

Atividade anti-*Trichomonas vaginalis* de extratos de plantas da Caatinga

Silva N.L.F., Vieira P.B., Tasca T.

Laboratório de Pesquisa em Parasitologia, Faculdade de Farmácia, UFRGS.

INTRODUÇÃO

Trichomonas vaginalis coloniza o trato urogenital humano causando a tricomonose, a doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo¹. Em mulheres, *T. vaginalis* produz vaginite, acompanhada de corrimento bolhoso, amarelado ou esverdeado. Em homens, geralmente a tricomonose é assintomática².

A tricomonose é tratada com fármacos do grupo dos 5'-nitroimidazóis, como o metronidazol e o tinidazol, sendo estes os únicos fármacos aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*). A ativação destes pró-fármacos é mediada pela enzima piruvato-ferredoxina-oxidoreductase produzindo radicais nitro, os quais são tóxicos aos parasitos. Entretanto, efeitos adversos são frequentes, tais como o risco de efeitos carcinogênicos e teratogênicos devido a capacidade de atravessar a barreira placentária³. Falhas no tratamento e um número expressivo de isolados resistentes vêm sendo observados⁴. Considerando o impacto da tricomonose na saúde pública e o crescente número de casos de resistência, fica evidente a necessidade de novas alternativas para o tratamento.

Produtos naturais são fontes promissoras de novos compostos e vêm sendo utilizados no tratamento de diversas doenças ao longo dos anos⁵. A Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro, sujeito a condições ambientais diferenciadas, como altas temperaturas e baixos índices pluviométricos. Esses aspectos ecológicos contribuem para a existência de uma flora característica nesse bioma, a qual é amplamente utilizada pela população para o tratamento de diversas doenças, dentre elas doenças venéreas e inflamações do trato genitourinário. Neste sentido a Caatinga representa uma fonte imensurável de compostos farmacologicamente ativos.

Nesse contexto, este estudo teve por objetivo determinar a atividade anti-*T. vaginalis* *in vitro* dos extratos obtidos a partir de plantas A, B e C oriundas da Caatinga.

METODOLOGIA

Nesse estudo foi utilizado o isolado ATCC30236, cultivado em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM) pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino inativado⁶.

