

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
- Campus de Araraquara

FERNANDO HISSAO ARUGA

Desvendando o Potencial dos Inibidores de Falcipaina-2 na Luta Contra a Malária

Araraquara
2025



FERNANDO HISSAO ARUGA

Desvendando o Potencial dos Inibidores de Falcipaina-2 na Luta Contra a Malária

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador(a): Prof. Dr. Cauê Benito Scarim

Araraquara
2025

A793d Aruga, Fernando Hissao.
Desvendando o potencial dos inibidores de Falcipaina-2 na
luta contra a malária / Fernando Hissao Aruga. – Araraquara,
2025.
33 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia) –
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade
de Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Cauê Benito Scarim.

1. Plasmodium. 2. Malária. 3. Hemoglobina. 4. Inibidores. I.
Scarim, Cauê Benito, orient. II. Título.

FERNANDO HISSAO ARUGA

Desvendando o Potencial dos Inibidores de Falcipaina-2 na Luta Contra a Malária

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Data da defesa: 09/06/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cauê Benito Scarim
UNESP - FCF - Campus de Araraquara

Ana Luísa Rodriguez Gini
UNESP – FCF – Campus de Araraquara

Pamela Souza Tada de Cunha
UNESP – FCF – Campus de Araraquara

Dedico este trabalho à meus pais, sem o apoio incondicional em todos os momentos da minha trajetória acadêmica não seria possível.

RESUMO

Com 263 milhões de casos estimados em 2023, a malária permanece como um grave desafio de saúde pública global, agravado pelo aumento da resistência aos antimaláricos convencionais. Nesse contexto, a falcipaina-2 (FP2), uma cisteína protease essencial para a degradação da hemoglobina durante o ciclo intraeritrocitário de *Plasmodium falciparum*, tem se destacado como um alvo terapêutico promissor. Esta monografia apresenta uma revisão crítica da literatura sobre inibidores de FP2, com foco em suas propriedades estruturais, atividade biológica e limitações para o desenvolvimento clínico. Foram identificados e analisados 16 compostos pertencentes a nove diferentes classes químicas, incluindo moléculas sintéticas, derivados naturais e fármacos reposicionados. Os compostos mais promissores foram o Composto 8, uma vinil sulfona com IC_{50} de 0,003 μ M contra *P. falciparum*, e o Composto 16, uma chalcona modificada com IC_{50} previsto de 13 nM frente à FP2. Apesar da alta potência, ambos apresentam violações à Regra dos 5 de Lipinski, o que indica a necessidade de otimizações para melhorar suas propriedades farmacocinéticas. Observou-se ainda que a maioria dos candidatos permanece em fase pré-clínica, com lacunas importantes nos dados de farmacocinética, toxicidade e seletividade. Diante desses achados, reforça-se a importância da continuidade dos estudos envolvendo a inibição da FP2, com ênfase em abordagens integradas de modelagem molecular, triagem racional, síntese de novos derivados e validação experimental *in vitro* e *in vivo*. O avanço nesses aspectos pode contribuir significativamente para a identificação de novos candidatos a fármacos antimaláricos mais eficazes e seletivos.

Palavras-chave: falcipaina-2; inibidor; malária; *plasmodium*.

ABSTRACT

With an estimated 263 million cases in 2023, malaria remains a serious global public health concern, further aggravated by the growing resistance to conventional antimalarial therapies. In this context, falcipain-2 (FP2), a cysteine protease essential for hemoglobin degradation during the intraerythrocytic cycle of *Plasmodium falciparum*, has emerged as a promising therapeutic target. This monograph presents a critical literature review on FP2 inhibitors, focusing on their structural properties, biological activity, and limitations for clinical development. A total of 16 compounds were identified and analyzed, distributed across nine distinct chemical classes, including synthetic molecules, natural derivatives, and repurposed drugs. The most promising candidates were Compound 8, a vinyl sulfone with an IC_{50} of 0.003 μ M against *P. falciparum*, and Compound 16, a modified chalcone with a predicted IC_{50} of 13 nM against FP2. Despite their high potency, both compounds violate Lipinski's Rule of Five, indicating the need for structural optimizations to improve their pharmacokinetic profiles. Moreover, most of the candidates remain at the preclinical stage, lacking essential data on pharmacokinetics, toxicity, and selectivity. These findings reinforce the relevance of continued research on FP2 inhibition, with emphasis on integrated strategies involving molecular modeling, rational screening, synthesis of novel derivatives, and experimental validation in vitro and in vivo. Advances in these areas may significantly contribute to the discovery of more effective and selective antimalarial drug candidates

Keywords: falcipain-2; inhibitor; malária, *plasmodium*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mortes relacionadas à malária no mundo, período de 2000-2022	12
Figura 2 – Ciclo de vida do <i>Plasmodium</i>	13
Figura 3 – Arquitetura da membrana eritrocitária mostrando a disposição de importantes proteínas integrais e também proteínas que formam o citoesqueleto celular	17

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Fármacos da terapia padronizada e seus mecanismos de ação	15
Quadro 2 - Inibidores de FP2 avaliados	18
Quadro 3 – Propriedades físico-químicas preditas virtualmente via pkCSM e atividade biológica declarada dos compostos 8 e 16	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade
FP2	Falcipaina-2
IC ₅₀	Concentração inibitória média
LD ₅₀	Dose letal mediana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Malária no contexto contemporâneo: impacto global e demandas por novos alvos moleculares.....	13
1.2 Ciclo de vida dos <i>Plasmodium spp</i>	13
1.3 Ação dos agentes <i>P.falciparum</i> , <i>P.vivax</i> e <i>P.malariae</i>	14
1.4 Terapia utilizada atualmente.....	14
1.5 Atuação de falcipaina-2 (FP2) no ciclo parasitário.....	16
2 Inibidores de FP2.....	18
2.1 Chalconas.....	20
2.2 <i>Sorindeia juglandifolia</i>	21
2.3 Pirazol-hidrazina.....	22
2.4 Grupamentos vinil.....	23
2.5 Suramina.....	24
2.6 Cumarina-pirazolina.....	25
2.7 1,2,4-Trioxano.....	26
2.8 Indol-carboxamida e derivado de quinolinil-oxamida.....	27
2.9 Tetraciclina.....	28
3. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	29
4. CONCLUSÃO.....	31
5. REFERÊNCIAS.....	32

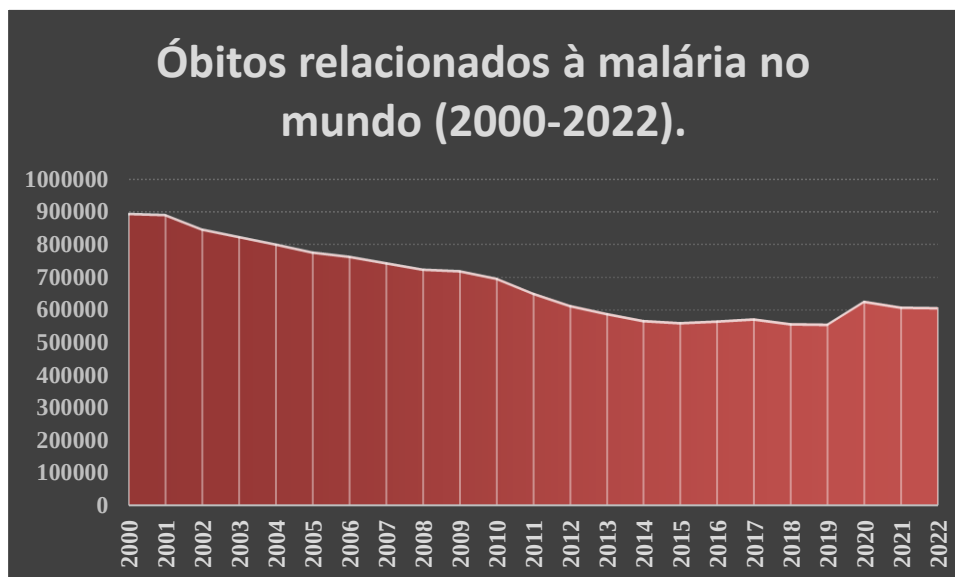
1 INTRODUÇÃO

1.1. Malária no contexto contemporâneo: impacto global e demandas por novos alvos moleculares

Malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo as espécies *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi* conhecidas como patógenos humanos, transmitidos por mosquitos dos gêneros *Anopheles* (Fikadu e Ashenafi, 2023), enquanto o último é prevalente no sudeste asiático, sendo também o causador da malária símia. No Brasil, embora o vetor esteja presente em cerca de 80% do território nacional, aproximadamente 99,8% dos casos concentram-se na bacia do rio Amazonas. A espécie *P. vivax* responde por 83,7% dos casos registrados, enquanto *P. falciparum* corresponde aos 16,3% restantes. Embora a infecção por *P. vivax* seja tradicionalmente considerada menos letal que a causada por *P. falciparum*, o aumento de complicações graves como malária cerebral, insuficiência renal ou hepática, distúrbios da coagulação sanguínea, edema pulmonar, e choque aliado aos relatos de resistência à cloroquina têm gerado crescente preocupação (Ferreira *et al.*, 2017).

