

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CURSO DE FARMÁCIA

GUSTAVO RAFAEL ANGELO DINIZ

**COMPOSTOS MULTIALVO CONTRA DOENÇA DE CHAGAS E DOENÇA DO  
SONO: UMA REVISÃO DE LITERATURA**

Maceió - AL

2024

GUSTAVO RAFAEL ANGELO DINIZ

**COMPOSTOS MULTIALVO CONTRA DOENÇA DE CHAGAS E DOENÇA DO  
SONO: UMA REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharelado em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernando da Silva Santos Junior.

Maceió - AL

2024

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

D585c    Diniz, Gustavo Rafael Angelo.  
          Compostos multialvo contra doença de chagas e doença do sono : uma  
          revisão de literatura / Gustavo Rafael Angelo Diniz. – 2024.  
          27 f. : il.

          Orientador: Paulo Fernando da Silva Santos Junior.  
          Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –  
          Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió,  
          2024.

          Bibliografia: f. 25-27.

          1. *Trypanosoma cruzi*. 2. *Trypanosoma brucei brucei*. 3. Doença de Chagas.  
          4. Tripanossomiase africana. 5. Compostos multialvo. I. Título.

CDU: 615.284

## AGRADECIMENTOS

A escrita de uma monografia por vezes é desafiadora, no entanto, este trabalho não serviu apenas como chave para a conclusão de uma graduação, mas também como um meio no qual pude relembrar, todo o esforço e dedicação vivido em tantos anos de estudo, bem como, todas as pessoas que estiveram comigo, direta ou indiretamente, as quais contribuíram para a concretização deste sonho, com isso, expresso meu agradecimento.

A Deus, acima de tudo, por toda providência, cuidado e misericórdia, dada a mim por sua maravilhosa graça.

Aos meus pais, Marcone Diniz e Rosângela Angelo, por todo auxílio, incentivo, apoio e amor dispensados a mim, sem eles não teria condições de ter chegado até aqui.

Ao meu irmão, Bruno Gabriel, por todo companheirismo e ajuda.

Aos meus avós paternos (in memoriam) e maternos, por todo carinho demonstrado e ensino repassado por gerações.

Aos meus tios e primos, dos qual destaco: Tia “Vana” e Rodrigo, Tio “Joé” e “Zéfa”, Tia Loudez e Wilza, bem como Joselmo, China e Ciane, os quais me acompanharam e demonstraram auxílio de uma forma ou de outra, durante toda minha permanência em Maceió.

A José Petrucio, conhecido por “Deu”, que disponibilizou sua casa para que eu pudesse residir de forma estável em Maceió.

A todos amigos que estiveram comigo durante todo esse tempo, dos quais destaco meu grupo de faculdade, formado por: Luis Gustavo, meu primeiro amigo na UFAL, conterrâneo e “chará”; Álvaro Arthur, o que passou comigo por muitos “trabalhos”; e José Vinícius, Jéssica e Mylena, os quais nunca largaram minha mão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Júnior, pela ajuda, amizade e parceria, bem como aos professores: Rui Reys, pelo auxílio deste o início da graduação; Euzébio Goulart, por ter me recebido em seu laboratório como aluno de iniciação científica quando eu ainda cursava o segundo período; Vanderson, Henrique, Larissa, Igor e Isis por todo ensino repassado em laboratório durante os momentos oportunos; ao Professor Edson, que me apresentou a Química de uma forma excepcional; e Edeildo, pelo apoio e ajuda na minha preparação e permanência na pós-graduação.

A todos que estiveram ao meu lado, torcendo e intercedendo com suas orações, meu sincero, obrigado.

“Ele é antes de todas as coisas. Nele, tudo subsiste.”

(Bíblia Sagrada, Colossenses 1:17)

## RESUMO

As doenças tropicais negligenciadas (DTN's) compõem um conjunto de patologias, endêmicas em regiões de vulnerabilidade socioeconômica, das quais se destacam a doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, e a doença do sono, causada pelo *Trypanosoma brucei*. Um dos principais problemas relacionados às DTN's, é a falta de acesso às medidas preventivas pelas doenças citadas, bem como a deficiência de tratamentos medicamentosos para estas. No entanto, apesar de existirem poucos estudos que busquem o desenvolvimento de novos medicamentos para este fim, é possível identificar algumas classes terapêuticas que se mostraram promissoras e estratégicas para contornar a deficiência mencionada. Após revisão de literatura, utilizando base de dados virtuais, como Bentham Science, MDPI e Science Direct, foi possível observar algumas moléculas com ação multialvo frente ao *T. cruzi* ou *T. brucei*. Na doença de Chagas foi possível observar essa ação dos compostos: nitrofuranos, pela inibição da síntese de estereol e indução do estresse oxidativo; benzotioureias, pela inibição da Cruzaína e da CYP51; chalconas, pela inibição também da cruzaína, porém somada à inibição da Tripanotiona redutase; fenilpropanóides, pela inibição de proteínas quinases e indução de reações oxidativas; e por fim o reposicionamento do Metrotexato, por ter inibido as enzimas diidrofolato redutase (DHFR) e pteridina redutase 1 (PTR1). Além disso, foi possível observar a inibição da DHFR e PTR1, também nos estudos voltados ao *T. brucei*, pela ação das lactonas sesquiterpênicas, curcumina, inibidor de Tb DHFR cicloguanil (CYC), pirimetamina (PYR) e alcalóides. No entanto, outros alvos foram inibidos ou induzidos no *T. brucei*, como a inibição das fosfodiesterases 1 e 2 pelo antineoplásico piclamilast; inibição das proteínas quinases e indução de reações oxidativas pela naftoquinona e bifenildiamidina, bem como a ação do composto 16- $\alpha$ -hidroxicleroda-3,13 (14)-Z-dien-15,16-olida, isolado da *Polyalthia longifolia*, o qual foi capaz de induzir a formação de radicais de oxigênio por mais de uma via. No entanto, foi possível destacar a inibição das enzimas DHFR e PTR1, como sendo a ação multialvo mais promissora, tendo em vista que essas enzimas estão presentes tanto no *T. cruzi*, quanto no *T. brucei*, sendo responsável pelo metabolismo do folato, essencial no desenvolvimento parasitário. Por fim, o alcaloide (25) e a Pirimetamina mostraram-se moléculas estratégicas, ao inibirem predominantemente a enzima PTR1, presente apenas nos parasitas, sendo esta preferível como alvo terapêutico.

**Palavras-chave:** *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma brucei*; doença de Chagas; doença do sono; compostos multialvo.

