

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE ANÁLOGOS DE CHALCONAS: DETERMINAÇÃO DE MIC E IC50 CONTRA *TRICHOMONAS VAGINALIS*.

RODRIGO ALBERTHO ALMEIDA WEDY¹; GUSTAVO SANTOS HARTLEBEN;
BEATRIZ OSWALD RUTZ; ESHILEY COSTA MENDES; BÁRBARA FONSECA²;
SIBELE BORSUK³

¹Universidade Federal de Pelotas – wedy.rodrigo@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gustavo-hart@hotmail.com.br; beatrizrutz19@gmail.com;
eshiley.cmendes@gmail.com; barbfonseca@hotmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – sibleborsuk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O protozoário *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) é o agente etiológico da tricomoníase - infecção sexualmente transmissível (IST) não-viral mais prevalente no mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a estimativa é que este parasito infecte aproximadamente 156 milhões de pessoas no mundo a cada ano, sendo que 70% destes podem ser considerados assintomáticos (favorecendo a disseminação da enfermidade) (WHO, 2012).

A tricomoníase é responsável por mais de 50% das infecções relacionadas às relações sexuais, tendo como consequência o aumento das chances de o paciente contrair sífilis, papiloma vírus humano (HPV), síndrome da imunodeficiência humana (HIV), entre outras doenças (MACIEL et al., 2004.). Dessa forma, este presente estudo visa buscar novas medidas terapêuticas para pacientes acometidos por esta enfermidade, visto que este é um problema relevante de saúde pública.

O tratamento protocolar, vigente há cinco décadas, para esta IST se dá através dos antibióticos da classe dos 5-nitroimidazóis (Metronidazol e Tinidazol) (BOUCHEMAL; BORRIES; LOISEAU, 2017). Isto posto, apesar de eficaz no processo tricomonicida, ainda possui significativas falhas devido a certos efeitos adversos como: elevados índices de toxicidade, que leva os pacientes a terem uma baixa adesão na continuidade do tratamento e, por consequência, novas cepas resistentes vêm à tona. Nesse sentido, a necessidade do estudo para novos agentes com atividade anti-*T.vaginalis* tornam-se de suma importância para uma metodologia mais eficaz para tal intervenção (PETRIN et al, 1998).

Logo, uma possível alternativa para suprir esta lacuna faz-se relevante para estudo: as chalconas constituem de cetonas aromáticas intermediárias na biossíntese de flavonoides, sendo substâncias muito evidentes em plantas, ou seja, amplamente distribuída pela natureza e com uma diversidade de atividades biológicas, como por exemplo a antiparasitária (BORSARI ET AL, 2017). Portanto, este projeto visa apresentar atividade tricomonicida promissora em testes in vitro, buscando avaliar a atividade de concentração inibitória mínima (MIC) e a concentração inibitória de 50% (IC50) de compostos análogos de chalconas.

2. METODOLOGIA

Os compostos utilizados nesta pesquisa foram sintetizados e cedidos pelo laboratório de Lipidômica da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), contribuindo significativamente para a realização deste estudo. Dos dez derivados

de chalconas 2-acetiltiofeno sintetizadas, foi realizado um rastreamento farmacológico, de forma a avaliar suas atividades antiparasitárias. Para isso, os compostos a 100 µM foram incubados juntamente aos trofozoítos em placas de 96 cavidades, para avaliação da sua atividade, seguindo a metodologia de Sena-Lopes e colaboradores (Sena-Lopes et al., 2017). Com base nos resultados obtidos nesse ensaio, quatro chalconas apresentaram potencial tricomonocida, avançando para as etapas subsequentes da pesquisa.

Os ensaios de atividade anti-*T.vaginalis* para concentração inibitória mínima (MIC) foram realizados da mesma forma descrita anteriormente. Dessa forma, a ação contra *T.vaginalis*, dos análogos de chalconas (3a, 3c, 3g, 3i) foi avaliada, em placas de microtitulação de 96 poços, no qual o cultivo foi semeado com densidade inicial de $2,6 \times 10^5$ trofozoítos/mL. Em seguida, os compostos foram adicionados em concentrações de 100 µM, 90 µM, 80 µM, 70 µM, 60 µM, 50 µM e 40 µM diluídos em DMSO. Diante disso, foram realizados três controles nas mesmas condições: negativo (apenas células), positivo (MTZ 100 µM) e veículo (DMSO 0,6%).

