

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE COMPOSTOS DERIVADOS DE QUINOLINAS SOBRE *Trichomonas vaginalis*

VITÓRIA ADRIELLY CATSCHOR DOS SANTOS¹; BÁRBARA DA ROCHA FONSECA²; MIRNA SAMARA DIÉ ALVES²; RAQUEL NASCIMENTO DAS NEVES²; ÂNGELA SENA LOPES²; SIBELE BORSUK³

¹Universidade Federal de Pelotas. Curso de Biotecnologia – vitoriacatschor@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas. Curso de Biotecnologia – barbfonseca@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – raquelneees@hotmail.com e mirnadie@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – angelasena@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas. Curso de Biotecnologia – sibelevborsuk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O protozoário *Trichomonas vaginalis* é um parasita intracelular obrigatório, flagelado e anaeróbio facultativo mundialmente distribuído que coloniza o epitélio do trato urogenital humano (LEITSCH, 2016) causando a tricomoníase, doença sexualmente transmissível não-viral e tratável mais comum e prevalente do mundo, com mais de 276 milhões de novos casos por ano sendo mais comum em mulheres (WHO, 2012; LEITSCH, 2016).

A tricomoníase é uma doença predominantemente assintomática, mas quando há desenvolvimento de sintomas os mais comuns são o corrimento vaginal amarelo-esverdeado, fétido, espumoso e mucopurulento, disúria, prurido, irritação vulvar e corrimento uretral. Em casos mais graves pode haver complicações como vaginite crônica e cérvix morango nas mulheres e ulceração peniana e prostatite nos homens (KISSINGER, 2015). A doença está ainda associada a maior susceptibilidade ao parto prematuro, a doença inflamatória pélvica e a aquisição do vírus HIV (POOLE; MCCLELLAND, 2013).

O tratamento é realizado exclusivamente pelo uso de fármacos da classe dos 5-nitroimidazóis como o metronidazol e o tinidazol, que são as únicas substâncias aprovadas pela agência de Food and Drug Administration. Entretanto, falhas no tratamento, efeitos adversos e reações alérgicas vêm sendo observados, principalmente em consequência da toxicidade destes compostos. Além disso, o desenvolvimento de isolados de *T. vaginalis* resistentes a essa classe de medicamentos vem sendo reportado em frequências crescentes, demonstrando a necessidade de novas alternativas de tratamento (UPCROFT; UPCROFT, 2001; KISSINGER, 2015).

As quinolinas são caracterizadas como compostos heterocíclicos, aromáticos e nitrogenados (MANSKE, 1942) e possuem diversas atividades biológicas e farmacológicas já caracterizadas, como por exemplo: antitumorais, antituberculose, antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatórias (BEGNINI et al., 2017; CANDÉA et al., 2009; MUSIOL et al., 2006; FERRETTI et al., 2014; WILHELM et al., 2014). Portanto, considerando a amplo espectro de atividades biológicas dos derivados quinolínicos, estes compostos podem ser promissores candidatos na busca por novos compostos anti-*T. vaginalis*.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade tricomonicida de compostos derivados de quinolinas, a fim de verificar suas propriedades farmacológicas como uma alternativa para o tratamento da tricomoníase.

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese dos compostos derivados de quinolinas

Os compostos utilizados para execução deste trabalho foram sintetizados no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas, tendo sido obtidos com rendimentos isolados de 70 a 90%. Foram obtidos três compostos derivados de quinolinas: 1-(7-Cloroquinolino-4-il)-5-metil-N-fenil-1H-1,2,3-triazoil-4-carboxamida (QTCA-1); 1-(7-Cloroquinolino-4-il)-N,5-difenil-1H-1,2,3-triazoil-4-carboxamida (QTCA-2); 1-(7-Cloroquinolino-4-il)-N-fenil-5-(trifluorometil)-1H-1,2,3-triazoil-4-carboxamida (QTCA-3), os quais foram sintetizados a partir de síntese organocatalítica (WILHELM et al., 2014).

