

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CINÉTICA E TRICOMUNICIDA FRENTE A ANÁLOGOS DE CURCUMINA

SAMANTHA COELHO DE FREITAS<sup>1</sup>, BRUNA PACHECO<sup>2</sup>, CAROLINE  
CARAPINA DA SILVA<sup>2</sup>, MARINA RITTER<sup>2</sup>, MARCO AURÉLIO ZIEMANN DOS  
SANTOS<sup>2</sup>, CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica – samanthabibipe@gmail.com

<sup>2</sup>UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica

<sup>3</sup>UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica – claudiochemistry@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A curcumina é um polifenol de baixo peso molecular e hidrofóbico originalmente isolado do rizoma de *Curcuma longa* no qual é muito utilizada como conservante em alimentos, especiarias e corantes (Katsori *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2011). Estudos recentes mostram que a curcumina tem demonstrado uma elevada eficácia biológica e terapêutica, apresentando atividades como: anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana. Devido ao seu poder de inibição da peroxidação lipídica, também é um potente agente antioxidante (Olivera *et al.*, 2012; Sri Ramya *et al.*, 2017).

No entanto, suas aplicações são restritas por sua baixa solubilidade em água, rápida metabolização, absorção limitada e baixa biodisponibilidade (Aggarwal e Sung, 2009; Jagetia e Aggarwal, 2007). Devido a estes fatores limitantes, novas tecnologias estão sendo aplicadas a fim de minimizar esses problemas, como por exemplo, a nanotecnologia, onde a curcumina é envolvida por lipossomas e micropartículas lipídicas, como quitosona e albumina sérica bovina (Gupta *et al.*, 2009). Outra alternativa é a síntese de análogos de curcumina com uma maior estabilidade, podendo proporcionar uma melhor atividade biológica (Liand *et al.*, 2008).

A tricomoníase é uma doença sexualmente transmissível (DST) de origem não viral muito comum causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis* na qual atinge mais de 276 milhões de pessoas no mundo todo ocasionando o comprometimento da saúde das pessoas infectadas principalmente de mulheres grávidas (JOHNSTON *et al.*; 2008). A maioria das infecções é curada com metronidazol no entanto a resistência aumentou no decorrer dos anos havendo assim a necessidade de se ter novos antiparasitárias para suprir essa deficiência.

Com base nestes estudos foram sintetizados análogos de curcuminas com diferentes substituintes: (1E,4E) -1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona (3a), [(1E,4E) -1,5-bis(2-clorofenil) penta-1,4-dien-3-ona (3b) e (1E,4E) -1,5-bis(4-fluorofenil) penta-1,4-dien-3-ona (3c) para posterior avaliação de atividade tricomonicida *in vitro* em isolados de *Trichomonas vaginalis*, ATCC 30236. Estas moléculas foram caracterizadas por ponto de fusão (p.f.), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) e cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a síntese das curcuminas, em um balão foram adicionados 10 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (2,5 mmol), acetona (1 mmol) e posteriormente 10 mL de uma solução etanólica do aldeído aromático correspondente (2,0 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente durante 1 hora. O sólido formado foi filtrado a vácuo e recristalizado com uma mistura de hexano/acetato de etila (3:1).

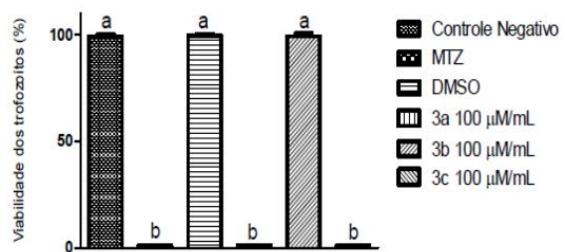
Para a caracterização das moléculas, foram determinados os respectivos pontos de fusão utilizando um aparelho Fisatom 430. Os espectros de massa foram obtidos utilizando um Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massa (GC-MS-QP 2010 SE, Shimadzu). Os espectros de infravermelho foram obtidos em um FTIR-Prestige 21, Shimadzu com refletância total atenuada (ATR) a uma resolução de 4,0 cm<sup>-1</sup>.

