

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE FARMÁCIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

**ISOLAMENTO E ATIVIDADE *in vitro* ANTI-*Trichomonas vaginalis* DE DITERPENOS DE ESPÉCIES DE *Salvia*
(LAMIACEAE)**

BIANCA ELINGSON DA SILVA COSTA

PORTO ALEGRE, 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

Bianca Elingson da Silva Costa

**ISOLAMENTO E ATIVIDADE *in vitro* ANTI-*Trichomonas vaginalis* DE DITERPENOS DE ESPÉCIES DE *Salvia*
(LAMIACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito à obtenção do título de grau de Farmacêutico.

Orientadora: Prof^a. Dra. Tiana Tasca

Coorientadora: Dra. Gabriela de Carvalho Meirelles

Porto Alegre, 2023

Dedico este trabalho aos meus avós, Elizabeth e Fernando que sempre rezaram por mim, acreditaram sempre no meu potencial e me ensinaram a nunca desistir de lutar, independente das dificuldades.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre colocar pessoas maravilhosas em meu caminho. Obrigada por me guiar em todos os momentos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, especialmente à Faculdade de Farmácia por me oportunizar um ensino de qualidade e do qual me orgulho em fazer parte.

Ao PRAE pelo apoio em momentos difíceis da graduação.

Aos membros da banca examinadora por terem aceitado o convite.

À Prof^a Dr. Tiana Tasca, professora querida que me fez amar a parasitologia, que me auxiliou desde o TCC do ensino técnico ao TCC da graduação. Agradeço muito a paciência e orientação.

À Prof^a Dr. Gilsane Lino von Poser por ter me concedido a iniciação científica no início da graduação, além disso, emprestado o laboratório para os experimentos e passado o seu precioso conhecimento.

À Prof^a Dr. Gabriela Meirelles pela coorientação, pelos ensinamentos, pela disponibilidade e amizade.

Aos meus queridos amigos da Gnosia, do lab 504 especialmente, ao Henrique, Angélica, Gabi e Krip e Maria que me acolheram desde a iniciação científica ao TCC e que sempre contribuíram para meu conhecimento e me salvaram durante toda a trajetória.

Aos amigos do GPtrico, Giulia, Ágata, Carol, Corina e Juju, que tiveram a paciência de me ensinar do zero e entrar na minha rotina maluca para que eu conseguisse entregar algo. Obrigada de coração!

À minha mãe Márcia, meu mano Vinícius, meu dindo Luiz, minha prima Amanda e aos meus avós, vó Beth e vô Fernando meu meu infinito agradecimento. Sempre acreditaram na minha capacidade e pela paciência, por compreender as minhas ausências e todo o apoio.

Ao Thiago meu namorado, por permanecer ao meu lado nesta etapa e por todo incentivo, amor e carinho. Obrigada por ser meu suporte, junto com nossos filhotes Juma e Jove.

Aos amigos do GHC por me acolherem e segurarem a barra diversas vezes para que eu conseguisse realizar minhas tarefas da graduação, especialmente à Isis, Carla, Ane, Bruna e toda equipe da Bac.

Aos meus amigos que de uma forma ou de outra, sempre estiveram presentes, perto ou longe, ajudando, colaborando e entendendo cada ausência. A todos, minha eterna gratidão.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Inflorescências de <i>Salvia procurrens</i> Benth com a presença de tricomas	16
Figura 2 - Partes aéreas de <i>Salvia uliginosa</i> Benth.	17
Figura 3 - Partes aéreas de <i>Salvia procurrens</i> Benth.	19
Figura 4 - Estrutura química dos diterpenos abietanos	20
Figura 5 - Estrutura química dos diterpenos icetexanos	20
Figura 6 - Estrutura química dos diterpenos clerodanos	19
Figura 7- Trofozoíto de <i>T. vaginalis</i>	25
Figura 8 - Dois trofozoítos de <i>T. vaginalis</i> obtidos de cultura <i>in vitro</i> , corados com Giemsa	26
Figura 9 - Compostos isolados de <i>S. procurrens</i> Benth. e <i>S. uliginosa</i> Benth. - 1- Procurrenina A, 2- Desmetilfruticulina, 3- Icetexona.....	32
Figura 10 - Icetexona. Pó amorfo alaranjado.....	32
Figura 11 - Espectro de ¹ H NMR da procurrenina A (1).....	33
Figura 12 - Espectro de ¹ H NMR da desmetilfruticulina A (2).....	33
Figura 13 - Espectro de ¹ H NMR da icetexona (3).....	34
Figura 14 - Efeito dos exsudatos na viabilidade de <i>T. vaginalis</i> em comparação com o controle (parasitos não tratados) e veículo (parasitos com 0,6% de DMSO).....	36
Figura 15 - Efeito do composto Procurrenina A na viabilidade de <i>T. vaginalis</i> em IC ₅₀ em comparação com parasitos não tratados (controle).....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

CDC	Centro de controle e prevenção de doenças
DMSO	Dimetilsulfóxido
OMS	Organização mundial da saúde
RMN	Ressonância magnética nuclear

RESUMO

A tricomoníase é a infecção sexualmente transmissível (IST) não viral mais comum no mundo. É uma importante fonte de morbidade reprodutiva e facilitadora da transmissão e aquisição do HIV. Visando buscar soluções quanto aos problemas de saúde relacionados a esta IST e à resistência de fármacos conhecidos para o tratamento desta infecção, compostos presentes em plantas medicinais do gênero *Salvia* foram investigados como prováveis fontes de possíveis inibidores que podem representar importante alternativa terapêutica. O gênero *Salvia*, pertencente à família Lamiaceae, apresenta mais de 900 espécies, sendo que muitas dessas são utilizadas como plantas medicinais em todo o mundo. Diversas atividades biológicas já foram comprovadas para compostos isolados de espécies de *Salvia*, tais como, antiprotozoária, antituberculose, antifúngica, antibacteriana, antiviral, antitumoral, carminativa, diurética, hipoglicemiante, anti-inflamatória, dentre outras. Diterpenos são os compostos encontrados com maior frequência nestas espécies e são responsáveis pela maioria destas atividades. Estes compostos apresentam esqueleto de vinte átomos de carbono, sendo que em espécies de *Salvia*, os do tipo abietano, clerodano e icetexanos são os mais frequentemente encontrados. O objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar as estruturas de diterpenos de *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth. obtidos a partir de seus exsudatos e, posteriormente, avaliar as suas atividades *in vitro* anti-*Trichomonas vaginalis* igualmente para os exsudatos. Das partes aéreas de *Salvia procurrens* foram isolados dois diterpenos, os quais já são conhecidos como desmetilfruticulina e procurrenina A. Da espécie *Salvia uliginosa*, também foi isolado um diterpeno, sendo ele a icetexona, um produto natural já relatado. Todos os isolados foram identificados por método espectroscópico, ¹H-RMN (400 MHz), e por comparação com dados da literatura. Com base nos resultados da atividade anti-*T. vaginalis* das amostras dos exsudatos e da procurrenina A, isolado testado, os dados mostraram-se promissores para ambas as espécies vegetais.

Palavras-chaves: *Salvia procurrens*, *Salvia uliginosa*, diterpenos, icetexano, procurrenina A, desmetilfruticulina A, tricomoníase, *Trichomonas vaginalis*, atividade anti-*Trichomonas vaginalis*.

ABSTRACT

Trichomoniasis is the most common non-viral sexually transmitted infection (STI) in the world. It is a major source of reproductive morbidity and a facilitator of HIV transmission and acquisition. Aiming to seek solutions regarding health problems related to this STI and the resistance of known drugs for the treatment of this infection, compounds present in medicinal plants of the genus *Salvia* were investigated as probable sources of possible inhibitors that may represent an important therapeutic alternative. The genus *Salvia*, belonging to the Lamiaceae family, has more than 900 species, many of which are used as medicinal plants worldwide. Several biological activities have already been proven for compounds isolated from *Salvia* species, such as antiprotozoal, antituberculosis, antifungal, antibacterial, antiviral, antitumor, carminative, diuretic, hypoglycemic, anti-inflammatory, among others. Diterpenes are the most frequently found compounds in these species and are responsible for most of these activities. These compounds have a skeleton of twenty carbon atoms, and in *Salvia* species, abiethane, clerodane and icetexans are the most frequently found. The objective of this work was to isolate and characterize the diterpene structures of *Salvia procurrens* Benth. and *Salvia uliginosa* Benth. obtained from their exudates and subsequently evaluated their in vitro anti-*Trichomonas vaginalis* activities equally for the exudates. From the aerial parts of *Salvia procurrens*, two diterpenes were isolated, which are already known as desmethylfruticuliculin A and procurrenin A. From the species *Salvia uliginosa*, a diterpene was also isolated, icetexone, a natural product already reported. All isolates were identified by spectroscopic method, ¹H-NMR (400 MHz), and by comparison with literature data. Based on the results of anti-*T. vaginalis* from samples of exudates and procurrenin A, the isolate tested, the data were promising for both plant species.

