

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI – *T. vaginalis* DE ARILCALCOGENO DIOXOLANAS

AUDREY CHRISTINA DO NASCIMENTO<sup>1</sup>; ÂNGELA SENA-LOPES<sup>2</sup>; PATRICK C. NOBRE<sup>3</sup>; GELSON PERIN<sup>4</sup>; LUCIELLI SAVEGNAGO<sup>5</sup>; SIBELE BORSUK<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária – Centro de Desenvolvimento Tecnológico – Universidade Federal de Pelotas – audreydacycn@hotmail.com

<sup>2</sup> Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária – Centro de Desenvolvimento Tecnológico – Universidade Federal de Pelotas –

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas –

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas –

<sup>5</sup> Grupo de pesquisa em Neurobiotecnologia – Centro de Desenvolvimento Tecnológico – Universidade Federal de Pelotas

<sup>6</sup> Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária – Centro de Desenvolvimento Tecnológico – Universidade Federal de Pelotas – sibeleborsuk@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A Tricomoniase é atualmente a doença sexualmente transmissível (DST) não viral com maior frequência no mundo de prevalência estimada em 170 milhões de casos anualmente, que afeta mulheres em 92% dos casos, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2001).

O patógeno está associado a sérias consequências, incluindo complicações na gravidez e nascimento prematuro (KLEBANOFF et al., 2001), infertilidade (GOLDSTEIN et al., 1993), predisposição ao câncer cervical (VILKKI et al., 2000) e doença inflamatória pélvica (CHERPES et al., 2006). Em homens, a tricomonose é geralmente assintomática, caracterizando-os como vetores da transmissão da doença. A tricomonose também é considerada um agente facilitador da transmissão e aquisição do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (VAN DER POL et al., 2008).

Atualmente a forma de tratamento mais utilizada é pelos compostos 5-nitroimidazóis, como o metronidazol, ao qual alguns isolados de *T. vaginalis* já desenvolveram resistência (VIEIRA et al., 2012). Dessa forma existe a necessidade de estudos para a utilização de compostos alternativos para o tratamento da Tricomoniase. Na intensa busca por novos fármacos que possam tratar diferentes patologias, podemos destacar os compostos orgânicos de selênio, os quais, tem recebido uma atenção especial devido às suas diversas propriedades farmacológicas, provavelmente relacionadas ao seu potencial antioxidante, tais como: antinociceptiva, anti-inflamatória, anti-tumoral e antidepressiva (SAVEGNAGO et al., 2013). Diferentes estudos *in vivo*, mostraram diminuição da carga parasitária, *T. cruzi* e *T. canis*, quando o Se inorgânico era administrado na alimentação de camundongos (GOMEZ et al., 2002; PILARCZYK et al., 2008). Além disso, compostos orgânicos contendo enxofre também já demonstraram diferentes atividades biológicas, como: antibacteriana, anti- HIV e no combate ao câncer de fígado (PERUNCHERALATHAN et al., 2005; KONAKLIEVA et al., 2006; CUNICO et al., 2008). Diante do exposto, o desenvolvimento de novos fármacos contendo compostos orgânicos de Selênio e enxofre deve ser investigado como nova alternativa no tratamento de diferentes parasitoses com resistência medicamentosa, como na Tricomonose.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade *in vitro* anti - *T.vaginalis* de arilcalcogenos dioxalanas.

## 2. METODOLOGIA

Testou-se cinco compostos do grupo arilcalcogeno dioxolanas, sendo eles PSDox (contendo enxofre), e PSeDox 01, PSeDox 02, PSeDox 03, PSeDox 04 (contendo selênio).

Para os ensaios, usou-se a cepa de *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, inativado a 56 °C.

