

AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS ANÁLOGOS A CHALCONAS COM SUBSTITUINTE ACETOFENONA COM POTENCIAL TRICOMONICIDA

BÁRBARA DA ROCHA FONSECA¹; GABRIEL BRENNER¹; NICOLE RAMOS SCHOLL¹; TALLYSON NOGUEIRA BARBOSA²; ÂNGELA SENA-LOPES²; SIBELE BORSUK³

¹Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas – barbfonseca@hotmail.com; gabrielbrenner123@gmail.com; nicoleramosscholl@hotmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – tallyson_n_b@hotmail.com; angelasena@ymail.com

³Centro de Desenvolvimento Tecnológico - CDTEC – sibelevborsuk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Trichomonas vaginalis é um protozoário flagelado de metabolismo anaeróbio facultativo que infecta o trato urogenital do hospedeiro, causando a tricomoníase (MACIEL; TASCA; DE CARLI, 2004; PETRIN et al., 1998). Esta, refere-se a uma infecção sexualmente transmissível (IST) de alta prevalência e distribuição mundial, com estimativa de 276 milhões de novos casos ao ano (WHO, 2008).

O tratamento usual da tricomoníase consiste em fármacos da classe 5 nitroimidazóis, como o Metronidazol e o Tinidazol, disponíveis comercialmente e aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) (BOUCHEMAL; BORIES; LOISEAU, 2017). No entanto, a dependência de apenas uma classe farmacêutica torna-se um problema, visto que essa forma de tratamento já tem apresentado algumas falhas, como reações adversas, alergias, além de casos de isolados resistentes serem relatados, não apresentando uma alternativa de tratamento para esses casos (DUNNE et al., 2003; PETRIN et al., 1998).

Com isso, aumenta-se a necessidade da busca por novas composições com potencial tricomonicida, de forma a desenvolver novas alternativas de tratamento para essa doença. Tendo em vista algumas características já conhecidas de *T. vaginalis*, alguns alvos tornam-se mais interessantes na busca por novos fármacos, principalmente aqueles relacionados aos hidrogenossomos, organela de grande importância metabólica em *T. vaginalis*, uma vez que, por não possuir mitocôndrias, realiza a função energética da célula (PETRIN et al., 1998).

A partir disso, compostos análogos a chalconas surgem como uma alternativa interessante, visto que, além de serem amplamente distribuídas na natureza, apresentam facilidade de síntese. Além disso, sua estrutura principal é bastante versátil, possibilitando que diferentes estruturas derivadas possam ser desenvolvidas a partir desta, apresentando diferentes atividades biológicas (ORLIKOVÁ et al., 2011; PADHYE et al., 2010; RITTER et al., 2015). Dentre estas, pode-se destacar principalmente a atividade antiparasitária (BORSARI et al., 2017).

Desta forma, o presente trabalho propõe uma nova alternativa de tratamento para tricomoníase a partir da síntese de compostos análogos a chalconas com adição de substituinte acetofenona para avaliar a atividade antiparasitária in vitro desses compostos em *Trichomonas vaginalis*.

2. METODOLOGIA

Os compostos derivados de chalconas com substituintes acetofenonas foram sintetizados e cedidos para os experimentos pelo Laboratório de Lipidômica e Bio-Orgânica da Universidade Federal de Pelotas.

A avaliação da atividade biológica destes compostos foi realizada em isolados ATCC 30236 de *Trichomonas vaginalis*, cultivados em meio axênico Tripticase - Extrato de levedo – Maltose (TYM) sem ágar, com pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino adulto inativado e antibiótico para evitar possíveis contaminações, sob incubação a 37°C (DIAMOND, 1957). As culturas foram observadas em microscopia óptica e, aquelas que apresentaram viabilidade igual ou superior a 95% a partir do teste de exclusão por Azul de Tripan (0,4%), além de motilidade e morfologia adequadas, foram utilizadas nos experimentos.

No ensaio anti-*T. vaginalis*, os trofozoítos foram incubados em placas de microcultivo de 96 cavidades numa densidade inicial de $2,6 \times 10^5$ trofozoítos/mL. Os compostos foram acrescentados a placa na concentração de 100 μ M, diluídos em DMSO 0,6%. Também foram realizados três controles, sendo um controle positivo, contendo apenas os trofozoítos vivos, um controle negativo, contendo metronidazol a 100 μ M e um controle contendo DMSO 0,6%, comprovando que o veículo não interfere nos resultados apresentados. A placa foi incubada em estufa com 5% de CO₂ a 37°C durante 24h e, após, foi realizada a contagem dos trofozoítos com corante Azul de Tripan 0,4% em câmara de Neubauer. Todos os experimentos foram realizados três vezes e em triplicata.

As análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad Prism 7.0, através da Análise Unidirecional de Variância (ANOVA), seguida pelo pós-teste de Tukey, utilizando como valor de probabilidade $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 representa o gráfico referente aos resultados obtidos após 24h de incubação com os diferentes tratamentos com compostos análogos a chalconas com substituintes acetofenona em concentração de 100 μ M. As barras representam os percentuais de viabilidade dos trofozoítos de cada tratamento e as letras representam as diferenças estatísticas entre os grupos.

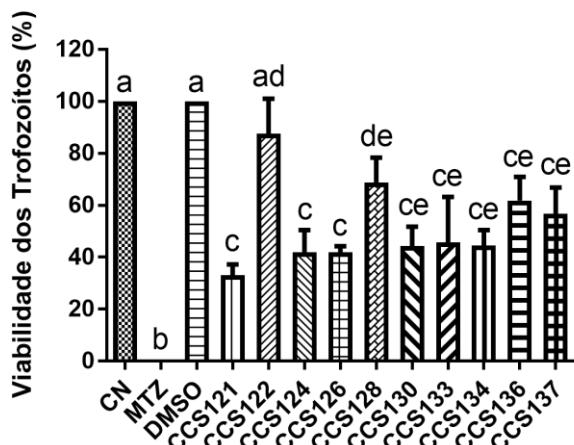


Figura 1: Viabilidade dos trofozoítos de *T. vaginalis* após 24h de exposição aos compostos. As barras representam os níveis de viabilidade dos trofozoítos e as letras as diferenças estatísticas entre os grupos. CN: Controle Negativo; MTZ: Metronidazol (Controle Positivo); DMSO: Controle veículo.

Dentre os compostos testados no experimento, apenas o composto CCS122 não apresentou diferenças estatísticas quando comparado aos controles negativo e DMSO, apresentando 87% de viabilidade dos trofozoítos no grupo tratado. Ademais, todos os demais tratamentos apresentaram diferenças estatísticas do controle negativo, demonstrando redução na viabilidade dos trofozoítos.

Quanto as diferenças observadas entre os grupos, observa-se que os grupos CCS121, CC124 e CCS126, não apresentaram diferenças estatísticas entre si, não apresentando diferenças também dos grupos CCS130, CCS133, CCS134, CCS136 e CCS137. O tratamento CCS128, além de não apresentar diferença estatística do tratamento CCS122, também não apresentou diferença dos grupos CCS130, CCS133, CCS134, CCS136 e CCS137.

Tendo em vista que a maioria dos grupos tratados apresentou diferenças estatísticas do controle positivo, algumas estratégias podem ser adotadas, a fim de obter melhor desempenho desses compostos, como aumento nas concentrações iniciais ou combinação com outros compostos com atividade já comprovada, de mesma classe ou de outra natureza. Anthwal e colaboradores em 2009 demonstrou resultados de chalconas conjugadas com metronidazol, em baixas concentrações, apresentando inibição do crescimento mesmo em isolados resistentes ao metronidazol, tornando esta uma alternativa interessante para otimizar os tratamentos utilizados neste trabalho.

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados apresentados, observou-se que os compostos análogos a chalconas com substituintes acetofenonas apresentaram atividade biológica em *Trichomonas vaginalis*. No entanto, a concentração utilizada não foi suficiente para redução completa da viabilidade dos trofozoítos e, por isso, novos testes e novas alternativas devem ser adotadas, a fim de otimizar o desempenho dos mesmos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTHWAL, A. et al. Novel metronidazole-chalcone conjugates with potential to counter drug resistance in *Trichomonas vaginalis*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 79, p. 89–94, 2014.
- BORSARI, C. et al. Methoxylated 2'-hydroxychalcones as antiparasitic hit compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 126, n. 2017, p. 1129–1135, 2017.
- BOUCHEMAL, K.; BORIES, C.; LOISEAU, P. M. Strategies for prevention and treatment of *Trichomonas vaginalis* Infections. v. 30, n. 3, p. 811–825, 2017.
- DIAMOND, L. S. The Establishment of Various Trichomonads of Animals and Man in Axenic Cultures. **The Journal of Parasitology**, v. 43, n. 4, p. 488, 1957.
- DUNNE, R. L. et al. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. **Cell Research**, v. 13, n. 4, p. 239–249, 2003.

MACIEL, G. DE P.; TASCA, T.; DE CARLI, G. A. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. **J Bras Patol Med Lab**, v. 40, n. 3, p. 152–160, 2004.

ORLIKOVÁ, B. et al. Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. **Genes and Nutrition**, v. 6, n. 2, p. 125–147, 2011.

PADHYE, S. et al. Fluorinated 2'-hydroxychalcones as garcinol analogs with enhanced antioxidant and anticancer activities. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 19, p. 5818–5821, 2010.

PETRIN, D. et al. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 300–317, 1998.

RITTER, M. et al. Green synthesis of chalcones and microbiological evaluation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 1201–1210, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections. 2008.