Keywords: *Salvia procurrens*, *Salvia uliginosa*, diterpenes, icetexan, procurrenin A, desmethylfruticuliculin A, trichomoniasis, *Trichomonas vaginalis*, anti-*Trichomonas* activity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3. REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1 FAMÍLIA LAMIACEAE E O GÊNERO <i>Salvia</i>	14
3.2 <i>Salvia uliginosa</i> Benth.....	16
3.3 <i>Salvia procurrens</i> Benth.....	17
3.4 DITERPENOS.....	18
3.5 ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA.....	21
3.6 TRICOMONÍASE.....	22
3.7 <i>Trichomonas vaginalis</i>	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 MATERIAL VEGETAL.....	26
4.2 EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	26
4.3 ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS DE <i>Salvia uliginosa</i> Benth. e <i>Salvia procurrens</i> Benth.....	26
4.4 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES ISOLADOS.....	27
4.5. CULTURA DE <i>Trichomonas vaginalis</i>	27
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DOS EXSUDATOS EM <i>Trichomonas vaginalis</i>	28
4.7 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC) E DETERMINAÇÃO DE IC ₅₀	28
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 RENDIMENTO DOS EXSUDATOS.....	30
5.2 PERFIL ¹ H-RMN DOS EXSUDATOS DE <i>Salvia procurrens</i> Benth. e <i>Salvia uliginosa</i> Benth.....	30
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE <i>Salvia procurrens</i> Benth. e <i>Salvia uliginosa</i> Benth.....	30
5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI- <i>Trichomonas vaginalis in vitro</i>	35
6. CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A tricomoníase é a infecção sexualmente transmissível (IST) não viral mais comum no mundo. É uma importante fonte de morbidade reprodutiva, um facilitador da transmissão e aquisição do HIV e, portanto, um importante problema de saúde pública (KISSINGER et. al., 2015).

O agente etiológico desta parasitose é o protozoário flagelado *Trichomonas vaginalis* que apresenta tropismo pelo epitélio escamoso do trato geniturinário, tendo como reservatório na mulher o colo uterino, a vagina e a uretra. Além disso, esse protozoário também pode ser encontrado em outras partes do sistema urogenital como próstata e epidídimo, no homem, causando uma infecção no trato urogenital (DE CARLI e TASCA, 2012).

A tricomoníase está entre as doenças mais negligenciadas do mundo. Em 2020, a OMS estimou 374 milhões de novas infecções por pelo menos uma IST, sendo que somente a tricomoníase conta com aproximadamente 156 milhões de pessoas infectadas (WHO, 2022).

O aumento ameaçador da resistência a fármacos contra as terapias atuais tornam a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos antiprotozoários uma necessidade urgente (LLURBA MONTESINO et al., 2021).

Historicamente, sabe-se que o uso de plantas medicinais é milenar. Elas são muito relatadas pela população para cura de doenças e outros males (DEVIIENNE et al., 2004). Visando o seu potencial curativo, a utilização de plantas medicinais como alternativa terapêutica vem atingindo um público cada vez maior (VELOSO et al., 2023).

O nome *Salvia* é derivado do latim “salvare” que significa “curar ou ficar seguro e ileso”, que resume a crença folclórica de suas propriedades terapêuticas “mágicas” para muitos tipos de doenças e sua popularidade na medicina tradicional,

e também é conhecido pelo nome comum sauge (sage) em francês e sawge em inglês antigo (UBEELLEN et. al., 2002).

O gênero *Salvia* L. (Lamiaceae), representa um conjunto de 900 espécies com variações de cores florais e de diferentes formatos. Este grupo ocorre em um vasto ambiente, podendo ocorrer em florestas tropicais, temperadas, regiões semi-áridas, bordas florestais e campos degradados (PINTO, 2012).

Muitos compostos isolados de extratos de *Salvia* estão associados a atividades antissépticas, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiinflamatórias, antioxidantes, hipoglicemiantes, citotóxicas e antitumorais (TOPÇU, 2006) e antiprotozoários (CEZAROTTO, 2019).

Segundo WU e colaboradores (2012), as atividades relatadas são devidas a presença de compostos diterpenos presentes neste gênero. De acordo com sua estrutura, este grupo é ainda classificado em subgrupos: diterpenos abietano, diterpenos clerodano, diterpenos icetexanos, entre outros.

Considerando, portanto, a importância de novas descobertas de fármacos para o tratamento da tricomoníase, esta pesquisa objetivou o isolamento, purificação e caracterização de compostos químicos presentes nos exsudatos de *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth. visando verificar a atividade anti-*Trichomonas vaginalis* dos exsudatos e dos compostos isolados.

2. OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo isolar e caracterizar as estruturas de diterpenos de *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth. obtidos a partir de seus exsudatos e, posteriormente, avaliar as suas atividades *in vitro* anti-*Trichomonas vaginalis* dos exsudatos e isolados.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter os exsudatos a partir da lavagem com solvente da superfície das folhas de *Salvia procurrens* e *Salvia uliginosa*;
- Isolar os compostos majoritários encontrados nos exsudatos da espécie de interesse utilizando métodos cromatográficos;
- Caracterizar os compostos isolados dos exsudatos a partir de métodos espectrométricos;
- Avaliar a atividade anti-*Trichomonas vaginalis in vitro* em relação a concentração dos exsudatos das espécies alvo e seus compostos isolados.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FAMÍLIA LAMIACEAE E O GÊNERO *Salvia*

A família Lamiaceae (Labiatae) está distribuída por todo o mundo, suas espécies variam desde plantas anuais, bianuais ou perenes, até subarbustos, arbustos ou árvores. Os ramos são em geral retangulares, com folhas simples e opostas e cálice tubuloso (HARLEY et al., 2004, WU et al. 2012).

As principais espécies de Lamiaceae são largamente utilizadas no Brasil como condimentos como orégano (*Origanum* sp.), manjeriço (*Ocimum* sp.), menta (*Mentha* sp.)(LORENZI & MATOS, 2002) e também são reconhecidas pela sua atividade biológica, pela presença de metabólitos secundários nos óleos essenciais sendo utilizados como fitoterapia (LIMA, 2013).

Devido a sua grande utilização na medicina popular, a família Lamiaceae está dentre as principais famílias de importância etnofarmacológicas (HARLEY et al., 2004). Justamente por suas características curativas, houve um aumento nas pesquisas etnobotânicas e taxonômicas deste grupo (WU et al. 2012).

O gênero *Salvia* L. está presente em várias regiões, sabe-se que pelo menos 1000 espécies estão distribuídas no mundo, tanto em regiões tropicais quanto regiões temperadas, abrangendo todos os continentes com exceção da Antártida (WU et al., 2012; DREW et al., 2017, OLIVEIRA et al., 2020). No Brasil, ocorrem nos estados do nordeste, centro-oeste, sudeste e no sul do país (SANTOS, 2015).

Este gênero é de grande relevância para os setores da economia, sobressaindo principalmente no âmbito alimentício e medicinal, sendo que cerca de 150 espécies são empregadas neste fim (EPLING & TOLEDO, 1943; HU et al., 2018).

É sabido que espécies de *Salvia* L. têm demonstrado diversos tipos de atividades biológicas como antioxidante (ALIMPIC et al.2015; BEN FARHAT et al., 2014), antibiótica (DULGER; HACIOGLU, 2008), imunomoduladora, anti-inflamatória

e cardioprotetora (AKKOL et al., 2008; KONTOGIANNI et al., 2013), antidegenerativa (ORHAN et al., 2012), antiproliferativa (KONTOGIANNI et al., 2013; ALIMPIC et al., 2015) e antiparasitária (PINTO, 2012; CEZAROTTO et al., 2019).

Os metabólitos secundários de *Salvia* L. podem ser voláteis e serem encontrados nos óleos essenciais obtidos das folhas sendo constituído por monoterpenos cânfora e cineol, por exemplo, e também os sesquiterpenos alfa e beta-cariofileno (WU et al., 2012). A existência desses compostos se deve pela presença de óleos essenciais estocados nos ductos, glândulas e tricomas das plantas deste gênero (Figura 1) (PINTO, 2012). O princípio deste mecanismo presente na família Lamiaceae é a fazer a proteção contra insetos e pragas e para atração de polinizadores (MAFFEI, 2010).

Outros metabólitos encontrados em espécies de *Salvia* são diterpenos, triterpenos, flavonóides e outros compostos fenólicos (TOPÇU, 2006; WU et al., 2012). Dentre os diterpenos, estão os de esqueleto abietano e clerodano, que se destacam, pois estão muito presentes no gênero (WU et al., 2012). Devido à presença destes compostos químicos, os isolados de *Salvia* L. podem apresentar atividades biológicas (KAYSER et al. 2003; WU et al., 2012; GONZÁLEZ, 2014).

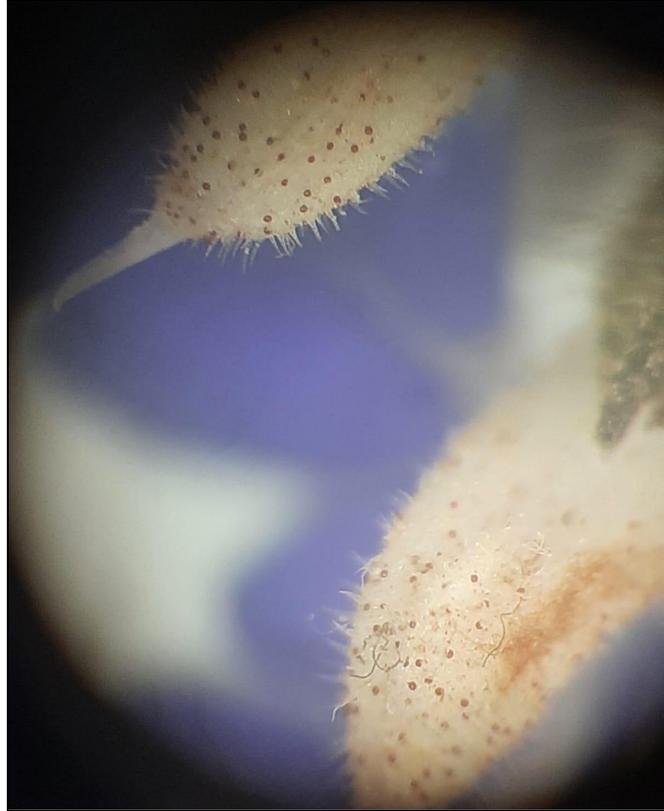


Figura 1: Inflorescência de *Salvia procurrens* Benth. com a presença dos tricomas.

Fonte: Foto da Autora (2022).