## ABSTRACT

Neglected tropical diseases (NTDs) make up a set of pathologies, endemic in regions of socioeconomic vulnerability, including Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, and sleeping sickness, caused by *Trypanosoma brucei*. One of the main problems related to NTDs is the lack of access to preventive measures for the diseases mentioned, as well as the lack of drug treatments for them. However, although there are few studies that seek to develop new medications for this purpose, it is possible to identify some therapeutic classes that have shown themselves to be promising and strategic in overcoming the aforementioned deficiency. After reviewing the literature, using virtual databases such as Bentham Science, MDPI and Science Direct, it was possible to observe some molecules with multi-target action against *T. cruzi* or *T. brucei*. In Chagas disease it was possible to observe this action of the compounds: nitrofurans, by inhibiting sterol synthesis and inducing oxidative stress; benzothioureas, by inhibiting cruzain and CYP51; chalcones, by also inhibiting cruzain, but in addition to the inhibition of trypanothione reductase; phenylpropanoids, by inhibiting protein kinases and inducing oxidative reactions; and finally the repositioning of Metrotexate, as it inhibited the enzymes Dihydrofolate reductase (DHFR) and Pteridine Reductase 1 (PTR1). Furthermore, it was possible to observe the inhibition of DHFR and PTR1, also in studies focused on *T. brucei*, through the action of sesquiterpene lactones, curcumin, *Tb* DHFR inhibitor cycloguanil (CYC), pyrimethamine (PYR) and alkaloids. However, other targets were inhibited or induced in *T. brucei*, such as the inhibition of phosphodiesterases 1 and 2 by the antineoplastic piclamilast; inhibition of protein kinases and induction of oxidative reactions by naphthoquinone and biphenyldiamidine, as well as the action of the compound 16- $\alpha$ -hydroxycyclohexa-3,13 (14)-Z-dien-15,16-olide, isolated from *Polyalthia longifolia*, which was capable of inducing the formation of oxygen radicals through more than one pathway. However, it was possible to highlight the inhibition of the enzymes DHFR and PTR1, as being the most promising multi-target action, considering that these enzymes are present in both *T. cruzi* and *T. brucei*, being responsible for the metabolism of folate, essential in parasitic development. Finally, the alkaloid (25) and Pyrimethamine proved to be strategic molecules, as they predominantly inhibited the PTR1 enzyme, present only in parasites, which is preferable as a therapeutic target.

**Keywords:** *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma brucei*; Chagas disease; sleeping sickness; multitarget compounds.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Molécula de Nifurtimox. Autor, 2024 .....	16
Figura 2	- Derivados nitrofuranos. Autor, 2024 .....	16
Figura 3	- Estrutura do Folato e Metotrexato. Autor, 2024 .....	17
Figura 4	- Derivados de benzotioureias. Autor, 2024 .....	18
Figura 5	- Chalcona e derivados com substituintes nos anéis fenila. Autor, 2024 ....	18
Figura 6	- Molécula da Piplartina e análogo. Autor, 2024 .....	19
Figura 7	- Molécula de Piclamilast. Autor, 2024 .....	19
Figura 8	- Derivado de Naftoquinona que apresentou o melhor resultado. Autor, 2024 .....	20
Figura 9	- Molécula de bifenildiamidina. Autor, 2024 .....	21
Figura 10	- Moléculas de Disselenetos de diglicosil simétricos. Autor, 2024 .....	21
Figura 11	- Moléculas selecionadas no estudo de Kimuda et.al. Autor, 2024 .....	22
Figura 12	- Algumas interações intermoleculares: Ligações de hidrogênio e Hidrofóbicas do CYC e PYR com a TbPTR1. Autor, 2024 .....	23
Figura 13	- Moléculas naturais com melhor inibição de TbDHFR e TbPTR1: 28 e 29 (Lactonas Sesquiterpênicas (LSTs) e 31 (Curcumina). Autor, 2024 .....	24
Figura 14	- Molécula de 16- $\alpha$ -hidroxicleroda-3,13 (14)-Z-dien-15,16-olida (HDK-20) Autor, 2024 .....	25
Figura 15	- Moléculas promissoras na inibição das enzimas DHFR e PTR1. Autor, 2024.	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC <sub>50</sub>	Concentração Citotóxica a 50%
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória média (50%)
Cl	Átomo de Cloro
CYC	Inibidor de TbDHFR cicloguanil
CYP51	Esterol 14 $\alpha$ -desmetilase
DHFR-TS	Diidrofolato Redutase-Timidilato Sintase
DTN	Doença Tropicai Negligenciada
EC <sub>50</sub>	Concentração efetiva para inibir 50%
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FOL	Folato
FPFS	Enzima farnesil difosfato sintase
IS	Índice de seletividade
k-DNA	DNA do cinetoplasto
LST	Lactonas sesquiterpênicas
MTX	Metotrexato
PDE	Enzima Fosfodiesterase
PTR1	Enzima Pteridina Redutase 1
PYR	Pirimetamina
Tb	<i>Trypanosoma brucei</i>
TbDHFR	<i>Trypanosoma brucei</i> diidrofolato redutase
TbGAPDH	Enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
TbGK	Enzima glicerol-quinase
TbPTR1	<i>Trypanosoma brucei</i> pteridina redutase 1
Tc	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TcCr	<i>Trypanosoma cruzi</i> Cruzaina
TcTR	<i>Trypanosoma cruzi</i> Tripanotiona Redutase

## LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

$\mu\text{M}$  Micro molar

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	14
<b>2.1</b>	<b>GERAIS</b> .....	14
<b>2.2</b>	<b>ESPECÍFICOS</b> .....	14
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	15
<b>4</b>	<b>COMPOSTOS MULTIALVO COM AÇÃO CONTRA DOENÇA DE CHAGAS E DOENÇA DO SONO</b> .....	16
<b>4.1</b>	<b>DOENÇA DE CHAGAS (<i>Trypanosoma Cruzi</i>)</b> .....	16
4.1.1	Nitrofuranos .....	16
4.1.2	Metotrexato .....	17
4.1.3	Benzotioureias .....	17
4.1.4	Chalconas .....	18
4.1.5	Fenilpropanóides .....	18
<b>4.2</b>	<b>DOENÇA DO SONO (<i>Trypanosoma brucei</i>)</b> .....	19
4.2.1	Piclamilast .....	19
4.2.2	Naftoquinonas .....	20
4.2.3	Bifenildiamidina .....	20
4.2.4	Disselenetos e dissulfetos de diglicosil simétricos .....	21
4.2.5	Flavonoides, alcaloides e outras moléculas com ação em TbDHFR e TbPTR1 .....	22
4.2.6	Inibidor de Tb DHFR cicloguanil (CYC) e pirimetamina (PYR) .....	22
4.2.7	Lactonas Sesquiterpênicas (LSTs) e Curcumina .....	23
4.2.8	16- $\alpha$ -hidroxicleroda-3,13 (14)-Z-dien-15,16-olida (HDK-20), isolado da <i>Polyalthia longifolia</i> .....	24
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	26
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27

## 1. INTRODUÇÃO

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN's) compreendem patologias causadas por agentes infecciosos ou parasitários, endêmicas em populações que apresentam baixos índices socioeconômicos. O conjunto de DTN's são responsáveis pela morte de 500 mil a 1 milhão de pessoas por ano. Dentre os fatores que contribuem para esse alto índice de mortalidade, pode-se destacar a falta de acesso às medidas de prevenção bem como ao diagnóstico e tratamento medicamentoso por parte dos indivíduos mais pobres (Ricardo Valverde, Fiocruz, Brasil).

Dentre as DTN's, pode-se destacar as doenças extremamente negligenciadas, nas quais estão inseridas a doença de Chagas e a doença do sono (Ricardo Valverde, Fiocruz, Brasil). Ambas patologias são causadas por parasitas do gênero *Trypanosoma*, tendo em vista que a doença de Chagas tem como agente etiológico o *T. cruzi*, estando cerca de 6 a 7 milhões de pessoas contaminadas por ele em todo o mundo; e a doença do sono, o *T. brucei*, apresentando um histórico de pandemias entre 1896 e 1906, décadas de 1920 e 1970, bem como no final de 1990 (World Health Organization, 2024).

