

BIOPROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE *Iridea cordata* NA FASE CISTOCÁRPICA DE DESENVOLVIMENTO CONTRA *Trichomonas vaginalis*

HENRIQUE GONÇALVES PEGORARO¹; TALLYSON NOGUEIRA BARBOSA²;
ÂNGELA SENA-LOPES³; CLÁUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA⁴; SIBELE
BORSUK⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – henrique.pegoraro2@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – tallyson_n_b@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – angelasena@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – sibleborsuk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Dentre as doenças sexualmente transmissíveis não-virais, a tricomoníase, destaca-se por possuir uma alta taxa de transmissão (ALVES et al, 2020), tendo como agente, o *Trichomonas vaginalis*, um protozoário unicelular flagelado que infecta a região urogenital, aderindo-se as células epiteliais genitais (MERCER; JOHNSON, 2018). Em mulheres, esta doença apresenta diversos sintomas, tais como vaginite, cervicite, infertilidade e suscetibilidade a infecção por HIV. Por sua vez, em homens, esta doença apresenta-se majoritariamente assintomática, mas quando sintomáticos, observa-se a presença de prostatite e inflamação na uretra (EDWARDS et al, 2016).

O principal tratamento empregado para esta enfermidade, é a utilização do metronidazol (MTZ), um composto pertencente à família dos 5-nitroimidazol, que atua no material genético do parasito (MENDES et al, 2020). Apesar da possuir eficácia comprovada, efeitos colaterais, como inchaço, febre, reações alérgicas e eritema já foram observados em indivíduos utilizando este medicamento (SINGH et al, 2019), além do surgimento de isolados resistentes a este composto (OZPINAR et al, 2019).

Visto isso, é necessário a busca por novos produtos para o tratamento da tricomoníase, neste cenário, destacam-se as macroalgas. Organismos fontes de bioativos que já demonstraram ser candidatos promissores para pesquisa científica (MEKINIĆ et al, 2019). A capacidade das macroalgas de se desenvolverem nos mais diferentes tipos de ambientes (HO, 2020), colabora para o desenvolvimento de compostos moleculares complexos, com capacidade de interagir com diversos receptores celulares dos organismos vivos, inibindo ou promovendo certos efeitos biológicos, competindo pela ligação de receptores celulares e interferindo com macromoléculas (BESEDNOVA et al, 2021). Fazendo com que estes organismos sejam considerados excelentes fontes de compostos bioativos para a síntese de biofármacos.

Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade tricomonocida do extrato lipídico de *Iridea cordata*, uma macroalga subantártica, em sua fase cistocárpica de desenvolvimento na inibição do *Trichomonas vaginalis*.

2. METODOLOGIA

A coleta de amostras de *Iridea cordata* foi efetuada de forma manual na região de Punta Arena (Latitude: -53,1667, Longitude: -70,9333 53° 10' 0" Sul, 70° 55' 60" Oeste).

A extração dos ácidos graxos das amostras foi efetuada pelo método relatado por Bligh e Dyer (B&D). Uma mistura com 20 mL de etanol, 10 mL de clorofórmio, 10 mL de 1,5% solução aquosa de sulfato de sódio e 1 g de biomassa foram agitadas constantemente a temperatura ambiente por 30 minutos. As amostras então foram colocadas em tubos e centrifugadas a 3000 rpm por 30 minutos, e a camada mais baixa de fase orgânica foi coletada e secada sob pressão reduzida.

Os isolados de *T. vaginalis* foram cultivados em meio triptona – extrato de levedura – maltose (TYM) sem ágar e suplementados com soro bovino adulto estéril 10% (SBS) e incubados a 37°C.

A ação anti-*T. vaginalis* induzida pela fase cistocárpica (IFC) do extrato lipídico foi avaliado de acordo com SENA-LOPES et al (2017). O extrato foi considerado para uso com uma viabilidade de 95%, baseando-se na análise da motilidade, morfologia, e um teste de exclusão com azul de trypan (0,4%) por microscopia ótica. Para avaliar o MIC (concentração mínima inibitória) e IC50 (50% de concentração inibitória), o teste foi efetuado em placas de 96 poços. Os parasitos foram inseridos a uma densidade inicial de $2,6 \times 10^5$ trofozoítos/mL de TYM e incubado com IFC diluído em DMSO (0,6%). Os extratos lipídicos foram então avaliados em concentrações de 600 µg/mL, 300 µg/mL, 150 µg/mL, 75 µg/mL e 37,5 µg/mL. Três controles foram utilizados: controle negativo (somente trofozoítos), controle positivo (100 µM MTZ) e controle para o veículo utilizado para a solubilização do extrato de IFC (DMSO 0,6%). As placas foram então incubadas a 37° C em 5% CO₂ por 24 h. Após incubação, foi realizado a contagem dos trofozoítos através da análise pelo azul de trypan (0,4%) em câmara de Neubauer para determinar o MIC e IC50, considerando motilidade, morfologia e viabilidade dos trofozoítos.

