

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

## **Doença de Chagas: análise e perspectivas futuras**

**Aline Intaschi Monteiro**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da  
Universidade de São Paulo.

Orientador(a):

Prof.(a). Dr(a) Cristina Northfleet de  
Albuquerque

São Paulo

2019



## **SUMÁRIO**

Lista de Abreviaturas	1
Lista de Imagens	2
Lista de Tabelas	3
RESUMO	4
1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS	7
3.1. Estratégias de Pesquisa	8
3.2. Critérios de inclusão	8
3.3. Critérios de exclusão	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5. CONCLUSÃO	28
6. BIBLIOGRAFIA	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

APL	Análogo de Fosfolipídeo
BZ	Benznidazol
CZ	Cruzipaína
DC	Doença de Chagas
DN	Doença negligenciada
DNDI	Drugs for Neglected Diseases initiative
ECG	Eletrocardiograma
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
MGZ	Megazol
NADH	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina Reduzido
NF	Nifuroxazida
NFX	Nifurtimox
NTR	Enzimas Nitro-redutase
OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PIB	Produto Interno Bruto
POSA	Posaconazol
RAVU	Ravuconazol
SB	Sulfoximina Butionina
TR	Tripanotiona Redutase

## LISTA DE IMAGENS

Figura 1. Doenças negligenciadas de maior incidência no Brasil	10
Figura 2. Distribuição global da doença de Chagas, 2006 - 2010	11
Figura 3. Projetos de P & D de drogas em andamento sobre a doença de Chagas.	13
Figura 4. Representação esquemática do modo de ação dos principais fármacos com atividade tripanocida	14
Figura 5. Estutura do megazol	15
Figura 6. Estrutura do N-((5-nitrofuran-2-il)metileno) bifenil-4-carbo-hidrazida (C20)	16
Figura 7. Estrutura do benznidazol	17
Figura 8. Estrutura do nifurtimox	17
Figura 9. Estrutura do posaconazol	18
Figura 10. Estrutura do ravuconazol	20
Figura 11. Estrutura do itraconazol	21
Figura 12. Estrutura do fexnidazol	21
Figura 13. Estrutura da tioridazina	22
Figura 14. Estrutura da sulfoximina butionina	23
Figura 15. Estrutura do K-777	23
Figura 16. Estrutura da edelfosina e miltefosina, respectivamente.	25
Figura 17. Estrutura do TAK-128	25

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Situação atual dos medicamentos usados no tratamento da doença 19  
de Chagas

## RESUMO

MONTEIRO, A.M. **Doença de Chagas: análise e perspectivas futuras.** 2019. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Palavras-chave: doença de Chagas, tratamento, doença negligenciada, desigualdade, medicamentos.

**INTRODUÇÃO:** Com o avanço da indústria farmacêutica, os pacientes têm acesso a novos medicamentos que são mais bem tolerados, específicos e eficazes do que os antigos. Nos países pobres, no entanto, milhões de pessoas ainda esperam para experimentar os benefícios da ciência. Algumas doenças, chamadas de doenças negligenciadas (DN) ainda não conseguiram despertar o interesse dos desenvolvedores de medicamentos. Durante 1975–2004, apenas 21 de 1556 fármacos aprovadas foram especificamente desenvolvidas para lidar com DNs. No entanto, a paisagem mudou drasticamente nos últimos 5 anos, pois o surgimento de parcerias privadas e públicas de desenvolvimento estão preenchendo as lacunas existentes na pesquisa e desenvolvimento, criando pontes entre as várias partes interessadas. Com relação à doença de Chagas, foco deste trabalho, é sabido que existem apenas dois fármacos para o tratamento e ambos atuam apenas na fase aguda da doença, sendo eles o benznidazol e nifurtimox (este possui seu uso descontinuado pela alta toxicidade). Diante disso, a busca por alternativas farmacoterapêuticas para o tratamento desta doença é de grande importância. **OBJETIVO:** O objetivo deste trabalho de conclusão de curso é destacar estas doenças e sua importância, além de discutir novas perspectivas de tratamento para a doença de Chagas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** É um estudo do tipo bibliográfico e retrospectivo, em que foram utilizados bancos de dados virtuais como Scielo, NCBI-PubMed e MEDLINE. Foi realizada a leitura exploratória das publicações apresentadas nas referências e as ideias principais compuseram o estudo. **RESULTADOS:** Após apresentar uma noção geral da doença de Chagas e sua epidemiologia, foi descrito o cenário atual dos pacientes portadores e de pessoas suscetíveis a adquirir a doença, bem como, os tratamentos em

estudo/desenvolvimento no mercado farmacêutico atual. CONCLUSÃO: A conscientização da importância do papel da inovação tecnológica no contexto da capacidade em responder às demandas da saúde das populações vem crescendo com o passar dos anos. O desenvolvimento de novos medicamentos requer a interação das disciplinas de biologia molecular e celular, química, bioquímica, farmacologia e toxicologia. Um medicamento ideal ainda não existe e possivelmente passará um longo tempo até ser obtido. O conjunto destes estudos enfatiza a importância do reposicionamento de medicamentos e do tratamento combinado visando terapias alternativas para esta patologia negligenciada e silenciosa.

## 1. INTRODUÇÃO

Doenças negligenciadas são aquelas que afetam populações que sofrem com a desigualdade social e pobreza. Sua prevalência é mais observada em países subdesenvolvidos, porém os desenvolvidos não estão eximidos de sua ocorrência. As doenças tropicais negligenciadas afetam mais de 1 bilhão de pessoas e são frequentemente agrupados geograficamente, sendo que os indivíduos são frequentemente afetados por mais de um parasita ou infecção. Mais de 70% dos países e territórios que relatam a presença de doenças tropicais negligenciadas são economias de baixa renda ou de renda média baixa, que vivem em áreas rurais remotas, favelas urbanas ou zonas de conflito (CAMARGO, EP, 2008). Elas incluem dengue, raiva, tracoma, úlcera de Buruli, treponematoses endêmicas, lepra (hanseníase), doença de Chagas, tripanossomíase humana Africana (doença do sono), leishmaniose, cisticercose, filariose linfática, oncocercose (cegueira dos rios), esquistossomose, helmintíases transmitidas pelo solo (vermes intestinais), dentre outras.

A doença de Chagas, foco deste trabalho, foi descrita pela primeira vez pelo Dr. Carlos Chagas em 1909. Estima-se que a doença afeta 8 a 10 milhões de indivíduos na América Latina, região endêmica da doença. Além disso, afeta países europeus como Austrália, Japão e Estados Unidos devido ao aumento da imigração oriunda de países endêmicos. Estima-se que surjam 55.000 novos casos a cada ano, com alta taxa de mortalidade anual estimada em 12.000 pessoas (DNDi, 2014).

A doença é transmitida pelas fezes contaminadas com o parasita *Trypanosoma cruzi*, do inseto triatomíneo conhecido como “barbeiro”, que ao picar o humano suga o sangue e defeca; o prurido no local faz com que o homem coce e espalhe as fezes contaminadas para a ferida da picada por onde entra o parasita, (CDC, 2013). Outras formas de contaminação ocorrem, entre elas destacam-se a ingestão de alimentos contaminados com o protozoário, transfusões de sangue contaminado, no momento do parto - da mãe para o filho -, e através de transplante de órgãos (WHO, 2014).

A biologia da doença de Chagas divide-se em duas fases: a aguda, que dura aproximadamente 2 meses (WHO, 2014), e a crônica, que começa quando os parasitas se proliferam no músculo digestivo e cardíaco (JACKSON, *et al.* 2009).

A DC é uma enfermidade considerada como super negligenciada, atingindo, principalmente, populações carentes de países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento e é assim considerada por receber pouco investimento em pesquisa da indústria farmacêutica, visto que não há retorno financeiro que justifique o investimento (LIESE, ROSENBERG, SCHRATZ, 2010).

Existem, atualmente, apenas dois fármacos para o tratamento da doença de Chagas. Eles, porém, atuam apenas na fase aguda da doença e podem propiciar 100% de cura, mas apresentam graves efeitos adversos, que aumentam o abandono do tratamento (WHO, 2014). Eles são o nifurtimox, 4-(5-nitrofurfurilideno)-amino-1,1-dióxido-3-metiltiomorfolina, que tem o uso proibido no Brasil devido seu alto grau de toxicidade (SOARES SOBRINHO *et al.*, 2007); e o benznidazol, *N*-benzil-2-nitro-1-imidazolacetamida, que é o fármaco utilizado no Brasil para o tratamento da doença.

Visto que não há vacinas para a doença, a melhor maneira de combatê-la é através de métodos de prevenção, que inclui o controle do vetor por meio de telas, inseticidas e melhoria na qualidade das moradias, o que evita a criação de focos de reprodução do barbeiro, além do controle de transfusão sanguínea, transplantes, e adoção de hábitos de higiene alimentar (WHO, 2014).

## **2. OBJETIVO(S)**

O objetivo deste trabalho de conclusão de curso é informar sobre as doenças negligenciadas e destacar sua importância, com maior enfoque na doença de Chagas e discutir novas perspectivas de tratamento.

## **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

Este estudo é do tipo bibliográfico e retrospectivo. Foram utilizados os descritores: doenças negligenciadas, doença de chagas, megazol, benznidazol, pozaconazol e políticas públicas em saúde.

Após a coleta dos artigos relacionados ao temas, o passo seguinte foi uma leitura exploratória das publicações apresentadas nas referências, e após leitura interpretativa e seletiva, os artigos que tinham apontamento para o problema da pesquisa foram selecionados ressalvando as ideias principais, e os dados mais importantes para a composição do estudo.