Quanto à transmissão, a doença de Chagas tem como vetor o inseto triatomíneo conhecido popularmente como “barbeiro”. O mesmo, uma vez contaminado, transmite o *T. cruzi* por meio de suas fezes e/ou urina, que somado a outros fatores como: lesões na pele, olhos e boca; alimentos expostos e mau higienizados; aumento populacional e a invasão do habitat natural dos insetos, acabam contribuindo com os altos índices de infecção, os quais correspondem a aproximadamente 75 milhões de pessoas em risco (World Health Organization, 2024).

Em contrapartida, a doença do sono é transmitida pelas moscas Tsé-Tsé portadoras do *T. brucei*. Essas, geralmente habitam a África Subsaariana e contaminam o ser humano também por meio de fezes e/ou urina (World Health Organization, 2024).

Vale destacar, que o tratamento das DTN's correspondem a um pequeno quantitativo de drogas, a exemplo da doença de Chagas que conta apenas com duas opções de fármacos para o seu tratamento, sendo estes os antiparasitários Benznidazol e Nifurtimox. Ambos apresentam uma eficácia considerável quando administrados no início da infecção, porém, reações adversas podem acontecer em até 40% dos usuários e os seus efeitos tendem a diminuir com o tempo de tratamento (World Health Organization, 2024).

A doença do sono por sua vez, não possui um tratamento determinado e padronizado, podendo ser fatal na ausência deste. No geral, a terapia depende do estágio e tipo da doença e dar-se comumente pelo uso de medicamentos destinados a outras doenças, mas que apresentam uma certa eficácia contra o *T. brucei*, como a Pentamidina, Eflornitina,

Fexinidazol, Suramina, Melarsoprol e o próprio Nifurtimox, utilizado no *T. cruzi*. No entanto, ainda podem apresentar efeitos colaterais, adversos, bem como instabilidade terapêutica (World Health Organization, 2024).

A deficiência de fármacos eficazes, que apresentem boa seletividade frente às DTN's, em especial às tripanossomíases, é uma realidade oriunda dos baixos recursos destinados à pesquisa de novos medicamentos para este fim. Contudo, existem estudos, que apresentaram bons resultados e são essenciais para o desenvolvimento atual ou futuro de novos ativos, como a inibição das enzimas Dihidrofolato redutase (DHFR) e Pteridina Redutase 1 (PTR1) relatada em 2017 por Hofman e colaboradores, quando o fármaco Metrotexato se mostrou um inibidor duplo dessas enzimas, bem como por, Kimuda e colaboradores, em 2018/2019, e Tassone e colaboradores, em 2021, os quais inibiram as enzimas mencionadas com outras moléculas de caráter multialvo.

As classes terapêuticas estudadas e relatadas até o presente momento, compõem um arsenal de moléculas, porém, os compostos multialvo, relatados nos estudos supracitados, se mostraram promissores, como os flavonoides, estudados por Kimuda e colaboradores e a Pirimetamina, por Tassone e colaboradores. Tendo em vista que estes, podem possibilitar uma terapia medicamentosa com melhores índices de seletividade, segurança, eficácia e adesão ao tratamento, na medida em que: são projetados com base em alvos enzimáticos específicos, atuam por mais de uma via metabólica e reduzem a necessidade de “renovação” de dose e/ou administração de mais de um medicamento.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. GERAIS**

Compilar dados provenientes de artigos de alto fator de impacto, que apresentem compostos multialvo contra *Trypanosoma Cruzi* (doença de Chagas) ou *Trypanosoma Brucei* (doença do sono).

### **2.2. ESPECÍFICOS**

- Analisar dados compilados referente às classes de moléculas multialvo mais ativas contra *T. cruzi*;
- Analisar dados compilados referente às classes de moléculas multialvo mais ativas contra *T. brucei*;
- Discutir esses dados a nível de estrutura molecular sempre que possível.

### 3. METODOLOGIA

Esta revisão de literatura foi realizada a partir de artigos científicos disponíveis em bases de dados online, os quais foram selecionados através de critérios de busca, bem como de inclusão e exclusão para posterior organização e discussão dos dados.

Quanto à busca dos artigos, a mesma foi realizada nas base de dados: Science Direct, ACS Publications, Bentham Science, MDPI, Nature e Google scholar. Sendo utilizando as seguintes palavras chaves: multitarget and *Tripanossoma cruzi* e multitarget and *Tripanossoma brucei*.

Por fim, foram incluídos os artigos completos publicados a partir de 2008 até 2023, os quais mencionavam as palavras chaves no seu título e/ou texto, apresentando compostos multialvo para uma única doença, seja ela doença de Chagas ou doença do sono. Em contrapartida, foram excluídos os artigos repetidos, bem como os que apresentavam compostos com ação multialvo em mais de uma patologia e espécies parasitárias, tendo em vista que esse tipo de ação não foi contemplado nesse estudo.

#### 4. COMPOSTOS MULTIALVO COM AÇÃO CONTRA DOENÇA DE CHAGAS E DOENÇA DO SONO

Compostos com ação multialvo são aqueles que podem exercer atividade farmacológica por mais de um mecanismo de ação, seja pela inibição de duas enzimas, ou ainda, pela ação em duas vias distintas, como, dano celular e desequilíbrio redox. Uma série de compostos multialvo foram selecionados nesta revisão de literatura, as quais serão descritas a seguir de acordo com a doença as quais foram destinadas (doença de Chagas ou doença do sono), e se mostraram eficazes, estando essas informações organizadas em uma sequência cronológica de estudo e publicação, com exceção apenas do composto natural (32), descrito por último no tópico 4.2.8.

##### 4.1. DOENÇA DE CHAGAS (*Trypanosoma Cruzi*)

###### 4.1.1. Nitrofuranos

Compostos da classe dos heterociclos nitrofuranos, foram sintetizados em 2008 por Gerpe e colaboradores, como potenciais agentes anti *T. Cruzi* de ação multialvo. Desses compostos, apenas as moléculas (2), (3) e (4) foram destacadas, as quais além de induzir o estresse oxidativo, pela redução do grupo nitrofurano, também inibiram a biossíntese de esterol por meio do bloqueio da Esqualeno Epoxidase, enzima vital para o *Trypanosoma Cruzi*. Ensaios realizados com a forma amastigota do parasito, apresentaram valores promissões de  $CI_{50}$  e IS, conforme descrito na Fig. 01. (Gerpe et.al. 2008).