Em escala global, estima-se que ocorreram 263 milhões de casos de malária em 2023, com aproximadamente 597 mil mortes (OMS, 2023), o que representa um aumento em relação aos 245 milhões de casos registrados em 2020. Ambos os números superam os 230 milhões estimados no plano “*Global Technical Strategy for Malaria 2016–2030*” (OMS, 2022). Parte desse aumento — cerca de 13,4 milhões de novos casos — é atribuído ao impacto causada pela pandemia de COVID-19 entre 2019 e 2021 (World Malaria Report, 2022; OMS, 2022). Como consequência, os óbitos também aumentaram nesse período. Observa-se, contudo, que desde 2015 não houve progresso significativo na redução da mortalidade por malária (Figura 1).

Figura 1. Óbitos relacionados à malária no mundo (2000-2022).



Fonte: IHME, Global Burden of Disease (2024) – with minor processing by Our World in DataWorld. WHO, World Malaria report 2023.

Com o avanço no desenvolvimento de vacinas eficazes contra a malária, projeta-se uma possível redução significativa nos casos e óbitos relacionados à doença. No entanto, considerando a complexidade dos ensaios clínicos e a presença das fases sexual e assexual no ciclo de vida do *Plasmodium*, a previsão para uma aplicação global efetiva permanece incerta. Ademais, mesmo com a disponibilidade de vacinas, não há garantias de que estas chegarão adequadamente às regiões mais afetadas, especialmente no continente africano, que concentra cerca de 90% dos casos globais (Fikadu e Asheanfi, 2023).

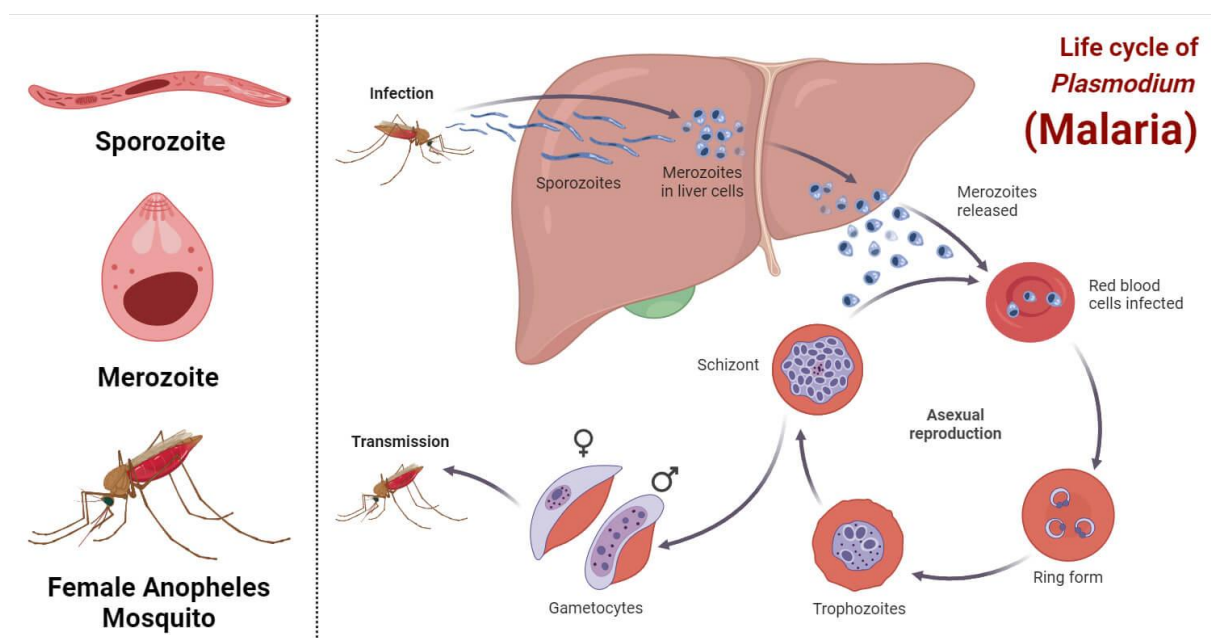
Diante desse cenário, o desenvolvimento de novos tratamentos continua sendo essencial, especialmente para enfrentar a crescente resistência aos fármacos atualmente utilizados. Uma das abordagens promissoras em investigação é a inibição da enzima falcipaina-2, por meio de diferentes compostos químicos. Essa estratégia explora a dependência do parasita pela hemoglobina eritrocitária para a síntese de aminoácidos essenciais (Pandey *et al.*, 2025). O presente trabalho aborda os mecanismos envolvidos na inibição da falcipaina-2, bem como exemplos relevantes de compostos estudados com esse objetivo.

1.2. Ciclo de vida do *Plasmodium spp.*

Plasmodium spp. são um protozoário unicelular que parasita os eritrócitos humanos e apresenta duas fases distintas de reprodução: uma fase sexuada, que ocorre no intestino de mosquitos do gênero *Anopheles* após a ingestão de sangue contendo gametócitos, e uma fase assexuada, que ocorre no hospedeiro humano (Fundação Oswaldo Cruz, Rondônia 2025). A infecção inicia-se com a picada do mosquito, momento em que esporozoítos são inoculados na corrente sanguínea e rapidamente migram para os hepatócitos, onde se replicam por esquizogonia. Essa fase hepática dura entre 6 e 18 dias para a maioria das espécies, com exceção de *P. falciparum*, cuja duração é de 5 a 7 dias. Durante esse período, o parasita se desenvolve em esquizontes contendo múltiplos núcleos, gerando em média de 10.000 à 30.000 merozoítos, os quais eventualmente rompem as células hepáticas e são liberados na corrente sanguínea (Blut, 2009).

Em *P. vivax* e *P. ovale*, parte dos esquizontes pode entrar em latência, originando os chamados hipnozoítos, responsáveis por recaídas clínicas que ocorrem até seis meses após a infecção primária (Ministério da Saúde, Guia Prático de Tratamento da Malária no Brasil 2025). Uma vez na circulação, os merozoítos invadem os eritrócitos, transformando-se em trofozoítos, que degradam a hemoglobina, liberando novos merozoítos a cada ciclo e agravando progressivamente a doença.

Figura 2. Ciclo de vida do *Plasmodium*



Fonte: Sadikshya Dhakal, 2024 MicrobeNotes

1.3. Ação dos agentes *P.falciparum*, *P.vivax* e *P.malariae*

Embora sejam espécies do mesmo gênero e causem a mesma doença, a intensidade dos quadros clínicos varia significativamente entre *P.falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae*. Todas as espécies invadem hemácias humanas por meio do complexo P113-RH5 presente na superfície do merozoíto que se liga nos receptores basigina na superfície das hemoglobinas, com o objetivo de obter aminoácidos essenciais como principalmente isoleucina, o qual após degradação em seu vacúolo digestivo gera hemozoína (Sherman, 1977) , porém, segundo a Fiocruz, dentre as espécies, *P. falciparum* se destaca por sua alta virulência, caracterizada por sua intensa replicação e maior consumo de hemoglobina, levando a maior destruição de até 25% das hemácias infectadas e à consequente anemia severa sendo considerada a forma mais agressiva de malária. Além disso, as hemácias parasitadas por *P. falciparum* sofrem alterações estruturais que permitem sua adesão entre si e às paredes dos vasos sanguíneos, formando pequenos coágulos que podem causar trombozes e embolias (FIOCRUZ, 2025)

Por outro lado, as infecções por *P. vivax* e *P. malariae* são geralmente menos severas e apresentam características clínicas semelhantes entre si. Essas espécies causam a destruição de menos de 1% das hemácias, mas tendem a persistir por mais tempo no fígado, contribuindo para recaídas e episódios prolongados da doença. Além disso, estão associadas à plaquetopenia, o que pode dificultar tanto o diagnóstico quanto o tratamento (FIOCRUZ, 2025).