2. 2 Análise da atividade tricomonicida *in vitro*

Para avaliação *in vitro* dos derivados de quinolina-1,2,3-triazolil-carboxamidas (QTCA), foram utilizados isolados de *Trichomonas vaginalis*, ATCC 30236, cultivados em meio trypticase-extrato de levedo-maltose (TYM) (DIAMOND, 1957), sem ágar, pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino estéril, inativado a 56°C (POLAT et al., 2016). Os cultivos com trofozoítos que apresentaram 95% de viabilidade, comprovada através da exclusão por corante Azul de Tripan (0,4%), e análise da motilidade e morfologia satisfatória, tendo sido considerados vivos aqueles que apresentavam motilidade positiva e ausência de coloração pelo corante, foram utilizados para os experimentos. A análise foi realizada por contagens dos trofozoítos em câmara de Neubauer ao microscópio óptico (ampliação 400x).

O rastreamento farmacológico da atividade anti-*T. vaginalis* das QTCA foi realizado em microplacas de 96 cavidades e fundo chato - Cral®, nas quais os trofozoítos foram adicionados em cada cavidade na densidade de $2,6 \times 10^5$ trof/mL de meio TYM e incubados com os compostos, diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO), na concentração final de 100 µM. Para confirmação da atividade dos QTCA, além dos controles negativo (somente trofozoítos) e positivo (100 µM Metronidazol-Sigma Aldrich), também foi avaliado um controle com DMSO, não tendo este excedido a concentração de 0,6% de DMSO por cavidade. As placas foram incubadas à 37°C em estufa com 5% de CO₂ por 24 h.

Após a incubação, os trofozoítos foram homogeneizados com Azul de Tripan (0,4%) na proporção 1:1, tendo sido a solução utilizada para contagem dos trofozoítos e análises de motilidade e morfologia em câmara de Neubauer ao microscópio óptico (ampliação 400x).

2.3 Análises estatísticas

Foram realizados três experimentos independentes em triplicata e os resultados foram expressos como a porcentagem de viabilidade dos trofozoítos após tratamento em comparação com os trofozoítos não tratados. As análises estatísticas foram realizadas através da análise de variância de uma via (one-way ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey. O valor de probabilidade foi de $p < 0,05$ e todos os testes estatísticos foram realizados no software GraphPad Prism 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os dados obtidos no rastreamento farmacológico, o controle MTZ (100 µM Metronidazol-Sigma-Aldrich), fármaco utilizado no tratamento da tricomoníase, reduziu totalmente a viabilidade dos trofozoítos, apresentando motilidade negativa e coloração azulada devido ao Azul de Tripan (0,4%). Além disso, o controle com DMSO (0,6%) não apresentou diferença significativa quando comparado com o controle negativo (somente trofozoítos), sendo assim, não afetou a viabilidade dos trofozoítos, que apresentaram motilidade positiva, demonstrando que o mesmo não interfere na atividade dos compostos (Figura 1).

O composto QCTA 02 reduziu a viabilidade dos parasitos em 96%, e não apresentou diferença significativa do controle MTZ, demonstrado ser um potencial alvo de mais estudos relacionados à sua atividade antiparasitária em *T. vaginalis*, já os compostos QCTA 01 e QCTA 03 reduziram a viabilidade em 58% e 82%, respectivamente. (Figura 1).