### **3.1. Estratégias de pesquisa**

A escolha do tema ocorreu após minha iniciação científica na área de pesquisa e desenvolvimento de fármacos anti-chagásicos e de pesquisas mais aprofundadas sobre o tema. O foco passou a ser em moléculas disponíveis ou em desenvolvimento para o tratamento da doença de Chagas durante os últimos 30 anos. Além disso, a discrepância de investimento para pesquisa e desenvolvimento de fármacos para doenças negligenciadas também se tornou foco da pesquisa.

A pesquisa de revisão da literatura científica baseou-se nos bancos de dados virtuais: *Scientific Electronic Library Online* (Scielo,), NCBI-PubMed (*National Center for Biotechnology Information*) e MEDLINE (*National Library of Medicine*). Os artigos foram selecionados através de sua relevância com o tema abordado e os tratamentos mais relevantes foram selecionados e abordados neste trabalho.

### **3.2. Critérios de inclusão**

Este trabalho incluiu artigos referentes à doença de Chagas, em que foram incluídos nas busca palavras-chave como Chagas, megazol, posaconazol, *Trypanosoma cruzi*, políticas públicas de saúde, desigualdade, entre outras que estavam presentes no resumo, título ou corpo dos artigos. Além disso, foram escolhidos artigos publicados nos últimos 30 anos.

### **3.3. Critérios de exclusão**

Este trabalho não incluiu artigos fora do período de tempo definido ou que não enfocavam possíveis perspectivas de tratamento da doença de Chagas.

#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Doenças negligenciadas são aquelas que afetam populações que sofrem com a desigualdade social e pobreza, sendo as pessoas mais afetadas aquelas que vivem em áreas rurais remotas, favelas urbanas ou zonas de conflito. Na falta de uma voz política forte, as pessoas afetadas por essas doenças tropicais têm um perfil baixo nas prioridades de saúde pública. A falta de estatísticas confiáveis e nomes impronunciáveis de doenças prejudicaram todos os esforços para tirá-los das sombras.

As doenças negligenciadas possuem grande potencial de morbidade, destacam-se por sua prevalência, e não possuem alto grau de mortalidade. (CAMARGO EP, 2008). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), elas se disseminam e perpetuam em meios em que há precária estrutura sanitária, condições ruins de moradia e alimentação, água imprópria para consumo, além da dificuldade em se acessar o sistema de saúde pelas pessoas, afetando mais de um bilhão de indivíduos pelo mundo, tornando-se endêmicas em 149 países. (VASCONCELOS et al., 2016).

Estas patologias, intitulados doenças negligenciadas, matam ou deixam sequelas em milhões de pessoas. Elas apontam uma necessidade médica importante – principalmente porque possuem possibilidade de cura - que ainda não foi abstraída de forma incisiva. A falta de interesse do mercado farmacológico, médico e outros impacta de forma profunda o número de óbitos dessas enfermidades. Por serem doenças observadas mais em países em desenvolvimento, e por não serem tão rentáveis, enfrentam certo descaso. (VASCONCELOS et al., 2016).

Embora não sejam exclusivas de países em desenvolvimento como já dito, a não rentabilidade não representa um atrativo financeiro por parte da grande indústria farmacêutica. Os dados referentes ao desenvolvimento e pesquisa de fármacos para essas doenças são preocupantes. Estudos demonstram que entre 1975 e 1999, somente 13 novos fármacos foram aprovados para uso no combate das DNs. Estes números representaram 0,9% de todos os medicamentos

aprovados no mesmo período, e estão muito abaixo da necessidade para os casos notificados das doenças no Brasil. (SANTOS et al, 2012).

Podem-se citar no mínimo três características para estas doenças: das novas terapêuticas desenvolvidas entre 2000 e 2011, entre vacinas e medicamentos, apenas 4% correspondem às DNs; do orçamento oficial internacional entre 2003 e 2007, 0,6% foram destinados às DNs; e as DNs são as mais prevalentes para os 2,7 bilhões de pessoas que vivem com menos de \$2 ao dia (LIESE, 2010).

No campo das pesquisas clínicas para novos medicamentos, é possível constatar um quadro global de “imperialismo científico”, onde os Estados Unidos ainda lideram a realização de ensaios clínicos, sendo responsáveis por metade dos estudos realizados globalmente. Porém, uma tendência de reversão desse quadro tem sido observada nos últimos anos, com migração de estudos inclusive para países em desenvolvimento (SANTANA, RS, LEITE, SN, 2016).

Entretanto, a pesquisa e a produção de fármacos parecem estar orientadas para atender a um mercado consumidor com aparente sustentabilidade de financiamento, o que determina desigualdades de acesso aos medicamentos. Em países ricos, a média de gastos com medicamentos por pessoa é 100 vezes maior do que em países empobrecidos. A OMS estima que mais de 90% da produção farmacêutica em todo o mundo sejam consumidos por apenas 15% da população (SANTANA, RS, LEITE, SN, 2016).

O investimento do Brasil em pesquisas voltadas para prevenção e controle de DNs sofreu uma redução de 42% em apenas um ano. O país reservou, em 2017, R\$ 21 milhões para a área, porém, com a drástica retração comparada com 2016, o país sai do grupo dos 12 maiores financiadores globais no setor e, pela primeira vez na história, é superado pela África do Sul. A queda nos investimentos é atribuída, sobretudo, à Emenda Constitucional que definiu um teto para gastos públicos (FORMENTI, L. 2019).

#### **DOENÇAS NEGLIGENCIADAS DE MAIOR INCIDÊNCIA NO BRASIL**

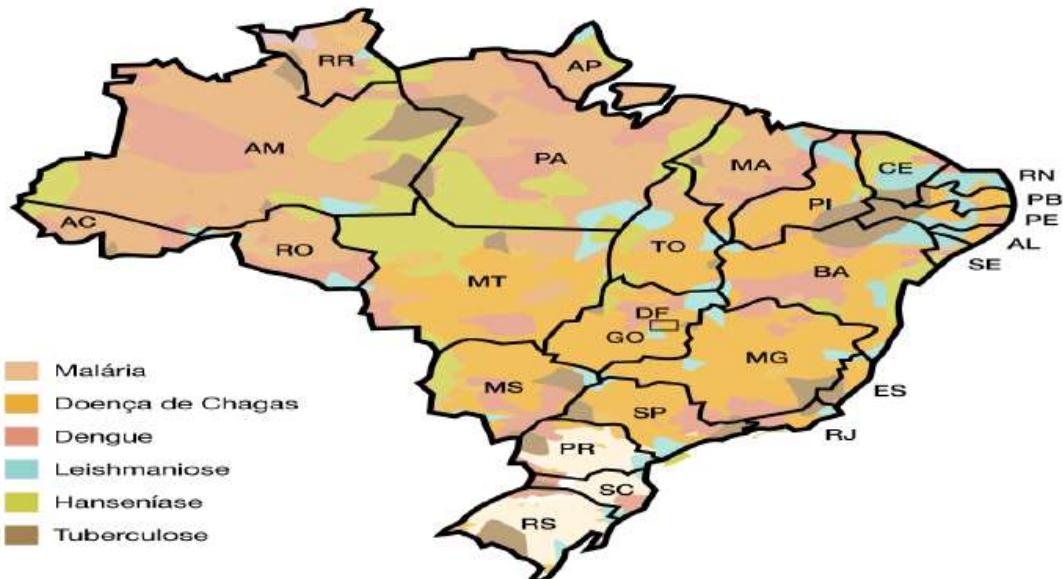


Figura 1. Doenças negligenciadas de maior incidência no Brasil

Enquanto os investimentos se reduzem, os indicadores das doenças continuam a assustar. O país respondeu ainda por 70% das mortes no mundo por doença de Chagas. A queda de investimentos registrada pelo Brasil vai à contramão da tendência internacional. O setor público responde por quase dois terços do investimento total na área. Em seguida, vêm instituições filantrópicas, com 19% e a indústria, com 16% do investimento global (FORMENTI, L. 2019).

Apesar do aumento, há ainda um longo caminho a se percorrer. O Painel de Especialistas da OMS para a Estratégia Global e Plano de Ação sobre Saúde Pública, Inovação e Propriedade Intelectual recomenda que países membros comprometam ao menos de 0,01% de seus PIBs para pesquisas de DNs. O Brasil, por exemplo, destina apenas 0.0004% (FORMENTI, L. 2019).

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é uma doença potencialmente fatal causada pelo parasita protozoário *Trypanosoma cruzi*. É clinicamente curável se o tratamento for iniciado em um estágio inicial, portanto, o acesso universal ao pronto diagnóstico e cuidado é essencial.

Estima-se que 8 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi* em todo o mundo, principalmente na América Latina, onde a DC continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública, causando incapacidade em indivíduos infectados e mais de 10 mil mortes por ano. O controle de vetores continua sendo o método mais útil para evitar infecções. A triagem de sangue é vital para evitar a infecção através de transfusão e transplante de órgãos; e triagem e diagnóstico em mulheres grávidas e seus filhos são medidas de controle essenciais (DNDI, 2014).

A infecção causada pelo *T. cruzi* existiu entre os animais silvestres, mas depois se espalhou para animais domésticos e seres humanos, com relativa intensificação observada no início do século XX. Por muitas décadas, a DC foi uma doença estritamente rural. No entanto, as mudanças socioeconômicas, o êxodo rural, o desmatamento e a urbanização transformaram o perfil epidemiológico da doença, tornando-a um fenômeno mais urbano (DNDI, 2014).