• Obtenção de extratos e frações

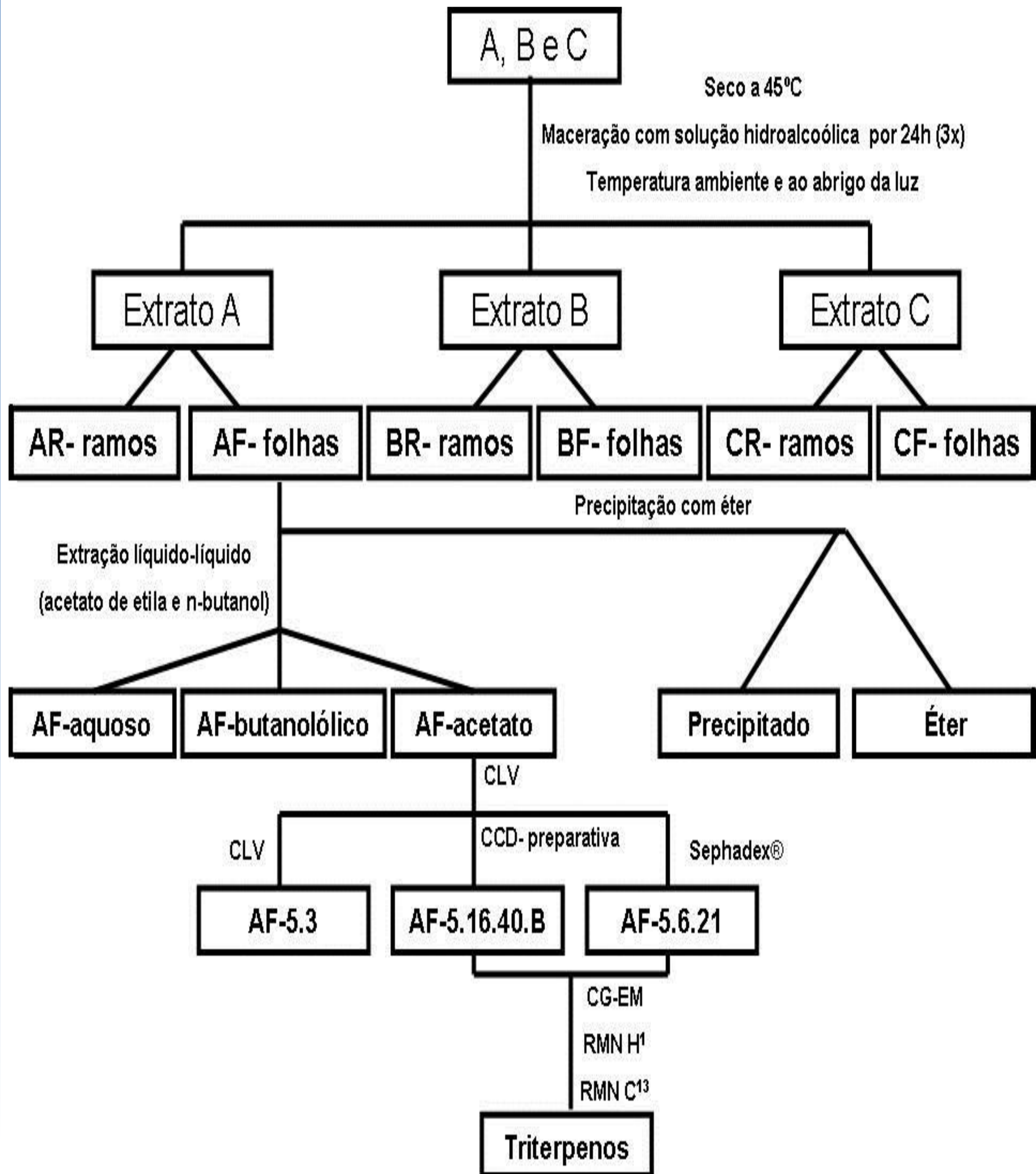


Figura 1. Fluxograma para obtenção dos extratos e frações obtidos a partir das plantas A, B e C. CLV – cromatografia líquida a vácuo; CCD – cromatografia em camada delgada; CG-EM – cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas; RMN – ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono.

• Ensaios biológicos

O screening foi realizado em microplacas de 96 poços e a concentração de extrato utilizada foi de 1,0 mg/mL. Os parasitos foram adicionados em cada poço na densidade de $1,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada para os extratos que demonstraram atividade anti-*T. vaginalis* mais promissora. Para determinação da CIM, foi realizada uma diluição seriada dos extratos variando a concentração de 2,0 a 0,0150 mg/mL. Em ambos os ensaios, as microplacas foram mantidas a 37°C por 24 horas em estufa de CO₂. Para confirmação do valor da CIM, o conteúdo do poço onde foi determinada a CIM e do poço com a concentração imediatamente abaixo da CIM foram re-inoculados em meio livre de extrato e a presença de trofozoítos viáveis durante o período de 120h foi avaliada. Três controles foram realizados: controle positivo – 100 µM de metronidazol; controle negativo – trofozoítos em meio TYM e; controle do veículo – DMSO 2,5%. Após o período de incubação, os trofozoítos foram observados sob microscopia óptica e a atividade foi determinada avaliando a motilidade e morfologia dos parasitos em comparação com o controle negativo. A atividade das frações foi determinada por contagem em hemocítmetro e a viabilidade determinada em porcentagem de trofozoítos viáveis em relação ao controle negativo (100% de viabilidade).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No screening, os extratos da planta A apresentaram melhor atividade anti-*T. vaginalis*, pois reduziram em 100% a viabilidade dos parasitos (dados não mostrados) e, portanto, foram utilizados para determinação da CIM, a qual foi 1,0mg/mL e 2,0mg/mL para os extratos obtidos a partir de folhas e ramos, respectivamente. A partir destes resultados, decidiu-se iniciar o fracionamento e purificação do extrato obtido das folhas da planta A. Nas figuras 2, 3 e 4 observa-se a atividade das diferentes frações obtidas.