3.2 *Salvia uliginosa* Benth.

Salvia uliginosa Benth. (Figura 2) é um arbusto ou subarbusto, a sua altura pode chegar até dois metros, apresenta-se como uma planta perene, nativa da América do Sul, sendo presente no sul do Brasil, Uruguai, centro e nordeste da Argentina (O'LEARY; MORONI, 2016).

Suas flores azul-celeste, com linhas brancas nas bordas superiores e inferiores, fizeram despertar o cultivo nos jardins da Europa, não só por sua magnificência, mas também em virtude da sua elevada adaptabilidade a diferentes tipos de solos, insolações e regimes de drenagem. Apesar de que a espécie prefere áreas pantanosas, ela pode tolerar condições secas (GIULIANI et. al., 2017). Esta espécie tem sido empregada na medicina popular devido às suas propriedades carminativas, tônica e estimulante (PINTO, 2012).

Os estudos realizados com o óleo essencial da *Salvia uliginosa* demonstraram que alguns dos seus compostos podem ser potencialmente antibacterianos e antiparasitárias (PINTO, 2012). Giuliani e colaboradores (2017), descreveram pelo menos 50 compostos presentes nos óleos voláteis extraídos das folhas e flores desta espécie. Contudo para os compostos não voláteis da espécie, ainda são pouco descritos na literatura quanto aos seus constituintes e suas atividades biológicas.



Figura 2: Partes aéreas *Salvia uliginosa* Benth.

Fonte: Flora do Brasil. Autor: Dr. Sergio Augusto de Loreto Bordignon (2021).

3.3 *Salvia procurrens* Benth.

Salvia procurrens Benth. (Figura 3) é um subarbusto, também conhecida como salvia rasteira, atinge uma altura máxima de 65 cm de altura e suas inflorescências têm no máximo 10 cm de altura (O'LEARY; MORONI, 2016).

Esta espécie é nativa do sul do Brasil e Uruguai, onde é muito abundante, na Argentina é encontrado em Buenos Aires e Córdoba. É localizada frequentemente nas bordas das matas, preferencialmente em locais úmidos e de baixa incidência solar (STUMPF, 2015; O'LEARY; MORONI, 2016).

É reconhecida dentre as espécies nativas do gênero pelo caule em maior parte prostrado, apresenta ramos com coloração verde a castanho, pilosos e longos e

folhas arredondadas com nervuras salientes. Suas folhas são verde-claras, opostas, pilosas com margens crenadas. As flores, que geralmente surgem entre setembro e novembro, apresentam uma coloração intensa azul, lilás e branca (O'LEARY; MORONI, 2016).

Até o momento existem poucos dados na literatura referentes a estudos realizados com a espécie. Pinto (2012) fez uma investigação referente à caracterização do óleo volátil, mostrando que o mesmo apresenta sesquiterpenos e ácidos graxos como componentes majoritários.



Figura 3: Partes aéreas *Salvia procurrens* Benth.

Fonte: Flora Digital. Autor: Dr. Sergio Augusto de Loreto Bordignon (2014).

3.4 DITERPENOS

Diterpenos estão entre os terpenos mais amplamente distribuídos no reino vegetal e são bem conhecidos por sua atividade biológica, eles são uma classe de compostos naturais que possuem um esqueleto central de 20 carbonos, eles são encontrados em muitas famílias diferentes de plantas e alguns animais (WU et al., 2012).

Diterpenos isolados da *Salvia* spp. são o maior grupo, compreendendo 545 dos 791 constituintes descritos previamente para o gênero. As estruturas mais

encontradas e isoladas de espécies de *Salvia* são os abietanos, clerodanos e icetexanos (WU et al., 2012).

Os diterpenos abietanos representam uma família de diterpenos de ocorrência natural, os quais foram isolados de uma variedade de plantas terrestres (XU et al., 2016). Os abietanos e os abietanos rearranjados compreendem o maior grupo de componentes das plantas de *Salvia* L. Dos 545 compostos conhecidos neste gênero, 365 pertencem aos diterpenos abietano e foram identificados desde 1976 (WU et al., 2012).

Os abietanos (Figura 4) apresentam um grande potencial para atividades biológicas, tais como, atividade anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana, neuroprotetora, antioxidante e antitumoral (JOHNSON, 2011; GONZÁLEZ, 2014; XU et al., 2016; HELFENSTEIN et al., 2017).

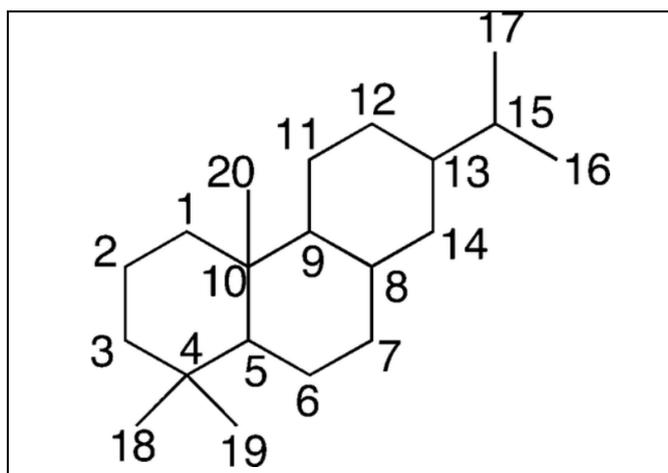


Figura 4: Estrutura química de diterpenos abietanos.

Fonte: Wu et. al., (2012)

Os diterpenos icetexanos (Figura 5) descritos na literatura, são produtos naturais complexos que apresentam diversas atividades biológicas (SIMMONS; SARPONG, 2009), como por exemplo, atividade antiparasitária (LOZANO et al., 2012; CEZAROTTO et. al., 2019).

Acredita-se que esta estrutura molecular surge de um rearranjo de um esqueleto abietano mais comum, dando origem a um esqueleto de carbonos 6-7-6 tricíclico nomeado como 9(10→20)-abeo-abietano (SIMMONS; SARPONG, 2009).

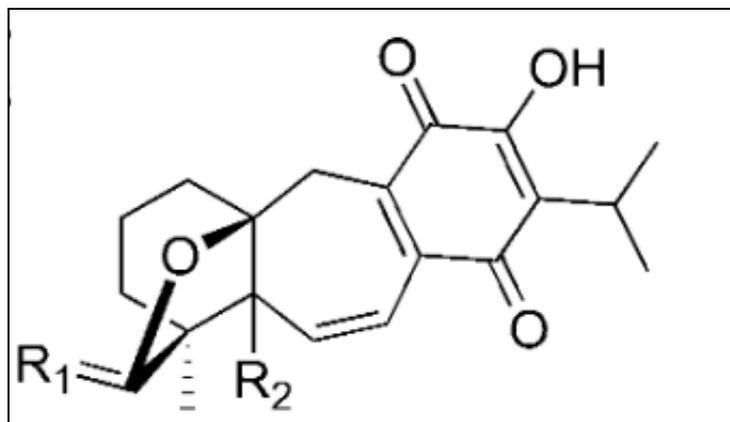


Figura 5: Estrutura química de diterpenos icetexanos.

Fonte: Wu et. al., (2012)

Diterpenos clerodanos (Figura 6) são um grande grupo de metabólitos naturais encontrados em diversas espécies de plantas e em organismos de vários grupos taxonômicos, como fungos, bactérias e esponjas marinhas(LI;MORRIS-NATSCHKE; LEE, 2016).

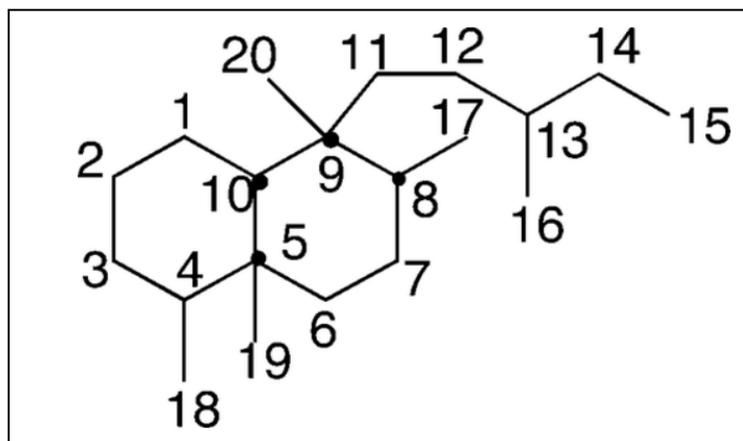


Figura 6: Estrutura química de diterpenos clerodanos.

Fonte: Wu et. al., (2012)

Essas substâncias apresentam atividades biológicas relevantes, particularmente a propriedade anti alimentar de insetos (WU et al., 2012), além das atividades antiprotozoária, anti-inflamatória, citotóxica e ativadora de fatores de crescimento neurais (FAN et al., 2018).

3.5 ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA

As doenças parasitárias ainda são um grande problema para a humanidade. Elas estão se tornando a principal causa de doenças crônicas no mundo. A migração da população, a poluição do ambiente natural e as mudanças climáticas causam a rápida disseminação de doenças. Além disso, observa-se uma crescente resistência dos parasitos aos fármacos (SHIOMI et al., 2021).

A terapia é restrita, os efeitos adversos são frequentemente observados e a resistência aos fármacos está surgindo. Segundo Pramanik e colaboradores (2019), já são observados mudanças nos genes de alguns protozoários como no *Plasmodium falciparum* que apresenta resistência contra artemisinina, fármaco precursor no tratamento da malária, este foi substituído em seguida pela cloroquina, porém, já são relatados novos casos de resistência para este fármaco também. Outra doença que é possível observar a resistência atualmente é a toxoplasmose. O *Toxoplasma gondii* apresenta mutação no gene *dhps* tornando as sulfonamidas susceptíveis a nova resistência.

