitoquímica:** as folhas (600 g) e os caules (64 g) de *P. obtusifolia* (KATO 70) foram moídos e extraídos com etanol. Os extratos das folhas (9,6 g) e dos caules (5,7 g) foram submetidos a processo de partição líquido-líquido. As substâncias 3,4 diidro-5-hidroxi-2,7-dimetil-8 (-2-metil-2-butenil)-2-(4-metil-1,3-pentadienil)-2H-1-benzopirano-6-ácido carboxílico (1) (0,05 mg) e peperobtusina A (0,005g) (2) foram isoladas após CC e CCDP da fração hexânica das folhas (16,2 g) e dos caules (2,0g), respectivamente.

**Interação FP-substância por espectrofotometria no UV:** Uma solução de FP (12 mM) foi preparada em DMSO 40% + HEPES pH 7,5 (solução A). 1 e 2 (2 mM) foram dissolvidas em DMSO, diluídas na solução A e analisadas em diferentes concentrações de 350-450 nm no leitor de microplaca Synergy HT-BioTek. Os valores finais foram processados no programa Excel. **Interação FP-substância por HRMS:** a solução de FP (17 mM) foi preparada em 100 µL de NH<sub>4</sub>OH e 900 µL de MeOH. 33 mM de 1 e 2 foram dissolvidos em DMSO. As seguintes soluções foram preparadas e encubadas a 37 °C por 24 horas: **Substâncias:** 60 µL de amostra, 250 µL de DMSO e 750 µL de MeOH. **Controle:** 60 µL de FP, 250 µL de DMSO e 750 µL de MeOH. **Substância + FP:** 60 µL de amostra, 60 µL de FP, 250 µL de DMSO e 690 µL de MeOH. Estas soluções após diluição foram analisadas por HRMS (Bruker Daltonics ultrOTOFQ-ESI-TOF). Os resultados obtidos nas análises empregando espectrometria no UV mostraram a interação entre FP e o padrão cloroquina, que foi evidenciado por uma diminuição na banda em ? 405 nm, que pode ser atribuída à

formação de complexo (doador-aceptor) entre estas moléculas. As substâncias 1 e 2 apresentaram também uma diminuição nesta banda de absorção porém bem menor que a cloroquina.



Após este resultado preliminar, foram feitas análises por espectrometria de massas de 1, 2 e FP, que evidenciaram a presença dos íons de  $m/z$  369,2226 [1 – H]<sup>-</sup>,  $m/z$  325,2496 [2 – H]<sup>-</sup>,  $m/z$  632,1971 [FP-OH – H]<sup>-</sup> e 646,2122 [FP-OCH<sub>3</sub> – H]<sup>-</sup>, respectivamente. As análises de 1 e 2 encubados com o FP confirmaram os íons de  $m/z$  369,2294 [1 – H]<sup>-</sup>, 632,2120 [FP-OH – H]<sup>-</sup>, 646,2271 [FP-OCH<sub>3</sub> – H]<sup>-</sup> e 984,4369 [FP-1 – 2 H]<sup>-</sup>; 325,2402 [2 – H]<sup>-</sup>, 632,2198 [FP-OH – H]<sup>-</sup>, 646,2358 [FP-OCH<sub>3</sub> – H]<sup>-</sup> e 940,4559 [FP-2 – 2 H]<sup>-</sup>; respectivamente, o que confirmou a presença do complexo entre o FP e os cromenos testados.

### Conclusões

As substâncias 1 e 2 que apresentaram uma atividade interessante nos ensaios preliminares com FP serão testadas futuramente nas cepas do *P. falciparum*. É interessante destacar que 1 e 2 foram ativas em cepas do *Trypanosoma cruzi* e que este requer FP como complemento nutricional por causa de sua deficiência biossintética. Estes resultados confirmaram a aplicabilidade da metodologia em uso no NuBBE na seleção de extratos e moléculas com potencial atividade antimalárico.

### Agradecimentos

À FAPESP, BIOTA-FAPESP, CAPES, CNPq e UEMS pelo auxílio à pesquisa e bolsas concedidas.

<sup>1</sup> Pashynska, V. A., Vand den Heuvel, H., Claeys, M., Kosevich, M. V., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2004**, *15*, 1181.