Figura 2. Distribuição global da doença de Chagas, 2006 - 2010

Nas últimas décadas, a infecção tem sido cada vez mais detectada em países onde a DC não é endêmica. A presença da doença fora da América Latina deve-se à mobilidade populacional, principalmente à migração, mas há casos de infecção entre viajantes que retornam da América Latina e até mesmo em crianças

adotadas. A transmissão subsequente decorre principalmente de transfusão de sangue, meios congênitos e vias de transplante (WHO, 2014).

A DC tem duas fases sucessivas: uma fase aguda e uma fase crônica. A fase aguda inicial dura cerca de dois meses após a infecção. Durante esta fase, um grande número de parasitas circula no sangue. Ela pode ocorrer em qualquer idade, mas é frequentemente mais grave em crianças com idade menor do que 2 anos. A fase aguda é seguida pela fase crônica, durante a qual os parasitas estão escondidos principalmente no coração e no músculo digestivo. Durante a fase crônica, os pacientes também podem estar livres dos sintomas, mas alguns podem progredir para formas clínicas da doença, que podem ser fatais se deixados sem diagnóstico e sem tratamento (WHO, 2014).

Dependendo do dano cardíaco, a taxa de mortalidade em um período de 10 anos pode variar de 9% a 85%. Os pacientes geralmente morrem, por ordem de freqüência, de morte súbita causada por arritmias, insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral, geralmente no início da vida adulta (WHO, 2014).

Investimentos em pesquisas com foco nessa doença também tem sido alvo de editais governamentais que disponibilizam em torno de R\$ 75 milhões ao ano; entretanto, esses recursos não se destinam exclusivamente à pesquisa de novos fármacos, nem são suficientes para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. A meta de pesquisadores em todo o mundo - incluindo o Brasil - é desenvolver medicamentos que sejam de fácil aplicação e, de preferência, que dispensem refrigeração. Produtos com essas características ajudam a ampliar o acesso de terapias a áreas mais remotas (SANTANA, RS, LEITE, SN, 2016).

Existem alguns projetos promissores na fase inicial de descobertas e estágios clínicos; no entanto, apenas um em cada dez compostos progredirá da descoberta para o teste pré-clínico; e nos estágios finais, apenas um em cada cinco medicamentos que entram em ensaios clínicos torna-se disponível para os pacientes (NWAKA, et al. 2003).

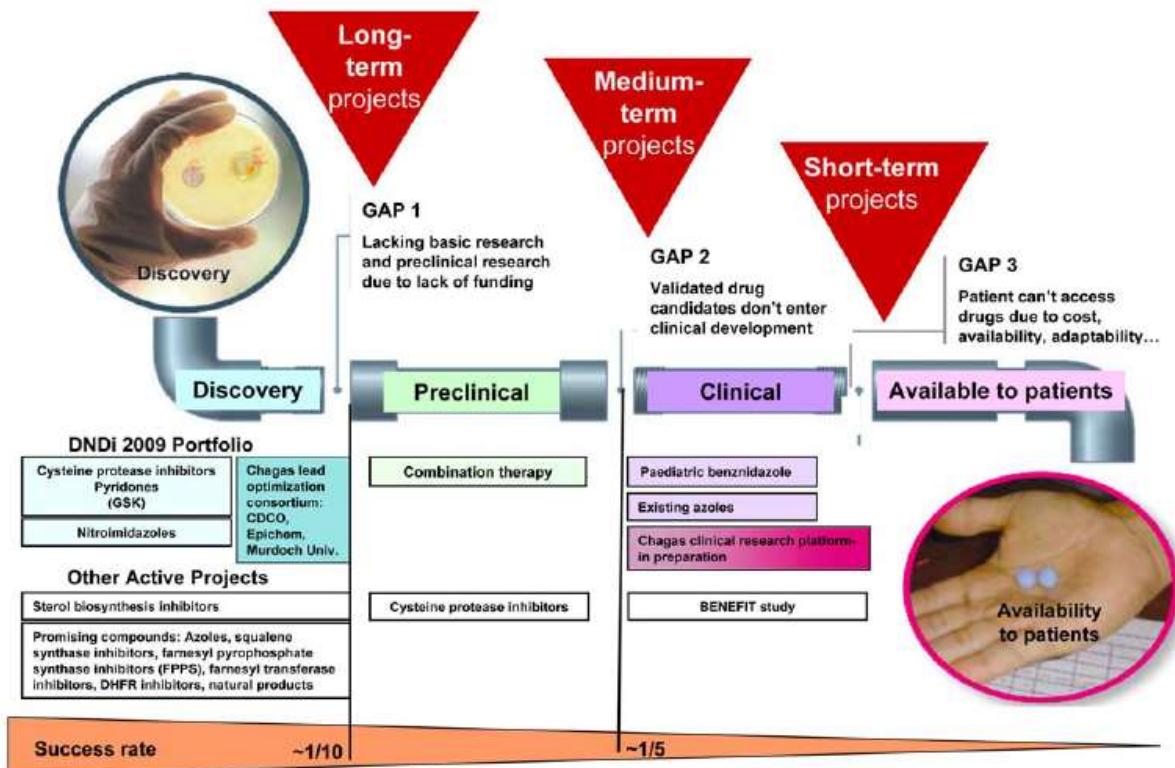


Figura 3. Projetos de P & D de drogas em andamento sobre a doença de Chagas.

O tratamento da doença de Chagas é focado no uso de dois pró-fármacos nitroheterocíclicos: o nifurtimox (NFX), um 5-nitrofurano e o benznidazol (BZ), um 2-nitroimidazol. Nenhum desses agentes é ideal devido a efeitos colaterais secundários indesejáveis. Resultados variáveis têm sido observados com esses agentes dependendo da fase da doença (eles são apenas eficazes nas fases aguda e crônica recente da infecção), a dose e duração do tratamento, a idade do paciente e a região endêmica (CASTRO, et al. 2006, SOEIRO & DE CASTRO, 2011).

A figura abaixo mostra o mecanismo de ação do nifurtimox, benznidazol e outros fármacos tripanocidais.

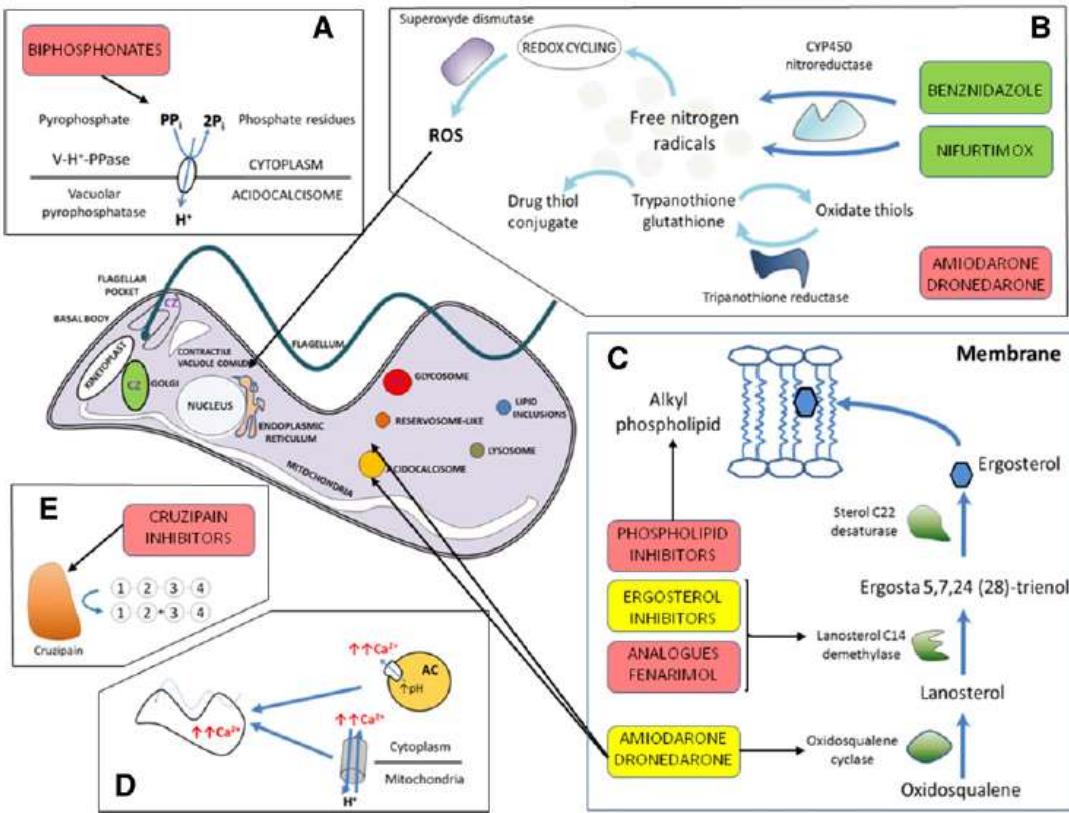


Figura 4. Representação esquemática do modo de ação dos principais fármacos com atividade tripanocida.