Com base nisso, um novo tratamento para as parasitoses se faz necessário. Os produtos naturais representam uma rica fonte de compostos bioativos, e ainda hoje são utilizados na busca de novos fármacos (HASHEMI et al., 2021).

Muitos antiparasitários são produtos naturais que incluem antibióticos ou seus derivados. Inicialmente, os metabólitos vegetais foram isolados como produtos naturais para o tratamento de doenças parasitárias, como o composto antimalárico, quinino, foi isolado pelos cientistas franceses P.J. Pelletier e J.B. Caventou em 1820 a partir da casca da *Cinchona* L. (KAUFMAN et al., 2005).

As espécies vegetais do gênero *Salvia* têm sido utilizadas como medicamentos antiparasitários. Compostos pertencentes à família dos terpenos apresentam efeitos antileishmania contra diferentes espécies de *Leishmania* (CEZAROTTO et al., 2019; TRONCOSO et al., 2023), antitripanossoma (LOZANO et al., 2012; LLURBA

MONTESINO et. al., 2021), antimalárico (LLURBA MONTESINO et. al., 2018) e antiamebianos (PINTO, 2012).

3.6 TRICOMONÍASE

A tricomoníase humana é considerada uma infecção sexualmente transmissível (IST), devido a sua forma de contágio que é quase exclusivamente pela relação sexual, exceto pela contaminação neonatal em meninas quando é adquirida durante o parto vaginal (DE CARLI e TASCA, 2012).

O contágio se dá pelo contato dos trofozoítos de *Trichomonas vaginalis* presentes no trato urogenital, ou seja, no canal vaginal em mulheres ou na uretra quando em homens, durante a relação sexual desprotegida ocasionando a contaminação com o parasito. Muitas vezes não são percebidos os sintomas nos homens. Já as mulheres, podem apresentar irritação na área genital, acompanhada de uma secreção espumosa de cor amarelo-esverdeada (DE CARLI e TASCA, 2012). Após o contato com o protozoário, o tempo de incubação varia de 4 a 28 dias, e após esse período, menos de 50% das mulheres infectadas apresentaram sintomas (WANG et al., 2000).

A infecção por *T. vaginalis* pode levar à associação e propensão ao risco de adquirir outras IST 's, como por exemplo: o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Na mulher, pode ocorrer o parto prematuro ou baixo peso do recém-nascido, câncer cervical, doença inflamatória pélvica e infertilidade (DE CARLI e TASCA, 2012; HIRT et al.; KISSINGER et al., 2015; MENEZES et al., 2016).

Em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou uma incidência de 156 milhões de casos em todo o mundo, enquanto nos Estados Unidos da América, segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), houve uma incidência de 6,9 milhões em 2018 com custos médicos diretos de US\$ 144 milhões, dados que demonstram um problema grave de saúde pública (ROWLEY et al, 2019).

A tricomoníase é uma infecção de fácil diagnóstico e tratamento, porém muitas vezes a ausência de sintomas e a falta de acesso ao diagnóstico rápido contribuem para o elevado número de casos, além disso, não exige notificação compulsória, portanto, contribui para um número subestimado de casos e tornando-se mais uma doença negligenciada (HOBBS et al., 2013; SECOR et al., 2014).

3.7 *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis (Figura 7) é um protozoário extracelular flagelado que pertence à família Trichomonadidae, à ordem Trichomonadida, à classe Parabasalia e ao filo Zoomastigina. O primeiro relato foi realizado em 1836 pelo médico europeu Alfred Donné em amostra de secreção vaginal humana (SCHWEBKE e BURGESS, 2004).

O trofozoíto de *T. vaginalis* é polimórfico, ou seja, pode variar de forma em meio de cultura ou no hospedeiro definitivo. Costumeiramente, apresenta-se como elipsóide, piriforme ou oval ou então esféricos. No indivíduo, o pH, a temperatura, a tensão de oxigênio e a força iônica afetam o aspecto dos parasitos, que não possuem a forma cística, somente a trofozoítica (DE CARLI e TASCA, 2012)

Os trofozoítos de *T. vaginalis* (Figura 7) apresentam um comprimento e largura médios de 10 e 7 μm , possuem quatro flagelos anteriores, desiguais em tamanho, uma membrana ondulante, costa que fornece a estrutura mecânica para motilidade, axóstilo uma estrutura rígida e hialina, formada por microtúbulos, que projeta-se do centro do organismo, até a extremidade posterior, um núcleo elipsóide, próximo à extremidade anterior. Este parasito não apresenta mitocôndria, mas sim, grânulos densos que são vistos no microscópio óptico, os hidrogenossomos, da família das mitocôndrias. Sua multiplicação se dá por fissão binária longitudinal (DE CARLI e TASCA, 2012).

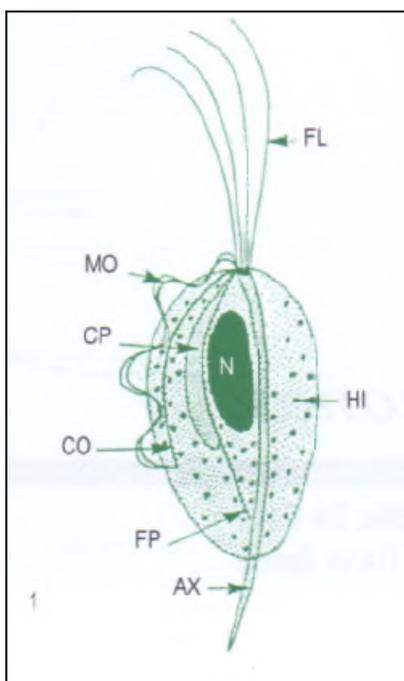


Figura 7: Trofozoítio de *T. vaginalis*.

Fonte: DE CARLI e TASCA, 2012.

Legenda: FL: flagelo anterior livre; MO: membrana ondulante; CP: corpo parabasal e aparato de Golgi (são vistos juntos); CO: costa; N: núcleo; FP: filamento parabasal; AX: axóstilo; HI: hidrogenossomos.

O protozoário é um organismo anaeróbico facultativo. Cresce perfeitamente bem na ausência de oxigênio na faixa de pH compreendida entre 5 e 7,5 e em temperaturas entre 20°C e 40°C. Como fonte de energia, o flagelado utiliza a glicose, a maltose, amido e a galactose. Os hidrogenossomos são portadores de uma enzima piruvato: ferredoxina-oxidoreductase, capaz de transformar o piruvato em acetato pela oxidação fermentativa e liberar adenosina 5'-trifosfato (ATP) e hidrogênio molecular.

O *T. vaginalis* é capaz de manter o glicogênio em reserva como forma de energia (MACIEL; TASCA; CARLI, 2004). A variação do pH do canal vaginal, hormônios e a menstruação tornam o ambiente inapropriado para o parasito, este mecanismo de reserva que garante a sua viabilidade. Uma das principais fontes de nutrientes para o *T. vaginalis* são os carboidratos; no entanto, quando na ausência destes, a utilização de aminoácidos torna-se vital. O *T. vaginalis* consome especialmente arginina, treonina e leucina (PETRIN et al., 1998).



Figura 8: Dois trofozoítos de *T. vaginalis* obtidos de cultura *in vitro*, corados com Giemsa.

Fonte: CDC, 2023.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas neste estudo, as partes aéreas de *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth., coletadas na cidade de Segredo, RS - Brasil (Latitude: 29° 20' 3" Sul, Longitude: 52° 58' 47" Oeste), em novembro de 2022 pelo botânico Dr. Sergio Augusto de Loreto Bordignon (SISGgen-Brazil access registration AAEF4). Os materiais vegetais coletados foram secos à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), a fim de evitar a contaminação microbiana.

4.2 EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Para a obtenção dos exsudatos foi utilizada a técnica previamente descrita por BISIO e colaboradores (2008), onde as espécies *Salvia procurrens* Benth. (335 g) e *Salvia uliginosa* Benth. (407 g) foram submetidas a imersão total em diclorometano por 30 segundos até estravasamento das glândulas.

Este método tem como objetivo romper os tricomas glandulares presentes nas superfícies das inflorescências e folhas (HALLEY et. al., 2004), evitando a remoção dos componentes presentes na parede celular e resultando no final da extração, somente material glandular e cuticular.

Os exsudatos foram concentrados em rotaevaporador mantendo a temperatura abaixo de 45°C para evitar a degradação dos compostos químicos presentes.

4.3 ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS DE *Salvia uliginosa* Benth. e *Salvia procurrens* Benth.

Aproximadamente 6,6 g do exsudato concentrado de *Salvia uliginosa* e 2,4 g de *Salvia procurrens* foram utilizados para a cromatografia, empregando como fase estacionária uma coluna cromatográfica de sílica gel 60 (0.035-0.07 mm); Acros Organics, New Jersey, USA).

Após incorporação do exsudato com a sílica gel, foi adicionada ao topo da coluna, utilizando *n*-hexano:acetato de etila (100:0 \rightarrow 0:100) para sua eluição. O gradiente de eluição variou conforme a polaridade de cada produto. Ainda, as

frações obtidas de *Salvia procurrens* foram isoladas por cromatografia circular centrífuga (CCC) em sílica gel 60 GF₂₅₄ (placas de 1 mm; Merck, Darmstadt, Germany) usando um instrumento Chromatotron[®] (modelo 7924 T, Harrison Research, San Bruno, CA, EUA).

Para *Salvia uliginosa* o exsudato e as frações obtidas nos procedimentos de isolamento foram monitorados por cromatografia em camada delgada (CCD) em placas de sílica gel 60 G/UV₂₅₄ pré-revestidas (Merck, Darmstadt) como fase estacionária e uma mistura de *n*-hexano e acetato de etila (65:35 e 60: 40), como fase móvel.

