

Aplicação de modelo biossensor baseado em mastócitos no estudo da atividade anti-alérgica de aril-cumarinas

Marcela de Souza Santos^{1,2} (PG)*, Maria Perpétua Freire de Moraes Del Lama¹ (PQ), Laila Aparecida Deliberto¹ (TC), Mônica Tallarico Pupo¹ (PQ), Rose Mary Zumstein Georgetto Naal^{1,2} (PQ)
marcela.santos@usp.br

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica.

Palavras Chave: alergias, mastócitos, β -hexosaminidase, cumarinas

Introdução

Os mastócitos oferecem excelente potencial para aplicação em biossensores, uma vez que são células robustas e podem ser sensibilizadas para reconhecer antígenos específicos, o que conduz a eventos de ativação transdutíveis, precedidos pela exposição antigênica¹. Dentre os mediadores químicos secretados por estas células está a enzima β -hexosaminidase (β -hex), usada como marcador da atividade anti-alérgica. O ensaio padrão para quantificar a β -hex, na degranulação de mastócitos, consiste em um número de etapas que incluem sensibilização das células com IgE, estímulo pelo antígeno, remoção do sobrenadante para a reação enzima-substrato e medida da fluorescência produzida. Estas etapas sucessivas fazem com que o ensaio padrão seja inapropriado para análises com alta capacidade de processamento. Para adaptar esta resposta celular, nosso grupo de pesquisa empregou um ensaio direto, *in situ*, como modelo biossensor, o qual possibilita a análise de um número grande de amostras de células com alta sensibilidade, e reprodutibilidade, tornando este ensaio muito útil para aplicações em triagens de substâncias com potencial terapêutico². O objetivo do presente trabalho é aplicar o modelo biossensor (ensaio direto) para a quantificação de β -hex no estudo da atividade anti-alérgica de derivados aril-cumarínicos.

Resultados e Discussão

Da coleção de 33 cumarinas investigadas, 18 apresentaram efeito inibitório sobre a liberação de β -hex, de forma concentração-dependente, cuja potência foi maior, ou semelhante, ao controle positivo (fumarato de cetotifeno, $IC_{50}=15 \mu M$).

De forma resumida, hidroxilações, bem como esterificações dos carbonos 6, 7 e 8 de 3-piperonil-cumarinas (Figura 1-A), sejam estas únicas ou em maior número, têm pouco ou nenhum efeito positivo sobre a inibição da degranulação mastocitária. A introdução de grupos nitrogenados na posição 6 destas cumarinas leva à obtenção de compostos ativos, cuja potência é aumentada quando a cadeia lateral desta substituição é estendida pela introdução de heterociclos aromáticos, como anéis tiofênicos, piridínicos e indólicos.

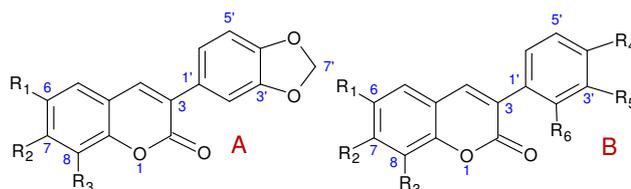


Figura 1. Estruturas químicas de 3-piperonil (A) e 3-fenil-cumarinas (B).

Para as 3-fenilcumarinas (Figura 1-B), enquanto as hidroxilações das posições 6, 3' e 2' são importantes, o grupo 4'-hidroxila parece ser desnecessário para a inibição da liberação da enzima β -hex. O aumento em número das hidroxilações tem efeito dependente da contribuição isolada de cada hidroxila. Enquanto a substituição do carbono 4' por uma hidroxila não representa benefício para a atividade das fenil-cumarinas, sua metoxilação causa um aumento na potência da inibição enzimática. Com relação às esterificações, não houve, de forma geral, ganho de atividade com a presença desta função.

Foi avaliado, ainda, se a resposta inibitória observada decorreu da inibição da degranulação mastocitária, e conseqüente modulação negativa da liberação enzimática, ou se houve, na realidade, inibição da atividade da enzima β -hex. Os resultados mostraram que a enzima é diretamente inibida apenas em concentrações mais elevadas (acima de $50 \mu M$) dos compostos cumarínicos.

Conclusões

Os resultados obtidos através do modelo biossensor baseado em mastócitos sugere que as arilcumarinas estudadas podem ser apontadas como possíveis compostos para o tratamento de desordens alérgicas e/ou fornecem ainda um protótipo promissor para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial terapêutico.

Agradecimentos

FCFRP-USP, INCT-Bioanalítica, FAPESP.

¹ CURTIS et al. *Biosens. Bioelectron.* **2008**, 23, 1024.

² NAAL et al. *Biosens. Bioelectron.* **2004**, 20, 791.