Na figura 4, as caixas verdes representam fármacos usados atualmente para tratamento, as caixas amarelas representam fármacos em ensaios clínicos e as caixas vermelhas representam fármacos experimentais. (A) Os bisfosfonatos inibem a farnesil pirofosfato sintase, que reduz os níveis de esteróis e outros compostos poli-isoprenóides essenciais, afetando a viabilidade celular. (B) Nifurtimox (NFX) e benzonidazol (BZ) são reduzidos pela nitroreductase do parasita, resultando na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que danificam diretamente as células do parasita. A tripanotiona redutase ajuda a aliviar o estresse oxidativo, e os inibidores dessa enzima, como a tioridazina e a sulfoximina butionina (SB), aumentam a quantidade de ERO no espaço intracelular. (C) A via biossintética do ergosterol é essencial para a sobrevivência do parasita. O bloqueio desta via leva à perda de viabilidade celular através do esgotamento de esteróis essenciais e da acumulação de intermediários tóxicos. Os inibidores de ergosterol e análogos de fenarimol visam lanosterol C14

demetilase e amiodarona e dronedarona inibem parcialmente a oxidosqualeno ciclase. Os inibidores fosfolipídicos bloqueiam a síntese de esteróis, inibem a síntese de fosfolipídios através da via de Greenberg e inibem enzimas de transdução de sinais como fosfatidilinositol fosfolipase C. (D) Amiodarona e dronedarona liberam Ca<sup>2+</sup> de mitocôndrias, o que aumenta os níveis de Ca<sup>2+</sup> no espaço citoplasmático e compromete a sobrevivência celular. (E) A cruzipaina (CZ) localiza-se tipicamente no aparelho de Golgi, na bolsa flagelar e nos glicossomas e é uma protease de cisteína essencial envolvida na diferenciação do parasita, invasão celular, multiplicação e evasão imune. Inibidores da CZ alteram o aparelho de Golgi devido ao acúmulo de precursores da CZ não processada (SALES JUNIOR, PA, et al, 2017).

Em 1968, Berkelhammer e Asato sintetizaram um composto do tipo 5-nitroimidazol, que contém um grupo substituinte 1,3,4-tiadiazol. A este composto deram o nome de megazol (MGZ).

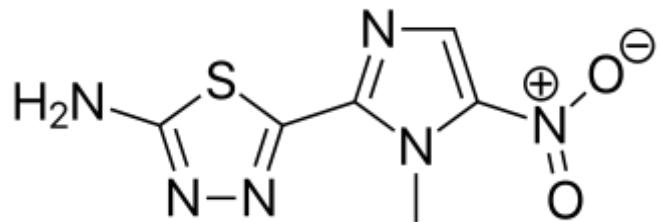


Figura 5. Estutura do megazol

Este composto demonstrou um largo espectro de ação biológica e excelente atividade contra o *Trypanosoma cruzi*. Esses resultados iniciais estimularam pesquisas destinadas a revelar o mecanismo pelo qual o composto MGZ media suas atividades antiparasitas. Vários estudos indicaram claramente que esse composto entra no parasita por difusão passiva (BARRETT, et al. 2003) e, uma vez dentro da célula, sofre ativação por enzimas nitro-redutase (NTR). Essas enzimas catalisam uma ou duas reações elétricas do grupo nitro conservado encontrado no anel imidazol (VIODÉ, et al. 1999, WILKINSON & KELLY, 2009). Os mecanismos posteriores que respondem pelo modo de ação do MGZ não são claros. Baseado em estudos usando *T. cruzi*, foi proposto que este

composto pode interferir no metabolismo de oxigênio (VIODÉ, et al. 1999), possivelmente afetando os níveis de tiol intracelular, especialmente tripanotiona (MAYA, et al. 2003) e/ou via inibição da atividade da redutase do fumarato de NADH (TURRENS, et al. 1996).

De Castro & Meirelles sugerem que, no caso do *T. cruzi* o efeito antiparasitário está relacionado, em um primeiro momento, a uma interferência com a síntese proteica das formas amastigotas. Os autores sugerem, entretanto, que este não seria o único mecanismo responsável pelo efeito encontrado. Viodé e colaboradores demonstraram que redutases presentes na fração microssomal do *T. cruzi* catalisam a redução do MGZ, dando origem ao radical nitro-ânion. Os autores sugerem que o MGZ interfere com o metabolismo do oxigênio parasitário induzindo um estado de estresse oxidativo. Maya e colaboradores sugeriram que a atividade tripanossomicida do MGZ envolveria o metabolismo do oxigênio, ou seja, o MGZ sofreria dismutação originando uma espécie eletrofílica (forma nitrosa) que seria tiol “scavenger” eficiente, principalmente para a tiol tripanotiona, cofator para a detoxificação da tripanotiona redutase, enzima essencial para a sobrevivência do *T. cruzi*.

Outras investigações sobre o uso deste composto como um agente trypanocidal foram descontinuadas. Assim, o MGZ é um composto alvo promissor que pode ser utilizado para procurar novos análogos que não tenham estes efeitos secundários. Atualmente, muitos esforços têm sido feitos na busca de novos compostos sintéticos de chumbo, como triazóis, quinolinos e outros (PAPADOPOLOU, et al. 2011, 2013, DA SILVA, et al. 2012) e derivativos sintéticos de nitroimidazol (MITAL, 2009, PAULA, et al., 2009).

Outra molécula nitrohererocíclica, a nifuroxazida (NF), foi usada como protótipo para um conjunto de vinte e um compostos planejados e sintetizados a fim de melhorar a atividade anti-*T. cruzi* (PALACE-BERL, F., 2015). O conjunto de hidrazidas substituídas com N0 - [(5-nitrofuran-2-il) metíleno] foi ensaiado contra três cepas de *T. cruzi*, que representam as unidades de tipagem discretas mais prevalentes em pacientes humanos: Y, Silvio X10 cl1 e Bug 2149 cl10. Todos os derivados, com exceção de um, mostraram atividade tripanocida aumentada

contra as três cepas em comparação com BZ. Na cepa Y, 62% dos compostos foram mais ativos que o NFX. O composto mais ativo foi o N - ((5-nitrofuran-2-il) metileno) bifenil-4-carbo-hidrazida (C20), que apresentou valores de IC<sub>50</sub> de 1,17  $\pm$  0,12  $\mu$ M; 3,17  $\pm$  0,32  $\mu$ M; e 1,81  $\pm$  0,18  $\mu$ M para as cepas Y, Silvio X10 cl1 e Bug 2149 cl10, respectivamente.

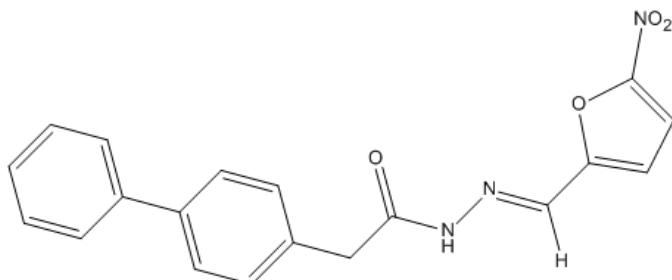


Figura 6. Estrutura do N-((5-nitrofuran-2-il)metileno) bifenil-4-carbo-hidrazida (C20)

Ensaios de citotoxicidade com fibroblastos humanos demonstraram altos índices de seletividade para vários compostos. A análise exploratória dos dados indicou que propriedades principalmente topológicas, estéricas/geométricas e eletrônicas contribuíram para a discriminação do conjunto de compostos investigados, o que pode auxiliar na orientação do planejamento e, subsequentemente, a síntese de outras drogas promissoras contra a doença de Chagas.

Desde a introdução de BZ e NFX, apenas o allopurinol e os azóis itraconazol, fluconazol, cetoconazol, posaconazol (POSA) e ravuconazol (RAVU) foram estudados em ensaios clínicos, estudos observacionais ou casos clínicos.

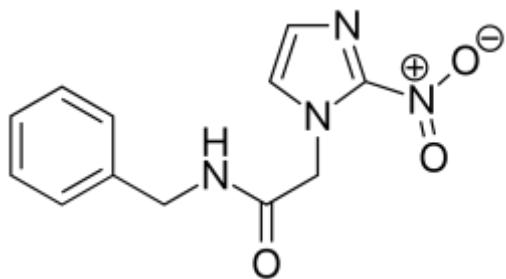


Figura 7. Estrutura do benznidazol

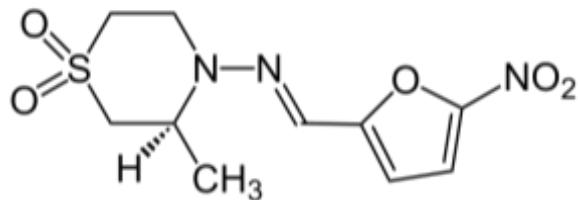


Figura 8. Estrutura do nifurtimox

Ao projetar novos fármacos, alvos específicos do *T. cruzi* devem ser identificados usando abordagens celulares e moleculares para alcançar tanto alta eficácia quanto baixa toxicidade. Atualmente, as principais abordagens experimentais/pré-clínicas para *T. cruzi* são baseados nos inibidores do ergosterol, metabolismo de tripanotiona, protease de cisteína, metabolismo de pirofosfato, proteína e síntese de purinas, análogos de lisofosfolipídeos (APLs) e drogas naturais (SALES JUNIOR, PA, et al, 2017). Infelizmente, apenas alguns poucos ensaios clínicos para o tratamento da DC estão em andamento ou foram realizados recentemente (Tabela 1).