De forma geral, os sintomas da malária incluem febre alta, calafrios, tremores, sudorese e cefaleia. Nos casos graves, podem estar presentes prostração, alterações de consciência, dispneia ou hiperventilação, convulsões, hipotensão arterial, choque e hemorragias (BRASIL, 2025)

1.4 Terapia utilizada atualmente

A terapia antimalárica no Brasil é definida com base em protocolos padronizados do Ministério da Saúde, os quais consideram a gravidade clínica da infecção (formas simples ou complicadas) e a espécie de *Plasmodium* envolvida. Essas diretrizes estão em consonância com as recomendações da Organização

Mundial da Saúde (OMS), que preconiza o uso de terapias combinadas à base de artemisinina (ACTs) como primeira linha para infecções por *P. falciparum*, devido à sua eficácia comprovada e menor risco de resistência.

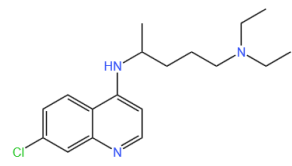
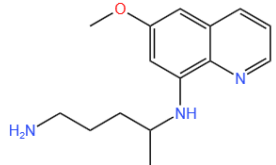
Para infecções por *P. vivax* ou *P. ovale*, o esquema terapêutico inclui cloroquina por três dias, associada à primaquina por sete dias, esta última responsável por eliminar as formas hepáticas dormentes (hipnozoítos), prevenindo recaídas. Contudo, a primaquina é contraindicada em gestantes, lactantes até um mês pós-parto e crianças menores de seis meses. Nesses casos, administra-se apenas a cloroquina, podendo-se considerar cloroquina profilática em gestantes.

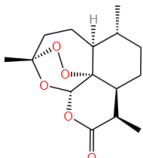
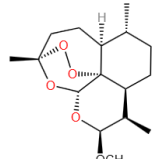
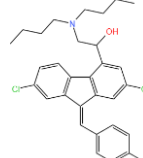
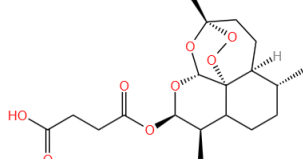
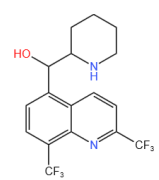
Já para *P. malariae*, o tratamento segue o mesmo esquema de cloroquina, mas sem necessidade de primaquina, uma vez que essa espécie não forma hipnozoítos.

No caso de *P. falciparum*, são utilizados ACTs, como artemeter + lumefantrina ou artesunato + mefloquina, ambos por três dias, com adição de uma dose única de primaquina para eliminar os gametócitos e reduzir a transmissão. Em infecções mistas (ex: *P. falciparum* + *P. vivax*), o mesmo esquema com ACTs é mantido, associado à primaquina por sete dias.

Para casos graves ou complicados, o tratamento deve ser iniciado com artesunato intravenoso ou intramuscular por pelo menos 24 horas. Após estabilização clínica, faz-se a transição para o tratamento oral adequado à espécie identificada (**Quadro 1**).

Quadro 1. Fármacos da terapia padronizada e seus mecanismos de ação.

Fármaco	Mecanismo de ação	Estrutura Química
Cloroquina	Inibição da heme polimerase gerando aumento de heme intracelular	
Primaquina	Não é completamente entendido, interfere na mitocôndria	

Artemisina	Inibição do estágio assexual e estágio V gametócito	
Artemeter	Inibição de ácido nucleico e síntese proteica	
Lumefantrina	Inibição de ácido nucleico e síntese proteica e da formação de β -hematina	
Artesunato	Metabolização em radicais livres	
Mefloquina	Incerto, Inibição de síntese proteica	

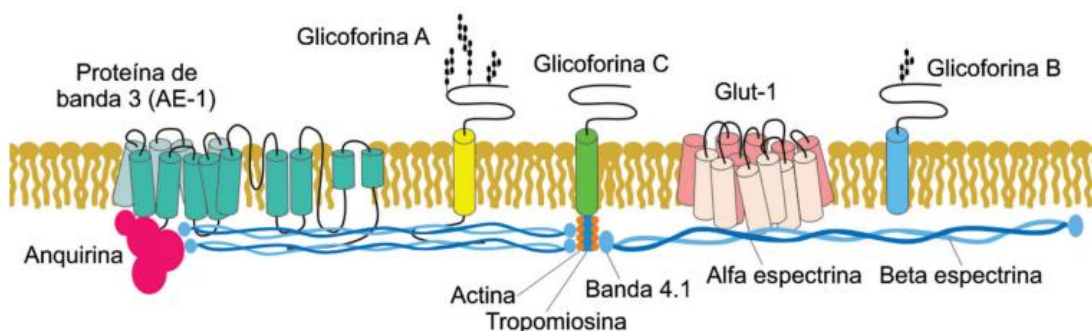
Fonte: Autor

1.5 Atuação de falcipaina-2 (FP2) no ciclo parasitário

A falcipaina-2 (FP2) é uma cisteína protease da família das enzimas tipo papaína, com aproximadamente 27 kDa, localizada no vacúolo digestivo do *Plasmodium falciparum*. Durante a fase de trofozoíto, a FP2 atua na hidrólise da hemoglobina, enquanto na fase esquizonte, cliva proteínas estruturais dos eritrócitos, como anquirina e proteína 4.1, essenciais para a estabilidade da membrana celular (Ettari *et al.*, 2009).

Essa enzima é considerada fundamental para a sobrevivência do parasita, pois garante o suprimento de aminoácidos e mantém o equilíbrio osmótico intracelular (Paula, 2017). Em função de sua importância funcional, a FP2 tem sido amplamente estudada como um alvo terapêutico estratégico, visto que sua inibição pode comprometer a viabilidade do parasita, reduzindo sua virulência e capacidade de replicação no hospedeiro humano.

Figura 3. Arquitetura da membrana eritrocitária mostrando a disposição de importantes proteínas integrais e proteínas que formam o citoesqueleto celular.



Fonte: Pinto, W. de J.; Marialva, J. E. de; Guida Cardoso, S. M.; Arcanjo Areas, M. Topologia das principais proteínas da membrana e do citoesqueleto eritrocitário. Revista de Ciências Médicas e Biológicas, Salvador, v. 12, n. 1, p. 106–120, jan./abr. 2013.

Outras cisteíno proteases foram consideradas, descobriu-se que falcipaina-1 embora possa ter alguma importância na invasão do eritrócito, demonstrou ser dispensável para o desenvolvimento intraeritrocítico conforme mostram estudos de interrupção gênica, já as isoformas falcipaina-3 (FP3) e falcipaina 2' (FP2') que compartilham respectivamente uma semelhança de 66,7% e 93% de identidade com FP2 (Boyom *et al*, 2010) também são capazes de hidrolisar hemoglobina, à semelhança da FP2, isso foi descoberto pela interrupção do gene de falcipaina-2 que levou a apenas um bloqueio temporário na hidrólise da hemoglobina (Rosenthal, 2004), e por isso acabam sendo consideradas juntas a FP2 em algumas pesquisas pois são também atuantes no mesmo substrato e inibidas pelas mesmas moléculas (Machin *et al*, 2019), além de que FP2 é mais abundante e sensível a inibidores comparado as duas isoformas, embora sua atividade seja ainda de menor contribuição, seu genoma inclui outras cisteíno proteases porém ainda sem caracterização bioquímica o que as tornam possíveis alvos terapêuticos.

