

Inibição das cisteínas proteases como alvos de candidatos a antimaláricos: Uma revisão narrativa

Inhibition of cysteine proteases as targets of antimalarial candidates: A narrative review

Cinthia Rodrigues Melo¹, Claudio Gabriel Lima-Júnior², Abrahão Alves de Oliveira Filho¹, Valter Ferreira de Andrade-Neto⁴, Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz¹

¹Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. E-mail: cinthia.rmmelo@gmail.com

²Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. E-mail: claudio@quimica.ufpb.br

³Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil. E-mail: abrahao.farm@gmail.com

⁴Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. E-mail: vfan.aneto@gmail.com

⁵Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. E-mail: margarethdiniz.ufpb@gmail.com

Resumo - A malária é uma doença parasitária com grande prevalência no mundo. Em 2021 acometeu 247 milhões de pessoas e provocou 619.000 mortes. Sua transmissão ocorre através da picada do mosquito fêmea do gênero *Anopheles* infectada pelo *Plasmodium*. Das espécies que infectam o ser humano, o *Plasmodium falciparum* é o mais letal. Um dos principais fatores que tem dificultado o controle da malária, é o grande número de parasitos que apresentam resistência aos antimaláricos usuais, incluindo a artemisinina e derivados. Portanto, é necessário a descoberta de novos medicamentos que tenham maior eficácia, e com ação em alvos que interfiram apenas no parasito. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo, discorrer sobre uma nova perspectiva de abordagem terapêutica para o tratamento da malária, com alvo específico no *P.falciparum*. Dessa forma, foram analisados trabalhos científicos publicados em bases de dados como: PubMed, Scielo e Google acadêmico. Após análise dos dados encontrados na literatura, observou-se que as falcipainas (cisteínas proteases) são de grande importância para manutenção do ciclo de vida do *P. falciparum*, principalmente as falcipainas 2 e 3. Estas enzimas atuam na invasão aos eritrócitos, degradação da hemoglobina, e no desenvolvimento proteolítico do parasito. Portanto a inibição destas enzimas são um bom alvo terapêutico. Também, identificamos que substâncias que apresentam aceptores de Michael em sua estrutura (como é o caso de alguns adutos de Morita Baylis Hillman), são capazes de inibir as cisteínas proteases, sendo assim bons candidatos a antimaláricos.

Palavras-chaves: Malária. *P. falciparum*. resistência. falcipainas. aceptores de Michael

Abstract - Malaria is a parasitic disease that is highly prevalent throughout the world. In 2021, it affected 247 million people and caused 619,000 deaths. Its transmission occurs through the bite of a female *Anopheles* mosquito infected by *Plasmodium*. Of the species that infect humans, *Plasmodium falciparum* is the most lethal. One of the main factors that has hampered the control of malaria is the large number of parasites that are resistant to the usual antimalarials, including artemisinin and derivatives. Therefore, it is necessary to discover new drugs that are more effective, and that act on targets that only interfere with the parasite. Given this, the present work aimed to discuss a new perspective of therapeutic approach to the treatment of malaria, with a specific target on *P.falciparum*. In this way, scientific works published in databases such as: PubMed, Scielo and Google Scholar were analyzed. After analyzing the data found in the literature, it was observed that falcipains (cysteine proteases) are of great importance for maintaining the life cycle of *P. falciparum*, especially falcipains 2 and 3. These enzymes act in the invasion of erythrocytes, degradation of hemoglobin, and in the proteolytic development of the parasite. Therefore, the inhibition of these enzymes is a good therapeutic target. We also identified that substances that have Michael acceptors in their structure (as is the case of some Morita Baylis Hillman adducts) are capable of inhibiting cysteine proteases, thus being good candidates for antimalarials.

Keywords: Malaria. *P. falciparum*. resistance. falcipains. Michael acceptors

1 INTRODUÇÃO

Em 2021, aproximadamente 247 milhões de pessoas foram acometidas pela malária, e 619.000 foram a óbito (World Health Organization, 2022). Esta doença é transmitida ao homem através da picada do mosquito fêmea *Anopheles*, quando infectado por espécies do gênero *Plasmodium* que causam a malária humana (Talapko *et al.*, 2019). Entre 2019 e 2021 devido a pandemia de COVID-19, ocorreram interrupções nos serviços essenciais de malária, o que favoreceu ao não

tratamento da doença de forma adequada, e consequentemente acarretou uma grande quantidade de mortes (World Health Organization, 2022).

