



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE COMPOSTOS DE ORIGEM VEGETAL EM *PHYTOMONAS SERPENS*

Rejane Guimarães Melo (PIC/UEM), Benício Alves de Abreu Filho (Orientador), e-mail: baafilho@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Básicas da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas – Biologia e Fisiologia dos Microrganismos

Palavras-chave: tripanossomatídeo, parasitas, plantas.

Resumo:

O *Phytomonas serpens* é um tripanossomatídeo de planta podendo ser responsável por grandes perdas na economia agrícola. Estudos já mostraram também que o *P. serpens* possui resposta imune cruzada com o *Trypanosoma cruzi*. Muitas plantas possuem finalidades terapêuticas utilizadas na produção de novos fármacos como as chalconas e os curcuminóides. Estes são compostos naturais de plantas que apresentam ações terapêuticas, bem como a ação antitripanossomatídeo. O objetivo deste trabalho foi testar os compostos 2a (A1K2A1), 2b (A1K2A2), 2c (A1K2A3) e 2f (A2K2A2) em diferentes concentrações (1-100 µg /mL) contra o *P. serpens*. O protozoário foi incubado a 28 °C sobre a ação dos compostos durante 96 h e monitorado a cada 24 h por meio de contagem dos parasitas em hemocitômetros. Os resultados representam a concentração inibitória para 50% dos protozoários (IC₅₀), comparado ao controle não tratado, permitindo concluir que os compostos tiveram ação sobre o parasita.

Introdução

O gênero *Phytomonas* pertence a família *Trypanosomatidae* que é caracterizada pela presença de um único flagelo, um cinetoplasto, um núcleo e um corpo celular em seus organismos. Porém, este gênero engloba especificamente tripanossomatídeos parasitas de plantas (COSTA, 2006). O *Phytomonas* sp. pode ser encontrado no látex, no floema, no fruto e nas flores da planta podendo causar ou não alguma patogenicidade. Devido a essa característica, ele pode ser o responsável por grandes perdas econômicas (SANTOS, et al., 2006).



O *Phytomonas serpens*, flagelado isolado de tomate, por meio de estudos realizados no laboratório de Londrina – PR, mostrou a existência de resposta imune cruzada com o agente etiológico da doença de Chagas, o *Trypanosoma cruzi*. Como *P. serpens* é incapaz de se multiplicar a 37 °C, não é patogênico a animais vertebrados, sendo eliminado pelo sistema complemento desses hospedeiros. Assim podem ser usados como modelo biológico para seleção de substâncias com atividade antimicrobiana sobre tripanossomatídeos.

Facilmente podemos observar o número de espécies de plantas existentes e o quanto elas são utilizadas com finalidade terapêuticas contribuindo para a descoberta de novos fármacos. As chalconas e curcuminóides são compostos naturais encontrados em diversas espécies de plantas (DIN et al., 2014) que em formas sintéticas têm apresentado várias ações terapêuticas (MAYDT et al., 2013), dentre elas a ação antitripanossomatídeo (CABALLERO et al., 2011).

Considerando todos esses fatores, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação dos compostos chalconas e curcuminóides contra o tripanossomatídeo *Phytomonas serpens*.

Materiais e métodos

Compostos

Os compostos testados foram (1E,4E)-2 Metil-,5-difenilpenta-1,4-dien-ona, (1E,4E)-5-(4-Metoxifenil)-2-metil-1-fenilpenta-1,4-dien-3-ona, (1E,4E)-2-Metil-5-(4-nitrofenil)-1-fenilpenta-1,4-dien-3-ona e (1E,4E)-1,5-Bis(4-metoxifenil)-2-metilpenta-1,4-dien-3-ona. Estas também foram identificadas como 2a (A1K2A1), 2b (A1K2A2), 2c (A1K2A3) e 2f (A2K2A2) respectivamente. Para o preparo da solução estoque (SE) na concentração de 10.000 µg/mL, os compostos foram pesados em Eppendorf e solubilizados em dimetil sulfóxido (DMSO).