Os parasitos tratados com o extrato em concentração de MIC, assim como os controles, foram usados no ensaio para avaliar a curva cinética de crescimento dos trofozoítos. As amostras foram então incubadas em eppendorfs contendo 1,5 mL de meio TYM com SBS e antibióticos a 37° C, e a contagem foi efetuada em câmara de Neubauer a 1, 6, 12, 24, 48, 72, e 96 h pelo teste de exclusão com azul de trypan (0,4%).

Todos os ensaios foram realizados independentemente três vezes em triplicata. Os resultados foram expressos como o percentual de parasitos viáveis em comparação com parasitos não viáveis. Os resultados foram analisados estatisticamente usando análise de variância unidirecional (ANOVA) com valor de $p < 0,05$ sendo considerado estatisticamente significativo. Tukey's foi aplicado para comparar as viabilidades médias de diferentes tratamentos. O programa estatístico GraphPad Prism versão 5.0 para O Windows (GraphPad Software, EUA) será usado para a análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato lipídico IFC a uma concentração de 600 µg/mL reduziu a viabilidade dos trofozoítos em 97% após 24 h de exposição (Figura 1), sendo considerado como o MIC do extrato.

O valor de IC50 ficou estabelecido a uma concentração de 300 µg/mL. No controle negativo e de 0,6% DMSO os trofozoítos possuíam motilidade e não coraram com azul de trypan. O controle positivo com MTZ, por outro lado, diminuiu a

viabilidade dos parasitos, demonstrando perda de motilidade e coloração efetiva com azul de trypan após 24h de exposição (Figura 1).

Na curva cinética se foi observado que uma concentração de 600 µg/mL de IFC reduziu o crescimento dos trofozoítos em 45% em 12 h de exposição, sem diferença significativa comparada com o controle positivo de MTZ após 24 h (Figura 2).

Figura 1. Determinação dos valores de MIC e IC50 do IFC contra *T. vaginalis*.

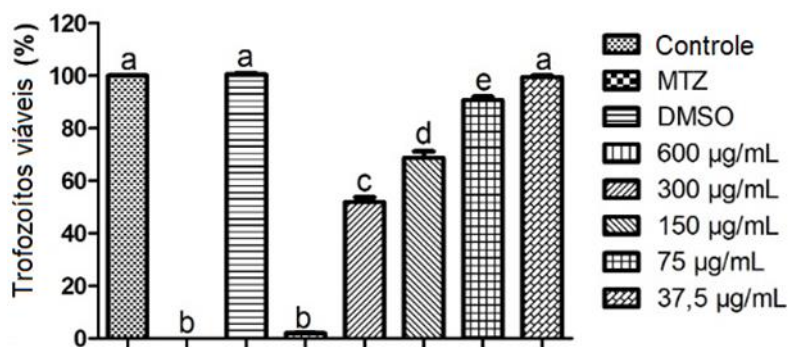
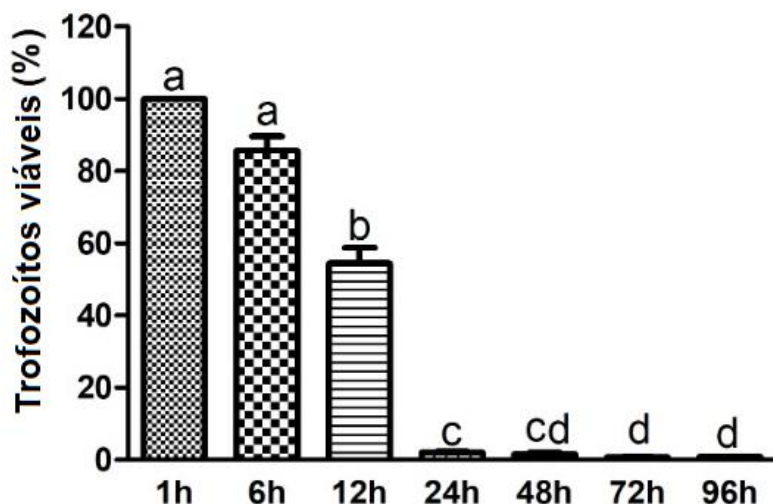