Os sintomas da malária são diversificados, podendo o paciente apresentar: febre, dores de cabeça, dores nas articulações, vômitos, calafrios, e outros. Inicialmente o paciente infectado pode apresentar sintomas que simulem uma gripe mais forte, gerando muitas vezes um diagnóstico tardio. Porém, os sintomas podem agravar, levando a anemia grave, dificuldade respiratória, acidose

metabólica, edema pulmonar, e se não tratada pode levar a morte (Cock *et al.*, 2019).

As espécies capazes de infectar o homem são: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale wallikeri*, *Plasmodium ovale curtisi*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium knowlesi*. Estas espécies passam por diferentes estados morfológicos, e são capazes de se replicarem em até mais que 10.000 células (Milner, 2018). Destas espécies, as infecções pelo *Plasmodium falciparum* são as mais comuns e de maior gravidade em humanos (Cock, 2019; Singh *et al.*, 2007). Devido a alta taxa de replicação do *P. falciparum*, e sua capacidade em invadir os eritrócitos e degradar a hemoglobina, os pacientes infectados podem vir a ter uma anemia grave, e até mesmo ir a óbito (Rosenthal, 2020).

A ação de invadir eritrócitos tem a participação de diferentes enzimas, entre elas as falcipainas, que são muito importantes para a sobrevivência do *P. falciparum* (Rosenthal, 2020). As falcipainas são cisteínas proteases, classificadas em: falcipaina-1 (FP-1), falcipaina-2', falcipaina-2 (FP-2) e falcipaina-3 (FP-3), sendo as duas últimas alvos potenciais para candidatos a antimaláricos contra o *Plasmodium falciparum* (Singh *et al.*, 2007).

Existem diferentes medicamentos antimaláricos, como: cloroquina, amodiaquina, mefloquina, proguanil, pirimetamina, artemisinina, dihidroartemisinina, artesunato e outros. (Kumar *et al.*, 2018). Entretanto, a principal problemática no combate a malária se deve a resistência dos parasitos aos antimaláricos disponíveis, havendo assim uma necessidade urgente no desenvolvimento de novos medicamentos para combater esta doença (Hopp *et al.*, 2017).

Portanto, o presente trabalho traz uma nova perspectiva de abordagem terapêutica para o tratamento da malária, através de substâncias químicas que apresentem em sua estrutura aceptores de Michael, atuando através da inibição de cisteínas-proteases, que são essenciais para o ciclo de vida do parasito.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão narrativa da literatura, realizada com estudos dos anos de 2016 a 2023, utilizando as seguintes bases de dados: PubMed, Scielo, e Google acadêmico. Para a seleção dos artigos, foram utilizados as seguintes descritores em português e em inglês: “malária”, “falcipainas”, “acceptores de Michael”, “adutos de morita Baylis Hillman” “cisteína-protease” e “antimaláricos”. Após a leitura do título e resumo do artigo, aqueles que abordavam o tema proposto, foi realizado a leitura completa, e as informações analisadas e descritas no presente trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Infecção e ciclo da malária no ser humano

A transmissão da malária se dá através da picada do mosquito fêmea do gênero *Anopheles* quando infectado pelo *Plasmodium*. O ciclo da malária no homem, ocorre após o mosquito picar o ser humano, no qual é injetado o *Plasmodium* na forma de esporozoítos, e ao atingir a corrente sanguínea migram para o fígado. Nos hepatócitos

se replicam em merozoítos, sendo posteriormente liberados na corrente sanguínea, e invadindo os eritrócitos (ciclo eritrocítico). Nas hemácias, o parasito passa pelos estágios de anel, trofozoíto e esquizonte, e então novos merozoítos reinvadem novos eritrócitos (Meibalan, Marti 2017).

No estágio de trofozoíto, a hemoglobina é captada pelo parasito através de um citóstomo, e entregue no vacúolo alimentar (lisossomo especializado) onde sofre digestão por várias enzimas, entre elas as falcipainas (no caso de infecção por *P. falciparum*) (Edgar *et al.*, 2022).

