

EFEITO IN VITRO DE CHALCONAS SINTÉTICAS NA ATIVIDADE DA ENZIMA ADENOSINA DEAMINASE EM SORO DE RATOS

GABRIELA N. DEBOM¹; Marina Ritter², Claudio Martin Pereira de Pereira²,
Roselia M. Spanevello³

¹Universidade Federal de Pelotas – gabriela.debom@gmail.com
Universidade Federal de Pelotas – mritter.quimica@gmail.com – mritter.quimica@gmail.com
²Universidade Federal de Pelotas- claudiochemistry@gmail.com
³Universidade Federal de Pelotas– rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Vários estudos têm demonstrado que os nucleotídeos de adenina ATP e ADP e seu nucleosídeo correspondente adenosina, são importantes moléculas sinalizadoras em vários tecidos. O ATP e a adenosina regulam processos relacionados a resposta imune e inflamatória. O ATP é uma molécula que possui funções pró-inflamatórias como a estimulação e a proliferação de linfócitos, sendo essencial para a liberação de citocinas como a interleucina 2 (IL-2) e o interferon γ (IFN- γ) BOURS *et al.*, 2006). Por outro lado, a adenosina tem potentes atividades antiinflamatórias e imunossupressoras por inibir a proliferação de células T através da ativação de receptores A_{2A} e a liberação de citocinas pró-inflamatórias (GESSI *et al.*, 2007).

A enzima ADA (adenosina deaminase) é considerada uma enzima chave no metabolismo das purinas, catalisando a desaminação irreversível da adenosina e desoxiadenosina em inosina e desoxiinosina, respectivamente. A ADA é muito importante em processos inflamatórios, uma vez que é a principal responsável por controlar os níveis extracelulares de adenosina.

Vários estudos têm demonstrado que a atividade dessa enzima encontra-se alterada em condições patológicas no qual o sistema imune está envolvido como, por exemplo, na esclerose múltipla (SPANEVERELLO *et al.*, 2010) e na síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (LEAL *et al.*, 2005). Isso sugere que a atividade da ADA pode ser considerada um bom indicador de distúrbios imunológicos e um importante alvo para estudos de compostos com atividade terapêutica.

O termo chalcona caracteriza uma família de compostos possuindo como núcleo fundamental o 1,3-diarilpropano, modificado pela presença de uma ligação olefínica, de um grupamento cetona e/ou de um grupo hidroxila (DIMMOCK *et al.*, 1999). As chalconas são precursoras na via biossintética dos flavonóides. São encontradas na pigmentação amarela de vegetais, já que constituem o núcleo central de uma variedade de compostos biológicos importantes obtidos a partir de plantas (DIMMOCK *et al.*, 1999).

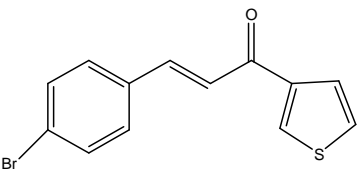
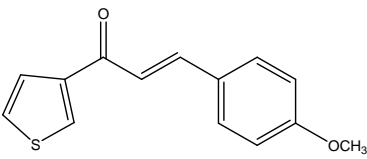
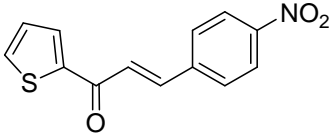
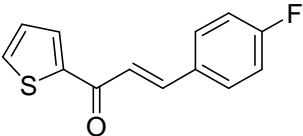
As chalconas apresentam um grande potencial terapêutico uma vez que vários estudos têm demonstrado que estas moléculas possuem propriedades analgésicas, antioxidantes, antibacterianas, antitumorais, antiinflamatórias e imunossupressoras (LEBEAU *et al.*, 2000).

Sendo assim, considerando a importância da enzima ADA em processos inflamatórios e imunes, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de chalconas sintéticas na atividade dessa enzima soro de ratos, permitindo assim a possível identificação de compostos potencialmente úteis na terapêutica de doenças inflamatórias agudas e crônicas.

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção das chalconas

Os derivados sintéticos das chalconas foram sintetizados na Universidade Federal de Pelotas. As chalconas avaliadas nesse estudo foram as seguintes:

<p>01</p>  <p>Fórmula Química: C₁₃H₉BrOS Massa: 291,96</p>	<p>03</p>  <p>Fórmula Química: C₁₄H₁₂O₂S Massa: 244,06</p>
<p>04</p>  <p>Fórmula Química: C₁₃H₉NO₃S Massa: 259,28</p>	<p>05</p>  <p>Fórmula Química: C₁₃H₉FOS Massa: 232,27</p>

2.2 Animais

Foram utilizados ratos Wistar adultos previamente anestesiados e submetidos à eutanásia. Amostras de sangue total foram coletadas por punção cardíaca e posteriormente centrifugadas para a obtenção do soro.

2.3 Determinação do efeito in vitro das chalconas na atividade da ADA

A atividade da enzima adenosina deaminase (ADA) em soro foi determinada de acordo com Giusti & Gallanti (1984). As chalconas foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) e introduzidas no ensaio enzimático nas concentrações finais de 0,1, 0,25 e 0,5 mM. A atividade da enzima foi expressa em U/L.

