

## Inibição *in vitro* da atividade de heme oxigenase do parasita da malária *P. falciparum* por análogos de heme

Robson Sartorello<sup>1</sup>(PG), Alexandre Budu<sup>2</sup>(PG), Ana Paula Ulian<sup>4</sup>(PQ), Glaucius Oliva<sup>4</sup> (PQ), Bernardo Almeida Iglesias<sup>3</sup>(PG), Koiti Araki<sup>3</sup>(PQ), Luiz H. Catalani<sup>3</sup>(PQ), Celia R. S. Garcia<sup>1\*</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo; <sup>2</sup>Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; <sup>3</sup>Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo; <sup>4</sup>Departamento de Biofísica, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo. \* cgarcia@usp.br

Palavras Chave: hemina, porfirina, heme oxigenase, malária, inibição, *in vitro*.

### Introdução

A malária é uma doença parasitária que mata 2 milhões de pessoas anualmente<sup>1</sup>. O complexo ciclo de vida do parasita passa por uma fase intraeritrocítica, durante a qual ocorre endocitose de hemoglobina como fonte de nutrientes. A hemina, produto tóxico resultante da digestão, é eliminada através da sua polimerização em hemozoina. Alternativamente, sua oxidação em biliverdina pela heme oxigenase (PfHO), tem sido apontado como rota alternativa de detoxificação. Os objetivos deste trabalho foram analisar possíveis inibidores desta enzima, utilizando para tal análogos do heme, obtidos através da substituição do metal na porção central do anel tetrapirrólico. Foram testados até o momento os compostos Ni-protoporfirina IX, Co-protoporfirina IX, Mn-protoporfirina IX, Zn-protoporfirina IX e Cu-protoporfirina IX. A meta deste estudo é identificar possíveis anti-maláricos, utilizando como ponto de partida a inibição da PfHO e o aumento do efeito tóxico da hemina.

### Resultados e Discussão

PfHO de *Plasmodium falciparum* foi clonada e a proteína expressa possui 26 kDa, seguido de purificação por FPLC (Figura 1). A pureza obtida foi suficiente para os experimentos *in vitro* (Figura 2).

Através de espectrofotometria UV-Vis, a conversão de biliverdina em bilirubina foi acompanhada em 454 nm. A PfHO recombinante (Figura 3) foi capaz de transformar biliverdina em bilirubina na presença de NADPH, P450 redutase, glicose-6-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase. Foi observada uma importante inibição da atividade de PfHO na presença de Co-PPIX 10  $\mu$ M. Por outro lado, observou-se ativação na presença de NiPPIX, MnPPIX, ZnPPIX e CuPPIX.

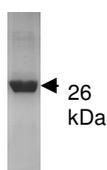


Fig. 1 – Gel da PfHO purificada.

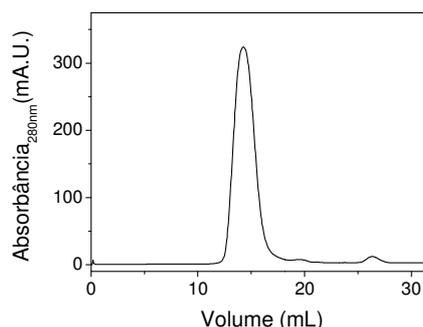


Fig. 2 – Cromatografia de exclusão de tamanho da forma editada da PfHO.

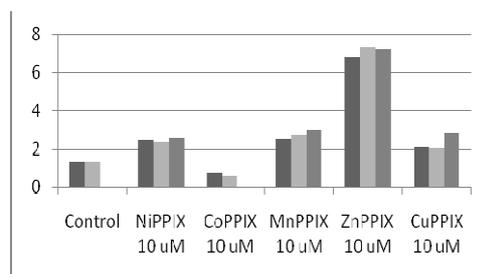


Fig. 3 - Atividade enzimática de PfHO. Biliverdina como substrato, medição da formação de bilirubina ao longo do tempo (V<sub>max</sub> - 10<sup>-3</sup> unid/min)

### Conclusões

No presente trabalho, mostramos que análogos do heme são capazes de interferir na atividade *in vitro* de conversão da biliverdina em bilirubina da enzima PfHO recombinante, inibindo ou ativando-a. Estes dados demonstram como promissora a abordagem no desenvolvimento de novos anti-maláricos que interfiram no mecanismo de detoxificação do heme por parte do parasita.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP e CNPq pelo suporte financeiro. CRSG agradece ao INCT INBqMed

<sup>1</sup>Snow, R.W.; Guerra, C.A.; Noor, A.M.; Myint, H.Y.; e Hay, S.I. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* **2005**, 434, 214-217.

