

## Avaliação da atividade antimalária de compostos derivados de nimesulida em *Plasmodium falciparum* in vitro

Milena Barros da Silveira

Prof. Alessandro Kappel Jordão

Prof. Dra. Célia Regina Garcia da Silva

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

milena.barross@usp.br

### Objetivos

Avaliar a atividade de uma série de compostos derivados de nimesulida em diferentes cepas de *Plasmodium falciparum*, como a cepa selvagem 3D7 e a cepa resistente ao antimalárico cloroquina, Dd2, bem como avaliar a citotoxicidade dos compostos em células HEK293T.

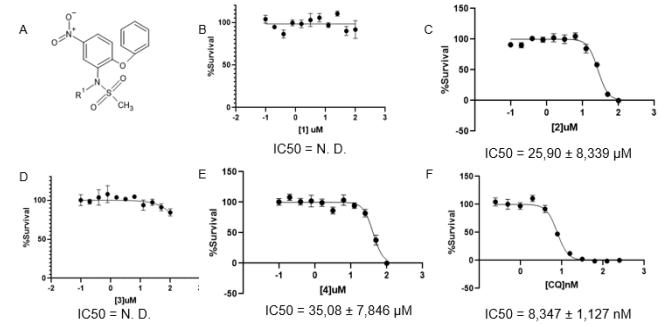
### Métodos e Procedimentos

Para avaliar a atividade de compostos derivados de nimesulida, nomeados composto 1, 2, 3 e 4, em parasitas *Plasmodium falciparum* das cepas selvagem 3D7 e resistentes ao antimalárico cloroquina, Dd2, hemácias infectadas com parasitas assíncrônico, com parasitemia inicial de 0,3% e hematocrito 1%, foram incubadas com diferentes concentrações dos compostos, obtidas por diluição seriada com maior concentração de 100 µM, por 72h em placas de 96 poços. A cloroquina preparada por diluição seriada com concentração inicial de 250 nM, foi utilizada como controle positivo, e DMSO (v/v), como controle negativo. A parasitemia final foi obtida por citometria de fluxo, usando o BD C6 Accuri, com dupla marcação para avaliação da atividade mitocondrial (MitoTracker Deep Red) e ácidos nucléicos (SyBR Green I).

A citotoxicidade dos compostos em células HEK293T foi avaliada por ensaio MTT, mantendo a incubação dos compostos por 72h, nas mesmas concentrações utilizadas para os parasitas. Digitonina, na concentração máxima 100 µM foi utilizada como controle positivo. Ao final da incubação, a viabilidade das células foi determinada por absorbância a 570 nm, utilizando o leitor de placas FlexStation 3.

### Resultados

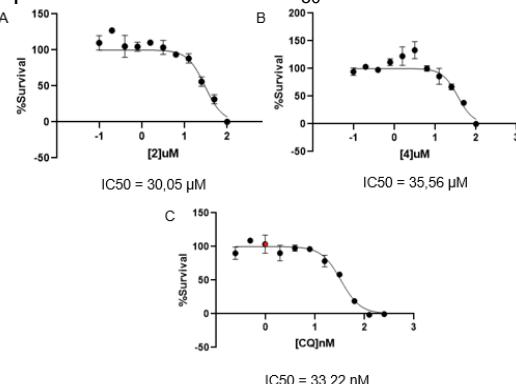
Dois dos quatro compostos testados apresentaram atividade em parasitas selvagens, *P. falciparum* 3D7 (Figura 1) com IC<sub>50</sub> de 25,90 ± 8,339 µM, para o composto 2, e 35,08 ± 7,846 µM, para o composto 4.



**Figura 1:** Curvas de dose-resposta dos derivados de nimesulida em parasitas 3D7. (A)Estrutura da nimesulida presente nos compostos, sendo R<sub>1</sub> os diferentes substituintes que estão presentes nos compostos feita no programa

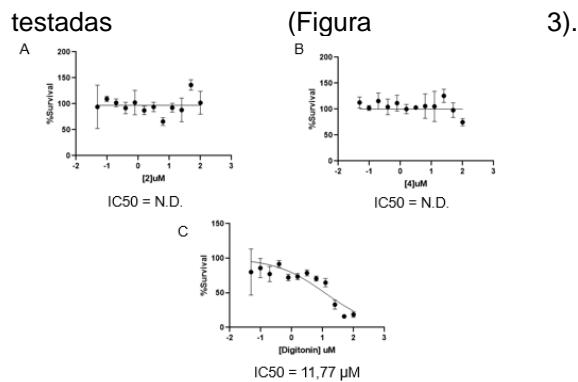
ChemSketch. Parasitas 3D7 assincrônicos foram incubados com os diferentes derivados da nimesulida, composto 1 (B), composto 2 (C), composto 3 (D) e composto 4 (E) com concentrações variando de 100  $\mu\text{M}$  a 0,01  $\mu\text{M}$ , ou ainda com a cloroquina (F) com concentrações variando de 250 nM- 0,25 nM. Os gráficos são representativos de pelo menos três experimentos independentes em triplicata e os valores de  $\text{IC}_{50}$  representam Média  $\pm$  Desvio Padrão.

Após a determinação do  $\text{IC}_{50}$  na cepa selvagem de parasita, os compostos que apresentaram valores de  $\text{IC}_{50}$  foram usados para teste em cepa Dd2, que são resistentes à cloroquina. Dados preliminares apresentados na Figura 2 mostram as curvas de dose-resposta e os valores de  $\text{IC}_{50}$  encontrados.



**Figura 2: Curva de dose-resposta de derivados de nimesulida em parasitas Dd2.** Parasitas da linhagem Dd2 foram incubados com derivados de nimesulida - composto 2 (A) e composto 4 (B) - em concentrações variando de 100  $\mu\text{M}$  a 0,01  $\mu\text{M}$ . Como controle, utilizou-se cloroquina (C), testada com concentrações entre 250 nM a 0,25 nM. Os gráficos apresentados são representativos de um experimento em triplicata e os valores de  $\text{IC}_{50}$  estão expressos como Média  $\pm$  Desvio Padrão.

A citotoxicidade dos compostos que exibiram atividade frente aos parasitas foi avaliada em células HEK293T por ensaio de MTT. Os resultados preliminares indicam ausência de efeito citotóxico nas concentrações



**Figura 3: Curvas de dose-resposta dos compostos em células HEK293T.** Células HEK293T foram incubadas por 72h com diferentes concentrações (100 $\mu\text{M}$ - 0,1 $\mu\text{M}$ ) do composto 2 (A) ou composto 4 (B), ou ainda com o controle positivo, digitonina (C). Os gráficos são representativos de um experimento.

## Conclusões

Os experimentos realizados permitem concluir que, entre os quatro compostos avaliados, dois (compostos 2 e 4) demonstraram atividade inibitória contra parasitas *Plasmodium falciparum* de cepa selvagem, além de serem promissores frente a cepas resistentes (dados preliminares) - um achado relevante diante do aumento contínuo da resistência aos antimaláricos convencionais [1].

Adicionalmente, verificou-se que ambos os compostos ativos não apresentaram citotoxicidade em células HEK293T nas concentrações testadas, o que reforça seu potencial como candidatos promissores para investigações futuras.

O autor declara não haver conflito de interesses.

## Referências

- [1] SIQUEIRA-NETO, Jair L; WICHT, Kathryn J; CHIBALE, Kelly; et al. Antimalarial drug discovery: progress and approaches. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 22, n. 10, p. 807–826, 2023.