2.4 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o teste Post-Hoc de Duncan ao nível mínimo de 95% de significância ($P < 0,05$) e expressos como média \pm erro padrão

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das incubações com as chalconas 01, 03, 04 e 05 demonstraram que somente as chalconas 04 e 05 diminuíram de forma significativa a atividade da enzima ADA em soro de ratos ($P < 0,05$), conforme a pode ser observado na figura 1.

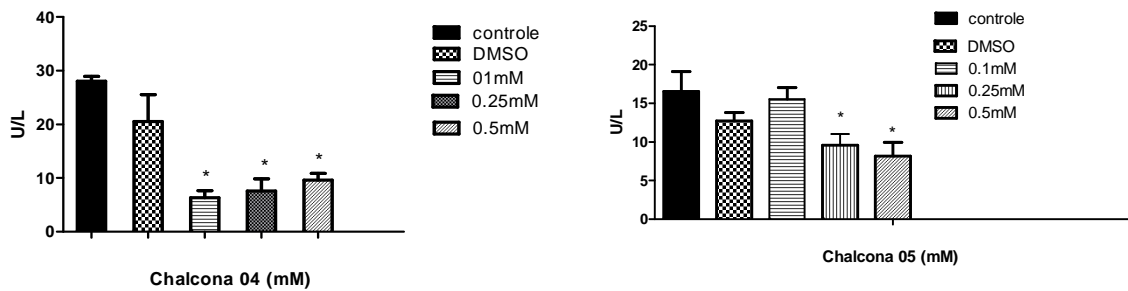


Figura 1: Efeitos in vitro das chalconas 04 e 05 na atividade da ADA em soro de ratos.
*Diferente do controle ($P < 0.05$) ($n=5$).

A enzima ADA hidrolisa o nucleosídeo adenosina. A adenosina, tendo características anti-inflamatórias, consegue alterar funções ao longo do sistema imunológico (Bour *et al.*, 2006). Neste contexto, baseado nos resultados obtidos neste estudo pode-se sugerir que a diminuição da atividade da ADA causado pelas chalconas 04 e 05 poderia ser importante em aumentar os níveis de adenosina extracelular. Sendo assim, pode-se propor que as alterações na atividade da ADA causada por este composto poderia diminuir a resposta inflamatória e imune e explicar ao menos em parte a atividade antiinflamatória descrita para estes compostos.

4. CONCLUSÕES

Os resultados parciais obtidos permitem concluir que as chalconas in vitro interferem na sinalização purinérgica em soro de ratos, Entretanto mais estudos são necessários para avaliar um possível potencial terapêutico desses compostos relacionado com a sinalização induzida pelo ATP.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIMMOCK, JR.; ELIAS, DW.; BEAZELY, M. Bioactivities of chalcones. **Current Medicinal Chemistry** 6, 1125-1149, 1999.

LEAL, D.; STREHER, C.; BERTONCHELI, C.; CARLI, L.; LEAL, C.; SILVA, J.; MORSCH, V.; SCHETINGER, M. HIV infection is associated with increased NTPDase activity that correlates with CD39 - positive lymphocytes. **Biochimica et Biophysica Acta** 1746: 129-134, 2005.

ZIMMERMANN, H.; MISHRA, S.; SHUKLA, V.; LANGER, D.; GAMPE, K.; GRIMM, I.; DELIC, J.; BRAUN, N. Ecto-nucleotidases, molecular properties and functional impact. **Anales de La Real Academia Nacional de Farmacia** 73: 537-566, 2007.

BOURS, M.; SWENNEN, E.; DI VIRGILIO, F.; CRONSTEIN, B.; DAGNELIE, P.. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. **Pharmacology & Therapeutics** 112: 358-404, 2006.

LEBEAU, J.. Antioxidant properties of di-*tert*-butylhydroxylated flavonoids. **Free radical biology & Medicine** 29, 900–912, 2000.

GESSI, S.; VARINI, K.; MERIGHI, S.; FOGLI, E.; SACCHETTO, V.; BENINI, A.; LEUNG, E.; MAC-LENNAN, S.; BOREA, P. Adenosine and lymphocyte regulation. **Purinergic Signalling** 3: 109-116, 2007.

LEAL, D.; STREHER, C.; BERTONCHELI, C.; CARLI, L.; LEAL, C.; SILVA, J.; MORSCH, V.; SCHETINGER, M. HIV infection is associated with increased NTPDase activity that correlates with CD39 - positive lymphocytes. **Biochimica et Biophysica Acta** 1746: 129-134, 2005.

LEBEAU, J. Antioxidant properties of di-*tert*-butylhydroxylated flavonoids. **Free radical biology & Medicine** 29, 900–912, 2000.

SPANVELLO, R.; MAZZANTI, C.; SCHMATZ, R.; THOMÉ, G.; BAGATINI, M.; CORREA, M.; ROSA, C.; STEFANELLO, N.; BELLÉ, L.; MORETTO, B.; OLIVEIRA, L.; MORSCH, V.; SCHETINGER, M. The activity and expression of NTPDase is altered in lymphocytes of multiple sclerosis patients. **Clinica Chimica Acta** 411, 210-214, 2010.