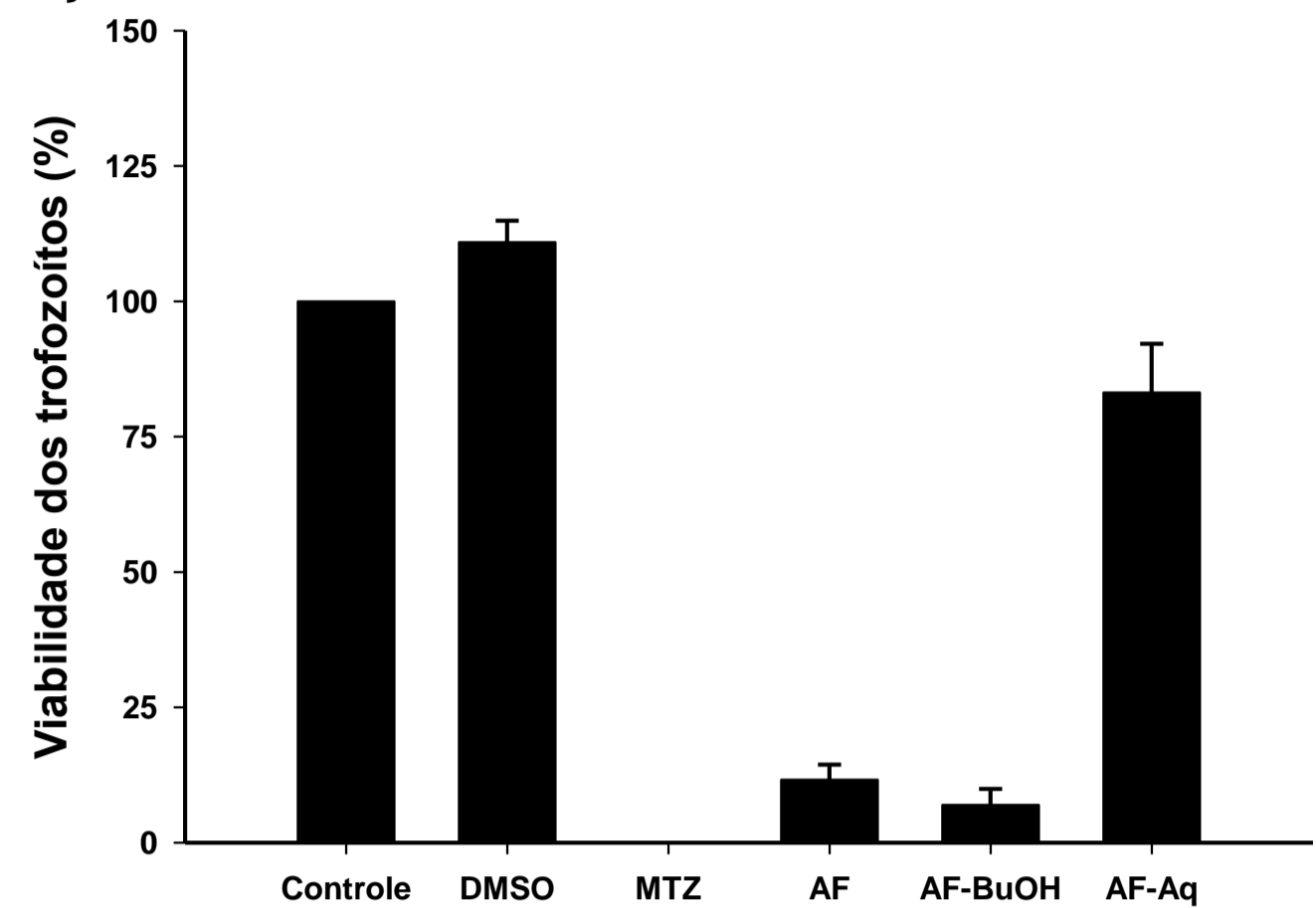


Figura 2. Efeito das frações do extrato obtido a partir das folhas da planta A na viabilidade de trofozoítos do isolado 30236 de *T. vaginalis*. Controle – meio TYM; DMSO – veículo de solubilização das amostras; MTZ – metronidazol 100 µM; AF – extrato bruto; AF-BuOH – fração butanólica; AF-Aq – fração aquosa. AF-Aq reduziu a viabilidade dos trofozoítos. O extrato bruto e a fração butanólica reduziram a viabilidade dos parasitos em mais de 75%.