Já para a *Salvia procurrens* foram realizados os mesmos procedimentos porém a fase móvel da CCD foi uma mistura de *n*-hexano e acetato de etila (85:15 e 80: 20).

Após a eluição, os cromatogramas foram visualizados à luz ultravioleta em 254 e 356 nm, e à luz visível por pulverização do reagente anisaldeído-sulfúrico e aquecimento até a visualização máxima das manchas, que se apresentavam nas cores roxo, amarelo e laranja.

4.4 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES ISOLADOS

A elucidação estrutural dos constituintes isolados foi realizada através do método espectroscópico de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H. Os espectros obtidos foram comparados com amostras padrões (CEZAROTTO, 2018).

Para as análises de RMN utilizou-se o equipamento Bruker Ascend 400 MHz (25°C, 400 MHz). Todas as amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl₃, 99,8%; Merck) e deslocamentos químicos reportados em partes por milhão (δ) utilizando o sinal residual do clorofórmio como padrão interno (δH 7,26, δC 77,2). Constantes de acoplamento (J) foram demonstradas em Hz.

4.5. CULTURA DE *Trichomonas vaginalis*

O isolado de *T. vaginalis*, 30236 da American Type Culture Collection (ATCC, EUA) foi utilizado neste estudo. Os tricomonas foram cultivados *in vitro* em meio de Trypticase Yeast-Extract Maltose (TYM) (pH 6,0), suplementado com 10% (v/v) de

soro bovino inativado, acrescido de antibiótico foi incubado a 37 °C ($\pm 0,5$) (DIAMOND, 1957). Quando em fase logarítmica de crescimento, os trofozoítos foram ressuspensos em um novo meio TYM para realização dos testes.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DOS EXSUDATOS EM *Trichomonas vaginalis*

Foi realizado um screening para determinação da atividade anti-*T. vaginalis* dos exsudatos brutos de *S. uliginosa* Benth. de *S. procurrens* Benth., estes foram adicionados em placa de microtitulação de 96 poços, onde o meio TYM foi adicionado a cada poço. A concentração dos exsudatos foi de 1 mg/mL com densidade de $2,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL, foram incubados a 37°C, 5% CO₂ por 24 horas. Dois controles foram utilizados: trofozoítos sem tratamento, controle veículo (DMSO 0,6%). Após a incubação, os parasitos foram contados usando câmara de Neubauer e analisados quanto à sua motilidade e morfologia por azul de tripano corante de exclusão (0,2%, v/v).

4.7 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC) E DETERMINAÇÃO DE IC₅₀

Os valores de MIC para atividade anti-*T. vaginalis* dos isolados foram determinados em placas de microtitulação de 96 poços, onde diferentes volumes de meio TYM foram adicionados a cada poço. Procurrenina A em diluição seriada de oito vezes de 100 μ M e $1,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL foram incubados a 37°C, 5% CO₂ por 24 horas. Dois controles foram utilizados: trofozoítos sem tratamento, controle veículo com dimetilsulfóxido (DMSO 0,6%). Após a incubação, os parasitos foram contados usando câmara de Neubauer e analisados quanto à sua motilidade e morfologia por azul de tripano corante de exclusão (0,2%, v/v). Os poços correspondentes aos valores de MIC e concentrações abaixo e acima, bem como os controles, foram inoculados em meio TYM a 37°C. Os parasitos foram analisados a cada 24 horas por 144 horas para confirmar MIC. Os resultados foram expressos como a porcentagem de trofozoítos viáveis e comparação com o controle negativo. O valor IC₅₀ foi avaliado usando o software GraphPad Prism.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e com pelo menos três culturas independentes (n=3). A análise estatística foi realizada usando o teste t de

Student e um nível de significância de 5% foi aplicado aos dados. Os dados foram expressos por média \pm desvio padrão (S.D.). O software GraphPad Prism (San Diego, CA) foi usado para determinação de IC₅₀ por regressão não linear.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DOS EXSUDATOS

Após a extração dos compostos e secagem dos exsudatos, foi pesado e calculado o valor de rendimento de ambos os exsudatos. Para *Salvia procurrens* Benth. foi obtido 1,15% (g/g) de rendimento e para *Salvia uliginosa* Benth. foi obtido 2,7% (g/g) de rendimento provenientes do material glandular existentes nas plantas.

5.2 PERFIL ¹H-RMN DOS EXSUDATOS DE *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth.

Dados anteriores obtidos pelo grupo, demonstraram o perfil dos compostos químicos nos exsudatos através da análise espectroscopia por ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) (CEZAROTTO, 2018)

Foram identificados em ambos os exsudatos a presença de diterpenos, isso se deu pelo perfil dos grupos obtidos no espectro de ¹H-RMN. Os grupos característicos da classe de diterpenos foram visualizados por sinais típicos de grupos metil e metilenos (CEZAROTTO, 2018).

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth.

Das partes aéreas de *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth. foram isolados três diterpenos 1-3. Estes compostos apresentam esqueletos icetexanos bastante peculiares, ou seja, com anel C contendo um cromóforo de hidroxiquinona e anel A apoiando um quarto anel heterocíclico. A identificação foi realizada por análise espectrométrica de ¹H-RMN, obtendo-se detalhes da estrutura da molécula e estereoquímica dos isolados e comparados com a literatura.

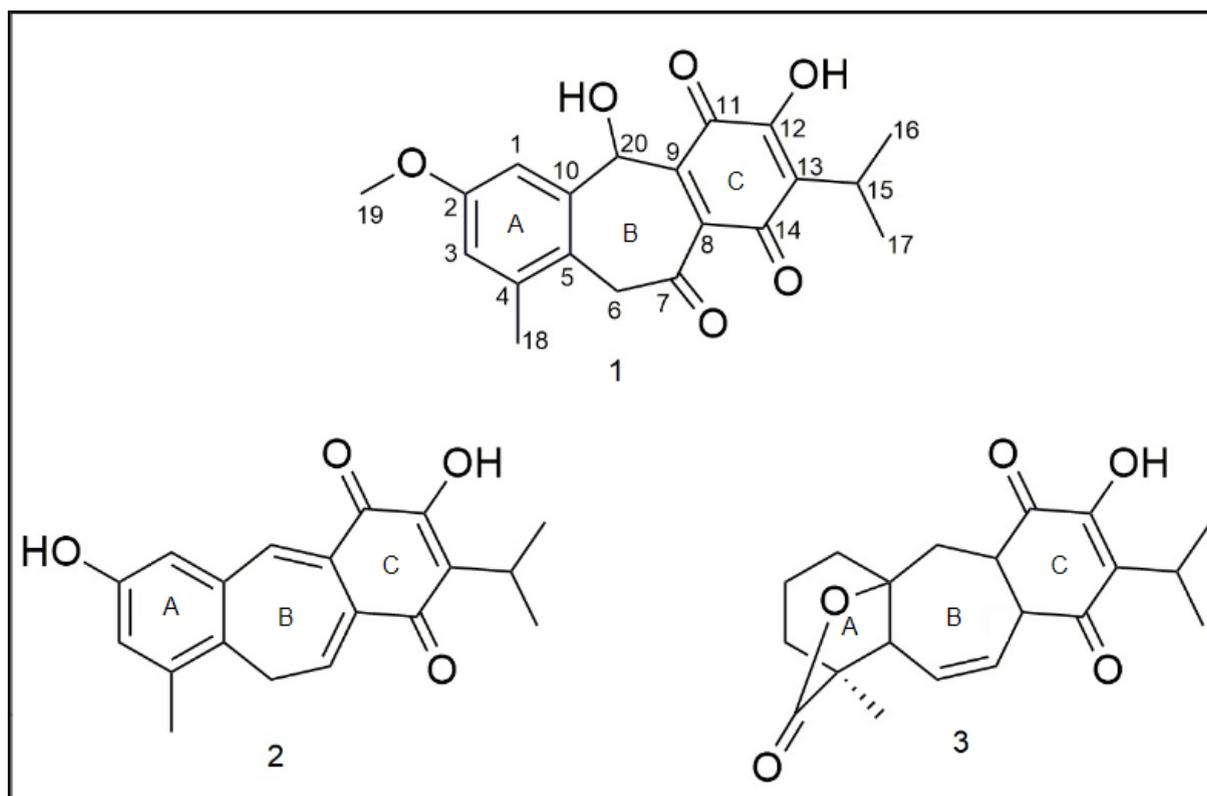


Figura 9: Compostos isolados de *S. procurrens* Benth. e *S. uliginosa* Benth. - 1. procurrenina A, 2. desmetilfruticulina A, 3. icetexona.

A partir do exsudato de *Salvia procurrens* Benth. foram isolados dois compostos (Figura 9): procurrenina A (1), e desmetilfruticulina A (2) ambas com características de cristal avermelhado, isoladas com polaridade de (95:05) *n*-hexano:acetato de etila como eluente.

De *Salvia uliginosa* Benth. foi isolado icetexona (3) o composto foi de grande prevalência na planta, obtendo aproximadamente 200 mg deste composto a partir de 6g exsudato. Este composto apresenta aspecto (Figura 10) de pó amorfo alaranjado. A polaridade para obtenção da icetexona foi de (90:10) utilizando *n*-hexano:acetato de etila como eluente.

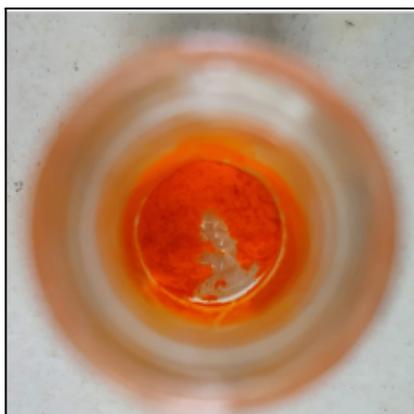


Figura 10: Icetexona. Pó amorfo alaranjado.