O screening de atividade foi realizado em microplaca de 96 cavidade, adicionando-se os parasitos em cada poço na densidade de  $2,0 \times 10^5$  trof/mL TYM e os compostos PSDox, PSeDox 01, PSeDox 02, PSeDox 03, PSeDox 04, na concentração final de 100 µM/mL diluídos em DMSO; mantendo-se as mesmas condições, em estufa de 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C por 24 h.

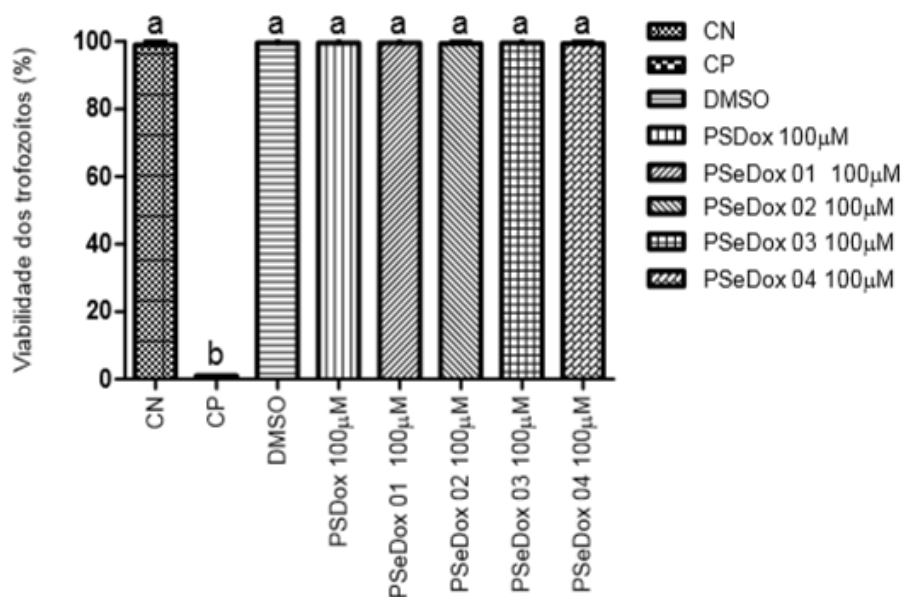
Além dos controles negativo (somente trofozoítos de *T. vaginalis*) e positivo (100 µM/mL Metronidazol), havia um controle com DMSO, não podendo exceder a concentração de 0,6% de DMSO em cada cavidade.

Após, determinou-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 testar a eficácia dos compostos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar de estudos anteriores demonstrarem eficácia anti-parasitária na utilização de compostos de selênio em testes *in vivo*, os compostos PSDox, PSeDox 01, PSeDox 02, PSeDox 03, PSeDox 04, não apresentaram ação tricomonocida *in vitro*. Uma vez que não apresentaram diferença significativa quando comparados ao controle negativo em relação à motilidade, alterações morfológicas e capacidade de multiplicação. A partir da contagem realizada em câmara de Neubauer e pelo teste de exclusão com corante trypan blue 0,4%, pode-se confirmar a viabilidade dos parasitos quando comparados aos controles positivo e negativo, confirmando que os fármacos testados não apresentaram atividade anti- *T.vaginalis* (Figura 1).

Em testes *in vivo* em camundongos infectados com *Trypanossoma cruzi*, os quais foram submetidos a dois tipos de dietas: com ração não suplementada e com ração enriquecida com selênio, os animais do último grupo apresentaram uma melhora no quadro clínico, o que sugere que a suplementação com compostos de selênio pudesse ser utilizada para modular o quadro inflamatório, imunológico, e / ou de respostas antioxidantes envolvidos em distúrbios intestinais causadas por infecção por *T. cruzi* (SOUZA et al., 2010). A suplementação de selênio aumenta a produção de citocinas específicas em camundongos infectados com *T. canis* e aumenta a proteção contra a infecção (PILARCZYK et al., 2008).