Para avaliar a atividade tricomonicida *in vitro* dos derivados monocarbonílicos de curcumina, foram utilizados isolados de *Trichomonas vaginalis*, ATCC 30236, cultivados em meio Trypticase-extrato de levedo maltose (TYM), sem ágar, pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino estéril, inativado à 56°C. Somente foram utilizadas nos ensaios culturas que apresentaram 95% de viabilidade, comprovada através da observação da motilidade, morfologia e da exclusão por Trypan 5/8 blue (0,4%), sendo consideradas vivas aquelas que apresentavam motilidade positiva e ausência de coloração pelo corante. No momento dos ensaios foi utilizado dimetilsulfóxido (DMSO) como veículo dos compostos. A fim de confirmar a atividade dos derivados, além dos controles negativo (somente trofozoítos) e positivo (100 µM/ml Metronidazol-Sigma Aldrich), também foi avaliado um controle com DMSO, não podendo exceder a concentração de 0,6% de DMSO em cada cavidade.

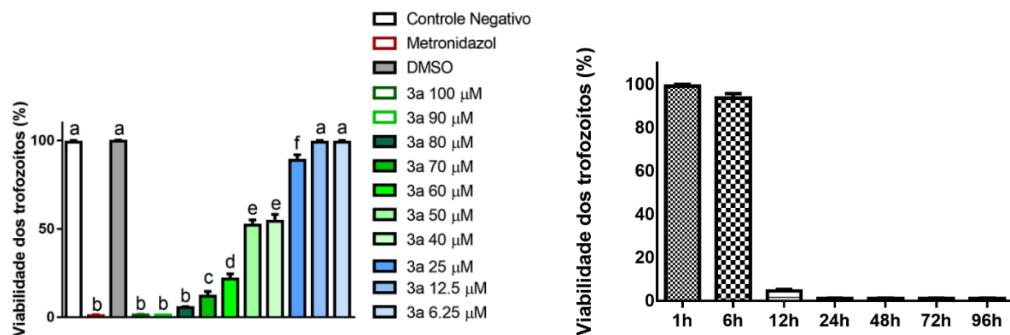
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas das curcuminas 3 a, 3 b e 3 c tiveram suas estruturas confirmadas através dos pontos de fusão com temperatura correspondentes aos da literatura, apresentando pequenas variações. Através da análise por spectrometria de massas, foram observados os respectivos íons moleculares e pela análise no infravermelho as principais bandas de absorção dos grupos funcionais detectadas.

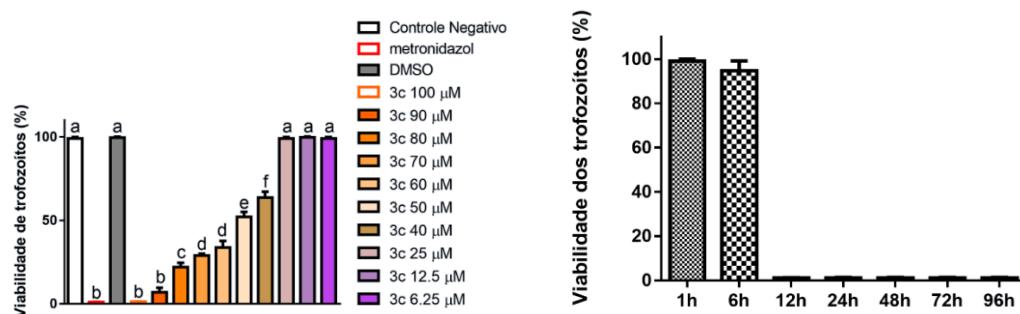
As avaliações antiparasitárias dos análogos de cucurmina estão expostas nas figuras 1, 2 e 3.



**FIGURA 1.** Screening da atividade antiparasitária dos compostos 3a-3c na concentração de 100 mM contra isolado de *trichomonas vaginalis*, ATCC 30236.



**FIGURA 2.** Determinação do MIC e do IC50 de isolados de *trichomonas vaginalis*, ATCC 30236, após tratamento com o composto 3a nas concentrações de 6.25, 12.5, 25, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mm após 24 h de exposição. A curcumina 3 a cineticamente inibiu o crescimento do trofozoíto em 24 h de exposição ao composto, determinando a concentração de 80  $\mu$ M como MIC e 40  $\mu$ M como IC50. Veículo para solubilização (DMSO 0,6%), metronidazol 100  $\mu$ M (MTZ), controle negativo (trofozoítos não tratados). Os dados representam a média  $\pm$  desvio padrão de pelo menos três experiências em triplicata. Letras diferentes mostram diferença significativa. Para todos P <0,05.



