

# Atividade anti-*Trichomonas vaginalis* de moléculas semissintéticas

Bitencourt F.G., Tasca T.

Laboratório de Pesquisa em Parasitologia, Faculdade de Farmácia, UFRGS.

## INTRODUÇÃO

*Trichomonas vaginalis* é o protozoário flagelado causador da tricomonose, a doença sexualmente transmissível (DST) de origem não viral mais comum no mundo, responsável por 274 milhões de novos casos por ano<sup>1</sup>. A infecção é caracterizada por amplo espectro clínico, desde casos assintomáticos até severa vaginite. A tricomonose tem sido considerada doença negligenciada e causa complicações na gestação, câncer cervical e de próstata, além do *T. vaginalis* atuar como cofator na aquisição do vírus HIV. O tratamento de escolha para esta infecção é o metronidazol e como segunda opção o tinidazol, pertencentes ao mesmo grupo dos nitroimidazóis e únicos fármacos aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA, EUA). Emergentes e elevadas taxas de isolados de *T. vaginalis* resistentes ao metronidazol têm sido registradas (2,5 a 9,6%). Considerando o impacto da tricomonose na saúde pública fica evidente a necessidade de novas alternativas para o tratamento. Nosso grupo já demonstrou a citotoxicidade de alcaloides<sup>2</sup> e assim, derivados de poliaminas foram escolhidos para investigar a atividade anti-*T. vaginalis*. Poliaminas são moléculas catiônicas de estrutura simples, essenciais para diferenciação celular e regulação do ciclo celular. Assim, o objetivo deste estudo foi testar a atividade anti-*T. vaginalis* de uma série de derivados de diaminas (BRU037, BRU03, BRU034, BRU031, ANG013, BRU045, BRU030, BRU044).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### • Síntese dos derivados de diaminas

A síntese dos derivados de diaminas foi realizada pelo grupo do Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida, da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, com o qual mantemos colaboração científica.

### • Cultivo dos parasitos

Nesse estudo foi utilizado o isolado ATCC30236, cultivado em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM) pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino inativado<sup>3</sup>.

### • Screening da atividade anti-*T. vaginalis* e determinação da MIC

O screening de atividade foi realizado em microplaca de 96 poços e a concentração dos derivados de diaminas utilizada foi de 1,0 mg/mL. Os parasitos foram adicionados em cada poço na densidade de  $1,0 \times 10^5$  trofozoítos/mL. A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada para um dos derivados de diaminas que demonstrou atividade anti-*T. vaginalis*. Para a determinação da MIC, foi realizada uma diluição seriada dos compostos (2,0 a 0,0156 mg/mL), incubados com os trofozoítos ( $1,0 \times 10^5$  trofozoítos/mL) em microplaca de 96 poços. Em ambos os ensaios, as microplacas foram mantidas a 37 °C por 24 horas em estufa de CO<sub>2</sub>. A atividade dos derivados de diaminas e a MIC foram determinadas considerando-se viabilidade, motilidade e morfologia dos trofozoítos em relação ao controle através de contagem em hemocitômetro e exclusão com corante trypan blue. As microplacas foram mantidas a 37 °C por 24 horas. Para confirmação do valor da MIC, o conteúdo do poço onde a viabilidade dos parasitos foi considerada zero e dos poços de concentração imediatamente abaixo e acima foram inoculados em meio livre de extrato e a positividade para trofozoítos viáveis foi avaliada até 120 horas. Três controles foram realizados: controle positivo – 100 µM de metronidazol; controle negativo – trofozoítos em meio TYM e; controle do veículo – DMSO 0,6%.

### • Teste de hemólise

Foi realizado teste de hemólise como um indicador de efeito do composto BRU037 em membrana celular, usando como concentração o valor da MIC. Após coleta do sangue em tubo heparinizado (1:1), centrifugou-se por 10 minutos a 2000 RPM. Descartando o plasma (sobrenadante), e o sedimento lavado três vezes, com PBS 1X. Se fez uma solução a 1% com PBS 1X. Usou-se como controle positivo Triton X-100 1% e como controle negativo água. Incubou-se por uma hora e por fim após centrifugação de cinco minutos a 3000 RPM, o sobrenadante foi lido a 540 nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No screening, os oito derivados testados apresentaram atividade anti-*T. vaginalis* (quadro 1), sendo que seis (BRU037, BRU03, BRU034, BRU031, ANG013, BRU045) reduziram a viabilidade dos parasitos em 100% na concentração 1,0 mg/mL. Para o derivado de diaminas BRU037 foi determinada a MIC (fig. 1) com valor de 0,125 mg/mL. No teste de hemólise o composto BRU037 apresentou baixa atividade hemolítica, 12%, demonstrando não afetar os eritrócitos humanos.