As análises estatísticas foram realizadas a partir do software GraphPad 7,0. Os dados obtidos pelo rastreamento farmacológico e concentração inibitória mínima (MIC) foram obtidos por análise de variância de uma via (ONE WAY ANOVA). Este teste foi realizado para comparar os diferentes tratamentos aos controles negativo, positivo e veículo. O teste de Tukey foi realizado para detecção de diferenças significativas entre as médias, com um valor de $p > 0,05$. O valor de IC50 foi avaliado por meio de regressão não linear. Por fim, os resultados para rastreamento farmacológico e MIC indicaram que compostos 3a, 3c, 3g e 3i mostravam diferenças estatísticas em relação ao controle positivo com metronidazol, validando o antiparasitário.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as dez chalconas avaliadas no rastreamento farmacológico, quatro apresentaram atividade promissora. Dessa forma, os compostos 3a, 3c, 3g e 3i foram selecionados para as etapas seguintes do experimento (figura 1).

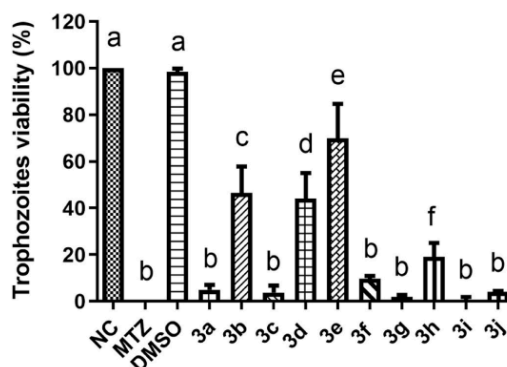


Figura 1. Viabilidade dos trofozoítos após 24 h de incubação com compostos análogos à chalconas com substituinte acetiltiofeno na concentração de 100 µM. NC: Controle negativo; MTZ: Controle Positivo (Metronidazol); DMSO: Controle de Veículos.

Os resultados experimentais obtidos na avaliação da atividade antiparasitária dos compostos análogos de chalconas foram promissores, com

valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) e Concentração Inibitória de 50% (IC₅₀) que indicam um potencial terapêutico significativo. Os compostos 3a, 3c, 3g e 3i, apresentaram os MIC de 70 μ M, 80 μ M, 90 μ M e 90 μ M, respectivamente. Estes valores foram inferiores quando comparados ao controle positivo, metronidazol (MTZ 100 μ M), que é o tratamento padrão para a tricomoniase.

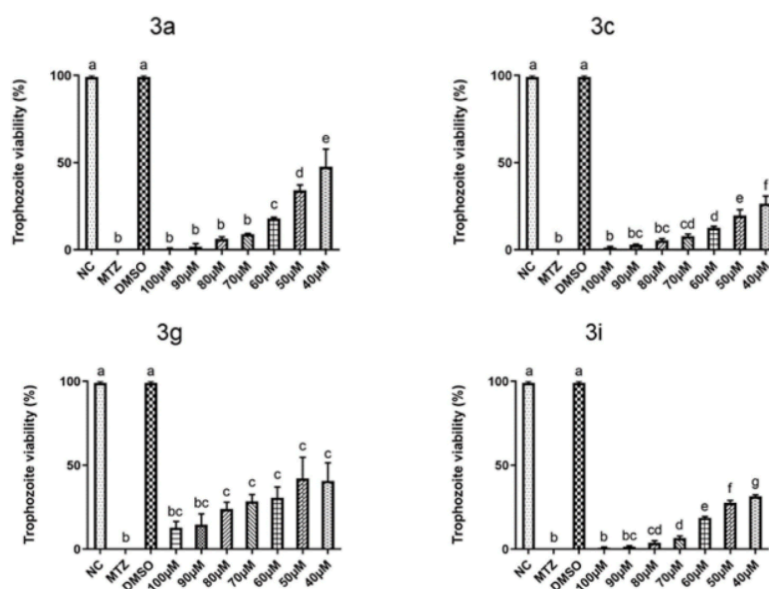
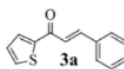
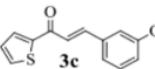


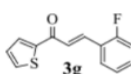
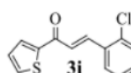
Figura 2. Viabilidade dos trofozoítos após 24 h de incubação com os compostos 3a, 3c, 3g e 3i em diferentes concentrações para determinação da MIC e IC₅₀. NC: Controle negativo; MTZ: Controle Positivo (Metronidazol); DMSO: Controle de Veículos.

