

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS DE TELÚRIO EM *Trichomonas vaginalis*

RAQUEL NASCIMENTO DAS NEVES¹; RODRIGO BARROS DE PINHO²;
ÂNGELA SENA LOPES²; MARINA CARDOSO DE FREITAS²; MARA THAIS DE
OLIVEIRA²; E SIBELE BORSUK³

¹Universidade Federal de Pelotas – raquelneeves@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – rodrigobpinho@hotmail.com; angelasena@gmail.com;
marinacardosodfreitas@gmail.com; marathaisos@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas Orientador – sibeleborsuk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Trichomonas vaginalis é o protozoário flagelado causador da tricomoníase, doença sexualmente transmissível (DST) de origem não viral mais comum no mundo (WHO, 2001). A infecção é caracterizada por amplo espectro clínico, desde casos assintomáticos até severa vaginite (LECK et al., 2003), causando complicações na gestação, infertilidade, câncer cervical e de próstata, além do parasita atuar como cofator na aquisição do vírus HIV (NEVES, 2005).

O tratamento da tricomoníase é feito com os compostos 2-metil-5-nitroimidazóis, metronidazol e tinidazol, os quais são os únicos fármacos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA, EUA), entretanto a partir de relatos de efeitos adversos e toxicidade causados por estes fármacos, bem como aparecimento de resistência dos parasitos a esta medicação, mostra-se necessária a pesquisa por novas substâncias com atividade anti-*T. vaginalis*. (Brown et al., 1999)

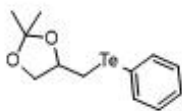
Nesse contexto, o emprego farmacológico de compostos orgânicos contendo telúrio vem sendo estudado e apresentam-se de forma bastante tóxica, dependendo da estrutura do composto, da dose administrada e do tipo de animal testado (NOGUEIRA et al., 2004), mas apesar destas propriedades atribuídas à estes compostos, existem relatos que demonstram importantes propriedades farmacológicas aos compostos orgânicos de telúrio, tais como imunomodulatórias, podendo ser usados como drogas antitumorais, anti-inflamatórias, antivirais e antiparasitárias (SREDNI, 2012).

Sendo assim o presente trabalho teve como objetivo identificar um novo fármaco derivado de 1,3-dioxolanas contendo telúrio com potencial tricomonicida *in vitro*.

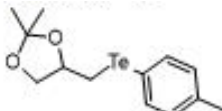
2. METODOLOGIA

Os compostos 1,3-dioxolanas contendo telúrio foram sintetizados pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), da Universidade Federal de Pelotas

PTeDOX01



PTeDOX02



PTeDOX03

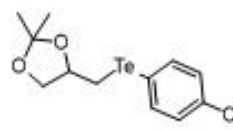


Figura 1 – Conformação molecular dos compostos PTeDOX01, PTeDOX02, PTeDOX03.

Foram utilizados isolados *T. vaginalis* ATCC 30236, cultivadas em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM) (DIAMOND,1957), sem ágar, pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino estéril, inativado a 56°C. Foram somente utilizadas no experimento culturas que apresentaram 95% de viabilidade, comprovada através da motilidade e exclusão por trypan blue (0,4%).

O *screening* de atividade dos três compostos foi realizado em microplaca de 96 poços, onde os parasitos foram adicionados em cada cavidade na densidade de $2,0 \times 10^5$ trof/mL TYM e os compostos em concentração final de 100 µM/mL, diluídos em DMSO.

Os demais ensaios foram realizados somente com o composto que apresentou atividade anti-*T. vaginalis*, com 100% de redução de viabilidade.

A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada com os compostos em diferentes concentrações finais: 100, 90, 80, 70, 60, 50 e 40 µM/mL e incubados com os trofozoítos na mesma densidade do *screening* inicial, junto com os controles positivo (100 µM/mL Metronidazol), negativo (somente trofozoítos) e com DMSO.

Para ambos os ensaios, as microplacas foram mantidas em estufa de 5% de CO₂ a 37 °C por 24 h e as atividades dos compostos foram determinadas considerando-se a viabilidade, motilidade e morfologia dos trofozoítos em relação aos controles através de contagem em câmara de Neubauer e exclusão com corante trypan blue 0,4%. A fim de confirmar a atividade dos compostos, além dos controles negativo e positivo havia um controle com DMSO, não podendo exceder a concentração de 0,6% de DMSO em cada cavidade.

Para confirmação do valor da MIC, o conteúdo da cavidade onde a viabilidade dos parasitos foi considerada zero e dos poços de concentração imediatamente abaixo e acima foram inoculados em meio completo e a positividade para trofozoítos viáveis foi avaliada até 96 h. Após a confirmação do MIC, foi avaliado o IC₅₀ (metade da concentração máxima inibitória) nas mesmas concentrações e metodologia descrito para a determinação do MIC.

A fim de investigar o efeito do composto no crescimento de *T. vaginalis*, uma curva de crescimento cinético foi gerada utilizando o isolado de ATCC 30236 assim como descrito na metodologia do MIC. A análise do crescimento pelo método de exclusão por Trypan Blue (0,4%) e a análise da motilidade e morfologia, foi realizada nos seguintes tempos: 1, 6, 12 e 24 h. Em todos ensaios, foram realizados pelo menos três ensaios independentes em triplicata e os resultados expressos como a percentagem de trofozoítos viáveis em comparação com os parasitos não tratados. Os dados foram submetidos à análise unidirecional da variância (ANOVA), utilizando um valor de probabilidade de p 0,05. O teste de Tukey foi utilizado para identificar diferenças significativas entre as médias entre os diferentes tratamentos (SPSS software).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No *screening*, dois dos compostos testados apresentaram atividade anti-*T. vaginalis* (Figura 2). Sendo o que o composto PTeDOX01 reduziu a viabilidade dos parasitos em 100%, não tendo diferença significativa em relação ao controle positivo (100 µM/mL Metronidazol), enquanto o composto PTeDOX02 reduziu em 30% e o composto PTeDOX03 não apresentou atividade anti-*T. vaginalis*.