Parasitas

As amostras de *Phytomonas serpens* 15T foram doadas pelo Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos do Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina. Os parasitas foram mantidos em meio Warren e suplementados com 10% de soro fetal bovino (SFB) e incubados a 28 °C/48 h.



Antiproliferativo

Formas promastigotas (1×10^6 parasitos/mL) em fase exponencial de crescimento (48 h) foram incubados na presença de Warren suplementado com 10% de SFB. Foi adicionado crescentes concentrações dos compostos 2a, 2b, 2c e 2f (1-100 $\mu\text{g/mL}$). O experimento foi realizado em duplicata e para o controle da cultura não houve a adição dos compostos. Os parasitas foram incubados a 28 °C em placas de 24 poços e monitorados a cada 24 h, até permanecerem 96 h na estufa. Em cada monitoramento, foram coletadas assepticamente alíquotas das amostras que foram diluídas em formalina 3% e contadas em hemocítômetros (câmara de Neubauer). Os IC_{50} (concentração que inibe 50% do crescimento do parasita) foram determinados por análise de regressão dos dados.

Resultados e Discussão

Foi realizado três ensaios antiproliferativo em duplicata em momentos diferentes. Os resultados obtidos após a contagem e a média dos valores está organizada na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade antiproliferativa de 2a, 2b, 2c e 2f contra *Phytomonas serpens*.

Drogas	Tempo (h)			
	24	48	72	96
2a	1,5±0,28	3,1±0,14	4,65±0,49	5,15±0,49
2b	4,1±0,7	19,5±7,77	25,5±6,36	21±2,82
2c	10,0±0,49	31,5±3,53	31±0	33,5±4,94
2f	13,4±2,26	30,5±4,94	22,5±3,53	35,5±2,12

* Valores representam a concentração inibitória para 50% dos protozoários (IC_{50}), comparado ao controle não tratado

Analisando a tabela, podemos observar que o composto 2a foi o que apresentou melhor efeito sobre o crescimento do protozoário, indicando que precisa-se de 5,15 $\mu\text{g/mL}$ do composto para inibir 50% de crescimento dos parasitas em 96 h contra 21, 33,5 e 35,5 $\mu\text{g/mL}$ dos outros compostos.

Conclusões

De acordo com os resultados podemos observar que os compostos tiveram uma boa ação no crescimento de *Phytomonas serpens*. Porém faz se necessário a realização dos ensaios citotóxicos para avaliar as ações dos compostos em células LLCMK₂.



Agradecimentos

A PPG-UEM pelo apoio.

Referências

CABALLERO, A. P.; MARIIN, C.; RODRIGUEZ, D. A.; RAMIREZ, M. I.; BAREA, E.; SANCHEZ, M. M.; SALAS, J. M. J. In vitro and in vivo antiparasital activity against *Trypanosoma cruzi* of three novel 5-methyl-1,2,4-triazolo[1,5- a]pyrimidin-7(4 H)-one-based complexes. **Inorg. Biochem.**, 105, 770, 2011.

COSTA, P.M.O. **Exploração do genoma de *Phytomonas serpens***. 2006. 104 f. Dissertação (Mestrado)-Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2006.

DIN, Z. U.; FILL, T. P.; ASSIS, F. F.; LAZARIN-BIDÓIA, D.; KAPLUM, V.; GARCIA, F. P.; NAKAMURA, C. V.; OLIVEIRA, K. T.; RODRIGUES-FILHO, E. Unsymmetrical 1,5-diaryl-3-oxo-1,4-pentadienyls and their evaluation as antiparasitic agents. **Bioorg. Med. Chem.**, 22, 1121, 2014.

MAYDT, D.; SPIRT, S. D.; MUSCHELKNAUTZ, C.; STAHL, W.; MULLER, T. J. Chemical reactivity and biological activity of chalcones and other α , β -unsaturated carbonyl compounds. **Xenobiotica**, 43, 711, 2013.

SANTOS, A.L.S. et al. *Phytomonas serpens*: cysteine peptidase inhibitors interfere with growth, ultrastructure and host adhesion. **International Journal for Parasitology**, v. 36, p. 47–56, 2006.