Tabela 1. Situação atual dos medicamentos usados no tratamento da doença de Chagas

Fármaco	Desenvolvimento do Fármaco	Ensaio <i>in vivo</i>	Ensaio <i>in vitro</i>	Estudo fase I	Estudo fase II	Estudo fase III	Estudo fase IV/Aprovado
<b>BZ</b>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<b>NFX</b>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<b>POSA</b>	✓	✓	✓	✓	✓	-	-
<b>RAVU</b>	✓	✓	✓	✓	✓	-	-
<b>ITRA</b>	✓	✓	✓	✓	✓	-	-
<b>KETO</b>	✓	✓	✓	✓	X	-	-
<b>VORI</b>	✓	✓	✓	✓	-	-	-
<b>ALBA</b>	✓	✓	✓	✓	-	-	-
<b>DO8701</b>	✓	✓	✓	-	-	-	-
<b>TAK-187</b>	✓	✓	✓	-	-	-	-
<b>K-777</b>	✓	✓	✓	X	-	-	-
<b>FENARI</b>	✓	✓	✓	Planejado	-	-	-
<b>FEXINI</b>	✓	✓	✓	✓	-	-	-
<b>MILTEFO</b>	✓	✓	✓	✓	-	-	-
<b>EDELFO</b>	✓	✓	-	-	-	-	-
<b>ILMOFO</b>	✓	✓	-	-	-	-	-
<b>NANO BZ</b>	✓	✓	✓	-	-	-	-
<b>SELENIUM</b>	✓	✓	✓	✓	-	-	-
<b>ALOPU</b>	✓	✓	✓	✓	X	-	-
<b>AMIO</b>	✓	✓	✓	✓	Em progresso	-	-
<b>SCYX-7158</b>	✓	✓	✓	Em progresso	-	Em progresso	-

ALBA = albaconazol; ALOPU = allopurinol; AMIO = amiodarone; BZ = benznidazol; EDELFO = edelfosina; FENARI = fenarimol; FEXINI = fexinidazol; ILMOFO = ilmofosina; ITRA = itraconazol; KETO = cetoconazol; MILTEFO = miltefosina; NANO BZ = benznidazol nanoformulado; NFX = nifurtimox; POSA = posaconazol; RAVU = ravyconazol; SCYX-7158 = oxaborole; VORI = voriconazol; X = interrompido.

Inibidores da biosíntese de ergosterol, como o POSA, são potentes e seletivos inibidores de fungos e protozoários CYP51, um membro da família do citocromo P-450.

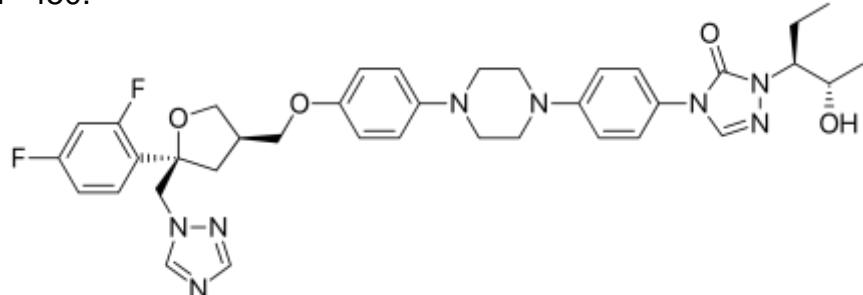


Figura 9. Estrutura do posaconazol

Está comercialmente disponível para a profilaxia de infecções fúngicas invasivas e tratamento da candidíase resistente (URBINA, J, 2009). A POSA também possui atividade tripanocida potente in vitro e in vivo (URBINA, JA, et al., 1998; MOLINA J, et al, 2000) contra cepas de *T. cruzi* naturalmente resistentes a nitrofuranos, nitroimidazóis e antifúngicos azólicos convencionais. Mais importante, POSA foi mais ativo que o BZ contra cepas de *T. cruzi* resistentes a drogas em modelos murinos de CD aguda e crônica. No entanto, estudos recentes demonstraram uma vantagem do BZ sobre a POSA. Em um estudo in vitro comparando a atividade dos nitroheterocíclicos com a atividade de POSA e RAVU contra amastigotas intracelulares de *T. cruzi*, os nitroheterocíclicos mostraram eficácia ampla, mas menos potente contra todas as unidades de tipagem discretas atuais de *T. cruzi* testadas, enquanto POSA e RAVU mostraram atividade variável e foram incapazes de erradicar a infecção intracelular mesmo após 7 dias de exposição contínua aos compostos (MORAES, CB, et al., 2014).

Em um estudo in vivo, o POSA falhou como tratamento único e em combinação com o BZ para eliminar uma infecção com um gene resistente ao BZ e foi menos eficaz na cura de infecções com estirpes sensíveis a BZ. O sucesso demonstrado com POSA em um paciente com DC crônica e lúpus eritematoso sistêmico (PINAZO, M, 2010) encorajou o início de dois ensaios clínicos de fase II em pacientes com DC. Um desses ensaios clínicos (CHAGASAZOL) foi concluído em agosto de 2012 (MOLINA, I, et al., 2014). Esse ensaio clínico multicêntrico,

randomizado e aberto comparou o BZ (5mg/kg/dia por 60 dias) e dois esquemas de POSA (100mg/12h e 400mg/12h por 60 dias) em 78 pacientes com DC crônica. Durante o seguimento, uma proporção maior de pacientes apresentou falha no tratamento com POSA do que com o BZ, medida pela positividade com PCR em tempo real do *T. cruzi* no sangue periférico. Outro estudo, STOP CHAGAS, foi concluído em 2015. A resposta bem-sucedida, que foi definida como um valor de PCR qualitativa negativo no dia 180 de acompanhamento, foi a seguinte: POSA (13,3%), Placebo (10%), POSA + BZ (80%) e BZ + Placebo (86,7%), o que reforça a ideia de que a monoterapia com BZ é superior à POSA como monoterapia ou como terapia combinada (MORILLO, CA, et al, 2017).

O RAVU é um derivado triazólico com atividade antifúngica potente e de amplo espectro.

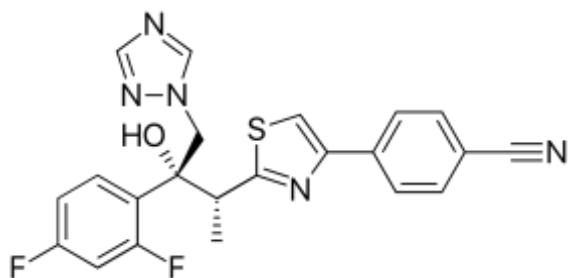


Figura 10. Estrutura do ravuconazol

Em modelos murinos de DC aguda, a RAVU apresentou alta atividade parasitológica de cura contra cepas de *T. cruzi* suscetíveis a nitrofurano e nitroimidazol e parcialmente resistentes a drogas, mas nenhuma atividade curativa em camundongos infectados com cepas totalmente resistentes a fármacos de estirpe colombiana em um modelo de CD crônica (URBINA, JA, et al., 2003). Uma vantagem é a necessidade de uso menos frequente do RAVU do que o BZ e o NFX. As principais vantagens do RAVU incluem sua estrutura química mais simples e preço baixo comparado com o POSA (BUCKNER, FS, URBINA, JA, 2012).

Em 2009, a DNDi colaborou com a Eisai Co. Ltd., uma empresa farmacêutica japonesa que descobriu o E1224, para desenvolver um novo

composto químico contra CD. E1224 é um pró-fármaco que se converte em RAVU, levando a uma melhor absorção e biodisponibilidade do fármaco. Um estudo randomizado, multicêntrico, controlado por placebo, de fase II avaliou a segurança e eficácia de três regimes de dosagem oral de E1224 (dose alta por 4 ou 8 semanas; dose por 8 semanas) e BZ (5 mg/kg/dia) em 231 pacientes adultos com DC crônica indeterminada. O E1224 mostrou boa segurança e foi eficaz na limpeza do *T. cruzi*, mas um ano após o tratamento, apenas 8–31% dos pacientes tratados com E1224 mantiveram a depuração do parasita em comparação com 81% dos pacientes tratados com BZ, demonstrando que E1224 tem baixas taxas de erradicação de parasitas (DNDi, 2013).

O itraconazol é um derivado de imidazol sintético e demonstrou boa eficácia contra o *T. cruzi* tanto in vitro quanto in vivo (MCCABE, E, REMINGTON, J, ARAUJO, F, 1986).

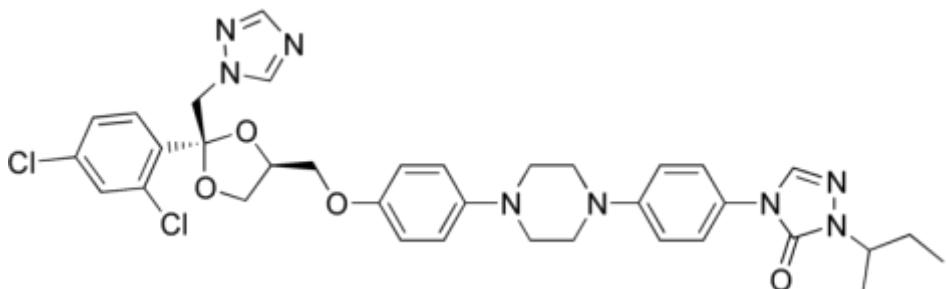


Figura 11. Estrutura do itraconazol

Em um estudo cego sobre o uso de itraconazol (6 mg/kg/dia por 120 dias) em 46 pacientes com DC crônica de uma endêmica área do Chile, houve a monitoria de anomalias no ECG e exames xenodiagnósticos para a infecção por *T. cruzi*, que foi conduzida antes do tratamento e anualmente durante 20 anos (APT, W., et al., 2013). O grupo de controle consistiu em 67 pacientes com CD indeterminada crônica que foram seguidos por 4 anos, e por razões éticas, este grupo foi tratado após o período experimental. Após os 20 anos, apenas 10,86% dos pacientes desenvolveram anormalidades no ECG e 32,6% tiveram resultados negativos nos exames de xenodiagnóstico, indicando que o itraconazol previne anormalidades no ECG. A principal limitação deste estudo é que os

xenodiagnósticos e a PCR não são indicadores confiáveis de cura, pois mostram baixa sensibilidade para a detecção do *T. cruzi* em pacientes com DC crônica.