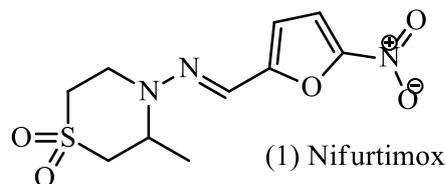


Fig. 01 - Molécula de Nifurtimox. Autor, 2024

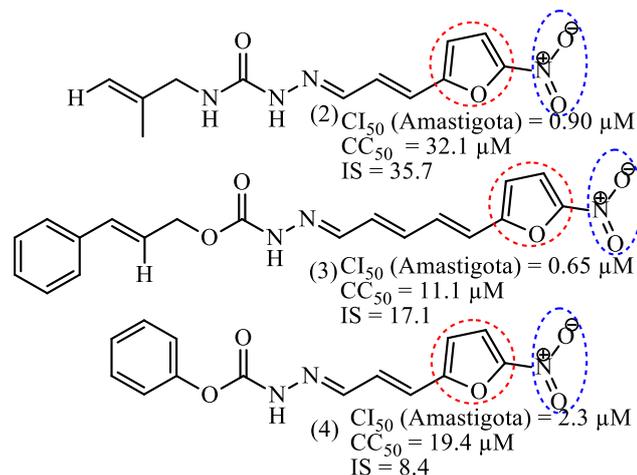
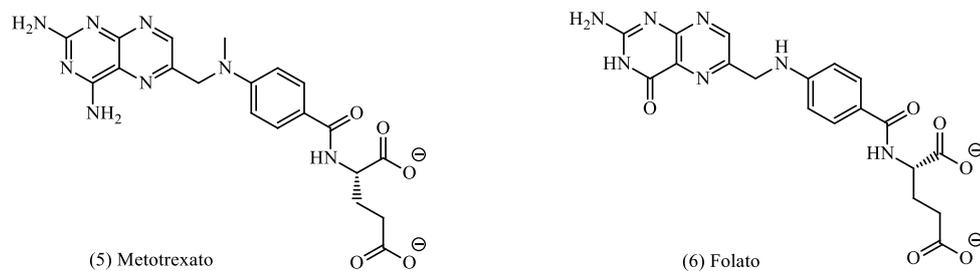


Fig. 02 - Derivados nitrofuranos. Autor, 2024.

#### 4.1.2. Metotrexato

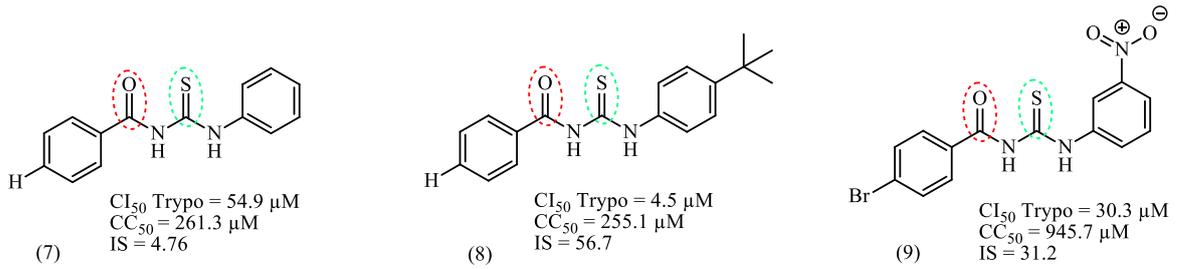
Em 2017, 9 anos depois dos testes com nitrofuranos, Hofman e colaboradores realizaram um mapeamento computacional no qual se estudou o reposicionamento do anticancerígeno Metotrexato (MTX), como um inibidor seletivo no metabolismo do folato em parasitas tripanossômicos. Sendo os principais alvos de ação a pteridina redutase 1 (PTR1), presente apenas nos parasitas, e a Diidrofolato Redutase-Timidilato Sintase (DHFR-TS), comum entre os seres humanos. Essas enzimas ativam o folato (FOL), deixando-o disponível para ser usado em outras reações metabólicas vitais do parasita. No entanto, a inibição eficaz da PTR1 se torna atraente, tendo em vista a redução de efeitos colaterais decorrentes da inibição da DHFR-TS humana. Por fim, apesar do MTX apresentar estrutura molecular semelhante ao folato que é um substrato comum em ambas enzimas, foi possível observar a necessidade de modificações estruturais, ou ainda a utilização deste como modelo para a obtenção de moléculas que atendam às interações Molécula-Alvo. Tendo em vista que apesar de existir interação entre MTX – PTR1, esta não é forte o suficiente para causar uma inibição considerável (Panecka-Hofman et.al. 2017).



**Fig. 03** - Estrutura do Folato e Metotrexato. Autor, 2024.

#### 4.1.3. Benzotioureias

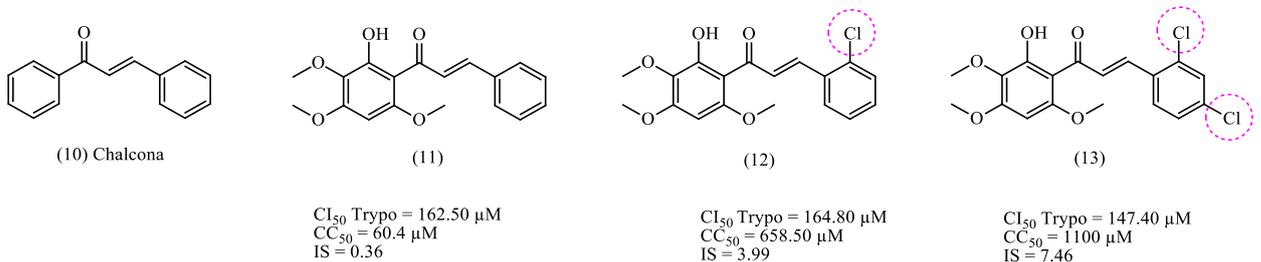
Recentemente, em meados de 2021, Pereira e colaboradores, conduziram um estudo utilizando 16 derivados de Benzotioureias previamente sintetizadas pelo grupo de pesquisa, contra as formas amastigotas e epimastigotas do *T. cruzi*. Onde inicialmente após *testes in vitro* observaram que as moléculas (7), (8) e (9) apresentaram melhores efeitos contra as formas parasitárias estudadas. Após isso, realizaram o mapeamento computacional das três moléculas promissoras, das quais, as moléculas (8) e (9) com  $IS > 10$ , interagiram com a Enzima Cruzaína, mediante ligações de hidrogênio com o átomo de enxofre; e com a Esterol  $14\alpha$ -desmetilase (CYP51), por meio do ancoramento do grupo Fe-heme com a carbonila (Pereira et. al. 2021).



**Fig. 04** - Derivados de benzotioureias. Autor, 2024

#### 4.1.4. Chalconas

Magalhães e colaboradores, estudaram em 2022 novas chalconas, bem como a influência de substituições de cloro nestas moléculas, como potenciais agentes químicos no tratamento do *T. cruzi*. As estruturas estudadas foram: 11 (não substituída), 12 (substituição 4-cloro) e 13 (chalconas 2,4-substituídas com cloro). Após ensaios de ancoragem molecular, foi possível observar que os três compostos interagiram com as enzimas Cruzaina (TcCr) e tripanotona redutase (TcTR). Com o término dos estudos, observou-se que a molécula 13 reduziu o número de amastigotas e células infectadas, causando um aumento das espécies reativas de oxigênio (EROS), disfunção mitocondrial e necrose celular, sendo estes, prováveis efeitos das interações enzimáticas mencionadas. Concluindo então que as substituições de Cl nas posições orto-para do anel fenila da chalcona, foram essenciais para a inibição das enzimas citadas, sendo observado o aumento do índice de seletividade proporcional ao número de substituições (Magalhães et.al. 2022).