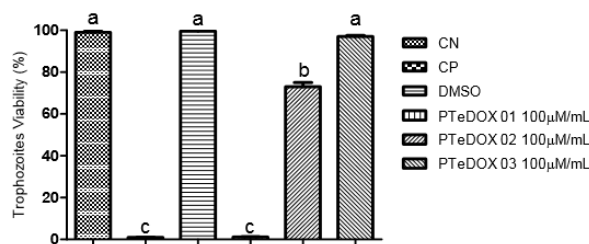


Figura 2 – Screening da atividade anti- *T. vaginalis* dos compostos pelo ensaio de exclusão por Trypan blue (0,4%), após 24 h de exposição. Letras diferentes demonstram que há diferença significativa. Para todos $p < 0,05$.

A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada com os compostos em diferentes concentrações finais: 100, 90, 80, 70, 60, 50 e 40 µM/mL. Como resultado, o composto PTeDOX01 apresentou atividade anti-*T.vaginalis* na concentração de 90 µM/mL, como demonstra a Figura 3.

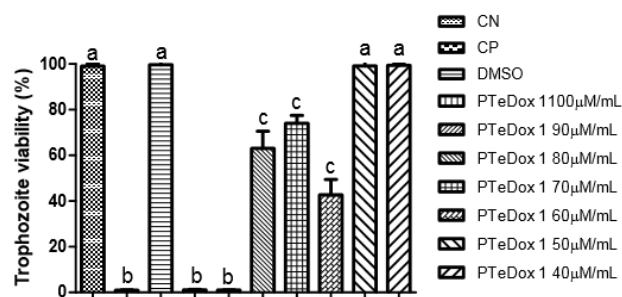


Figura 3 - Determinação da MIC e IC50 do composto PTeDOX01. Letras diferentes demonstram que há diferença significativa. Para todos $p < 0,05$.

A cinética foi determinada através de contagem em câmara de Neubauer e exclusão com corante trypan blue 0,4% nos períodos de 1h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h e 96h e demonstrou que o composto PTeDOX01 apresente atividade anti-*T.vaginalis* a partir de 24 horas como mostra a Figura 4.

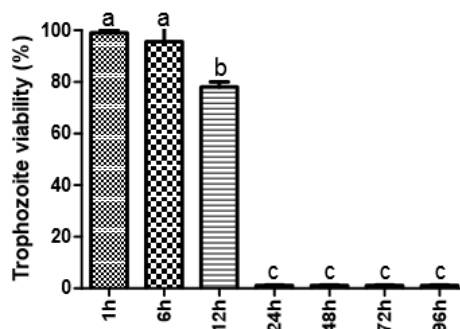


Figura 4 – Curva de crescimento cinético do composto PTeDOX01 no período de 1h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h e 96h. Letras diferentes demonstram que há diferença significativa. Para todos $p < 0,05$.

Compostos orgânicos de telúrio estão sendo bastante estudados devido as suas propriedades imunomodulatórias e demonstram grande potencial como substância antiparasitária. Recentemente, Maluf *et al.* (2016) utilizando os compostos contendo telúrio RF05, RF07 e RF19 em isolados de *Plasmodium*

falciparum demonstraram uma diminuição significativa na parasitemia *in vitro*. Diante disso, esses resultados confirmam que compostos orgânicos de telúrio são uma fonte farmacológica importante e podem ser utilizados na composição de diversas formas farmacêuticas com ação antiparasitária.

4. CONCLUSÕES

Os resultados indicam que o composto PTeDOX01 apresenta uma promissora atividade anti-*T. Vaginalis*, devido ao seu efeito no screening ser semelhante ao do Metronidazol, fármaco utilizado no tratamento da Tricomoniase, demonstrando o destacável potencial farmacológico de compostos contendo telúrio e a necessidade de posteriores investigações no tratamento de diferentes parasitoses, assim como elucidar os mecanismos responsáveis pela atividade *T.vaginalis*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROWN, D.; UPCROFT, J.; DODD, H.; CHEN, N.; UPCROFT, P. Alternative 2 – keto acid oxireductase activities in *Trichomonas vaginalis*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 98, p. 203-214, 1999.

LECKE, S. B. *et al.* **Perspective of a new diagnostic for human trichomonosis**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., Rio de Janeiro, v. 98(2), 2003.

MALUF, S.C.; Hypervalent organotellurium compounds as inhibitors of *P. falciparum* calcium-dependent cysteine proteases. **Parasitology international** 65.1 (2016): 20-22.

NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia Humana**. 11. Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. p. 115-20.

NOGUEIRA, C.W.; ZENI, G.; ROCHA, J.B.T. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and Pharmacology. **Chem. Rev.** 104: 6255-6285, 2004.

SREDNI, B.; Immunomodulating tellurium compounds as anti-cancer agents. **Semin Cancer Biol.** 22: 60–69, 2012.

World Health Organization. Global Prevalence and Incidence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections. Overview and Estimates. WHO/HIV_AIDS/2001.02 and WHO/CDS/CRS/EDC/2001.10. World Health Organization, Geneva, 2001.