Fonte: Foto da autora (2023).

A procurrenina A (1), um diterpeno icetexano, foi submetida anteriormente por Meirelles e colaboradores (2023), como um composto inédito.

O ^1H -RMN (Figura 11) realizado mostra que os sinais característicos do composto foram observados, são eles: presença de α -hidroxi- β -isopropil-benzoquinona, um grupo isopropilo ligado ao anel benzoquinona, um grupo hidroxila ligado em C-12. As análises do espectro de ^1H -NMR sugeriram que o anel A do composto (1) é aromático, isso é devido à presença de um grupo metil aromático, um grupo metoxi e dois prótons aromáticos. Os sinais restantes estão relacionados ao anel B. Um singlete em baixo campo e um segundo grupo hidroxila ligado a este anel. Os dados de RMN indicam um sinal adicional de um carbonil e um sinal singlete relacionado ao carbono metileno na posição 6. Esses dados confirmam ser o produto inédito isolado por Meirelles (2023), a Procurrenina A.

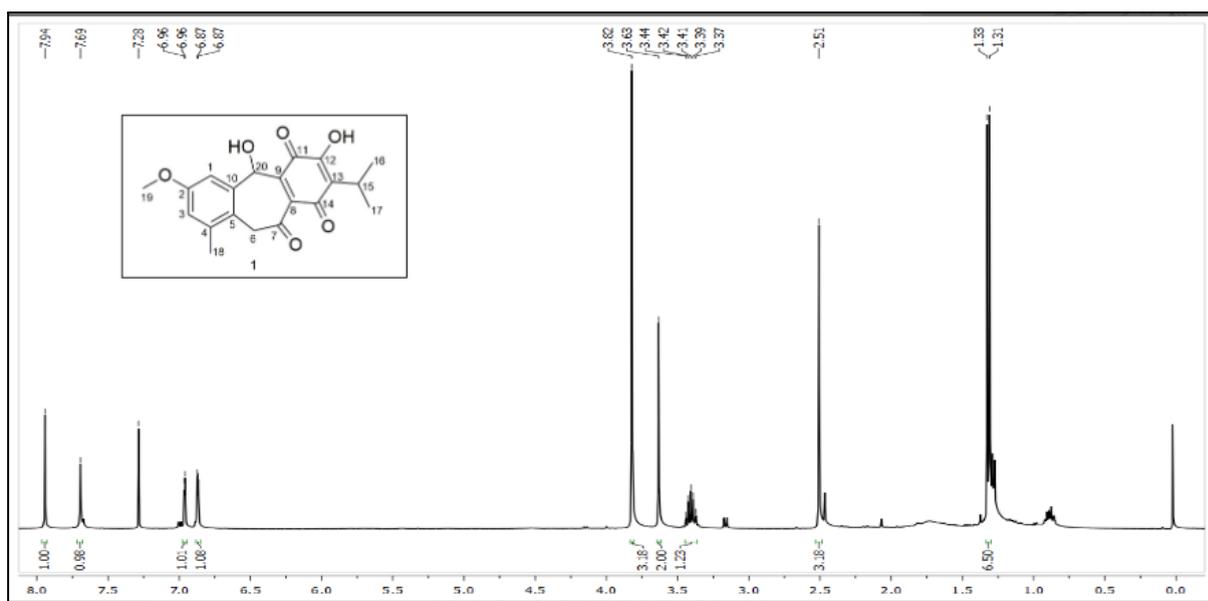


Figura 11: Espectro de ^1H NMR da procurrenina A (**1**) (CDCl_3 , 400 MHz)

A desmetilfruticulina A (**2**), é uma variação da fruticulina A, esta também é relatada em *S. procurrens* Benth. (MEIRELLES et al., 2023), além da *S. procurrens* esses diterpenos icetexanos são relatados em outras espécies do gênero (RODRÍGUEZ-HAHN et al., 1989; GIACOMELLI et al., 2023). Comparando os dados obtidos por ^1H -RMN (Figura 12), o espectro apresentou presença de α -hidroxi- β -isopropil-benzoquinona, um grupo isopropilo ligado ao anel benzoquinona, septeto, um grupo metil aromático (RODRÍGUEZ-HAHN et al., 1989).

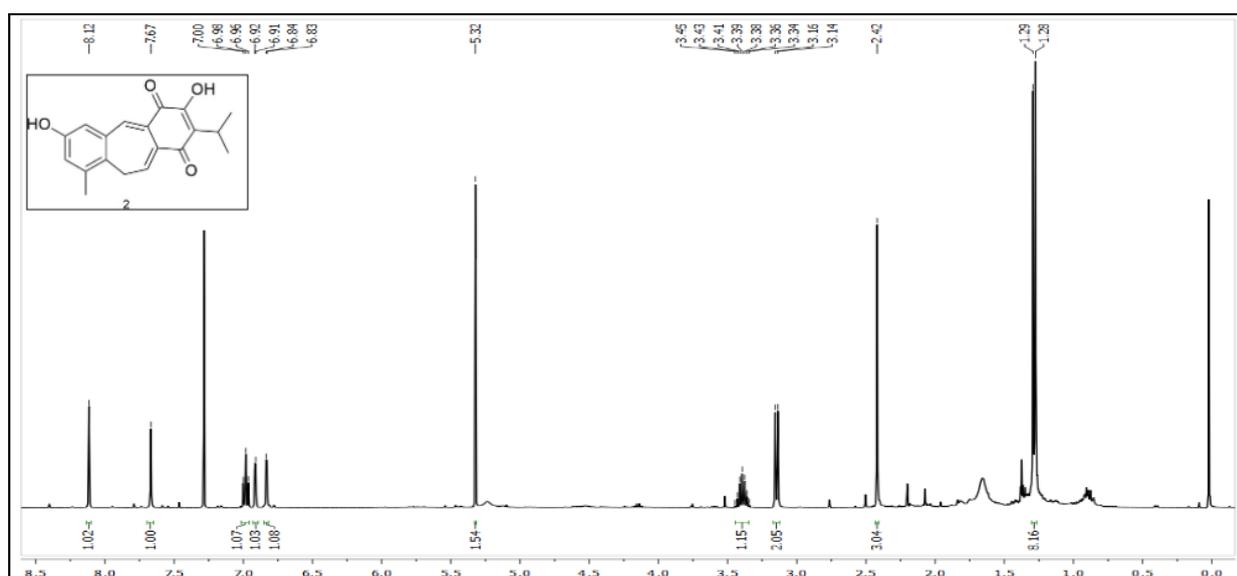


Figura 12: Espectro de ^1H NMR da desmetilfruticulina A (**2**) (CDCl_3 , 400 MHz)

A icetexona, um diterpeno icetexano, foi isolado da *S. uliginosa* Benth. mas é sabido que sua identificação como icetexona, foi a cerca de 40 anos atrás, das partes aéreas de *Salvia bellotaeflora*, sendo posteriormente isolado de diversas espécies de *Salvia*. Este composto foi o primeiro 9(10→20)-abeo-abietano a ser descoberto, originando um novo grupo de diterpenos nomeado classe dos icetexanos (GROVE, 2010).

No entanto, a configuração absoluta deste composto natural ainda não havia sido provada. Algumas divergências na literatura, relatam dados bastante diferentes tanto para os deslocamentos químicos quanto para as constantes físico-químicas. Esquivel e colaboradores (2018), consideram a possibilidade de o composto apresentar polimorfismo do qual justificaria tais diferenças.

Com isso, o ^1H -RMN obtido foi comparado com dados anteriores (ESQUIVEL et. al., 2018), podendo assim confirmar a sua identidade. O espectro (Figura 13) apresentou sinais de um grupo isopropil ligado a um anel benzoquinona, a presença de sinais de metilenos, os quais foram atribuídos a H-1, H-2 e H-3. Além disso, observa-se o sinal de metileno. Um singlete observado em $\delta_{\text{H}}7,16$ foi atribuído a um hidrogênio ligado ao grupo hidroxila e dois dubletos observados são correspondentes ao H-7 e H-6.

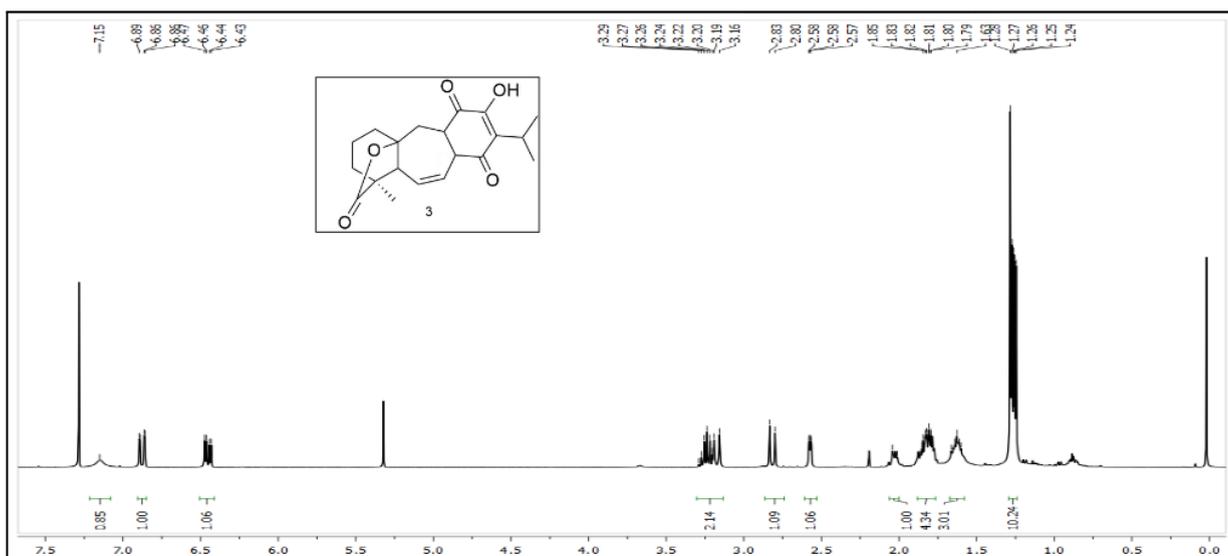


Figura 13: Espectro de ^1H NMR da icetexona A (**3**) (CDCl_3 , 400 MHz)

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*Trichomonas vaginalis in vitro*

A fim de avaliar a atividade anti-*T. vaginalis in vitro* a partir dos exsudatos e dos compostos isolados de *Salvia procurrens* Benth. e *Salvia uliginosa* Benth. empregou-se o ensaio de screening dos exsudatos em placa de 96 poços com uma concentração de 1,0 mg/mL com densidade de $2,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL. Para os isolados testou-se a atividade por diluição seriada para obter o valor de concentração inibitória mínima (MIC) em concentração inicial de 100 μ M e $1,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL.