2. Inibidores de FP2

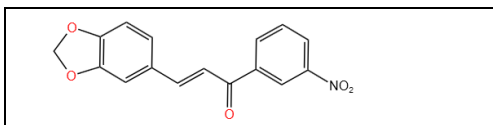
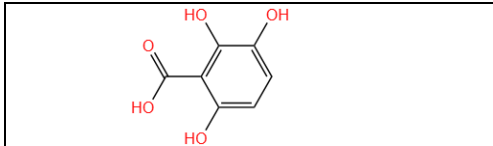
Após a identificação da FP2 como alvo essencial no metabolismo do *Plasmodium falciparum*, diversos estudos foram direcionados ao desenvolvimento de inibidores capazes de bloquear sua atividade proteolítica. O interesse por esse alvo terapêutico remonta à década de 1990, mas, até o momento, nenhuma molécula foi aprovada clinicamente com ação específica sobre FP2 (Pandey *et al.*, 2025)

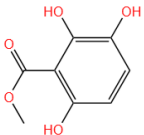
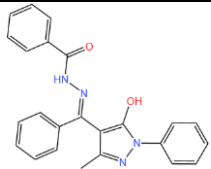
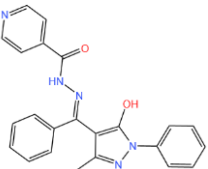
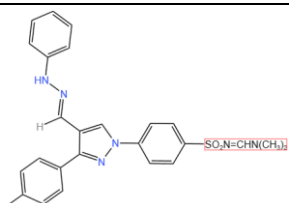
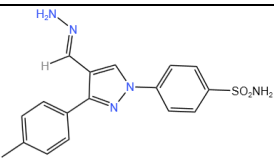
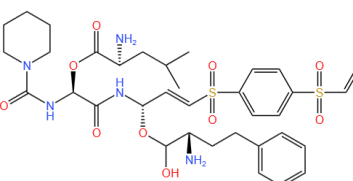
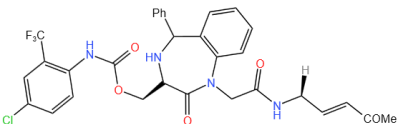
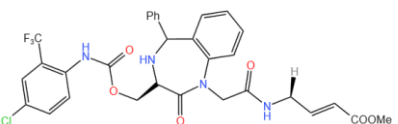
A maioria das triagens iniciais envolveu inibidores peptídicos ou peptidomiméticos, que, embora potentes, apresentam baixa estabilidade *in vivo*, devido à susceptibilidade à degradação proteolítica e baixa biodisponibilidade oral (Chakka *et al.*, 2015). Esses compostos geralmente apresentam grupos farmacofóricos reativos, como vinil sulfonas, halometil cetonas e aldeídos, os quais atuam sobre o sítio catalítico da FP2.

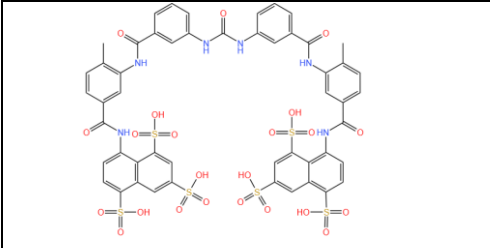
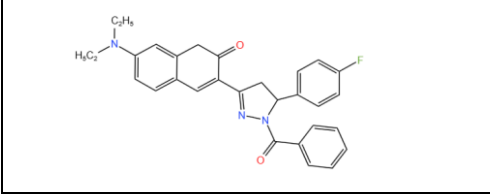
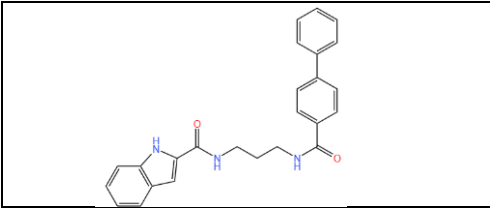
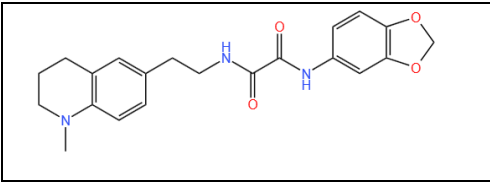
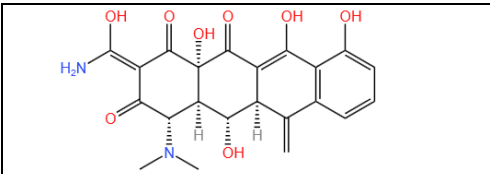
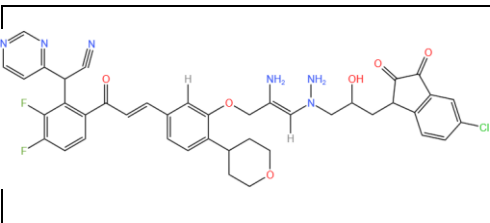
Mais recentemente, outras classes químicas têm sido investigadas, incluindo isoquinolinas, tiossemicarbazonas, chalconas, compostos naturais, e derivados heterocíclicos, com o objetivo de encontrar moléculas mais seletivas e estáveis, que não interfiram nas cisteíno proteases humanas estruturalmente semelhantes, como as catepsinas (Machin *et al.*, 2019).

A seguir, serão abordadas as principais classes de inibidores descritas na literatura, com ênfase em suas estruturas, mecanismos de ação, potências (IC_{50}), dados *in vivo* e limitações identificadas, das quais 16 moléculas foram selecionadas a partir de revisão bibliográfica de artigos obtidos em portais como PubMed Springer, ACS, ScienceDirect e outros utilizando as palavras-chave *falcipain-2*, *inhibitors* e FP2, priorizando valores de IC_{50} junto ao nível de evidência demonstrado.

Quadro 2 - Inibidores de FP2 avaliados

Estrutura Química	Molécula	Classe	Resultado
	Composto 1	Chalcona	FP2 IC_{50} 8,8 mM
	Composto 2	<i>S.Juglandifolia</i>	<i>P. falciparum</i> W2 (IC_{50S} 16,5 μ M) e FP2 (IC_{50S} 35,4 μ M)

	Composto 3	<i>S. Juglandifolia</i>	<i>P. falciparum</i> W2 (IC ₅₀ s 13.0 µM) e FP2 (6,1 µM)
	Composto 4	Pirazol-hidrazina	<i>K_i</i> (µM) 0,93 / FP2 <i>Binding free energy ligand</i> (kcal/mol) -10,02
	Composto 5	Pirazol-hidrazina	<i>K_i</i> (µM) 1,14 / FP2 <i>Binding free energy ligand</i> (kcal/mol) -8,11
	Composto 6	Pirazol-hidrazina	IC ₅₀ de 0,033 µM/mL <i>P. berghei</i>
	Composto 7	Pirazol-hidrazina	IC ₅₀ de 6,706 µM/mL <i>P. berghei</i>
	Composto 8	Grupamento vinil	IC ₅₀ (µM) <i>P. falciparum</i> 0,003, <i>P. vinckei</i> 0,2
	Composto 9	Vinil cetona	IC ₅₀ <i>P. falciparum</i> = 9,3 µM, <i>K_i</i> (catepsina B) 6 µM, (catepsina L) 5,9 µM
	Composto 10	Vinil éster	IC ₅₀ <i>P. falciparum</i> = 12 µM, <i>K_i</i> (catepsina B) 7,3 µM, (catepsina L) 8,4 µM

	Composto 11	Suramina	IC ₅₀ de 95 nM FP2
	Composto 12	Curamina-pirazolina	IC ₅₀ de 4,21 µg/ml <i>P.berghei</i> e <i>P.falciparum</i>
	Composto 13	Indol carboxamida	PfIC ₅₀ 12,16 µM e 8,56 µM, <i>Enzyme Inhibition</i> (%) 51 e 62, <i>Dock Score</i> (kcal/mol) -7,76 -9,66 contra FP2 e FP3
	Composto 14	Quinolinil oxamida	PfIC ₅₀ 14,71 µM e 9,98 µM, <i>Enzyme Inhibition</i> (%) 53 e 61, <i>Dock Score</i> (kcal/mol) -9,03 -7,07 contra FP2 e FP3
	Composto 15	Tetraciclina	IC ₅₀ (µM) 82,57, K _i (µM) 137 FP2
	Composto 16	Chalcona	IC _{50pre50} 13 nM FP2

Fonte: Autor

2.1 Chalconas

As chalconas constituem uma classe de compostos sintéticos e naturais amplamente estudada por suas diversas atividades biológicas, incluindo ações anti-inflamatória, antidiabética, antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, antiparasitária e neuroprotetora (Salehi *et al.*, 2021).