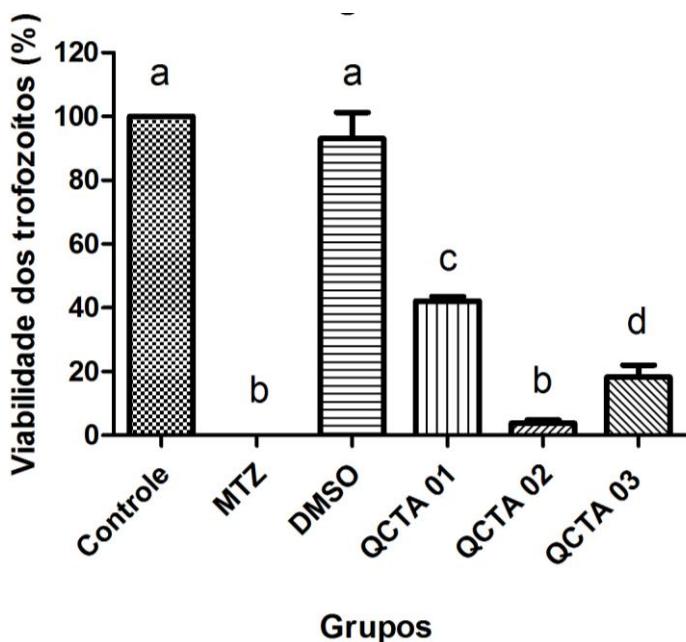


Figura 1. Rastreamento farmacológico dos compostos QCTA 01, QCTA 02, QCTA 03, na concentração de 100µM no tratamento do isolado de *T. vaginalis* 30236, após 24 h de exposição. Os dados representam a média ± desvio padrão do experimento em triplicata. Letras diferentes mostram diferença significativa em relação aos controles. ($p<0,05$).

4. CONCLUSÕES

A ação antiparasitária do presente estudo, foi observada quando testado as QTCA em *Trichomonas vaginalis*. Os parasitos demonstraram alterações de motilidade e morfologia indicando morte parasitária. Esses resultados confirmam que as quinolina-1,2,3-triazolil-carboxaminas são uma fonte farmacológica importante, e que alem de outros estudos, avaliando a concentração ideal dos compostos, tempo de ação dos mesmos, e testes de citotoxicidade, também deve ser avaliado o seu potencial em diferentes agentes infecciosos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEGNINI, K. R. et al. Apoptosis induction by 7-chloroquinoline-1,2,3-triazoyl carboxamides in triple negative breast cancer cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 91, p. 510-516, 2017.
- CANDÉA, A. L. et al. Synthesis and antitubercular activity of 7-chloro-4-quinolinylhydrazones derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 22, p. 6272-6274, 2009.
- DIAMOND, L.S. The establishment of various *Trichomonas* of animals and man in axenic cultures. **J Parasitol**, v. 43, p. 488–490, 1957.
- FERRETTI, M. D. et al. Synthesis of symmetrically substituted 3,3-dibenzyl-4-hydroxy-3, 4-dihydro-1H-quinolin-2-ones, as novel quinoline derivatives with antibacterial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 81, p. 253-266, 2014.
- KISSINGER, P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, 2015.
- LEITSCH, D. Recent advances in the *Trichomonas vaginalis* field. **F1000 Research**, v. 5, p. 162-168, 2016.
- Manske, R.H. The Chemistry of Quinlines. **Chemical Reviews**, v. 30, p.113-144, 1942.
- MUSIOL, R. et al. Antifungal properties of new series of quinoline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 10, p. 3592-3598, 2006.
- POLAT, Z. A. et al. Evaluation of the *in vitro* activity of ceragenins against *Trichomonas vaginalis*. **Acta Parasitologica**, v. 61, n. 2, p. 376-81, 2016.
- POOLE, D. N.; MCCLELLAND, R. S. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. **Sexually Transmitted Infections**, v. 89, n. 6, p. 418–422, 2013.
- UPCROFT, P.; UPCROFT, J. A. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 1, p. 150–164, 2001.
- WHO – World Health Organization. **Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections – 2008**. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2012.
- WILHELM, E. A. et al. Organocatalytic synthesis and evaluation of 7-chloroquinoline-1,2,3-triazoyl carboxamides as potential antinociceptive, anti-inflammatory and anticonvulsant agent. **RSC Advances**, v. 4, n. 78, p. 41437-41445, 2014.