Os compostos desmetilfruticulina A e icetexona não foram testados. Ainda, a icetexona não apresentou uma boa solubilização frente ao meio suplementado utilizado para o cultivo dos Tricomonas.

Os resultados obtidos na Figura 14 são referentes ao teste de triagem para os exsudatos. Os exsudatos obtidos das espécies de *S. procurrens* e *S. uliginosa* apresentaram atividade anti-*T. vaginalis* na concentração de 1,0 mg/mL quando comparados com o controle e controle do veículo (DMSO 0,6%). Esta diminuição da viabilidade dos trofozoítos demonstram uma atividade promissora para estas espécies.

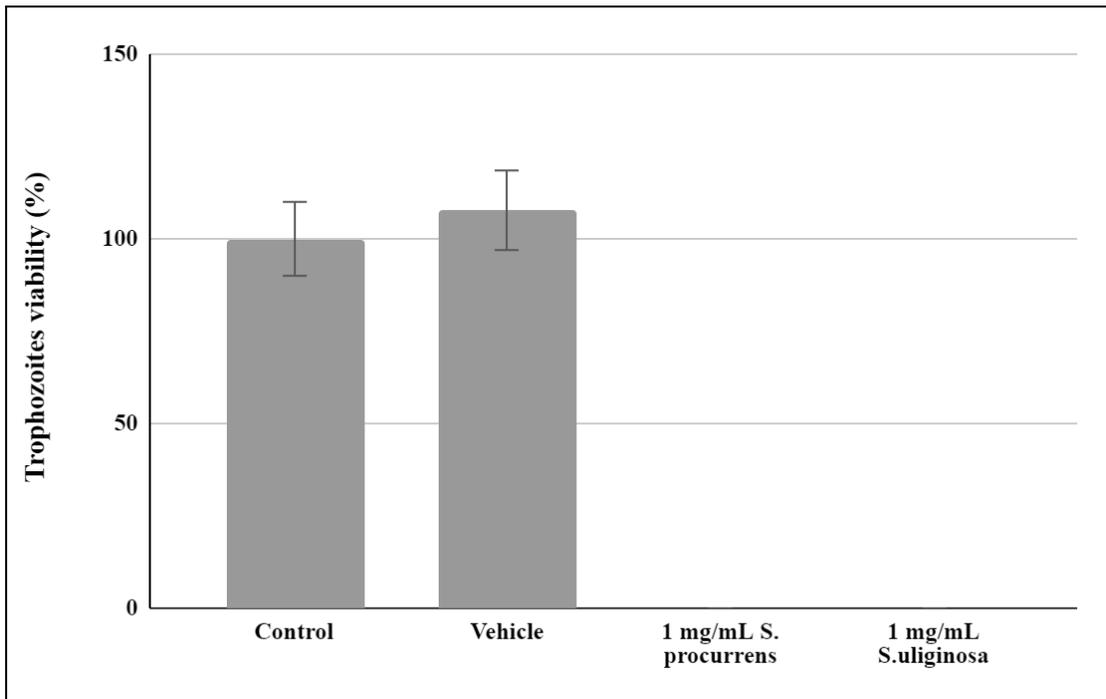


Figura 14: Efeito dos exsudatos na viabilidade de *T. vaginalis* em comparação com o controle (parasitos não tratados) e veículo (parasitos com 0,6% de DMSO). Os dados representam média de três experimentos em triplicata.

A procurrenina A derivada de *S. procurrans* foi testada por diluição seriada a fim de obter os valores de MIC e o IC₅₀ para este composto (Figura 15). A atividade inibitória do composto frente a *T. vaginalis* se mostrou satisfatória quando comparada ao grupo controle onde se obteve uma inibição total na concentração de 100 uM e uma redução da viabilidade nas duas concentrações subsequentes de mais de 50%. O IC₅₀ obtido para Procurrenina A foi de 0,11550 uM, concentração relativamente baixa para a inibição de 50% do inóculo dos trofozoítos, demonstrando ser um produto promissor. Para poder confirmar a atividade para este composto são necessários testes adicionais, como citotoxicidade frente a células epiteliais vaginais, a fim de se conhecer o índice de seletividade.

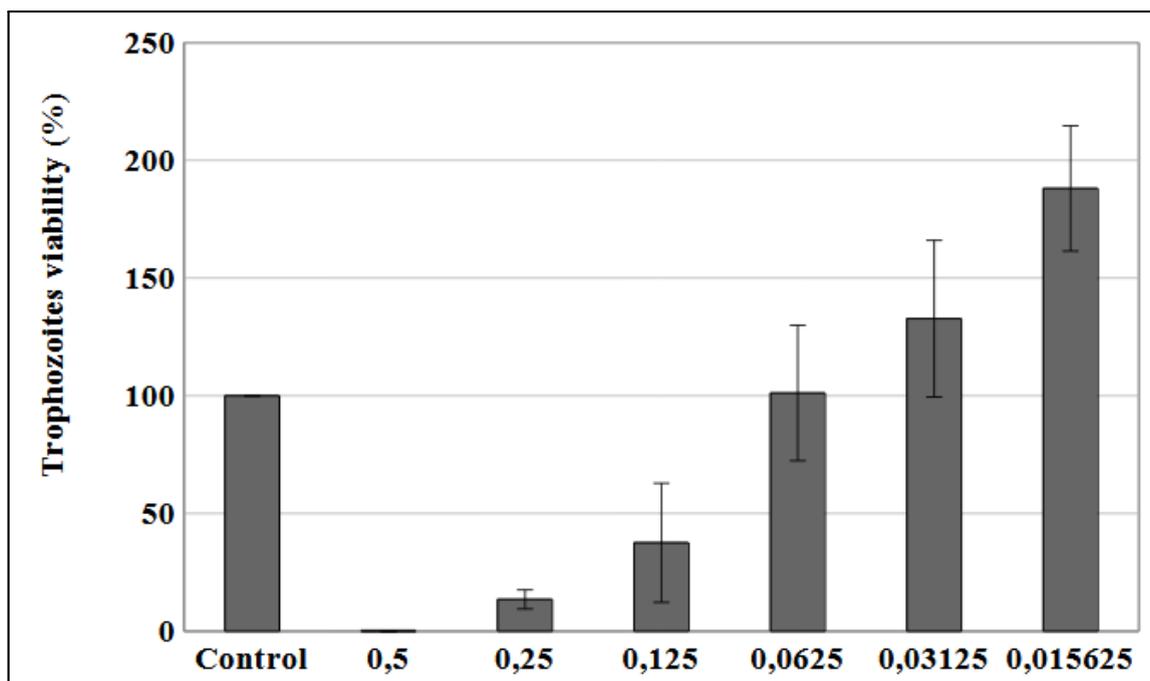


Figura 15: Efeito do composto procurrenina A na viabilidade de *T. vaginalis* em IC_{50} em comparação com parasitos não tratados (controle). Os dados representam média \pm desvio padrão de três experimentos em triplicata. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo por o teste t de Student.

6. CONCLUSÃO

- As amostras apresentaram rendimentos para os exsudatos de 1,15% para *S. procurrens* Benth. e 2,7% *S. uliginosa* Benth.;

- Foram obtidos os exsudatos de *S. procurrens* Benth. e *S. uliginosa* Benth. extraídos das partes aéreas com diclorometano, onde fica localizado uma grande presença de tricomas e material glandular presente na espécie. A partir dos exsudatos foram isolados três compostos.

- Estes três compostos foram caracterizados por método espectroscópico ¹H-RMN (400 MHz), e por comparação com dados da literatura. A Procurrenina A e Desmetilfruticulina A isoladas da espécie *S. procurrens* Benth. são produtos naturais conhecidos. Da espécie *S. uliginosa* Benth. foi isolado a icetexona, composto também já descrito na literatura;

- A avaliação de efeito anti-*T. vaginalis in vitro* demonstrou significativa atividade para os exsudatos testados de *S. procurrens* Benth. e *S. uliginosa* Benth., e especialmente para o composto isolado Procurrenina A.

REFERÊNCIAS

AKKOL, Esra Küpeli et al. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. **Food chemistry**, v. 108, n. 3, p. 942-949, 2008.

ALIMPIĆ, Ana et al. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Salvia amplexicaulis* Lam. extracts. **Archives of Biological Sciences**, v. 66, n. 1, p. 307-316, 2014.

ALIMPIĆ, Ana et al. Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. extracts. **Industrial crops and products**, v. 105, p. 1-9, 2017.

ALIMPIĆ, Ana et al. The in vitro antioxidative and cytotoxic effects of selected *Salvia* species water extracts. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 88, p. 115-119, 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **CDC - DPDx - Trichomoniasis**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/trichomoniasis/index.html>>. Acesso em 18 jul. 2023.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **CDC - STI Prevalence, Incidence, and Cost Estimates Infographic**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/std/statistics/prevalence-2020-at-a-glance.html>>. Acesso: 25. jul. 2023.