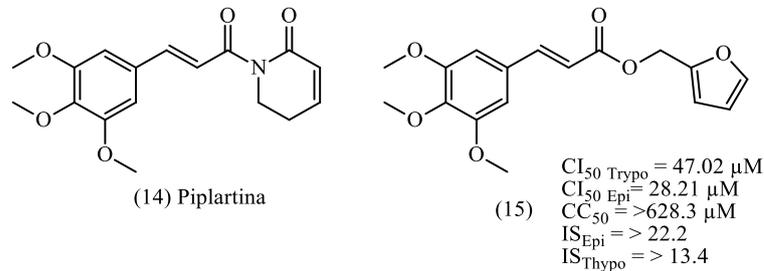
**Fig. 05** - Chalcona e derivados com substituintes nos anéis fenila. Autor, 2024

#### 4.1.5. Fenilpropanóides

Recentemente, em 2023, B.Filho e colaboradores, realizaram a síntese de 13 ésteres análogos à Piplartina, uma imida fenilpropanóide que possui várias atividades biológicas, dentre elas a ação tripanocida. O objetivo do trabalho foi observar a ação desses compostos frente ao *T. cruzi*. Dessa forma, dos 13 compostos sintetizados, apenas a molécula (15) apresentou o melhor resultado, interagindo com: proteínas quinases (CRK1, MPK13 e GSK3B), importantes no ciclo de vida do parasita; proteína AKR, responsável pelo controle

do estresse oxidativo; e enzimas (UCE-1 e UCE-2), as quais são conjugadas a ubiquinona e essenciais no metabolismo parasitário (B. Filho et.al 2023).

Além disso, foi possível observar a inibição das formas epimastigotas e tripomastigotas, por meio dos efeitos de indução do estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. Por fim, valores promissores de seletividade e  $CI_{50}$ , fazem dessa molécula um modelo para o planejamento e síntese de novos fármacos multialvo (B. Filho et.al 2023).

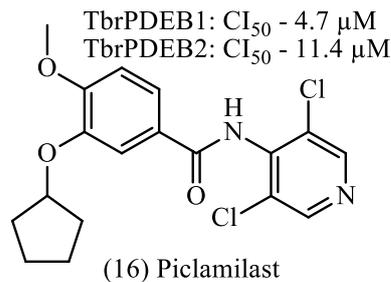


**Fig. 06** - Molécula da Piplartina e análogo. Autor, 2024

## 4.2. DOENÇA DO SONO (*Trypanosoma brucei*)

### 4.2.1. Piclamilast

Em 2011, Bland e colaboradores, realizaram uma triagem referencial de 20 moléculas conhecidas por sua inibição à enzima fosfodiesterase humana (PDE), tendo como base informações genéticas e estruturais do *T. brucei*. Nesse estudo, o piclamilast e alguns análogos, ao passarem por testes de atividade bioquímica e tripanocida, mostraram-se inibir discretamente duas enzimas, a TbrPDEB1 e B2, essenciais para o crescimento do *T. brucei*, Essas moléculas por sua vez, inibiram rapidamente o parasito no sangue periférico, abrindo portas para o desenvolvimento de novos inibidores de TbrPDEB1 e B2, usando a estrutura do fármaco piclamilast como modelo (Bland, Wang, Tallman, Gustafson, Wang, Ashton, Ochiana, McAllister, Cotter e Fang (2011).



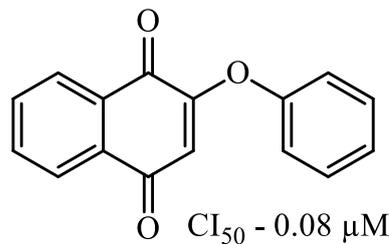
**Fig. 07** - Molécula de Piclamilast. Autor, 2024

#### 4.2.2. Naftoquinonas

A classe de naftoquinonas foram estudadas por Pieretti e colaboradores, entre 2012 e 2013, quando analisaram alguns derivados com potencial ação frente ao parasito *T. brucei*, desses derivados, a molécula (17) mostrou-se eficaz pela inibição da enzima glicerol-quinase (TbGK). A mesma, apesar de não ser um alvo estratégico para ação de fármacos, levando em consideração sua funcionalidade no parasito, apresentou efeitos consideráveis, pela inibição simultânea da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (TbGAPDH), a qual é vital para o *T. brucei* (Pieretti et.al. 2013).

Além da inibição enzimática observada, o composto (17) ainda interagiu com estruturas mitocondriais, gerando o aumento dos radicais de oxigênio, sendo esse um efeito que auxilia diretamente a atividade tripanocida (Pieretti et.al. 2013).

Por fim, concluíram que a inibição da TbGAPDH não é a principal causa da morte parasitária, fazendo-se necessário a realização de mais estudos. No entanto, a naftoquinona se mostrou um protótipo promissor para o desenvolvimento de novos compostos multialvo contra o *T. Brucei* (Pieretti et.al. 2013).



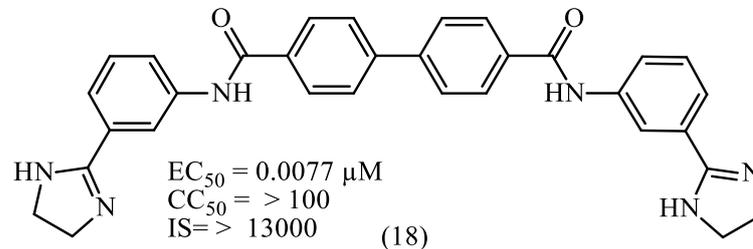
(17)

**Fig. 08** - Derivado de Naftoquinona que apresentou o melhor resultado. Autor, 2024

#### 4.2.3. Bifenildiamidina

Compostos da classe Bifenildiamidina, foram testados por Yang e colaboradores no ano de 2016, sendo estas agentes de ação contra o *T. brucei*. Com isso, observaram que a molécula (18) apresentou os melhores resultados, tendo atividade contra a forma parasitária no sangue periférico. Essa ação se deu pela queda do potencial de membrana mitocondrial, que culmina no bloqueio das reações de fosforilação oxidativa. Outras vias de ação também foram observadas após testes *in vivo* (em camundongos) e *in vitro*, como a inibição da replicação do DNA do cinetoplasto (k-DNA), presente apenas no parasita, bem como a enzima farnesil difosfato sintase (FPPS), responsável pela síntese de isoprenóides e essencial para o crescimento do *T. brucei*. Além disso, apesar da molécula (18) ter apresentado uma discreta

inibição de 2 seguimentos de células humanas, não foi relatado toxicidade nos testes *in vivo* (em camundongos), provavelmente pelo seu alto índice de seletividade (IS), com  $EC_{50}$  de 0,0077. Por fim, concluíram que a inibição do k-DNA, FPPS e a força próton-motriz, são alvos viáveis para o desenvolvimento de novos tratamentos contra o *T. brucei* (Yang et.al 2015).

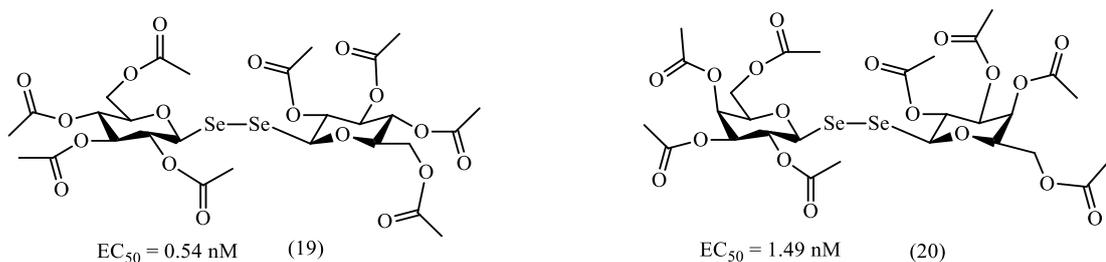


**Fig. 09** - Molécula de bifendiamidina. Autor, 2024

#### 4.2.4. Disselenetos e dissulfetos de diglicosil simétricos

Franco e colaboradores, reportaram em 2017, um estudo que buscou identificar novos compostos com ação em mais de uma via metabólica no tratamento do *T. brucei*, tendo em vista a redução da resistência aos medicamentos por este parasita. No total foram testadas 18 moléculas de disselenetos e dissulfetos de diglicosil simétricos, das quais as moléculas (19) e (20), totalmente acetiladas, apresentaram grande inibição do crescimento parasitário no sangue periférico. Além disso, inibiram o catabolismo da glicose, sem alterar sua absorção, induzindo o desequilíbrio redox (Franco et.al 2017).