O fexinidazol é um 5-nitroimidazol com potente atividade tripanocida que foi redescoberto através da extensa mineração de compostos pela DNDI.

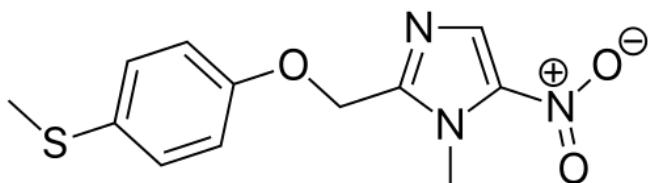


Figura 12. Estrutura do fexinidazol

Pode induzir altos níveis de cura parasitológica em camundongos infectados com BZ suscetível, estirpes parcialmente resistentes e resistentes ao *T. cruzi*, que é um melhoramento importante em comparação com o tratamento padrão atual com BZ (BAHIA, MT, et al., 2012). Um estudo recente demonstrou que sulfóxidos e metabólitos de sulfona fexinidazol foram mais eficazes do que qualquer fexinidazol em si ou BZ no tratamento de camundongos infectados com a cepa parcialmente resistente do *T. cruzi* (BAHIA, MT, et al., 2014).

Vários outros estudos identificaram as enzimas envolvidas no metabolismo da tripanotiona como potenciais alvos quimioterápicos (FAIRLAMB, AH, CERAMI, A, 1992; SCHMIDT, A, KRAUTH-SIEGEL, RL, 2002). A tripanotionina redutase (TR) desempenha um papel essencial na vida do *T. cruzi*, pois mantém o ambiente redutor intracelular. Essa via bioquímica é exclusiva dos protozoários cinetoplastídeos. As diferenças estruturais entre TR e sua contraparte humana, a glutationa redutase, também fazem da TR um alvo promissor; enquanto a glutationa redutase possui um sítio ativo estreito e carregado positivamente para acomodar os carboxilatos de glicina de seu substrato glutationa, TR tem um sítio ativo mais largo, não carregado e mais hidrofóbico. Os inibidores da via TR recentemente receberam a atenção de muitos grupos de pesquisa, e uma variedade de compostos foram identificados como inibidores da TR (GUTIERREZ-CORREA, J, et al., 2001; LI, Z, 2001; SALMON-CHEMIN, L, BUISINE, E, 2001; RIVAROLA, HW, PAGLINI-OLIVA, PA, 2001).

Tioridazina, um inibidor da TR in vitro, aumentou a sobrevida e reduziu a parasitemia e a lesão cardíaca em modelos murinos de infecção aguda (RIVAROLA, HW, et al., 1999; LO PRESTI, MS, et a., 2004), embora a cura parasitológica não tenha sido observada.

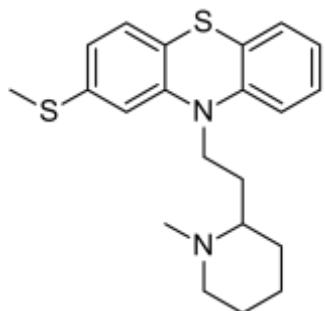


Figura 13. Estrutura da tioridazina

Os inibidores do metabolismo da tripanotiona, como a SB, são candidatos potenciais, sozinhos ou combinados com drogas que produzem radicais livres, como NFX e BZ (MAYA, J, et al., 2010).

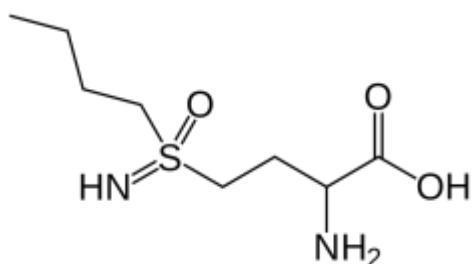


Figura 14. Estrutura da sulfoxima butionina

A cruzaina, também conhecida como cruzipaina, é a principal cisteína protease do *T. cruzi* e é expressa em todas as formas de desenvolvimento de diferentes isolados do protozoário (CAZZULO, JJ, 2002; URBINA, JA, DO CAMPO, R, 2003). Inibidores de protease bloquearam proliferação de amastigotas e epimastigotas e metaciclogênese *in vitro*, reduzindo significativamente parasitemia e aumento da sobrevida dos animais em modelo murino em ambas as fases da DC (ENGEL, JC, et al., 1998). Na fase aguda da DC, o tratamento de camundongos com inibidores irreversíveis da cruzaina reduziu o número de lesões cardíacas e amastigotas intracelulares e os níveis de infiltrados inflamatórios.

Embora seja um bom alvo, sua curta meia-vida precisa de grandes doses e administração contínua para alcançar seu efeito. O K-777, que foi originalmente caracterizado pelo Centro Sandler de Pesquisa em Doenças Parasitárias Tropicais na Universidade da Califórnia, em San Francisco, foi o mais promissor inibidor de cisteína protease.

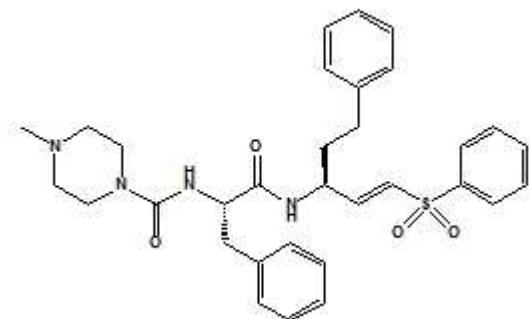


Figura 15. Estrutura do K-777.

É uma vinil sulfona que efetivamente bloqueia a atividade da cruzaína e resgatou camundongos da fase aguda de uma infecção letal experimental do *T. cruzi* e limpou a parasitemia em camundongos cronicamente infectados, sem toxicidade para o hospedeiro mamífero (URBINA, JA, DO CAMPO, R, 2003). Promove o acúmulo de moléculas precursoras de cruzaina não processadas no complexo de Golgi, levando à morte do parasita (ENGEL, JC, et al., 1998). Em um modelo agudo de infecção em cães, o K-777 não promoveu cura parasitológica, mas reduziu significativamente os danos cardíacos induzidos por parasitas (BARR, SC, et al., 2005). Infelizmente, o desenvolvimento deste composto foi interrompido devido aos achados de tolerabilidade em baixa dose em primatas e cães.

Os análogos de lisofosfolipídios (APLs) foram desenvolvidos há aproximadamente quatro décadas como potenciais imunomoduladores e antimetabólitos do metabolismo dos fosfolipídios (BRACHWITZ, H, VOLLGRAF, C, 1995). Os alquil-lisofosfolipídeos são derivados sintéticos de APLs que compreendem uma nova classe de compostos promissores para quimioterapia de doenças causadas por cinetoplastídeos e têm efeitos *in vitro* e *in vivo* contra cepas

de *T. cruzi* suscetíveis, parcialmente resistentes e naturalmente resistentes aos nitrofuranos e nitroimidazóis (CROFT, SL, SNOWDON, D, 1996; SARAIVA, VB, et al., 2002; LUNA, KP, et al., 2009). Diversos estudos descreveram seu mecanismo de ação contra o *T. cruzi* (SANTA-RITA, RM, et al., 2005; LIRA, R, et al., 2001). Em modelos murinos, os alquil-lisofosfolipídeos miltefosina e a edelfosina apresentaram atividade supressora, mas não curaram a infecção pela cepa resistente do *T. cruzi* (CROFT, SL, SNOWDON, D, 1996).

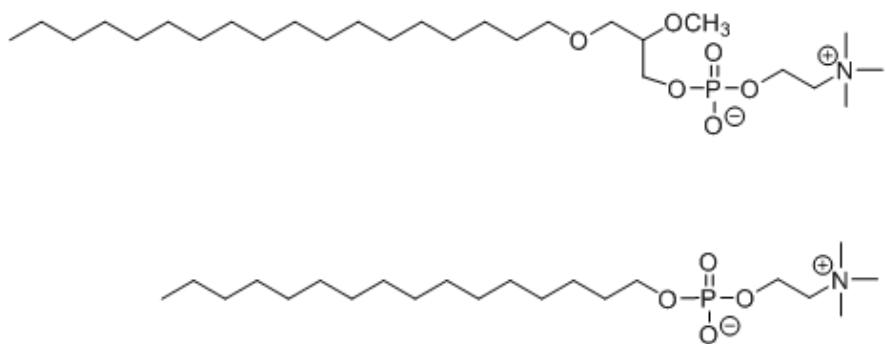


Figura 16. Estrutura da edelfosina e miltefosina, respectivamente.

Quatro meses após o tratamento, não foram detectados parasitas nas secções de sangue ou baço mantidas em cultura; no entanto, métodos mais sensatos para avaliar a cura não foram utilizados (SARAIVA, VB, et al., 2002). O desenvolvimento de APLs como agentes anticancerígenos permite o conhecimento de sua farmacologia, toxicologia e tolerância em seres humanos e reduz o custo de desenvolvimento de medicamentos para doenças tropicais (CROFT, SL, SNOWDON, D, 1996).

O TAK-187 é um triazol com potente atividade contra o *T. cruzi* *in vitro* e *in vivo* devido à sua atividade inibidora da biossíntese de ergosterol. Em um modelo murino de DC aguda usando cepas de *T. cruzi* com diferentes suscetibilidades aos fármacos atualmente disponíveis, o tratamento com TAK-187 resultou em proteção completa contra a morte e altos níveis (60-100%) de cura parasitológica contra todas as cepas.