No contexto da malária, as chalconas têm se mostrado promissoras por apresentarem mecanismos de interação diferenciados com a FP2, ligando-se em regiões posteriores à fenda catalítica da enzima, ao contrário dos inibidores convencionais, que atuam diretamente no sítio ativo. Essa característica estrutural é relevante, pois as diferenças entre as falcipainas e as catepsinas humanas ocorrem justamente nessas regiões alostéricas, favorecendo a seletividade da inibição (Machin *et al.*, 2019).

Entre os derivados estudados, destaca-se o composto EC48 (Composto 1), que apresentou Concentração inibitória de 50% (IC₅₀) de 8,5 µM e estrutura cristalográfica resolvida em 3,45 Å. Em outro estudo com chalconas híbridas, como lactona-chalcona e isatina-chalcona, foram triadas virtualmente mais de 2,6 milhões de compostos, com destaque para o Composto 125–1–1–H–lki-128 (Composto 16), que apresentou IC₅₀ previsto de 13 nM (Koffi *et al.*, 2019). Estes resultados reforçam o potencial dessa classe como plataforma de otimização racional para inibidores seletivos de FP2.

2.2 *Sorindeia juglandifolia*

A planta africana *Sorindeia juglandifolia*, pertencente à família *Anacardiaceae*, tem sido fonte de compostos bioativos com potencial antiplasmódico e inibitório da falcipaina-2. Encontrada em países como Gabão, Congo, Camarões, Costa do Marfim e Mali, essa espécie tem como principais constituintes ativos: ácido 2,3,6-trihidroxibenzoico (Composto 2) e 2,3,6-trihidroxibenzoato de metila (Composto 3).

Ambas as substâncias foram isoladas e purificadas a partir do fruto da planta e demonstraram atividade significativa contra a linhagem resistente à cloroquina *P.falciparum* W2, com IC₅₀ de 16,5 µM e 13,0 µM, respectivamente. Além disso, inibiram a atividade da FP2 com IC₅₀ de 35,4 µM e 6,1 µM (Kerr *et al.*, 2009; Kamkumo *et al.*, 2012; Kang *et al.*, 2014).

No modelo *in vivo* com *P. berghei*, o Composto 2 demonstrou efeito supressor e curativo em doses de 44,9 mg/kg e 42,2 mg/kg, respectivamente. A administração oral foi considerada segura, com dose máxima tolerada de 7 g/kg em ratos, sugerindo um bom perfil toxicológico preliminar. Apesar dos resultados promissores, nenhum estudo subsequente aprofundou essas investigações desde 2014, e os compostos de *S. juglandifolia* passaram a ser citados apenas em revisões. Isso ressalta a necessidade

de retomada e aprofundamento dos estudos com compostos naturais, especialmente aquelas com atividade confirmada contra FP2 (Kang *et al.*, 2014)

2.3 Pirazol-hidrazina

Os derivados de pirazol-hidrazina vêm ganhando destaque como potenciais inibidores da falciparina-2 (FP2), em razão de sua versatilidade estrutural e ampla gama de atividades biológicas já descritas, incluindo efeitos anticâncer, antimicrobianos, antivirais, anti-inflamatórios e antiparasitários (Aziz *et al.*, 2020).

Dois estudos recentes relataram a atividade de quatro compostos com esse núcleo químico, sendo que dois deles — BepBeH (Composto 4) e BepINH (Composto 5) — consistem em derivados de base de Schiff. Esses compostos apresentaram desempenho notável *in vivo*, promovendo significativa redução da carga parasitária em camundongos infectados, com valores de 0,76 e 0,79 no terceiro dia de tratamento, em comparação com o controle negativo (16,37), a supressão da parasitemia ultrapassou 95% com doses de 15 mg/kg, valor comparável à eficácia do tratamento padrão com artemeter + lumefantrina (99,38%) (Ibezim *et al.*, 2022).

Estudos de modelagem molecular revelaram que a afinidade de ligação da FP2 ao Composto 4 foi superior à do Composto 5, com energia livre de ligação estimada em $-10,02$ kcal/mol ($K_i = 0,93$ μ M) para o primeiro, e $-8,11$ kcal/mol ($K_i = 1,14$ μ M) para o segundo. Esses dados reforçam o potencial dos derivados de pirazol-hidrazina como inibidores de FP2 com alta afinidade pelo alvo catalítico (Ibezim *et al.*, 2022)

Outros dois compostos da mesma classe (Compostos 6 e 7) também foram avaliados quanto à atividade antiplasmódica *in vivo*. O Composto 6 demonstrou 70,2% de supressão parasitária, com IC_{50} de 0,033 μ M, enquanto o Composto 7 atingiu 90,4% de supressão e IC_{50} de 6,706 μ M/mL. No entanto, apesar da elevada inibição, o Composto 7 não prolongou significativamente o tempo de sobrevivência dos animais tratados, alcançando apenas 7,7 dias em comparação aos 7,0 dias do grupo controle. A redução da dose à metade resultou em aumento expressivo da sobrevivência (9,8 dias), sugerindo que a toxicidade em doses mais altas pode comprometer seu uso terapêutico (Berhe *et al.*, 2024).

A toxicidade aguda dos derivados pirazol-hidrazina acoplados a bases de Schiff foi considerada moderada, com dose letal mediana de 50% (LD_{50}) estimado em 141,42 mg/kg. Esses resultados indicam que, embora esses compostos apresentem

excelente potencial inibitório contra FP2 e atividade antiparasitária significativa, ajustes estruturais e avaliação mais aprofundada de segurança são necessários para avançar no desenvolvimento pré-clínico.

2.4 Grupamentos Vinil

Os grupamentos vinil, representados pela estrutura geral $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{R}$, têm se mostrado versáteis em síntese orgânica e no desenvolvimento de fármacos com diversas aplicações terapêuticas. Dentre esses, as vinil sulfonas se destacam por exibirem atividades anti-HIV, antitumorais, antitrypanossômica., antibacterianas e antiparkinsonianas, já no contexto da malária, compostos contendo este grupo funcional demonstraram notável atividade inibitória contra a falciparína-2 (FP2) (Tong *et al.*, 2024).

Em um estudo clássico conduzido por Rosenthal *et al.* (1996), dez compostos derivados de vinil sulfonas foram avaliados *in vitro* quanto à sua capacidade de inibir FP2 de *P. falciparum* e *P. vinckei*. O composto Mu-Leu-HphVSPH (Composto 8) se destacou por suas potências, apresentando IC_{50} de $0,003 \mu\text{M}$ contra *P. falciparum*, embora sua eficácia tenha sido reduzida contra *P. vinckei* ($\text{IC}_{50} = 0,2 \mu\text{M}$), sugerindo que mudanças na sequência peptídica podem alterar a especificidade para a enzima parasítica. Essas moléculas também causaram inchaço no vacúolo digestivo dos parasitas, um marcador morfológico de inibição da degradação da hemoglobina (Rosenthal *et al.*, 1996).

Além disso, foi observado que esses compostos não eliminavam imediatamente os parasitas, mas impediam seu desenvolvimento por bloquear o acesso a aminoácidos essenciais. O ensaio de contagem de formas anelares (pré-trofozoítos) demonstrou ser mais sensível para detecção do efeito inibitório do que os ensaios baseados em captação de hipoxantina radiomarcada. O tratamento oral com 30 mg/kg por 28 dias não gerou sinais aparentes de toxicidade ou patologias em modelos animais, reforçando o potencial terapêutico da classe (Rosenthal *et al.*, 1996).

