

Atividade antimalárica de inibidores híbridos de quinases e histona desacetilases

Pedro Negrão Maiolini

Dra. Bárbara Karina de Menezes Dias, Prof. Dr. Roberto Parise Filho

Profa. Dra. Célia Regina da Silva Garcia

Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

pedro.negrao@usp.br

Objetivos

Neste projeto avaliamos a atividade antimalárica *in vitro* de inibidores híbridos de quinases e de histona desacetilases¹ no ciclo intraeritrocítico de parasitas selvagem (3D7) e resistentes à cloroquina (Dd2) de *Plasmodium falciparum*. O projeto também investigou o efeito dos compostos em estágios sexuais em parasitas NF54-Luc-GFP e a citotoxicidade dos compostos em células humanas.

Métodos e Procedimentos

A atividade dos compostos foi avaliada utilizando hemácias infectadas com parasitas *P. falciparum* (cepas 3D7 e Dd2) com 0,3% de parasitemia inicial e 1% de hematócrito. As culturas foram incubadas por 72h com os compostos em diluição seriada (5µM - 0,002µM). A parasitemia foi quantificada por citometria de fluxo (BD Accuri C6) após marcação com SYBR Green e MitoTracker Deep Red. DMSO (v/v) e cloroquina foram usados como controles negativo e positivo, respectivamente.

A citotoxicidade foi determinada em células HEK293T pelo ensaio de MTT. As células foram tratadas por 72h com os compostos nas mesmas concentrações do ensaio anterior. A

viabilidade celular foi medida pela absorbância (570nm) dos cristais de formazan solubilizados em DMSO, utilizando um leitor de placas FlexStation 3.

Para avaliar o efeito em estágio sexuais do parasita, gametócitos maduros (estágios IV e V) da cepa NF54-Luc-GFP foram obtidos por estresse nutricional, purificados com N-acetilglicosamina (50mM) e concentrados magneticamente (VarioMACS). Os gametócitos (1% de gametocitemia e 1% de hematócrito) foram incubados com 5µM dos compostos por 72h. A viabilidade foi determinada por ensaio de luciferase (Promega Luciferase Assay System), com leitura de luminescência utilizando Tristar 5. Primaquina foi usada como controle positivo a 10µM.

Resultados

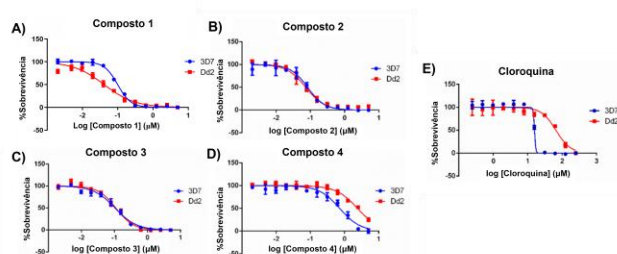


Figura 1: Curvas de dose-resposta de parasitas 3D7 e Dd2 incubados com os compostos

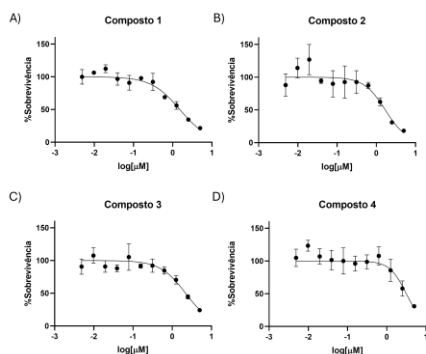


Figura 2: Curvas dose-resposta de células HEK293T incubadas com os compostos

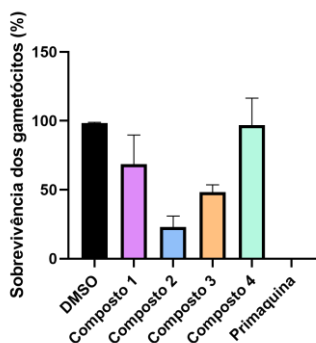


Figura 3: Porcentagem de sobrevivência de gametócitos estágios IV e V incubados com 5μM dos compostos por 72 horas.

Tabela 1: Atividade dos compostos em *P. falciparum* 3D7 e Dd2, células HEK293T, índices de seletividade e atividade em estágios sexuais

Composto	1	2	3	4
IC ₅₀ 3D7	52,50nM	125,50nM	147,0nM	1,41μM
IC ₅₀ Dd2	44,39nM	139,0nM	183nM	1,61μM
IC ₅₀ HEK293T	1,64μM	2,16μM	1,66μM	3,51μM
Seletividade	31,23	17,21	11,29	2,48

Conclusões

Os compostos testados apresentaram atividade no ciclo intraeritrocítico de *P. falciparum* nas cepas 3D7 e Dd2, com valores de IC₅₀ na faixa de nanomolar. Os valores de IC₅₀ foram próximos em ambas as cepas, indicando que os compostos apresentam um potencial no tratamento de cepas resistentes aos antimaláricos utilizados atualmente.

O ensaio de MTT demonstrou que os compostos apresentaram toxicidade para células humanas HEK293T. Apesar disso, o valor de IC₅₀ nesse modelo celular foi na faixa de micromolar e os compostos foram até 30 vezes mais seletivos para *P. falciparum*.

Além disso, os compostos demonstraram atividade contra a forma sexuada do parasita, responsável pela transmissão via mosquito vetor. O composto 3 destacou-se como o mais eficaz, promovendo uma redução de 78% na gametocitemia inicial, enquanto o composto 4, que apresentou menor atividade na fase assexuada, não afetou a viabilidade dos gametócitos.

Em conjunto, os resultados evidenciam que essa classe de compostos representa uma promissora candidata para o desenvolvimento de novos antimaláricos, em virtude de sua eficácia frente a cepas resistentes e de sua atividade em diferentes estágios do ciclo de vida de *P. falciparum*.

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

- Waitman KB, de Almeida LC, Primi MC, et al. HDAC specificity and kinase off-targeting by purine-benzohydroxamate anti-hematological tumor agents. *Eur J Med Chem.* 2024;263:115935. doi:10.1016/j.ejmech.2023.115935