Parte dos parasitos em estágio sanguíneo se desenvolvem em gametócitos, estes atingem a derme, e acabam sendo capturados por outro mosquito *Anopheles*. No intestino do mosquito inicia um outro ciclo, em que ocorre a fertilização e a esporogonia, originando novos esporozoítos que migram para as glândulas salivares do mosquito, e assim recomeça todo ciclo (Meibalan, Marti 2017).

Cisteínas proteases: falcipainas

Pertencendo à família das papaínas, as falcipainas são cisteínas proteases que estão presentes no *Plasmodium falciparum* e são expressas em quatro tipos: falcipaina-1 (FP-1), falcipaina-2', falcipaina-2 (FP-2) e falcipaina-3 (FP-3) (Rosenthal, 2020).

As falcipainas apresentam uma grande importância para manutenção do ciclo de vida do *P. falciparum*, tendo em vista que estas enzimas participam do processo de invasão aos eritrócitos, degradação da hemoglobina, e no seu desenvolvimento proteolítico de forma geral. Desta maneira, se apresentam como um alvo terapêutico significativo, e é por isso que diversos estudos têm sido realizados para buscar inibidores dessas enzimas (Rojas, 2019; Rosenthal, 2020). Ao inibir as falcipainas, ocorre bloqueio da degradação da hemoglobina, o que impede o fornecimento de aminoácidos para a síntese de proteínas no parasito (Ettari *et al.*, 2021).

Apesar de ser expressa em parasitos, estudos mostram que a FP-1 parece não ser imprescindível para o seu desenvolvimento intraeritrocítico, ou para a invasão em novos eritrócitos. Já as FP-2 e FP-3 tem grande importância durante o ciclo do parasito, no qual a inibição destas enzimas leva ao bloqueio da hidrólise da hemoglobina, assim como também interrompe o ciclo de vida do parasito (Rosenthal, 2020).

A FP-2 e FP-3 são bioquimicamente semelhantes, e parecem ser as principais papaínas nos parasitos eritrocíticos. Ambas são expressas por trofozoítos, sendo a FP-2 expressa principalmente nos trofozoítos iniciais e a FP-3 nos trofozoítos maduros e esquizontes. Parecem estar localizadas no vacúolo alimentar, local de hidrólise da hemoglobina (Rosenthal, 2020). Pelo fato da similaridade, compartilhando cerca de 68% de homologia, algumas substâncias acabam inibindo duplamente essas enzimas (Rana *et al.*, 2020).

As regiões de interação entre a FP-2 e a hemoglobina são os aminoácidos: glutamina-185 e valina-187 na região C-terminal. Já na Fp-3 o resíduo asparagina-194 é necessário para a hidrólise da hemoglobina. Estas regiões são importantes alvos de inibição mediada por drogas (Pasupureddy *et al.*, 2019).

Ambas se apresentam como bons alvos para antimaláricos, porém a inibição da FP-3 se mostra melhor, já que estudos revelam que ao bloquear o gene da FP-2, o parasito tende a se recuperar, possivelmente por expressar a FP-3. Logo, o bloqueio da FP-3 se torna mais efetivo, sendo esta uma enzima essencial para o parasito (Rosenthal, 2020).

O estudo das falcipainas como alvos terapêuticos são pertinentes por terem um papel essencial na patogênese da malária. O fato de terem estruturas cristalinas disponíveis, facilita o desenvolvimento de novas drogas, e por conter bolsos catalíticos (Patra *et al.*, 2023).

Antimaláricos e resistência parasitária

A quimioprofilaxia e o tratamento para o combate à malária são determinados de acordo com a espécie do *Plasmodium*, e o estágio do ciclo em que as substâncias irão atuar, podendo ser: esquizotocidas sanguíneas (agindo no estágio eritrocítico assexuado do parasito), esquizotocidas teciduais (o alvo são os hipnozoítos), gametocitocidas (ação no estágio eritrocítico sexual do parasito) e esporontocidas (inibem a formação de oocistos), sendo o primeiro o principal alvo da maioria dos antimaláricos (Shibeshi *et al.*, 2020).