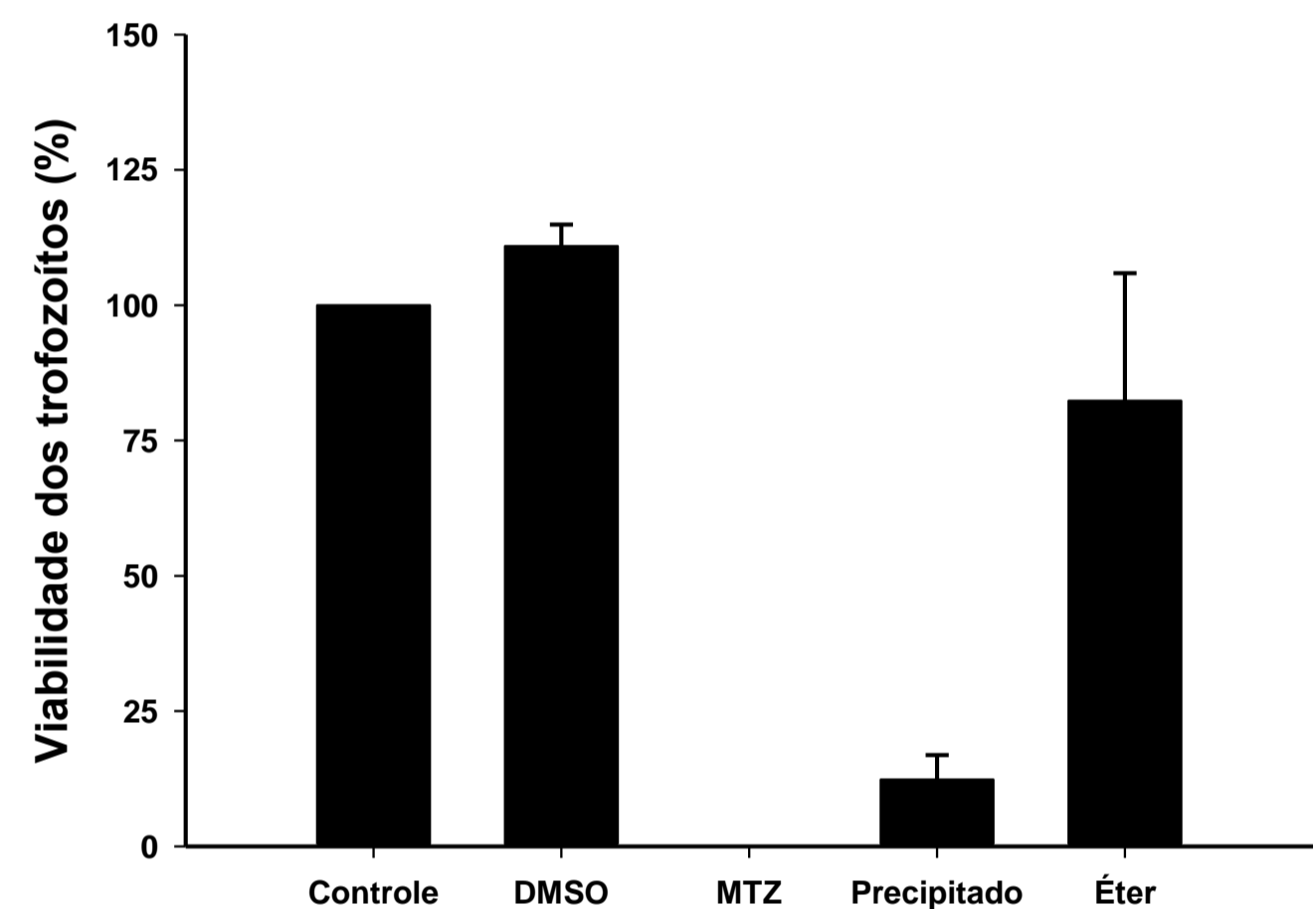


Figura 3. Efeito das frações do extrato obtido a partir das folhas da planta A na viabilidade de trofozoítos do isolado 30236 de *T. vaginalis*. Precipitado reduziu a viabilidade dos trofozoítos em mais de 75%.