Sendo assim, com base na análise dos dados, os compostos 3a e 3c se destacam como os mais eficazes entre os testados, apresentando os menores valores de MIC e demonstrando, portanto, uma maior capacidade de inibir o crescimento do protozoário *T. vaginalis*. Esses resultados indicam que a estrutura química das chalconas desempenha um papel crucial na sua atividade antiparasitária. Logo, a comparação entre os compostos sugere que a presença de substituintes específicos nas chalconas está associada a uma maior eficácia, evidenciando a importância das modificações estruturais na otimização da atividade antiparasitária.

Tabela 1:

Dados de chalconas sintéticas 3a, 3c, 3g e 3i derivadas de 2-acetiltiofeno.

| Chalcone | Exact Mass | Yield (%) | Melting Point (°C) |
|--|------------|-----------|---|
|  3a (E)-3-phenyl-1-(thiophen-2-yl) prop-2-en-1-one | 214.05 | 76 | Exp.: 70–72 Lit.: 70 (Ingle et al., 2010) |
|  3c (E)-3-(3-methoxyphenyl)-1-(thiophen-2-yl) prop-2-en-1-one | 244.06 | 85 | Exp.: 58–60 Lit.: 58–59 (Ritter et al., 2015) |

| | | | |
|---|--------|----|---|
|  | 232.04 | 18 | Exp.: 52–53 Lit.: 52–54 (Mathew et al., 2015) |
| fluorophenyl)-1-(thiophen-2-yl) prop-2-en-1-one | | | |
|  | 248.01 | 43 | Exp.: 128–129 Lit.: 130–131 (Raghav et al., 2012) |
| chlorophenyl)-1-(thiophen-2-yl) prop-2-en-1-one | | | |

4. CONCLUSÕES

As principais evidências relacionadas à MIC e ao IC₅₀ demonstram que os compostos análogos de chalconas testados possuem um perfil tricomonicida promissor, com valores de MIC inferiores à 100 µM. Acerca disso, esses resultados são relevantes para o desenvolvimento de novos agentes antiparasitários, pois indicam que esses compostos podem oferecer uma alternativa viável aos tratamentos atuais, especialmente em um contexto de resistência a medicamentos.

Assim sendo, para avançar nesta pesquisa, é recomendável realizar experimentos adicionais que incluem a avaliação de possíveis mecanismos de ação dos compostos, testes em modelos *in vivo* e a análise de possíveis interações com outros medicamentos. Deste modo, a realização de estudos de toxicidade em organismos modelo e a investigação da farmacocinética e farmacodinâmica dos compostos também são passos cruciais para a validação do potencial terapêutico de chalconas como agente tricomonicida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SENA-LOPES, A., das Neves, R.N., Bezerra, F.S.B., de Oliveira Silva, M.T., Nobre, P.C., Perin, G., Alves, D., Savegnago, L., Begnini, K.R., Seixas, F.K., Collares, T., Borsuk, S., 2017. Antiparasitic activity of 1,3-dioxolanes containing tellurium in *Trichomonas vaginalis*. **Biomed & Pharmacother.** 89, 284–287.
- DUNNE, R.L., Dunn, L.A., Upcroft, P., O'Donoghue, P.J., Upcroft, J.A., 2003. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. **Cell Research.** 13, 239–249.
- DIAMOND, L.S., 1957. The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. **The Journal of Parasitology.** 43, 488.
- MAHAPATRA, D.K., Bharti, S.K., Asati, V., 2015. Anti-cancer chalcones: structural and molecular target perspectives. **Eur. J. Med. Chem.** 98, 69–114.
- DÍAZ-TIELAS, C., Grana, E., Reigosa, M.J., Sanchez-Moreiras, A.M., 2016. Atividades Biológicas e Novas Aplicações das Chalconas. **Planta Daninha.** 34, 607–616.
- NEVES, R.N., Sena-Lopes, A., Alves, M.S.D., da Rocha Fonseca, B., da Silva, C.C., Casaril, A.M., Savegnago, L., de Pereira, C.M.P., Ramos, D.F., Borsuk, S., 2020. 2'-Hydroxychalcones as an alternative treatment for trichomoniasis in association with metronidazole. **Parasitol. Res.** 119, 725–736.