Atualmente os medicamentos antimaláricos são categorizados em três tipos: compostos aril-amino-álcool (quinina, quinidina, halofantrina, lumafantrina, cloroquina, amodiaquina, mefloquina, etc); antifolatos (proguanil, pirimetamina, trimetoprim, etc) e lactonas sesquiterpênicas (artemisinina, dihidroartemisinina, artesunato, arteméter, etc) (Kumar *et al.*, 2018). Para a malária grave, o artesunato intravenoso é a terapia de primeira linha (Daily, 2022).

Os compostos quinolínicos como a cloroquina, afetam a polimerização da hemozoína, formando assim um complexo tóxico ao protozoário. A cloroquina é um dos medicamentos mais antigos utilizados, porém tem apresentado resistência pelas espécies de *Plasmodium*, e vem sendo substituída pelos derivados de artemisininas. O mecanismo de resistência se dá por mutações nos transportadores PfCRT (*Plasmodium falciparum* Chloroquine Resistance Transporter) resultando em um aumento do efluxo de cloroquina do vacúolo digestivo. Assim como também para a mefloquina, no qual o mecanismo de resistência também se dá por mutações no transportador PfMDR1 (*Plasmodium falciparum* Multidrug Resistance 1), assim como um aumento da expressão das hemoglobinas plasmepsina 2 e 3 (PM2/PM3, no vacúolo digestivo) (Kumar *et al.*, 2018; Shibeshi *et al.*, 2020).

Os antifolatos agem bloqueando as enzimas Dihidrofolato Redutase (DHFR) e Dihidropteroato Sintetase (DHPS) do parasito, interferindo na formação das bases purina e pirimidina e síntese do ácido fólico respectivamente, o que impede a replicação do parasito. O mecanismo de resistência se dá por mutações nos genes de tais enzimas (Shibeshi *et al.*, 2020).

Apesar da sua alta eficiência, os parasitos apresentam mecanismos de resistência aos derivados de artemisinina. Estudos apontam sobre polimorfismos no domínio hélice do gene kelch-13 (k13) de *P. falciparum*, que podem ser usados como marcadores moleculares para

o monitoramento do surgimento e propagação da resistência nesses antimaláricos (Paloque *et al.*, 2022).

O uso de medicamentos antimaláricos e de inseticidas para os vetores, são formas de controlar a propagação da doença. Porém a resistência do parasito a estes medicamentos requer que mais produtos sejam desenvolvidos, sendo uma das limitações para o controle da malária (Mbanefo, Kumar, 2020).

Os fatores que facilitam a resistência aos antimaláricos, podem ser diversas, desde a baixa adesão do paciente ao tratamento como a baixa eficiência do produto, o que promove mutações genéticas do parasito (Shibeshi *et al.*, 2020).

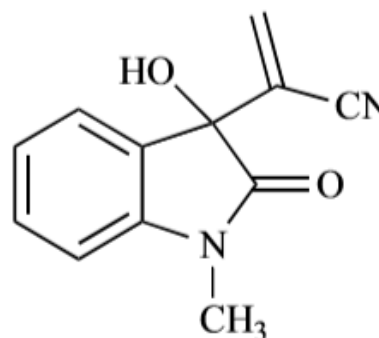
Aceptores de Michael como inibidores de Proteases

Os aceptores de Michael, consistem em eletrófilos, frequentemente estudados em síntese orgânica tem a capacidade de conjugar-se com grupos nucleofílicos (Mayer, Ofial 2019). Moléculas que apresentam aceptores de Michael têm-se mostrado potenciais inibidores de cisteína proteases (Previti *et al.*, 2017).

Aceptores de Michael como vinil sulfonas são inibidores covalentes de FP-2 que inibem irreversivelmente a protease, se comportando como um eletrófilo. A inibição irreversível de uma protease parasitária é o ideal, enquanto uma reação reversível com ligação flexível é ideal no caso de alvos humanos (Ettari *et al.*, 2021; Patra *et al.*, 2023).

Vários compostos ditos Adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH), vem apresentando diferentes atividades farmacológicas, como antiparasitárias e antitumoral (Brito *et al.*, 2020; Faheina-Martins *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017;). Dentre os adutos produzidos, o composto 2-(3-hidroxi-1-metil-2-oxoindolin-3-il) acrilonitrila, também chamado de CH₃ISACN (Figura 1), é um aduto de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) no qual possui um aceptor de Michael (porção acrilonitrila) e que vem sendo estudado farmacologicamente (Lima-Junior *et al.*, 2016, Brito *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2021).