Em um segundo estudo, Ettari *et al.* (2009) ampliaram a investigação sobre a família dos grupamentos vinil ao avaliar compostos derivados de vinil cetonas, vinil ésteres, amidas e nitrilas. Os compostos mais ativos foram os derivados de vinil cetona (Composto 9) e vinil éster (Composto 10), que apresentaram IC_{50} de $9,3 \mu\text{M}$ e $12 \mu\text{M}$ contra FP2, respectivamente. Ambos também foram testados contra catepsinas

B e L humanas, com valores de K_i variando entre 5,9 e 8,4 μM . No entanto, o Composto 9 foi considerado tóxico para a monocamada celular e instável em solução 100% DMSO para células hospedeiras, enquanto o Composto 10 demonstrou o melhor equilíbrio entre potência, seletividade e permeabilidade, sendo apontado como o candidato mais promissor da série.

Esses resultados destacam o grupamento vinil como uma subestrutura farmacofórica relevante para a inibição da FP2, com diferentes variações estruturais que podem ser exploradas para melhorar a seletividade e reduzir a toxicidade. Em especial, o Composto 8 segue como um dos mais potentes inibidores identificados até hoje, com forte base experimental e aplicabilidade terapêutica potencial (Ettari *et al.*, 2009)

2.5 Suramina

A suramina é um fármaco antiparasitário desenvolvido no início do século XX, utilizado clinicamente até hoje no tratamento da tripanossomíase africana. Apesar de seu uso consolidado em outras doenças tropicais negligenciadas, sua aplicação no contexto da malária tem sido explorada mais recentemente com foco na inibição da falcipaina-2 (FP2). Em um estudo conduzido por Marques *et al.* (2013), foi demonstrado que a suramina, na concentração de 200 nM, foi capaz de inibir a atividade hemoglobínica mediada por FP2, impedindo a clivagem da hemoglobina em ensaios enzimáticos *in vitro*. Esse efeito foi confirmado também em ensaios com substrato fluorogênico, reforçando a eficácia da suramina como inibidor funcional da enzima.

A investigação da interação entre suramina e FP2 revelou um padrão estequiométrico de ligação, sugerindo que a molécula atua de forma direta e específica sobre o alvo proteolítico. A ligação foi acompanhada por alterações na fluorescência intrínseca da FP2, o que reforça sua ação como inibidor reversível por ocupação do sítio de ligação (Marques *et al.*, 2013). Além da molécula original, foram testados diversos análogos estruturais da suramina, nos quais os grupos metil foram substituídos por diferentes radicais — desde substituintes polares, contendo heteroátomos e halogênios, até cadeias alquílicas, fenóis e grupos metoxila. De maneira geral, esses análogos mantiveram a potência inibitória em nível nanomolar, com valores de IC_{50} próximos a 95 nM. A substituição mais efetiva foi a de um

hidrogênio, sugerindo que modificações volumosas podem comprometer a eficiência de ligação à FP2 (Marques *et al.*, 2013)

Apesar da atividade potente e do histórico clínico da suramina, um dos principais obstáculos à sua aplicação como antimalárico reside em sua falta de seletividade. A suramina apresenta múltiplos alvos moleculares, o que resulta em toxicidade sistêmica significativa como nefro toxicidade, dermatites, anemia, neuropatia periférica e toxicidade à medula óssea. Essa característica limita seu uso terapêutico direto contra *Plasmodium*, embora forneça uma base estrutural valiosa para o desenvolvimento de novos derivados com maior especificidade pela FP2 e menor risco de efeitos adversos (Wiedemar *et al.*, 2020)

Assim, a suramina representa um exemplo clássico de reposicionamento farmacológico, no qual uma molécula com perfil terapêutico conhecido é redirecionada para um novo alvo. Embora seus análogos apresentem potencial, sua otimização requer abordagens que priorizem seletividade, farmacocinética favorável e baixa toxicidade (Marques *et al.*, 2013)

2.6 Cumarina-pirazolina

As cumarinas são metabólitos naturais amplamente distribuídos em diversas espécies vegetais e tradicionalmente utilizadas como aromatizantes em cosméticos e produtos alimentícios. No entanto, além de sua função sensorial, diversas cumarinas demonstram propriedades farmacológicas relevantes, como atividade anti-inflamatória, anticoagulante, anti-hipertensiva, anticonvulsivante, antioxidante, antimicrobiana e neuroprotetora (Flores-Morales *et al.*, 2023).

No contexto do combate à malária, Himangini *et al.* (2018) exploraram a síntese de 15 derivados híbridos contendo as estruturas de cumarina e pirazolina, os quais foram avaliados *in vitro* contra cepas de *Plasmodium falciparum*, sensíveis e resistentes à cloroquina. Os compostos com melhor desempenho foram então selecionados para avaliação *in vivo* em modelo murino infectado por *P. berghei*. Entre eles, o Composto 12 apresentou atividade moderada, com IC₅₀ de 4,21 mg/mL, e foi capaz de conferir proteção completa aos animais tratados com 24 mg/kg por 4 dias.

A partir desses resultados, o Composto 12 foi submetido a ensaios de *docking* molecular com FP2. As simulações indicaram que sua ligação ocorre de forma semelhante à de inibidores epoxissuccinatos clássicos, com interação significativa no

sítio catalítico da enzima. Essa interação sugere um mecanismo competitivo ou semicompetitivo de inibição da FP2, sustentando sua utilidade como ponto de partida para o desenvolvimento de novos derivados com perfil antiparasitário otimizado.

Apesar de seu potencial, a classe cumarina-pirazolina ainda requer melhorias estruturais para alcançar potências comparáveis a outras classes mais desenvolvidas, como as vinil sulfonas ou as chalconas modificadas. Ainda assim, seus resultados positivos em modelos animais, aliados ao bom perfil de segurança e à base em produtos naturais, conferem relevância ao grupo como um candidato viável na busca por novos inibidores seletivos de FP2.

2.7 1,2,4-Trioxano

Os trioxanos, particularmente os derivados 1,2,4-trioxano, constituem uma classe de compostos amplamente reconhecida na farmacologia antimalárica devido ao seu papel como núcleo ativo da artemisinina, um dos principais agentes utilizados no tratamento da malária desde os anos 1970. Além de sua eficácia contra as formas assexuadas do parasita, os trioxanos têm demonstrado potencial adicional em aplicações anticâncer e antibacterianas (Kumar *et al.*, 2011).

Em um estudo recente, Ghosh *et al.* (2021) utilizaram abordagens computacionais para o planejamento racional de novos inibidores de falciparina-2 (FP2) com base no esqueleto 1,2,4-trioxano. Foram gerados e avaliados 15 derivados sintéticos, desenvolvidos por meio de modificações moleculares guiadas por ferramentas de planejamento assistido por computador (CADD). O estudo envolveu triagem por *docking* molecular utilizando o protocolo LibDock, seguido por análises de *drug-likeness*, predição de propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade (ADMET) e simulações de dinâmica molecular.

Dois compostos se destacaram por seus altos escores de *docking*, com valores de LibDock de 117,166 e 117,200, indicando elevada afinidade teórica com o sítio ativo de FP2. Ambos apresentaram perfis farmacocinéticos satisfatórios, com parâmetros favoráveis de solubilidade, permeabilidade e toxicidade predita, demonstrando conformidade com critérios de *drug-likeness*. As simulações de dinâmica molecular confirmaram a estabilidade dos complexos ligante-enzima ao longo do tempo, reforçando a viabilidade desses compostos como candidatos a inibidores seletivos.

Embora esses trioxanos ainda não tenham sido avaliados *in vitro* ou *in vivo*, os resultados computacionais sugerem que tais estruturas podem representar uma nova geração de inibidores de FP2, com potencial para combinar a eficácia das artemisininas com a seletividade molecular desejada para fármacos modernos. Esses dados reforçam a utilidade de abordagens *in silico* como ferramenta inicial na triagem e otimização de compostos bioativos.