**Figura 1** – Avaliação da atividade anti- *T. vaginalis* dos compostos Arilcalcogeno dioxolanas pelo ensaio de exclusão por Trypan blue (0,4%), após 24 h de exposição. Letras: A) indica resultado sem diferença significativa em relação ao controle negativo; letra B) indicam resultado sem diferença significativa em relação ao controle positivo, para todos  $p < 0,05$ .

#### 4. CONCLUSÕES

Visto que os compostos avaliados não demonstraram atividade anti - *T. vaginalis*. Tem-se como perspectiva, a utilização de outros compostos contendo selênio e enxofre como estes já testados, no entanto com conformações químicas diferentes, que tenham maior capacidade de agir na atividade metabólica do parasito, inviabilizando a sua multiplicação e causando a sua consequente morte.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DIAMOND LS. The establishment of various *Trichomonas* in animals and man in axenic cultures. **J Parasitol.** v.43, p. 488-490, 1957.
- GOLDSTEIN, F., GOLDMAN, M.B., CRAMER, D.W.. Relation of tubal infertility to a story of sexually transmitted diseases. **American Journal of Epidemiology.** v.137, p. 577–584, 1993.
- KLEBANOFF, J. C. CAREY, J. C. HAUTH et al., “Failure of metronidazole to prevent preterm delivery among pregnant women with asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection,” **The New England Journal of Medicine**, vol. 345, no. 7, pp. 487–493, 2001.
- SAVEGNAGO, L ; VIEIRA, ALINE IRALA ; SEUS, NATÁLIA ; GOLDANI, B. S. ; CASTRO, M ; LENARDÃO, EDER J. ; ALVES, D . Synthesis and Antioxidant Properties of Novel Quinoline-Chalcogenium Compounds. **Tetrahedron Letters** v. 54, p. 40-44, 2013.
- THOMPSON CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **Eur J Clin Nutr.** v. 58, p.391–402, 2004.
- VAN DER POL, B., KWOK, C., PIERRE-LOUIS, B., RINALDI, A., SALATA, R.A., CHEN, P.L., VAN DE WIJGERT, J., MMIRO, F., MUGERWA, R., CHIPATO, T., MORRISON, C.S. *Trichomonas vaginalis* infection and human immunodeficiency virus acquisition in African women. **The Journal of Infectious Diseases.** v.197, p.548–554, 2008.
- VIEIRA, P.B.; BRANDELLI, C.L.C.; VERÍSSIMO, C.M.; TASCA, T. Specific pathogenic mechanisms of mucosal protozoans: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Trichomonas vaginalis*. **Revista HCPA.** v.32, n.1, p.58-70, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Prevalence and Incidence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections. **Overview and Estimates, WHO**, Geneva, Switzerland, 2001.
- MACIEL, G.P., TASCA, T.T., CARLI, G. A. *Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de Trichomonas vaginalis.* **J.Bras.Patol. Med. Lab**, v.40, n.3, p.152 - 60, Junho 2004.
- KONAKLIEVA, M. I.; PLOTKIN, B. J.; *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* 2006, 1, 177. CUNICO, W.; GOMES, C. R. B.; VELLASCO JR., W. T.; **Quim. Nova** 2008, 31, 2111.
- PERUNCHERALATHAN, S.; KHAN, T. A.; ILA, H.; JUNJAPPA, H.; **J. Org. Chem.** 2005, 70, 10030;
- SOUZA, A.P.; SIEBERG, R.; LI, H.; CAHILL, H.R.; ZHAO, D.; ARAÚJO-JORGE, T.C.; TANOWITZ, H.B.; JELICKS, L.A. The role of selenium in intestinal motility and morphology in a murine model of *Typanosoma cruzi* infection. **Parasitol Res.** 2010
- B. PILARCZYK, M. J. DOLIGALSKA, K. DONSKOW-SCHMELTER, A. BALICKA-RAMISZ & A. RAMISZ  
Selenium supplementation enhances the protective response to *Toxocara canis* larvae in mice. **Parasite Immunology**, 2008.