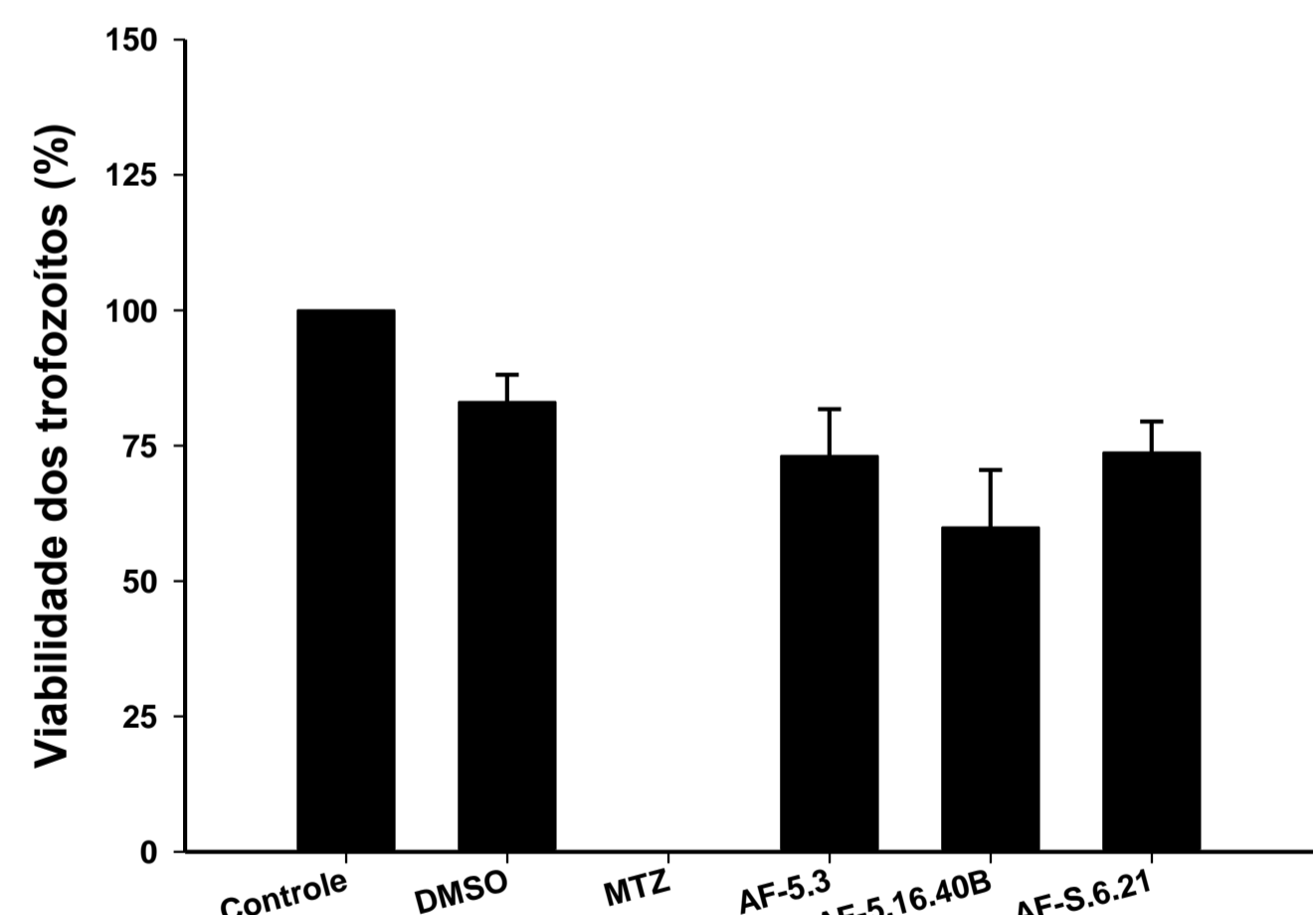


Figura 4. Efeito das frações do extrato obtido a partir das folhas da planta A na viabilidade de trofozoítos do isolado 30236 de *T. vaginalis*. AF-5.3, AF-5.16.40B e AF-S.6.21 demonstraram baixa atividade anti-*T. vaginalis*.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam que a planta A apresenta uma promissora atividade anti-*T. vaginalis*, demonstrando o destacável potencial farmacológico das espécies vegetais oriundas da Caatinga. Os resultados obtidos a partir dos ensaios com as frações demonstram que as frações mais apolares apresentaram pouca atividade anti-*T. vaginalis*. Em contrapartida, as frações mais polares demonstraram uma atividade mais significativa, sugerindo que o composto responsável pela atividade anti-*T. vaginalis* apresentada pelo extrato e frações obtidos a partir das folhas da planta A seja um metabólito secundário de caráter polar. Neste sentido, estudos estão em andamento para purificar e elucidar os compostos responsáveis pela atividade anti-parasitária.

Estes resultados demonstram a importância do estudo das plantas da Caatinga, sendo que várias das quais não possuem nenhum dado científico acerca das propriedades farmacológicas e fitoquímicas das mesmas.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization and Estimates, Geneva, Switzerland, 2012.
- Neves, A.P. et al. *Protist*, v.154, n.3-4, p.313-329, 2003.
- Moreno, S.N. and DoCampo, R. *Environ Health Perspect*, v. 64, p. 199-208, 1985.
- Narcisi, E.M. and Secor, W. E.. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 40, n. 5, p. 1121-5, 1996.
- Cordell G. A. *Phytochemistry*, v. 40, p. 1585-1612, 1985.
- Diamond, L. S., *J. Parasitol.* n.137, p.171-178, 1957.

AGRADECIMENTOS