Figura 1. Estrutura da 2- (3-hidroxi-1-metil-2-oxoindolin-3-il) acrilonitrila



Legenda: círculo vermelho destacando a porção acrilonitrila

Fonte: Adaptada de Lima-Junior *et al.*, 2016.

4 CONCLUSÃO

Após a análise dos estudos publicados na literatura, pode-se concluir que as cisteínas proteases falcipaina-2 e

falcipaina-3, são bons alvos para candidatos a antimaláricos. Tendo em vista que sua inibição acarreta na interrupção do ciclo de vida do parasito. Sendo assim um novo alvo terapêutico, o que é de grande importância, tendo em vista que os parasitos estão resistentes aos medicamentos disponíveis hoje. Sendo esta uma nova rota de bloqueio do ciclo do parasita.

Além disso, tem-se que os compostos que apresentam aceptores de Michael são potentes candidatos como antimaláricos, já que estes podem inibir as falcipainas. Os adutos de Morita-Baylis-Hillman, como a substância CH₃ISACN, apresenta-se como um possível candidato, tendo em vista possuir a porção acrilonitrila, que se apresenta como um aceptor de Michael. Assim, é importante a análise de novas substâncias com potenciais antimaláricos, tendo ação em novos alvos que os parasitos ainda não tenham adquirido resistência, combatendo assim esta doença que acomete leva a óbito tantas pessoas.

REFERÊNCIAS

- BRITO, V.B.M.; SANTOS, G. F.; SILVA, T. D, *et al.* Synthesis, anti-proliferative activity, theoretical and ¹H NMR experimental studies of Morita-Baylis-Hillman adducts from isatin derivatives. **Molecular Diversity**, v. 24, p. 265-281, 2020. 10.1007/s11030-019-09950-7
- COCK, I. E.; SELESHO, M. I.; VAN VUUREN, S. F. A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of malaria. **Journal of ethnopharmacology**, v. 245, p. 112176, 2019. 10.1016/j.jep.2019.112176.
- DAILY, J.P.; MINUTI, A.; KHAN, N. Diagnosis, treatment, and prevention of malaria in the US: a review. **JAMA**, v. 328, n. 5, p. 460-471, 2022. 10.1001/jama.2022.12366.
- EDGAR, R. C. S.; COUNIHAN, N. A., MCGOWAN, S, *et al.* Methods used to investigate the *Plasmodium falciparum* digestive vacuole. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 1434, 2022. 10.3389/fcimb.2021.829823.
- ETTARI, R.; PREVITI, S.; DI CHIO, C.; ZAPPALÀ, M. Falcipain-2 and Falcipain-3 inhibitors as promising antimalarial agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 15, p. 3010-3031, 2021. 10.2174/0929867327666200730215316.
- FAHEINA-MARTINS, G. V.; LEITE, J. A.; DANTAS, B.B. *et al.* Morita-Baylis-Hillman Adducts Display Anti-Inflammatory Effects by Modulating Inflammatory Mediator Expression in RAW264. 7 Cells. **Mediators of inflammation**, v. 2017, 2017. 10.1155/2017/6898505.
- HOPP, C.S.; BENNETT, B. L.; MISHRA, S, *et al.* Deletion of the rodent malaria ortholog for falcipain-1 highlights differences between hepatic and blood stage merozoites. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 9, p. 1-31, 2017. 10.1371/journal.ppat.1006586.
- KUMAR, S.; BHARDWAJ, T R.; PRASAD, D N.; SINGH, R. K. Drug targets for resistant malaria: historic to future perspectives. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 104, p. 8-27, 2018. 10.1016/j.biopha.2018.05.009.
- LIMA-JUNIOR, C. G.; FAHEINA-MARTINS, G. V.; BOMFIM, C. C. B, *et al.* Synthesis, Cytotoxic Activity on Leukemia Cell Lines and Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) Studies of Morita-Baylis-Hillman Adducts. **Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 7, p.602-612, 2016. 10.2174/1573406412666160506150924.
- MAYER, R. J.; OFIAL, A. R. Nucleophilicity of glutathione: a link to Michael acceptor reactivities. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 58, n. 49, p. 17704-17708, 2019. 10.1002/anie.201909803.
- MBANEFO, A.; KUMAR, N. Evaluation of malaria diagnostic methods as a key for successful control and elimination programs. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 2, p. 102, 2020. 10.3390/tropicalmed5020102.
- MEIBALAN, E.; MARTI, M. Biology of malaria transmission. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 7, n. 3, p. a025452, 2017. 10.1101/cshperspect.a025452.
- MILNER, D.A. Malaria pathogenesis. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2018. 10.1101/cshperspect.a025569.
- PALOQUE, L.; COPPÉE, R.; STOKES, B. H, *et al.* Mutation in the Plasmodium falciparum BTB/POZ domain of K13 protein confers artemisinin resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 66, n. 1, p. e01320-21, 2022. 10.1128/AAC.01320-21.
- PASUPUREDDY, R., VERMA, S.; PANT, A., *et al.* Crucial residues in falcipains that mediate hemoglobin hydrolysis. **Experimental parasitology**, v. 197, p. 43-50, 2019. 10.1016/j.exppara.2019.01.005 .
- PATRA, J.; RANA, D.; ARORA, S.; PAL, M, *et al.* Falcipains: Biochemistry, target validation and structure-activity relationship studies of inhibitors as antimalarials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 252, p. 115299, 2023. 10.1016/j.ejmech.2023.115299.
- PREVITI, S.; ETTARI, R.; COSCONATI, S, *et al.* Development of Novel Peptide-Based Michael Acceptors TargetingRhodesain and Falcipain-2 for the Treatment of Neglected TropicalDiseases (NTDs). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 16, p. 6911-6923, 2017. 10.1021/acs.jmedchem.7b00405.
- SANTOS, G.F.; MILITÃO, G. C.; SILVA, T. D. *et al.* Atividade antiproliferativa, análise QSAR preliminar e estudos in silico ADME de adutos de Morita-Baylis-Hillman de derivados de isatina em quatro linhagens de células de cancer. **Rev. Virtual Quim.** 2021. 10.21577/1984-6835.20220075.

