

Avaliação da atividade antimalárica 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 assíncronos, com parasitemia inicial de 0,3% e hematócrito 1%, foram incubadas com diferentes concentrações dos compostos, obtidas por diluição seriada com maior concentração de 100 μ M, 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 nucleicos (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 μ M 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_{50} de $25,90 \pm 8,339 \mu$ M, para o composto 2, e $35,08 \pm 7,846 \mu$ M, para o composto 4.

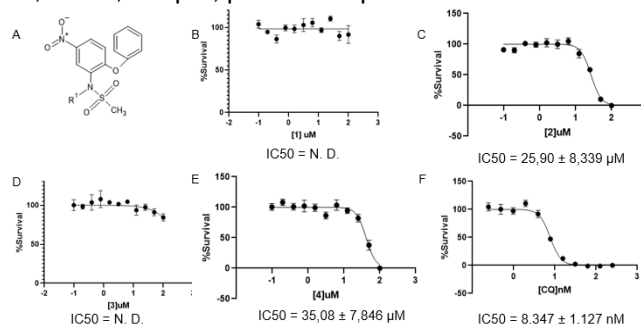


Figura 1: Curvas de dose-resposta dos derivados de nimesulida em parasitas 3D7. (A) Estrutura da nimesulida presente nos compostos, sendo R_1 os diferentes substituintes que estão presentes nos compostos feita no programa

ChemSketch. Parasitas 3D7 assíncronicos 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 μ M a 0,01 μ 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 IC₅₀ representam Média \pm Desvio Padrão.

Após a determinação do IC₅₀ na cepa selvagem de parasita, os compostos que apresentaram valores de IC₅₀ 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 IC₅₀ encontrados.

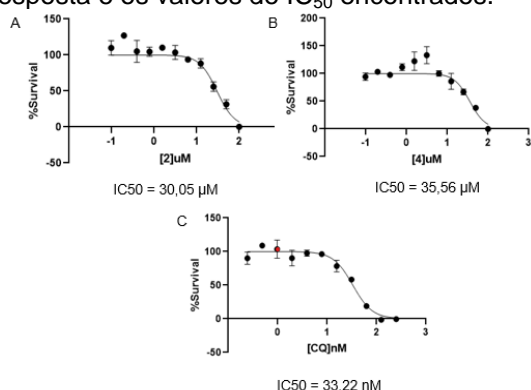


Figura 2: Curva de dose-resposta de derivados de nimesulida em parasitas Dd2. Parasitas da linhagem Dd2 foram incubados com derivados de nimesulida - composto 2 (A) e composto 4 (B) - em concentrações variando de 100 μ M a 0,01 μ M. Como controle, utilizou-se cloroquina (C), testada com concentrações entre 250 nM a 0,25 nM. Os gráficos apresentados são representativos de um experimento em triplicata e os valores de IC₅₀ 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

testadas

(Figura

3).

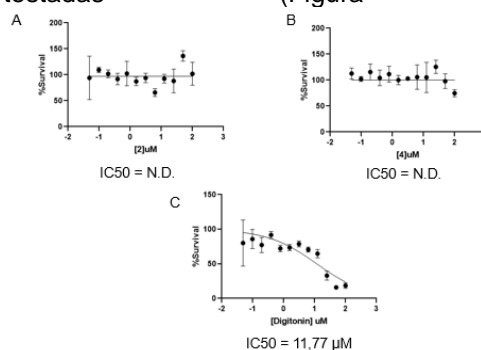


Figura 3: Curvas de dose-resposta dos compostos em células HEK293T. Células HEK293T foram incubadas por 72h com diferentes concentrações (100uM- 0,1uM) do composto 2 (A) ou composto 4 (B), ou ainda com o controle positivo, digitonina (C). Os gráficos são representativos de um experimento.

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.