Ao comparar as moléculas (19) ( $EC_{50} = 0.54 \text{ nM}$ ) e (20) ( $EC_{50} = 1.49 \text{ nM}$ ) acetiladas, com as mesmas não acetiladas, observou-se que a não acetilada causou uma menor inibição parasitária. Tendo em vista que, enquanto o composto (19) acetilado apresentou inibição parasitária de 97%, a mesma não acetilada inibiu apenas 43%. Em contrapartida, apenas a forma acetilada da molécula (20) apresentou efeitos consideráveis, concluindo que a acetilação das hidroxilas presentes na estrutura central dos açúcares, foi um fator importante para a atividade biológica observada. (Franco et.al 2017).

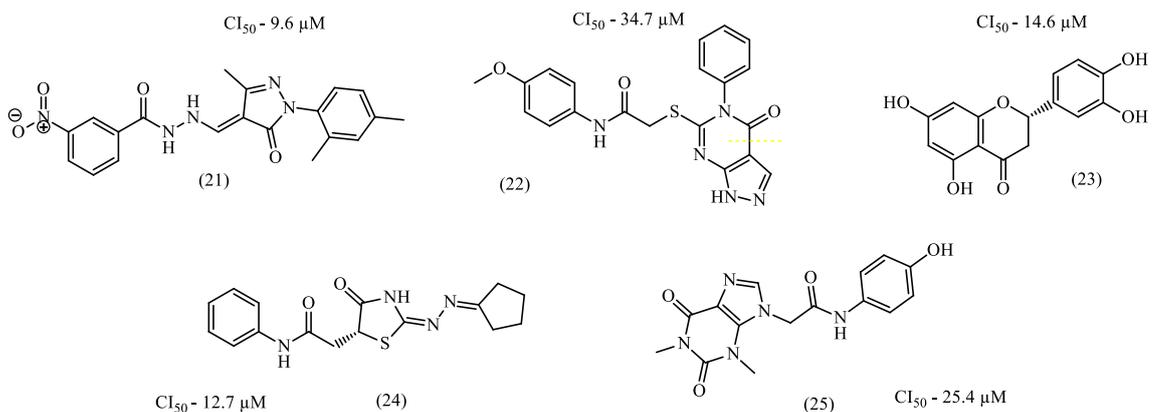


**Fig. 10** - Moléculas de Disselenetos de diglicosil simétricos. Autor, 2024

#### 4.2.5. Flavonoides, alcaloides e outras moléculas com ação em TbDHFR e TbPTR1

Um estudo semelhante ao de Hofman e colaboradores, relatado no tópico 2.1.2, foi executado novamente entre 2018 e 2019 por Kimuda e colaboradores, quando buscaram desenvolver inibidores multialvo das enzimas *Trypanosoma brucei* diidrofolato redutase (TbDHFR) e *Trypanosoma brucei* pteridina redutase 1 (TbPTR1) (Kimuda et.al. 2019).

Ensaio *in silico* de ancoragem molecular foram realizados com 5.742 compostos, dos quais, apenas 18 apresentaram interações promissoras. Após testes de dinâmica molecular, buscando a identificação de ligações intermoleculares, bem como testes *in vitro*, apenas 5 compostos foram capazes de inibir o crescimento do *T. brucei*. Com isso, foi possível indicar a interação dessas moléculas com as enzimas TbPTR1 e TbDHFR, pois, ao ser adicionado um inibidor conhecido de TbDHFR (WR99210), as moléculas (21), (22), (23), (24) e (25) apresentaram uma ação antagonista. Por fim, ainda relataram que a molécula (25) se ligou de forma mais estável na enzima TbPTR1, expressa exclusivamente no parasito, por uma energia de ligação maior que as demais. Em contrapartida, a afinidade com a TbDHFR foi baixa, concluindo que apesar do  $CI_{50}$  do composto (25) não ser o menor, este ainda pode ser o mais seletivo dentre os demais, tendo em vista sua atividade frente a TbPTR1 (Kimuda et.al. 2019).



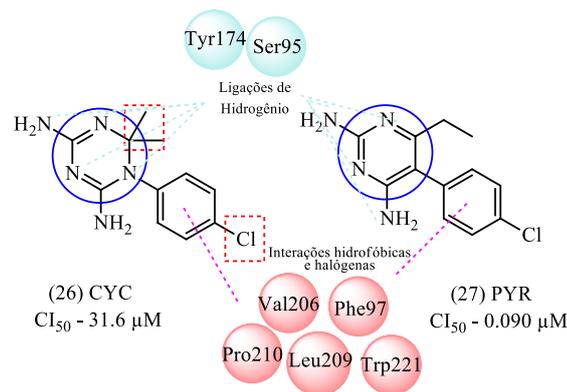
**Fig. 11** - Moléculas selecionadas no estudo de Magambo Phillip Kimuda Et al. Autor, 2024.

#### 4.2.6. Inibidor de Tb DHFR cicloguanil (CYC) e pirimetamina (PYR)

Em 2021, Tassone e colaboradores, buscando outras classes de moléculas capazes de inibir as enzimas *Trypanosoma brucei* dihydrofolate reductase (TbDHFR) e *Trypanosoma brucei* pteridina redutase 1 (TbPTR1), assim como fizera Kimuda e colaboradores, entre 2018 e 2019, analisaram alguns análogos do inibidor cicloguanil de TbDHFR (CYC), tendo em vista testes anteriores que mostravam a inibição de TbPTR1 pelo CYC, bem como a inibição de ambas as enzimas pela pirimetamina (PYR) (Tassone et.al. 2021).

No estudo em questão, foi possível observar as semelhanças estruturais entre os inibidores, tendo em vista que ambas as moléculas possuem um anel diamina de 6 membros ligado a um anel 4-clorofenil, estando a maior diferença no anel pirimidina do PYR, e no anel 1,6-diidrotriazina não aromático no CYC (Tassone et.al. 2021).

No entanto, as interações feitas no sítio de ligação enzimática, são semelhantes conforme indicadas na Fig 12, ainda assim, a inibição da TbPTR1 pelo CYC foi menor que a do PYR, apresentando valores de  $CI_{50}$  distantes um do outro. Por fim, concluíram que os achados foram de grande valia para o conhecimento das possíveis interações intermoleculares entre ligante e TbPTR1, sendo essa um ponto chave para a continuidade dos estudos que envolvem as enzimas TbPTR1 e TbDHFR no controle do *T brucei* (Tassone et.al. 2021).



**Fig. 12** - Algumas interações intermoleculares: Ligações de hidrogênio e Hidrofóbicas do CYC e PYR com a TbPTR1. Autor, 2024.