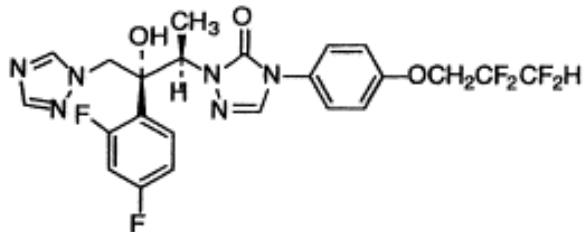


Figura 17. Estrutura do TAK-128.

Nos modelos de doenças crônicas, o TAK-187 resultou em 80-100% de sobrevivência, com cura parasitológica em 80-100% dos sobreviventes (URBINA, JA, et al., 2003). É importante ressaltar que nenhum efeito colateral tóxico foi observado em nenhum dos protocolos experimentais. Outro estudo demonstrou que o TAK-187 é mais eficaz que o BZ na prevenção de danos cardíacos na DC experimental.

A encapsulação de BZ em lipossomas, nanopartículas e outras micropartículas também é uma maneira promissora de aumentar a atividade e/ou seletividade de fármacos. O objetivo é microencapsulá-los em polímeros biodegradáveis que liberam continuamente seu conteúdo ao longo do tempo. Os poucos estudos que avaliaram o BZ encapsulado em sistemas de liberação, especialmente em vesículas de lipossomos (MORILLA, MJ, et al., 2002; MORILLA, MJ, et al., 2003; MORILLA, MJ, et al., 2004; MORILLA, MJ, et al., 2005), tentaram melhorar a farmacocinética do BZ para diminuir a dose terapêutica e diminuir os efeitos colaterais. Espera-se que as novas formulações, como lipossomas, nanopartículas e outras micropartículas, melhorem a farmacocinética e farmacodinâmica das terapias DCs reais, diminuindo a dose total de droga usada, minimizando o perfil de toxicidade, reduzindo o aparecimento de resistência e aumentando a concentração tecidual. A principal limitação do uso de tais tecnologias é que a carga de encapsulamento pode não ser suficiente para fornecer uma dosagem totalmente eficiente.

## 5. CONCLUSÃO

A conscientização da importância do papel da inovação tecnológica no contexto da capacidade em responder às demandas da saúde das populações vem crescendo com o passar dos anos. Em contrapartida, apesar das iniciativas governamentais de fortalecimento da área de pesquisa e desenvolvimento, o número de inovações tecnológicas obtidas pelos pesquisadores, ainda é muito baixo, quando comparado com países desenvolvidos.

O Brasil precisa de ciência e tecnologia para o desenvolvimento nacional, devemos, portanto, pensar em um país de forma totalitária, apostando em planejamento público, para um trabalho que erradique as doenças negligenciadas. Para obtermos uma mudança no cenário da saúde do país, programas de governo, no campo da saúde pública devem ser cada vez mais apoiados e financiados para que seja oferecido à sociedade conhecimentos de prevenção às doenças, alcançando assim taxas menores de morbidade e mortalidade, bem como a extinção de grupos de doenças. Liderança política é fator prioritário para que se definam as prioridades de saúde global, o estímulo ao campo de pesquisa e desenvolvimento é essencial para criar meios de financiamento, e acautelar um acesso equânime aos medicamentos essenciais.

O desenvolvimento de novos medicamentos requer a interação das disciplinas de biologia molecular e celular, química, bioquímica, farmacologia e toxicologia. O advento da genômica, sequenciamento rápido de DNA e bioinformática fortaleceram a interação entre grupos de diferentes expertises de modo a se buscar compostos com alta eficácia, incluindo aqueles que podem ser administrados em pacientes imunossuprimidos, com ausência ou baixa toxicidade e custos reduzidos de produção.

Um medicamento ideal ainda não existe e possivelmente passará um longo tempo até ser obtido. Infelizmente, apesar dos grandes avanços na tecnologia e no conhecimento sobre *T. cruzi* e desenvolvimento da infecção, o quadro persiste sombrio, e em um futuro próximo, observamos três promissores caminhos: novos esquemas dos antigos medicamentos que venham a reduzir as doses e o tempo de tratamento; o uso de combinações de BZ ou NFX, como é a prioridade de

estudo em desenvolvimento pelo DNDi, e o reposicionamento de medicamentos. O conjunto destes estudos enfatiza a importância do reposicionamento de medicamentos e do tratamento combinado visando terapias alternativas para esta patologia negligenciada e silenciosa.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Andrews C. Ethical and scientific implications of the globalization of clinical research. *N Engl J Med.* 2009;360(26):2793.
2. Apt W, Arribada A, Zulantay I, Rodríguez J, Saavedra M, Muñoz A, 2013. Treatment of CD with itraconazole: electrocardiographic and parasitological conditions after 20 years of follow up. *J Antimicrob Chemother* 68: 2164–2169. 14. Cançado JR, 1999. Criteria of CD cure. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl I): 331–335.
3. Bahia MT, de Andrade IM, Martins TA, do Nascimento AF, Diniz L, Caldas IS, Talvani A, Trunz BB, Torreele E, Ribeiro I, 2012. Fexinidazole: a potential new drug candidate for CD. *PLoS Negl Trop Dis* 6: e1870.
4. Bahia MT, et al., 2014. Antitrypanosomal activity of fexinidazole metabolites, potential new drug candidates for CD. *Antimicrob Agents Chemother* 58: 4362–4370.
5. Barr SC, Warner KL, Kornreic BG, Piscitelli J, Wolfe A, Benet L, McKerrow JH, 2005. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damage during infection by *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 5160–5161.
6. Barrett MP, Burchmore RJ, Stich A, Lazzari JO, Frasch AC, Cazzulo JJ, Krishna S 2003. The trypanosomiases. *Lancet* 362: 1469-1480.
7. Brachwitz H, Vollgraf C, 1995. Analogs of alkyllysophospholipids: chemistry, effects on the molecular level and their consequences for normal and malignant cells. *Pharmacol Ther* 66: 39–82.
8. Buckner FS, Urbina JA, 2012. Recent developments in sterol 14-demethylase inhibitors for CD. *J Parasitol Drugs Drug Resist* 2: 236–242.
9. CAMARGO, Erney Plessmann. Doenças tropicais. Estud. av., São Paulo , v. 22, n. 64, p. 95-110, Dec. 2008 .

10. Castro JA, de Mecca MM, Bartel LC 2006. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas disease (American trypanosomiasis). *Hum Exp Toxicol* 25: 471-479.
11. Cazzulo JJ, 2002. Proteinases of *Trypanosoma cruzi*: potential targets for the chemotherapy of CD. *Curr Top Med Chem* 2: 1261–1267.
12. Chirac P, Torreele E. Global framework on essential health R&D. *Lancet*. 2006;367 (9522):1560–1.
13. Corrales M, Cardozo R, Segura MA, Urbina JA, Basombrío MA, 2005. Comparative efficacies of TAK-187, a long-lasting ergosterol biosynthesis inhibitor, and benznidazole in preventing cardiac damage in a murine model of CD. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 1556–1560.
14. Croft SL, Snowdon D, Yardley V, 1996. The activities of four anticancer alkyllysophospholipids against *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi*, and *Trypanosoma brucei*. *J Antimicrob Chemother* 38: 1041–1047.
15. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. *Rev Saude Publica*. 2010;44(1):200–2.
16. DNDI. Por que é necessária uma convenção sobre P&D essencial em saúde? Genebra: DNDI; 2012. Disponível em: <[http://www.dndi.org/images/stories/advocacy/dndi\\_policy\\_port\\_27\\_04\\_2012.pdf](http://www.dndi.org/images/stories/advocacy/dndi_policy_port_27_04_2012.pdf)>. Acessado em Dezembro, 2018.
17. Drugs for Neglected Diseases, Initiative, 2013. Drug Trial for Leading Parasitic Killer of the Americas Shows Mixed Results but Provides New Evidence for Improved Therapy. Disponível em: <<http://www.dndi.org/media-centre/press-releases/1700-e1224.html?highlight=WyJIMTlyNCJd>>. Acessado em Janeiro, 2019.
18. Drugs for Neglected Diseases, Initiative, 2013. Drug Trial for Leading Parasitic Killer of the Americas Shows Mixed Results but Provides New Evidence for Improved Therapy. Disponível em: <<http://www.dndi.org/media-centre/press-releases/1700-e1224.html?highlight=WyJIMTlyNCJd>>. Acessado em Janeiro, 2019.