2.8 Indol-carboxamida e derivado de quinolinil-oxamida

O uso de triagem virtual e docking molecular tem sido uma estratégia eficaz na identificação de novos inibidores da falcipaina-2 (FP2), especialmente entre compostos que apresentam potencial de ação multitarget, como os derivados de indol-carboxamida e quinolinil-oxamida. Em um estudo conduzido por Rana *et al.* (2020), 16 compostos candidatos foram selecionados a partir de triagens *in silico* e testados quanto à sua atividade inibitória frente às enzimas FP2 e FP3 de *Plasmodium falciparum*.

Dois compostos destacaram-se por sua atividade: o Composto 13, um derivado de indol-carboxamida, e o Composto 14, derivado de quinolinil-oxamida. O Composto 13 apresentou IC₅₀ de 12,16 µM para FP2 e 8,56 µM para FP3, com inibição enzimática de 51% e 62%, respectivamente, além de apresentar pontuação de *docking* (*Docking Score*) de -7,76 kcal/mol e -9,66 kcal/mol. O Composto 14, por sua vez, apresentou IC₅₀ de 14,71 µM (FP2) e 9,98 µM (FP3), com inibição de 53% e 61%, e *Docking Scores* de -9,03 kcal/mol e -7,07 kcal/mol. Esses resultados indicam que ambos os compostos possuem afinidade relevante por FP2 e FP3, reforçando seu potencial como inibidores duais.

Além da avaliação bioquímica, os compostos foram testados quanto à sua capacidade de interferir no desenvolvimento parasitário, por meio da observação morfológica e da contagem de formas anelares do *P. falciparum*. O Composto 14 foi capaz de inibir a formação de novos anéis por até 46 horas, efeito que foi revertido parcialmente após esse período, devido a incapacidade de manter concentração efetiva no vacúolo digestivo, possivelmente em razão de sua menor lipofilicidade e permeabilidade. Já o Composto 13 apresentou interrupção completa do

desenvolvimento parasitário por até 54 horas, indicando efeito mais duradouro e potente.

Esses compostos foram comparados a um inibidor clássico de cisteíno proteases e demonstraram efeitos semelhantes, com a vantagem adicional de atuarem sobre duas isoformas de falcipaina. Tais características tornam os derivados de indol e quinolinil promissores candidatos à otimização, especialmente em estratégias que visam inibidores *multitarget* com seletividade para enzimas parasitárias devido ao risco reduzido de resistência.

2.9 Tetraciclinas

As tetraciclinas são antibióticos de amplo espectro largamente utilizados no tratamento de infecções bacterianas, sendo caracterizadas por um perfil de ação bacteriostática que envolve a inibição da subunidade ribossomal 30S, bloqueando a síntese proteica em organismos procariontes (Shutter e Akhondi, 2023). Apesar de seu uso clássico como antimicrobianos, essas moléculas também têm sido avaliadas quanto ao seu potencial de inibição da falcipaina-2 (FP2), com foco em mecanismos alternativos de ação.

No estudo de Hernández González, J. E. *et al*, a metaciclina (Composto 15) foi testada como possível inibidor da FP2, apresentando um IC_{50} de 82,57 μ M e K_i de 137 μ M. A partir desse achado inicial, outros derivados comerciais de tetraciclina foram investigados, incluindo minociclina, doxiciclina, tetraciclina, clortetraciclina e oxitetraciclina (incluir na tabela). Todos demonstraram inibição da FP2 em concentrações submilimolares, com valores de IC_{50} variando entre 78,26 e 111,8 μ M, e K_i entre 121 e 190 μ M, indicando consistência na inibição de FP2 associada à estrutura plana e altamente funcionalizada das tetraciclinas, limitando sua interação com bolsos hidrofóbicos profundos da FP2.

As análises de ligação revelaram que as tetraciclinas atuam por mecanismo não competitivo, ligando-se a um sítio alostérico da FP2, diferente do sítio catalítico, essa interação foi confirmada por simulações de dinâmica molecular, que indicaram uma energia de ligação livre (ΔG_{bind}) de -5,7 kcal/mol para a metaciclina um valor considerado adequado, além de mudanças conformacionais na enzima que comprometem sua atividade catalítica.

A descoberta de um sítio alostérico funcional abre novas perspectivas para o desenvolvimento de inibidores de FP2 com mecanismos de ação diferenciados, o que pode contribuir para a superação de problemas relacionados à seletividade e toxicidade observados em inibidores que atuam diretamente no sítio ativo. Apesar da baixa potência observada nos derivados testados, a estrutura das tetraciclinas pode servir como modelo para o desenvolvimento de novos compostos com maior afinidade e seletividade, especialmente por meio da exploração racional do sítio alostérico identificado.

3. PERSPECTIVAS FUTURAS

Entre as classes químicas analisadas, duas se destacaram pelo alto potencial terapêutico: as vinil sulfonas e as chalconas modificadas. Representada pelo Composto 8, a classe das vinil sulfonas apresentou a mais baixa atividade inibitória ($IC_{50} = 0,003 \mu M$) contra *Plasmodium falciparum*, com seletividade para a FP2 e ausência de toxicidade em modelos murinos, mesmo após 28 dias de tratamento oral. Já o Composto 16, uma chalcona híbrida planejada por modelagem molecular, demonstrou um IC_{50} previsto de 13 nM frente à FP2 e apresenta vantagens estruturais, como potencial de ligação em regiões alostéricas da enzima, favorecendo seletividade em relação às catepsinas humanas.

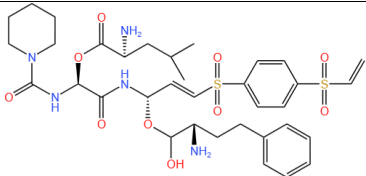
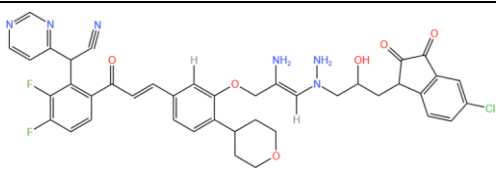
Ambos os compostos, embora potentes, violam critérios da Regra dos 5 de Lipinski, incluindo peso molecular elevado e número excessivo de aceptores de hidrogênio. Apesar disso, a eficácia in vivo (Composto 8) e os resultados robustos in silico (Composto 16) reforçam seu potencial como pontos de partida para otimizações químicas. Portanto, estratégias futuras devem focar na modificação racional dessas estruturas, visando aumentar a seletividade, reduzir a reatividade dos grupos funcionais e melhorar parâmetros farmacocinéticos.

Além da otimização dessas classes, recomenda-se o uso integrado de abordagens computacionais — como dinâmica molecular, predição de propriedades ADMET e triagem virtual — em sinergia com validações in vitro e in vivo, para acelerar o processo de desenvolvimento. A exploração de compostos multitarget,

que atuem sobre FP2 e outras cisteíno proteases, como FP3 e FP2', também pode contribuir para melhorar a eficácia terapêutica e mitigar a resistência.

Adicionalmente, considerando a predominância de *P. vivax* no Brasil, torna-se urgente a caracterização da FP2 dessa espécie, bem como o teste cruzado dos inibidores em diferentes variantes enzimáticas. Essas ações podem ampliar o espectro de aplicação dos compostos desenvolvidos e contribuir para a elaboração de terapias mais abrangentes e eficazes. Assim, as investigações futuras sobre inibidores de FP2 devem priorizar compostos com base experimental sólida, como os compostos 8 e 16, além de incorporar avaliações farmacológicas e toxicológicas completas que possibilitem sua transição do meio acadêmico para o contexto clínico.

Quadro 3– Propriedades físico-químicas preditas virtualmente via pkCSM e atividade biológica declarada dos compostos 8 e 16

Propriedades da molécula	Composto 8	Composto 16
Estrutura química		
Peso molecular	763,936	783,232
LogP	2,0668	5,50858
Ligações Rotacionáveis	18	14
Aceptores	12	12
Doadores	5	3
Área de superfície	304,793	325,528
IC ₅₀	0,003 µM	13 nM
Teste	<i>P.falciparum</i> <i>In vivo</i>	Enzimático

Fonte: Autor

4. CONCLUSÃO

Nesta monografia, foi analisado o potencial terapêutico da falcipaina-2 (FP2) como alvo farmacológico para o tratamento da malária, por meio da revisão crítica de 16 inibidores pertencentes a 9 classes químicas distintas. Os compostos selecionados incluíram moléculas sintéticas, derivados naturais e fármacos reposicionados.