#### 4.2.7. Lactonas Sesquiterpênicas (LSTs) e Curcumina

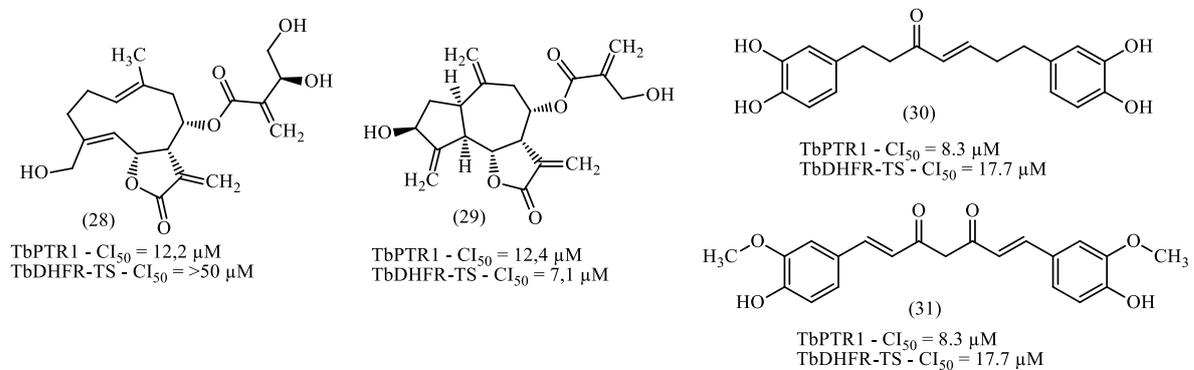
Possart e colaboradores, conduziram em 2021, um experimento semelhante aos estudos de Kimuda et.al. e Tassone et.al, na medida em que avaliaram a inibição das enzimas diidrofolato redutase-timidilato sintase bifuncional (TbDHFR-TS) e pteridina redutase 1 (TbPTR1), pelos compostos de lactonas sesquiterpênicas (LSTs). Das 118 LSTs disponíveis, 10 foram selecionadas por triagem *in silico* e testadas quanto a sua inibição frente as enzimas mencionadas, dos 10 compostos, 5 apresentaram uma boa inibição de TbPTR1, e 3 de TbDHFR-TS. Por fim, a molécula (29) apresentou os melhores resultados, inibindo as duas enzimas com valores de  $CI_{50} = 12,4 \mu\text{M}$  e  $7,1 \mu\text{M}$  para TbPTR1 e TbDHFR-TS respectivamente (Possart et.al. 2021).

Dois anos depois, Possart e colaboradores, realizaram mais um estudo, desta vez buscando compostos naturais em 3 bancos de dados, com atividade inibitória às mesmas enzimas (TbDHFR e TbPTR1). Dos 4.880 compostos triados de acordo com seus grupos

farmacofóricos, 12 foram separados como inibidores duplos para as enzimas do *T. brucei*. Destas, o composto (30) e (31) (curcumina) apresentaram dupla inibição com os menores valores de  $CI_{50}$  para TbPTR1 (Possart et.al. 2021).

Ao observar as estruturas cristalinas das enzimas estudadas, observou-se que os resíduos Phe97 e Phe113 são essenciais para a ligação do folato (substrato natural da enzima), sendo este um sítio de competição com os inibidores, além disso, apesar do sítio de ligação do cofator ter caráter hidrofílico, existem regiões próximas mais lipofílicas, além disso a presença de resíduos de serina, tirosina e lisina (TbSer95, TbTyr174, TbLys178) localizados próximos à região do cofator, contribuem para a formação de ligações de Hidrogênio, conforme ilustra a figura 12.

Por fim, foi possível identificar sítios de ligação estratégicos como o Cys168, para a inibição da enzima TbPTR1, exclusiva no parasita em questão, sendo estes fatores importantes para o desenvolvimento de fármacos seletivos no tratamento multialvo (Possart et.al. 2021).

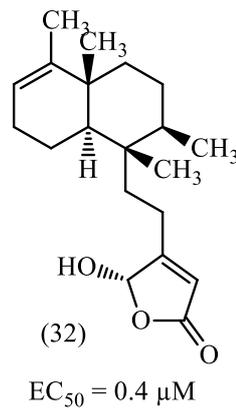


**Fig. 13** - Moléculas naturais com melhor inibição de TbDHFR e TbPTR1: 28 e 29 (Lactonas Sesquiterpênicas (LSTs) e 31 (Curcumina). Autor, 2024.

#### 4.2.8.16- $\alpha$ -hidroxicleroda-3,13 (14)-Z-dien-15,16-olida (HDK-20), isolado da *Polyalthia longifolia*

Ebiloma e colaboradores, estudaram ainda a ação do composto natural 16- $\alpha$ -hidroxicleroda-3,13 (14)-Z-dien-15,16-olida (HDK-20), extraído da *Polyalthia longifolia*, frente ao *T. brucei* no sangue periférico. Com este, observaram uma ação tripanocida em concentrações baixas da molécula, além de: falhas irreversíveis na fase G1 do ciclo celular, danos ao DNA e despolarização mitocondrial, os quais reduzem os níveis de ATP celular. Desta forma, a molécula (32) é ativa por uma ação multialvo, afetando diretamente estruturas essenciais para a permanência do parasita no hospedeiro, porém, faz-se necessário novos

estudos que identifiquem a farmacodinâmica desta molécula, garantindo sua seletividade e segurança (Ebiloma et.al. 2018).



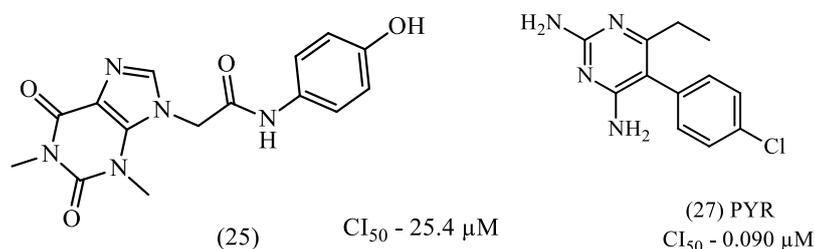
**Fig. 14** - Molécula de 16- $\alpha$ -hidroxicleroda-3,13(14)-Z-dien-15,16-olida (HDK-20). Autor, 2024.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram relatadas nesta revisão de literatura, 27 moléculas potenciais, sendo 11 atuantes no *T. cruzi* e 16 com ação no *T. brucei*. No entanto, das 27, apenas 2 correspondem à medicamentos que já estão em uso e apresentaram ação multialvo frente às doenças mencionadas, sendo estes: Metotrexato, um antineoplásico reposicionado com ação tripanocida frente à doença de Chagas, e o Piclamilast, um inibidor da PDE, reposicionado com ação multialvo na doença do sono. Dos outros 25 ativos, apenas 4 foram compostos naturais efetivos contra o *T. brucei*, já os 21 restantes, sintéticos ou modificados quimicamente.