**FIGURA 3.** Determinação do MIC e do IC50 de isolados de *trichomonas vaginalis*, ATCC 30236, após tratamento com o composto 3c nas concentrações de 6.25, 12.5, 25, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mm após 24 h de exposição. Em relação a cinética do composto é importante relatar que o crescimento do trofozoíto foi completamente inibido pelo composto 3c em 12 h de exposição, determinando a concentração de 90  $\mu$ M como MIC e 50  $\mu$ M como IC50. Veículo para solubilização (DMSO 0,6%), metronidazol 100  $\mu$ M (MTZ), controle negativo (trofozoítos não tratados). Os dados representam a média  $\pm$  desvio padrão de pelo menos três experiências em triplicata. Letras diferentes mostram diferença significativa. Para todos P <0,05.

Ao analisar os resultados obtidos no screening farmacológico, os compostos 3a e 3c reduziram a viabilidade dos parasitos totalmente, já o composto 3b não apresentou atividade contra o parasita (Figura 1). Na determinação do MIC (concentração inibitória mínima) os compostos 3a e 3c demonstraram boa atividade anti-*T. vaginalis* na concentração de 80 e 90  $\mu$ M/mL, respectivamente, com indução de citotoxicidade completa, ou seja, inviabilização de vida do parasito. Também pode-se observar que os mesmos compostos na concentração de 40 e 50  $\mu$ M/mL, respectivamente, no período de exposição de 24 h, coraram de azul 50% dos trofozoítos, determinando assim o IC<sub>50</sub>.

Os controles negativos e com DMSO não coraram com Trypan blue (0,4%) na qual apresentaram motilidade positiva, mantendo viável a sobrevivência dos trofozoítos. Já o controle positivo corou de azul e teve motilidade negativa em todos ensaios realizados em 24 h de exposição (Figuras 1 e 2). Esses dados indicam que os derivados de curcumina são uma fonte farmacológica promissora, podendo ser avaliado o seu potencial frente aos demais agentes infecciosos. Finalmente, a determinação do MIC e do IC<sub>50</sub> de isolados de *T. vaginalis*, pode ser vista na figura 3.

#### 4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a curcumina pura apresentou atividade antiparasitária frente a *T. vaginalis* completa. Assim, inviabilizou a vida do parasito demonstrando que a curcumina é um composto promissor para ser implantado no mercado como antiparasitário na indústria farmacêutica.

#### 5. REFERÊNCIAS

- GUPTA, V.; ASEH, A.; RIOS, C.N.; AGGARWAL, B.B.; MATHUR, A.B. Fabrication and characterization of silk fibroin-derived curcumin nanoparticles for cancer therapy, **Int. J. Nanomedicine**, v. 4, p. 115–122, 2009.
- GUPTA, S.C.; PRASAD, S.; KIM, J.H.; PATCHVA, S.; WEBB, L.J.; PRIYADARSINI, I.K.; AGGARWAL, B.B.; Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. **Nat. Prod. Rep.** v. 28, p. 1937, 2011.
- JAGETIA, G.C.; AGGARWAL, B. B. Anti-Inflammatory Effects of Novel Standardized Solid Lipid Curcumin Formulations, **J. Clinical Immunology**.v.27,p. 19-35, 2007.
- KATSORI, A.M.; CHATZOPOULOU, M.; DIMAS, K.; KONTOGIORGIS, C.; PATSILINAKOS, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Curcumin analogues as possible anti-proliferative & anti-inflammatory agents. **Eur. J. Med. Chem.** v.46, p. 2722, 2011.
- LIANG, G. et al. Synthesis and anti-inflammatory activities of mono-carbonyl analogues of curcumina. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 1525-1529, 2008.
- OLIVEIRA, A., MOORE TW., HU F, et al.: Inhibition of the NF-kappaB signaling pathway by the curcumin analog, 3,5-Bis(2-pyridinylmethylidene)-4-piperidone (EF31): anti-inflammatory and anti-cancer properties. **Int Immunopharmacol.** v.12, p. 368–377, 2012.
- PANDHURNEKAR, P. C., MESHRAM, M. E.; CHOPDE, N. H.; BATRA, J. R.; Synthesis, characterization, and biological activity of 4-(2-hydroxy-5-(aryl-diazenyl)phenyl)-6-(aryl)pyrimidin-2-ols derivatives. **Organic chemistry international**. v.2013, 10p, 2013.