Entre os destaques, observaram-se o Composto 8, uma vinil sulfona com IC_{50} de 0,003 μ M contra *P. falciparum*, e o Composto 16, uma chalcona modificada com IC_{50} previsto de 13 nM frente à FP2. Apesar de violações à Regra de Lipinski, os dois apresentaram perfis promissores em termos de potência e seletividade.

A análise geral indicou que a maioria dos inibidores permanece em estágios pré-clínicos, sem progressão significativa nos últimos anos, o que representa um contraste preocupante frente ao aumento da resistência aos antimaláricos convencionais. Dessa forma, a falcipaina-2 se mantém como um alvo validado e promissor, cujo bloqueio interfere diretamente na sobrevivência do parasita, justificando o investimento em novas estratégias de inibição.

5. REFERÊNCIAS

- AZIZ, H., *et al.* **Pyrazole Bearing Molecules As Bioactive Scaffolds: A Review.** Journal of the Chilean Chemical Society, v. 65, n. 1, p. 4746–4753, mar. 2020.
- BLUT, A., Untergruppe B.B.K. **Malaria.** Transfus Med Hemother. 2009;36(1):48-60. doi: 10.1159/000197327. PMID: 21048821; PMCID: PMC2928834.
- BOYOM, F. F., *et al.* **Falcipain 2 inhibitors and antiplasmodial compounds from a bio-guided fractionation of the fruits of *Sorindeia juglandifolia* A. Rich. (*Anacardiaceae*) growing in Cameroon.** Malaria journal, v. 9, n. S2, 20 out. 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Malária.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria> Acesso em 15 jun 2025.
- ETTARI, R., *et al.* **Falcipain-2 inhibitors.** Medicinal Research Reviews, v. 30, n. 1, p. 136–167, 12 jun. 2009.
- ETTARI, R., *et al.* **Novel Peptidomimetics Containing a Vinyl Ester Moiety as Highly Potent and Selective Falcipain-2 Inhibitors.** Journal of medicinal chemistry, v. 52, n. 7, p. 2157–2160, 18 mar. 2009.
- FIKADU, M.; ASHENAFI, E. **Malaria: An overview,** v. Volume 16, n. 16, p. 3339–3347, 1 maio 2023.
- FLORES-MORALES., *et al.* **Therapeutic Effects of Coumarins with Different Substitution Patterns.** Molecules, v. 28, n. 5, p. 2413–2413, 6 mar. 2023.
- FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (2013). **Glossário de Doenças, Malária.** Rio de Janeiro: Fiocruz. Disponível em https://agencia.fiocruz.br/malária_ Acesso em 15 jun 2025.
- GHOSH, S. *et al.* **Design, molecular docking, drug-likeness, and molecular dynamics studies of 1,2,4-trioxane derivatives as novel *Plasmodium falciparum* falcipain-2 (FP-2) inhibitors.** BioTechnologia, v. 102, n. 3, p. 257–275, 2021.
- HALEFOM, G.B, *et al.* **Synthesis, antileishmanial, antimalarial evaluation and molecular docking study of some hydrazine-coupled pyrazole derivatives.** BMC chemistry, v. 18, n. 1, 8 jan. 2024.
- HERNÁNDEZ G.J.E. *et al.* **Tetracycline Derivatives Inhibit Plasmodial Cysteine Protease Falcipain-2 through Binding to a Distal Allosteric Site.** Journal of Chemical Information and Modeling, v. 62, n. 1, p. 159–175, 28 dez. 2021.

HIMANGINI. *et al.* **Designing novel inhibitors against falcipain-2 of *Plasmodium falciparum***, Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 28, n. 1, p. 1566-1569, 2018.

IHME, **Global Burden of Disease (2024)** – with minor processing by Our World in Data. “Total number of deaths from malaria”. IHME, Global Burden of Disease, “Global Burden of Disease - Deaths and DALYs”

KOFFI. *et al.* **Virtual design of novel *Plasmodium falciparum* cysteine protease falcipain-2 hybrid lactone–chalcone and isatin–chalcone inhibitors probing the S2 active site pocket**. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, v. 34, n. 1, p. 547–561, 1 jan. 2019.

KUMAR, N.; *et al.* **Medicinal Chemistry Perspectives of Trioxanes and Tetraoxanes**. Current Medicinal Chemistry, v. 18, n. 25, p. 3889–3928, 1 set. 2011.

MACHIN, J. M.; *et al.* **The complex of *Plasmodium falciparum* falcipain-2 protease with an (E)-chalcone-based inhibitor highlights a novel, small, molecule-binding site**. Malaria Journal, v. 18, n. 1, p. 388, 2 dez. 2019.

MARQUES, A. F. *et al.* **Falcipain-2 inhibition by suramin and suramin analogues**. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 21, n. 13, p. 3667–3673, jul. 2013.

NTIE-KANG, *et al.* **The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants, part II: a pharmacological evaluation of non-alkaloids and non-terpenoids**. Malaria Journal, v. 13, n. 1, p. 81, 2014.

OFOKANSI, A.I.M.N, *et al.* **Evaluation of anti-malarial potency of new pyrazole-hydrazine coupled to Schiff base derivatives**. Malaria journal, v. 21, n. 1, 22 ago. 2022.

OLIVEIRA-FERREIRA, *et al.* **Malaria in Brazil: an overview**. Malaria Journal, v. 9, n. 1, p. 115, 2010.

PANDEY, V.; *et al.* **Falcipain-2: A review on structurally diverse non-peptide inhibitors**. International Journal of Biological Macromolecules, v. 309, p. 142817, maio 2025.

RACELINE G.K *et al.* **Compounds from *Sorindeia juglandifolia* (*Anacardiaceae*) exhibit potent anti-plasmodial activities *in vitro* and *in vivo***. Malaria Journal, v. 11, n. 1, 21 nov. 2012.

RANA, D. *et al.* **Identification of antimalarial leads with dual falcipain-2 and falcipain-3 inhibitory activity**. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 28, n. 1, p. 115155, jan. 2020.

ROSENTHAL, P. J. **Cysteine proteases of malaria parasites**. International Journal for Parasitology, v. 34, n. 13-14, p. 1489–1499, 1 dez. 2004.

ROSENTHAL, P. J. *et al.* **Antimalarial effects of vinyl sulfone cysteine proteinase inhibitors.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 40, n. 7, p. 1600–1603, jul. 1996.

SAI K.C *et al.* **Identification of novel class of falcipain-2 inhibitors as potential antimalarial agents.** Bioorganic & medicinal chemistry, v. 23, n. 9, p. 2221–2240, 1 maio 2015.

SALEHI, *et al.* **Pharmacological Properties of Chalcones: A Review of Preclinical Including Molecular Mechanisms and Clinical Evidence.** Frontiers in Pharmacology, v. 11, p. 592654, 18 jan. 2021.

SHERMAN, I. W. **Amino acid metabolism and protein synthesis in malarial parasites.** Bulletin of the World Health Organization, v. 55, n. 2-3, p. 265, 2025.

SHUTTER, M. C.; AKHONDI, H. **Tetracycline.** Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549905/>.

SUDBRACK, T. D. P. **Interação De Peptídeos Miméticos Da Alça Da Falcipaina-2 Co A Hemoglobina.** repositorio.unifesp.br, 10 mar. 2017.

TONG, J.; *et al.* **A bioactive sprite: Recent advances in the application of vinyl sulfones in drug design and organic synthesis.** Life Sciences, p. 122904–122904, 1 jul. 2024.

WIEDEMAR, N.; *et al.* **100 Years of Suramin.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 64, n. 3, 21 fev. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Malaria.** Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>. Acesso em 15 jun 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2023.** Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240086173>. Acesso em 15 jun 2025.