CEZAROTTO, Caroll Schneider. **Isolamento e atividade anti-quimiotática *in vitro* de diterpenos de espécies de *Salvia* provenientes do sul do Brasil**. Orientadora: Prof^a Dr^a. Gilsane Lino von Poser. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

CEZAROTTO, Caroll Schneider et al. Leishmanicidal and antichemotactic activities of icetexanes from *Salvia uliginosa* Benth. **Phytomedicine**, v. 58, p. 152748, 2019.

Detalha **Taxon** **Público**. Disponível em:
<<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB8356>>. Acesso em: 20 jul. 2023

DE CARLI, G. A. TASCA, T. Trichomonas. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana** São Paulo: Atheneu. p. 121-127, 2012.

DEVIIENNE, Karina Ferrazzoli; RADDI, G.; POZETTI, Gilberto Luiz. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 11-14, 2004.7

DIAMOND, Louis S. The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. **The Journal of parasitology**, v. 43, n. 4, p. 488-490, 1957.

DULGER, Basaran; HACIOGLU, Nurcihan. Antifungal activity of endemic *Salvia tigrina* in Turkey. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1051-1054, 2008.

ESQUIVEL, Baldomero et al. Absolute configuration of the diterpenoids icetexone and conacytone from *Salvia ballotaeflora*. **Chirality**, v. 30, n. 2, p. 177-188, 2018.

FARHAT, Mouna Ben et al. Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 78-85, 2014.

GIACOMELLI, Emanuela et al. Cancer chemopreventive diterpenes from *Salvia corrugata*. **Phytochemistry**, v. 96, p. 257-264, 2013.

GONZÁLEZ, Miguel A. Aromatic abietane diterpenoids: Their biological activity and synthesis. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 5, p. 684-704, 2015.

GROVE, Jeremy Lee. Chapter i: **asymmetric total syntheses of (+)-19-deoxyicetexone,(?)-icetexone, and (+)-5-epi-icetexone** chapter ii: **a practical synthesis of functionalized 6-and 8-hydroxyisochromenes and isocoumarins and a novel route to 8-hydroxyisocoumarins**. 2010. Tese de Doutorado. uga.

HARLEY, R. M.; ATKINS, S.; BUDANTSEV, A. L.; CANTINO, P. D.; CONN, B. J.; GRAYER, R.; HARLEY, M. M. DE KOK, R.; KRESTOVSKAJA, T.; MORALES, R.; PATON, A. J.; RYDING, O.; UPSON, T. 2004. Lamiaceae. In: KUBITZKI, K.; KADEREIT, J. W. (eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol.7. **Springer Verlag**, Berlin, pp. 167-275

HASHEMI, Nooshin et al. A review study on the anti-*trichomonas* activities of medicinal plants. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 15, p. 92-104, 2021.

HELFENSTEIN, Andreas et al. Antibacterial profiling of abietane-type diterpenoids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 1, p. 132-137, 2017.

HIRT, Robert P.; SHERRARD, Jackie. *Trichomonas vaginalis* origins, molecular pathobiology and clinical considerations. **Current opinion in infectious diseases**, v. 28, n. 1, p. 72-79, 2015.

HOBBS, Marcia M.; SEÑA, Arlene C. Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. **Sexually transmitted infections**, v. 89, n. 6, p. 434-438, 2013.

JOHNSON, Jeremy J. Carnosol: a promising anti-cancer and anti-inflammatory agent. **Cancer letters**, v. 305, n. 1, p. 1-7, 2011.

KAMATOU, Guy PP et al. South African *Salvia* species: a review of biological activities and phytochemistry. **Journal of ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 664-672, 2008.

KAUFMAN, Teodoro S.; RÚVEDA, Edmundo A. The quest for quinine: those who won the battles and those who won the war. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 6, p. 854-885, 2005.

KAYSER, O.; KIDERLEN, AF; CROFT, SL Produtos naturais como antiparasitários. **Pesquisa em parasitologia**, v. 90, p. S55-S62, 2003.

KISSINGER, Patricia. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. **BMC infectious diseases**, v. 15, p. 1-8, 2015.

KONTOGIANNI, Vassiliki G. et al. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. **Food chemistry**, v. 136, n. 1, p. 120-129, 2013.

LI, Rongtao; MORRIS-NATSCHKE, Susan L.; LEE, Kuo-Hsiung. Clerodane diterpenes: sources, structures, and biological activities. **Natural product reports**, v. 33, n. 10, p. 1166-1226, 2016.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, [S.l.], v. 3, n. 03, p. 14-24, 2013.

LLURBA MONTESINO, Núria et al. *Salvia officinalis* L.: Antitrypanosomal activity and active constituents against *Trypanosoma brucei rhodesiense*. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3226, 2021.

LLURBA-MONTESINO, Núria; SCHMIDT, Thomas J. *Salvia* species as sources of natural products with antiprotozoal activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 264, 2018.

LOZANO, Esteban et al. Sesquiterpene lactones and the diterpene 5-epi-icetexone affect the intracellular and extracellular stages of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology International**, v. 61, n. 4, p. 628-633, 2012.

LOZANO, Esteban et al. The effect of the diterpene 5-epi-icetexone on the cell cycle of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology international**, v. 61, n. 2, p. 275-279, 2012.

MACIEL, Gisele de Paiva; TASCA, Tiana; DE CARLI, Geraldo Attilio. Clinical aspects, pathogenesis and diagnostic of *Trichomonas vaginalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, p. 152-160, 2004.

MAFFEI, Massimo Emilio. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 4, p. 612-631, 2010.

MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Jardim Botânico Plantarum, 2021.

MENEZES, Camila Braz; FRASSON, Amanda Piccoli; TASCA, Tiana. Trichomoniasis-are we giving the deserved attention to the most common non-viral sexually transmitted disease worldwide?. **Microbial cell**, v. 3, n. 9, p. 404, 2016.

O'LEARY, Nataly; MORONI, Pablo. Las especies de *salvia* (Lamiaceae) para Argentina. **Darwiniana, nueva serie**, v. 4, n. 1, p. 91-131, 2016.

OLIVEIRA, A.B.; Antar, G.M.; Mota, M.C.A.; Pastore, J.F.B., 2020 *Salvia in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8296>>. Acesso em: 11 jul. 2023

OLIVEIRA, Cristhian Santos. **Constituintes químicos e atividade citotóxica de *Salvia lachnostachys* (Lamiaceae)**. Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Élide Alves

Stefanello. f.106-107. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Paraná, Curitiba, 2017.

ORHAN, Ilkay Erdogan et al. Profiling of *in vitro* neurobiological effects and phenolic acids of selected endemic *Salvia* species. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1360-1367, 2012.

PETRIN, Dino et al. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 2, p. 300-317, 1998.

PINTO, Paula Santos. **Terpenóides em espécies do gênero *Salvia* (Lamiaceae)**. Orientadora: Prof^a Dr^a. Gilsane Lino von Poser. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

RODRÍGUEZ-HAHN, Lydia et al. Abietane type diterpenoids from *Salvia fruticulosa*. A revision of the structure of fruticulul B. **Phytochemistry**, v. 28, n. 2, p. 567-570, 1989.

PRAMANIK, Pijush Kanti et al. Drug resistance in protozoan parasites: an incessant wrestle for survival. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 18, p. 1-11, 2019.

ROWLEY, Jane et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 97, n. 8, p. 548, 2019.

FLORA DIGITAL. *Salvia procurrens*. Disponível em:

<https://floradigital.ufsc.br/open_sp.php?img=11826>. Acesso em: 29 jul. 2023.

FLORA DIGITAL. *Salvia uliginosa*. Disponível em:

<https://floradigital.ufsc.br/open_sp.php?img=15519>. Acesso em: 15 jul. 2023.

SANTOS, E.P. 2015. *Salvia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8296>>. Acesso em: 11. jul. 2023.

SCHWEBKE, Jane R.; BURGESS, Donald. Trichomoniasis. **Clinical microbiology reviews**, v. 17, n. 4, p. 794-803, 2004.

SECOR, W. Evan et al. Neglected parasitic infections in the United States: trichomoniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 90, n. 5, p. 800, 2014.

SIMMONS, Eric M.; SARPONG, Richmond. Structure, biosynthetic relationships and chemical synthesis of the icetexane diterpenoids. **Natural product reports**, v. 26, n. 9, p. 1195-1217, 2009.

STUMPF, Elisabeth Regina Tempel et al. Espécies nativas que podem substituir as exóticas no paisagismo. **Ornamental Horticulture**, v. 21, n. 2, p. 165-172, 2015.

TOPÇU, Gülaçtı. Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. **Journal of natural products**, v. 69, n. 3, p. 482-487, 2006.

ULUBELEN, Ayhan et al. Cardioactive diterpenes from the roots of *Salvia eriophora*. **Planta medica**, v. 68, n. 09, p. 818-821, 2002.

VELOSO, Annelize Rodriguez et al. Cultivo e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 1, 2023.

WANG, Guo-Cai et al. Clerodane diterpenoids from *Croton crassifolius*. **Journal of natural products**, v. 75, n. 12, p. 2188-2192, 2012.

WANG, Jeff et al. Trichomoniasis. **Primary Care Update for Ob/Gyns**, v. 7, n. 4, p. 148-153, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Sexually transmitted infections (STIs)**. WHO. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))>. Acesso em 12 jul. 2023.

WU, Yi-Bing et al. Constituents from *Salvia* species and their biological activities. **Chemical reviews**, v. 112, n. 11, p. 5967-6026, 2012.

XU, Hongtao et al. Identification of a diverse synthetic abietane diterpenoid library for anticancer activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 3, p. 505-510, 2017.