Figura 2. Curva cinética de *T. vaginalis* com 600 µg/mL de IFC



A tricomoníase é uma infecção sexualmente transmissível que impacta significativamente a saúde pública global, fazendo com que, haja uma necessidade de se investigar novas fontes promissoras no combate a esta infecção parasitária. Os resultados aqui apresentados, indicaram uma atividade antiparasitária do extrato de *Iridea cordata*, significativa quando comparado ao grupo tratado com MTZ, fármaco comercialmente disponível para o tratamento desta doença.

Os efeitos antiparasitários de fontes naturais já foram relatados na literatura. O óleo de *Polyalthia longifolia*, também conhecido como árvore mastro, já demonstrou uma inibição de 80,8% do protozoário *Toxoplasma gondii* (ATOLANI et al, 2019). Além disso, extratos de esponjas marinhas mostraram ação inibitória contra espécies de *Leishmania* por inibir as formas amastigota e promastigota deste parasito (MAYER et al., 2021), o que corrobora com os resultados aqui observados, prospectando assim o desenvolvimento de bioprodutos, para o controle das infecções parasitárias tais como a tricomoníase.

4. CONCLUSÕES

O extrato de *Irídea cordata* na fase cistocárpica de desenvolvimento demonstrou atividade antiparasitária considerável comparado aos controles, podendo ser empregado em produtos farmacológicos oriundos de fontes naturais oferecendo novas perspectivas sobre extratos naturais de fontes marinhas como opções viáveis para o tratamento da tricomoníase.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVES, M. S. D. et al. Antiparasitic activity of furanylN-acylhydrazones derivatives against *Trichomonas vaginalis*: In vitro and in silico analyses. **Parasites and Vectors**, v.13, p.1–13, 2020.
2. AQUINO, M. F. K. de, HINDERFELD, A. S. & Simoes-Barbosa, A. *Trichomonas vaginalis*. **Trends Parasitol**, v.36, p.646–647, 2020.
3. ATOLANI, O. et al. Chemical composition, antioxidant, anti-lipoxygenase, antimicrobial, anti-parasite and cytotoxic activities of *Polyalthia longifolia* seed oil. **Med. Chem. Res**, v.28, p.515–527, 2019.
4. BESEDNOVA, N. N. et al. Antiparasitic effects of sulfated polysaccharides from marine hydrobionts. **Mar. Drugs**, v.19, p.1–25, 2021.
5. EDWARDS, T., BURKE, P., SMALLEY, H., & HOBBS, G. *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. **Critical reviews in microbiology**, v.42, p.406–417, 2016.
6. HO, C. L. Comparative genomics reveals differences in algal galactan biosynthesis and related pathways in early and late diverging red algae. **Genomics**, v.112, p.1536–1544, 2020.
7. LEITSCH, D. A review on metronidazole: an old warhorse in antimicrobial chemotherapy. **Parasitology**, p.1167–1178, 2019.
8. MAYER, A., GUERRERO, A. J., RODRÍGUEZ, A. D., TAGLIALATELA-SCAFATI, O., NAKAMURA, F., & FUSEYANI, N. Marine Pharmacology in 2016–2017: Marine Compounds with Antibacterial, Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis and Antiviral Activities; Affecting the Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action. **Marine drugs**, v.19, p.49, 2021.
9. MEKINIĆ, I. G. et al. Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction, identification, and quantification. **Biomolecules**, v.9, 2019.
10. MERCER, F. & JOHNSON, P. J. *Trichomonas vaginalis*: Pathogenesis, Symbiont Interactions, and Host Cell Immune Responses. **Trends Parasitol**, v.34, p.683–693, 2018.
11. OZPINAR, H., OZPINAR, N. & ERUYGUR, N. Effect of *Viscum album* L. ssp. *austriacum* (WIESP.) Vollman on metronidazole resistant and sensitive strains of *Trichomonas vaginalis*. **South African J. Bot.** v.125, p.81–85, 2019.
12. SINGH, G. et al. Synthesis and characterization of microwave-assisted biologically active triazole silanes. **Appl. Organomet. Chem.** V.33, p.1–15, 2019.