19. Drugs for Neglected Diseases, Initiative, 2014. K777 (Chagas). Available at: <http://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/k777.html>. Acessado em Janeiro, 2019.
20. Engel JC, Doyle PS, Hsieh I, McKerrow JH, 1998. Cysteine protease inhibitors cure experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J Exp Med* 188: 725–734.
21. Fairlamb AH, Cerami A, 1992. Metabolism and functions of trypanothione in Kinetoplastida. *Annu Rev Microbiol* 46:695–729.
22. Gutierrez-Correa J, Fairlamb AH, Stoppani AO, 2001. *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase is inactivated by peroxidase-generated phenothiazine cationic radicals. *Free Radic Res* 34: 363–378.
23. Hunt P, Khosla R. The human right to medicines. *Sur Rev Int Direitos Human.* 2008; 5(8):99–115.
24. Li Z, Fennie MW, Ganem B, Hancock MT, Kobaslija M, Rattendi D, Bacchi CJ, O'Sullivan MC, 2001. Polyamines with N-(3- phenylpropyl) substituents are effective competitive inhibitors of trypanothione reductase and trypanocidal agents. *Bioorg Med Chem Lett* 11: 251–254.
25. Liese B, Rosenberg M, Schratz A. Programmes, partnerships, and governance for elimination and control of neglected tropical diseases. *The Lancet.* 2010. 375, (9708): 67–76.
26. Lira R, Contreras LM, Rita RM, Urbina JA, 2001. Mechanism of action of anti-proliferative lysophospholipid analogues against the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*: potentiation of in vitro activity by the sterol biosynthesis inhibitor ketoconazole. *J Antimicrob Chemother* 47: 537–546.
27. Lo Presti MS, Rivarola HW, Bustamante JM, Fernández AR, Enders JE, Fretes R, Gea S, Paglini-Oliva PA, 2004. Thioridazine treatment prevents cardiopathy in *Trypanosoma cruzi* infected mice. *Int J Antimicrob Agents* 23: 634–636.
28. Luna KP, Hernández IP, Rueda CM, Zorro MM, Croft SL, Escobar P, 2009. In vitro susceptibility of *Trypanosoma cruzi* strains from Santander, Colombia, to hexadecylphosphocholine (miltefosine), nifurtimox and benznidazole. *Biomedica* 29:448–455.

29. Maya JD, Bollo S, Nuñez-Vergara LJ, Squella JA, Repetto Y, Morello A, Périé J, Chauvière G 2003. *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofuran derivatives. *Biochem Pharmacol* 6: 999-1006.
30. Maya J, Cassels B, Iturriaga-Vasquez P, Ferreira J, Fauández M, Galanti N, Ferreira A, Morello A, 2010. Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. *Comp Biochem Physiol* 146: 601–620.
31. McCabe E, Remington J, Araujo F, 1986. In vitro and in vivo effect of itraconazole against *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 35: 280–284.
32. Molina J, Martins-Filho O, Brener Z, Romanha AJ, Loebenberg D, Urbina JA, 2000. Activities of the triazole derivative SCH 56592 (posaconazole) against drug-resistant strains of the protozoan parasite *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in immunocompetent and immunosuppressed murine hosts. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 150–155.
33. Molina I, et al., 2014. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic CD. *N Engl J Med* 370: 1899–1908.
34. Sales Junior, PA., et al. Experimental and Clinical Treatment of Chagas Disease: A Review. *Am J Trop Med Hyg*. 2017 Nov;97(5):1289-1303.
35. Moraes CB, Giardini MA, Kim H, Franco CH, Araujo-Junior AM, Schenkman S, Chatelain E, Freitas-Junior LH, 2014. Nitroheterocyclic compounds are more efficacious than CYP51 inhibitors against *Trypanosoma cruzi*: implications for CD drug discovery and development. *Sci Rep* 4: 4703.
36. Morilla MJ, Benavidez P, Lopez MO, Bakas L, Romero EL, 2002. Development and in vitro characterisation of a benznidazole liposomal formulation. *Int J Pharm* 249: 89–99.
37. Morilla MJ, Benavidez PE, Lopez MO, Romero EL, 2003. Liposomal benznidazole: a high-performance liquid chromatographic determination for biodistribution studies. *J Chromatogr Sci* 41: 405–409.
38. Morilla MJ, Montanari JA, Prieto MJ, Lopez MO, Petray PB, Romero EL, 2004. Intravenous liposomal benznidazole as trypanocidal agent: increasing drug delivery to liver is not enough. *Int J Pharm* 278: 311–318.

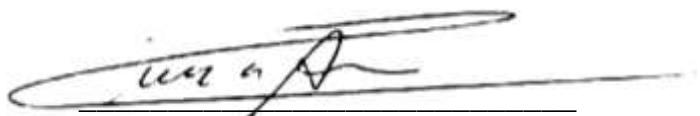
39. Morilla MJ, Prieto MJ, Romero EL, 2005. Benznidazole vs benznidazole in multilamellar liposomes: how different they interact with blood components? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 213–219.
40. Morillo CA, et al.; STOP-CHAGAS Investigators, 2017. Benznidazole and posaconazole in eliminating parasites in asymptomatic *Trypanosoma cruzi* carriers: the STOPCHAGAS Trial. *J Am Coll Cardiol* 69: 939–947.
41. Palace-Berl F, Pasqualoto KF, Jorge SD, Zingales B, Zorzi RR, Silva MN, Ferreira AK, de Azevedo RA, Teixeira SF, Tavares LC. Designing and exploring active N'-(5-nitrofuran-2-yl) methylene] substituted hydrazides against three *Trypanosoma cruzi* strains more prevalent in Chagas disease patients. *Eur J Med Chem.* 2015;96:330-9.
42. Petryna A. Experimentalidade: ciência, capital e poder no mundo dos ensaios clínicos. *Horiz Antropol.* 2011;17(35): 127–60.
43. Pinazo M, Espinosa G, Ga' Ilego M, 2010. Successful treatment with posaconazole of a patient with chronic CD and systemic lupus erythematosus. *Am J Trop Med Hyg* 82: 583–587.
44. Pontes F. Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo. *Inovação em Pauta.* 2009; 6:69–73.
45. Rivarola HW, Fernandez AR, Enders JE, Fretes R, Gea S, Suligoy M, Palma JA, Paglini-Oliva P, 1999. Thioridazine treatment modifies the evolution of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Ann Trop Med Parasitol* 93: 695–702.
46. Rivarola HW, Paglini-Oliva PA, 2001. *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase inhibitors: phenothiazines and related compounds modify experimental CD evolution. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2: 43–52.
47. Salmon-Chemin L, Buisine E, 2001. 2- and 3-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of trypanothione reductase and lipoamide dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: synthesis and correlation between redox cycling activities and in vitro cytotoxicity. *J Med Chem* 44: 548–565.
48. Santa-Rita RM, Lira R, Barbosa HS, Urbina JA, de Castro SL, 2005. Anti-proliferative synergy of lysophospholipid analogues and ketoconazole against

- Trypanosoma cruzi (Kinetoplastida: Trypanosomatidae): cellular and ultrastructural analysis. *J Antimicrob Chemother* 55: 780–784.
49. Santana RS, Leite SN. Prioridades da pesquisa clínica com medicamentos no Brasil e as doenças da pobreza. *Rev Panam Salud Publica*. 2016;40(5):356–62.
50. Saraiva VB, Gibaldi D, Previato JO, Mendonça-Previato L, Bozza MT, Freire-De-Lima CG, Heise N, 2002. Proinflammatory and cytotoxic effects of hexadecylphosphocholine (miltefosine) against drug-resistant strains of *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 3472–3477.
51. Schmidt A, Krauth-Siegel RL, 2002. Enzymes of the trypanothione metabolism as targets for antitrypanosomal drug development. *Curr Top Med Chem* 2: 1239–1259.
52. Soeiro MNC, de Castro SL 2011. Screening of potential anti-*Trypanosoma cruzi* candidates: in vitro and in vivo studies. *Open Med Chem J* 5: 21-30.
53. Souza W, coordenador. Doenças negligenciadas. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências; 2010. Disponível em: <<https://www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-199.pdf>>. Acessado em Novembro, 2018.
54. Turrens JF, Watts Jr BP, Zhong L, Docampo R 1996. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei* NADH fumarate reductase by benznidazole and anthelmintic imidazole derivatives. *Mol Biochem Parasitol* 82: 125-129.
55. U.S. National Institutes of Health. Locations of recruiting studies. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/resources/trends#LocationsOfRecruitingStudies>>. Acessado em Novembro, 2018.
56. Urbina JA, et al., 1998. Antiproliferative effects and mechanism of action of SCH56592 against *Trypanosoma(Schizotrypanum) cruzi*: in vitro and in vivo studies. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 1771–1777.
57. Urbina JA, Docampo R, 2003. Specific chemotherapy of CD: controversies and advances. *Trends Parasitol* 19: 495–501.
58. Urbina JA, Payares G, Sanoja C, Lira R, Romanha AJ, 2003. In vitro and in vivo activities of rauconazole on *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of CD. *Int J Antimicrob Agents* 21: 27–38.

59. Urbina JA, Payares G, Sanoja C, Molina J, Lira R, Brener Z, Romanha AJ, 2003. Parasitological cure of acute and chronic experimental CD using the long-acting experimental triazole TAK-187. Activity against drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strains. *Int J Antimicrob Agents* 21: 39–48.
60. Urbina J, 2009. Ergosterol biosynthesis and drug development for CD. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (Suppl I): 311–318.
61. Viodé C, Bettache N, Cenas N, Krauth-Siegel RL, Chauvière G, Bakalara N, Périé J 1999. Enzymatic reduction studies of nitroheterocycles. *Biochem Pharmacol* 57: 549-557.
62. Wilkinson SR, Kelly JM 2009. Trypanocidal drugs: mechanisms, resistance and new targets. *Expert Rev Mol Med* 11: e31.
63. World Health Organization (WHO). Global report for research on infectious diseases of poverty. Genebra: WHO; 2012. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44850/1/9789241564489\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44850/1/9789241564489_eng.pdf)>. Acessado em Novembro, 2018.
64. World Health Organization (WHO). Chagas disease (American trypanosomiasis), 2014. Disponível em: <<https://www.who.int/chagas/en/>>. Acessado em Outubro, 2018.

Aline Monteiro

Data e assinatura do aluno (a)



Data e assinatura do orientador(a)