Código	Estrutura	Fórmula molecular	Massa molar g/mol
BRU03		C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub>	242.27
BRU030		C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> NO	173.18
BRU031		C <sub>14</sub> H <sub>31</sub> NO	229.24
BRU034		C <sub>17</sub> H <sub>37</sub> NO	271.29
BRU037		C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> NO	201.21
ANG013		C <sub>16</sub> H <sub>35</sub> NO	257.27
BRU044		C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>3</sub>	233.20
BRU045		C <sub>14</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>3</sub>	261.23

Quadro 1. Estrutura, fórmula molecular e massa molecular dos compostos testados

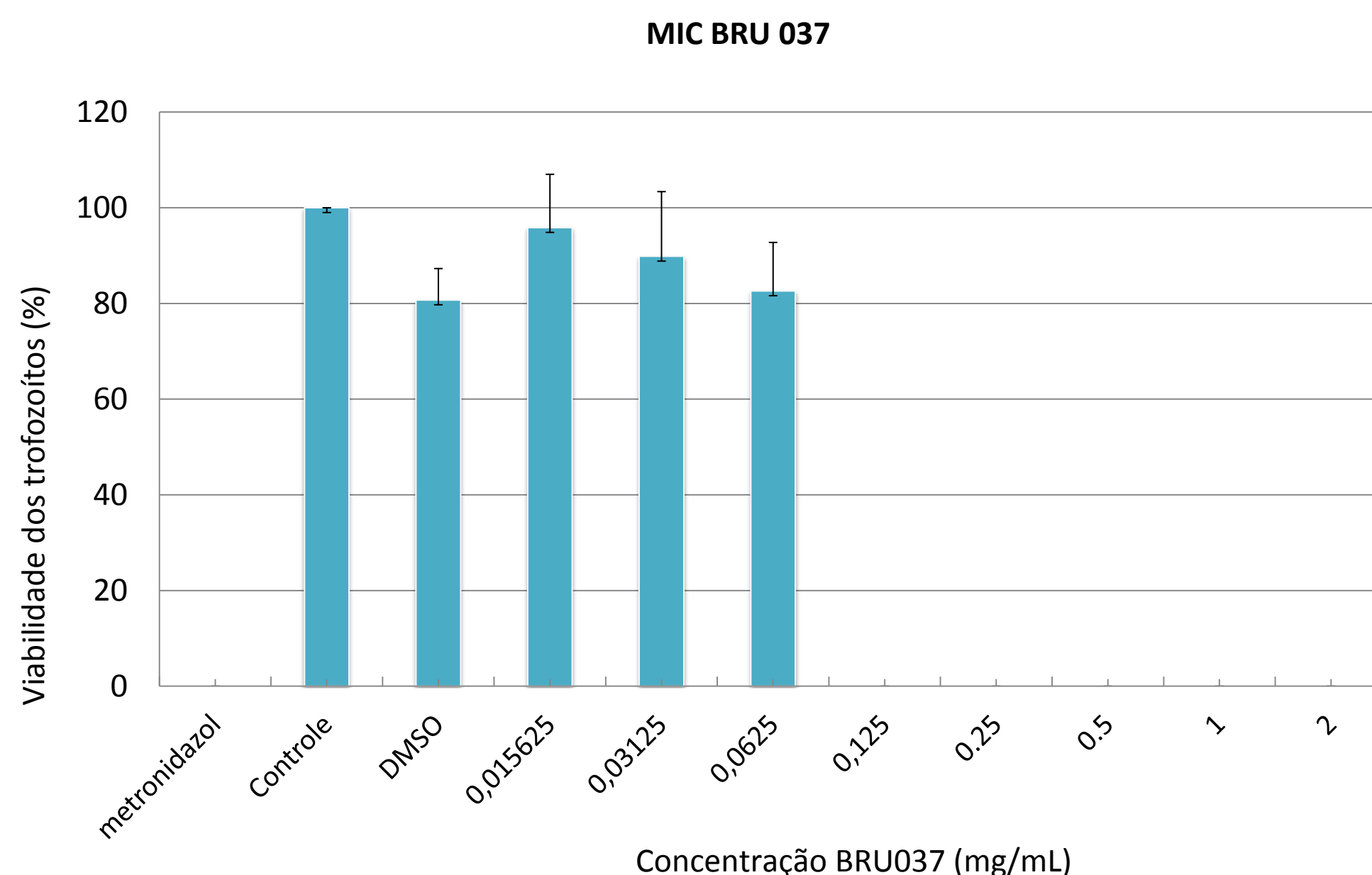


Fig. 1. Determinação da MIC do derivado de diamina BRU037. Dados representam média desvio padrão conforme descrito no item Materiais e Métodos. Metronidazol (100 µM): controle positivo; Controle: somente parasitos em meio TYM; DMSO (0,6%): controle do veículo de solubilização.

## CONCLUSÕES

Os resultados indicam que o derivado de diamina BRU037 apresenta uma promissora atividade anti-*T. vaginalis*, demonstrando o destacável potencial farmacológico das poliaminas. Sendo assim, estudos estão em andamento para determinar a concentração inibitória mínima das outras moléculas e elucidar os mecanismos responsáveis pela atividade anti-*T. vaginalis*.

## REFERÊNCIAS

- WHO, Geneva, 1-28 2012.
- Giordani, R. et al. Biomed Pharmacother. 2011 Feb;65(1):60-2.
- Diamond, L. S., J. Parasitol. n.137, p.171-178, 1957.

## AGRADECIMENTOS