RANA, D.; KALAMUDDIN, M., SUNDRIYAL, S., *et al.* Identification of antimalarial leads with dual falcipain-2 and falcipain-3 inhibitory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 1, p. 115155, 2020. 10.1016/j.bmc.2019.115155.

ROJAS, L; CABRERA-MUÑOZ, A; ALONSO-DEL-RIVERO, M. Proteasas: enzimas claves en la fase esquizogónica del ciclo de vida de *Plasmodium falciparum*. **Cuban Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 2, 2019.

ROSENTHAL, P.J. Falcipain cysteine proteases of malaria parasites: An update. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1868, n. 3, p. 140362, 2020. 10.1016/j.bbapap.2020.140362.

SINGH, A.; WALKER, K. J.; SIJWALI, P. S.; LAU, A. L.; ROSENTHAL, P. J. A chimeric cysteine protease of *Plasmodium berghei* engineered to resemble the *Plasmodium falciparum* protease falcipain-2. **Protein Engineering Design & Selection**, v. 20, n. 4, p. 171-177, 2007. 10.1093/protein/gzm009.

SHIBESHI, M.A.; KIFLE, Z.D.; ATNAFIE, S.A. Antimalarial drug resistance and novel targets for antimalarial drug discovery. **Infection and Drug Resistance**, p. 4047-4060, 2020. 10.2147/IDR.S279433.

TALAPKO, J.; SKRLEC, I.; ALEBIC, T.; JUKIC, M.; VCEV, A. Malaria: the past and the present. **Microorganisms**, v. 7, n. 6, p. 179, 2019. 10.3390/microorganisms7060179.

WANG, X.; WANG, X.; HAN, Z, *et al.* Palladium-Catalyzed Asymmetric Allylic Allylation of Racemic Morita–Baylis–Hillman Adducts. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 56, n. 4, p. 1116-1119, 2017. 10.1002/anie.201609332.

WHO, World Health Organization. World malaria report 2022. Geneva: World Health Organization. 2022.