Quanto aos alvos e mecanismos de ação dos compostos relatados, observa-se que reações oxidativas e inibição das enzimas DHFR e PTR1, são comuns em ambas doenças, sendo relatados em 7 e 4 estudos, respectivamente. Outros alvos foram apresentados em artigos pontuais, como exemplo as enzimas, cruzaina, estudada na doença de Chagas; e as proteínas quinases, na doença do sono, porém, apesar do estresse oxidativo ser mencionado em um número maior de artigos, a inibição da DHFR e PTR1, se mostrou a estratégia mais relevante para o desenvolvimento de novos medicamentos. Essa conclusão é justificada tendo em vista que, parte da sua estrutura cristalográfica, bem como os possíveis grupos farmacofóricos e reações intermoleculares com as enzimas mencionadas, estão relatados na literatura. Além disso, vale mencionar que o alcaloide (25) e a Pirimetamina, apresentaram uma inibição predominante na enzima PTR1, a qual é preferível como alvo terapêutico por ser expressa exclusivamente nos parasitas.

Por fim, vale destacar que as enzimas, DHFR e PTR1, estão presentes em ambos os parasitas (*T. cruzi* e *T. brucei*), e que existe uma certa semelhança nas interações intermoleculares com os ativos estudados. Além disso, os compostos multialvos relatados, mostram à comunidade científica que fármacos que apresentam um amplo espectro de ação, com segurança e eficácia, agindo em mais de um alvo terapêutico, não só são possíveis, como estão próximos de serem identificados e desenvolvidos.



**Fig. 15** – Moléculas promissoras na inibição das enzimas DHFR e PTR1. Autor, 2024.

## REFERÊNCIAS

- B. FILHO, Carlos S. M.; MENEZES, Ramon R. P. P. B. de; MAGALHÃES, Emanuel P.; CASTILLO, Yunierkis P.; MARTINS, Alice M. C.; SOUSA, Damião P. de. **Piplartine-Inspired 3,4,5-Trimethoxycinnamates: trypanocidal, mechanism of action, and in silico evaluation.** *Molecules*, [S.L.], v. 28, n. 11, p. 4512, 2 jun. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28114512>.
- BLAND, Nicholas D.; WANG, Cuihua; TALLMAN, Craig; GUSTAFSON, Alden E.; WANG, Zhouxi; ASHTON, Trent D.; OCHIANA, Stefan O.; MCALLISTER, Gregory; COTTER, Kristina; FANG, Anna P. **Pharmacological Validation of *Trypanosoma brucei* Phosphodiesterases B1 and B2 as Druggable Targets for African Sleeping Sickness.** *Journal Of Medicinal Chemistry*, [S.L.], v. 54, n. 23, p. 8188-8194, 8 nov. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jm201148s>.
- EBILOMA, Godwin U.; KATSOULIS, Evangelos; IGOLI, John O.; GRAY, Alexander I.; KONING, Harry P. de. **Multi-target mode of action of a Clerodane-type diterpenoid from *Polyalthia longifolia* targeting African trypanosomes.** *Scientific Reports*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-1, 15 mar. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-22908-3>.
- FRANCO, Jaime; SARDI, Florencia; SZILÁGYI, László; KÖVÉR, Katalin E.; FEHÉR, Krisztina; COMINI, Marcelo A. **Diglycosyl diselenides alter redox homeostasis and glucose consumption of infective African trypanosomes.** *International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 303-313, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2017.08.001>.
- GERPE, Alejandra; ODREMAN-NUÑEZ, Imeria; DRAPER, Patricia; BOIANI, Lucía; URBINA, Julio A.; GONZÁLEZ, Mercedes; CERECETTO, Hugo. **Heteroallyl-containing 5-nitrofuranes as new anti-*Trypanosoma cruzi* agents with a dual mechanism of action.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 569-577, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2007.07.031>.
- KIMUDA, Magambo Phillip; LAMING, Dustin; HOPPE, Heinrich C.; BISHOP, Özlem Tastan. **Identification of Novel Potential Inhibitors of Pteridine Reductase 1 in *Trypanosoma brucei* via Computational Structure-Based Approaches and in Vitro Inhibition Assays.** *Molecules*, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 142, 1 jan. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24010142>.
- MAGALHÃES, Emanuel Paula; GOMES, Naiara Dutra Barroso; FREITAS, Tiago Araújo de; SILVA, Brenna Pinheiro; RIBEIRO, Lyanna Rodrigues; AMEIDA-NETO, Francisco Wagner Queiroz; MARINHO, Márcia Machado; LIMA-NETO, Pedro de; MARINHO, Emmanuel Silva; SANTOS, Hélcio Silva dos. **Chloride substitution on 2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenylchalcones improves in vitro selectivity on *Trypanosoma cruzi* strain Y.** *Chemico-Biological Interactions*, [S.L.], v. 361, p. 109920, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2022.109920>.
- PANECKA-HOFMAN, Joanna; PÖHNER, Ina; SPYRAKIS, Francesca; ZEPPELIN, Talia; PISA, Flavio di; IACONO, Lucia dello; BONUCCI, Alessio; QUOTADAMO, Antonio; VENTURELLI, Alberto; MANGANI, Stefano. **Comparative mapping of on-targets and off-targets for the discovery of anti-trypanosomatid folate pathway inhibitors.** *Biochimica*

Et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects, [S.L.], v. 1861, n. 12, p. 3215-3230, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.09.012>.

PEREIRA, Patricia M.L.; CAMARGO, Priscila G.; FERNANDES, Bruna T.; FLORES-JUNIOR, Luiz A.P.; DIAS, Luiza R.s.; LIMA, Camilo H.s.; PINGE-FILHO, Phileno; LIONI, Lucy M.y.; YAMADA-OGATTA, Sueli F.; BISPO, Marcelle L.F. **In vitro evaluation of anti-trypanosomal activity and molecular docking of benzoylthioureas**. Parasitology International, [S.L.], v. 80, p. 102225, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2020.102225>.

PIERETTI, Simone; HAANSTRA, Jurgen R.; MAZET, Muriel; PEROZZO, Remo; BERGAMINI, Christian; PRATI, Federica; FATO, Romana; LENA Z, Giorgio; CAPRANICO, Giovanni; BRUN, Reto. **Naphthoquinone Derivatives Exert Their Anti-trypanosomal Activity via a Multi-Target Mechanism**. Plos Neglected Tropical Diseases, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 2012, 17 jan. 2013. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002012>.

POSSART, Katharina; HERRMANN, Fabian C.; JOSE, Joachim; COSTI, Maria P.; SCHMIDT, Thomas J. **Sesquiterpene Lactones with Dual Inhibitory Activity against the Trypanosoma brucei Pteridine Reductase 1 and Dihydrofolate Reductase**. Molecules, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 149, 27 dez. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27010149>.

POSSART, Katharina; HERRMANN, Fabian C.; JOSE, Joachim; SCHMIDT, Thomas J.. **In Silico and In Vitro Search for Dual Inhibitors of the Trypanosoma brucei and Leishmania major Pteridine Reductase 1 and Dihydrofolate Reductase**. Molecules, [S.L.], v. 28, n. 22, p. 7526, 10 nov. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28227526>.

Ricardo Valverde. **Doenças Negligenciadas**, FIOCRUZ. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>.

TASSONE, Giusy; LANDI, Giacomo; LINCIANO, Pasquale; FRANCESCONI, Valeria; TONELLI, Michele; TAGLIAZUCCHI, Lorenzo; COSTI, Maria Paola; MANGANI, Stefano; POZZI, Cecilia. **Evidence of Pyrimethamine and Cycloguanil Analogues as Dual Inhibitors of Trypanosoma brucei Pteridine Reductase and Dihydrofolate Reductase**. Pharmaceuticals, [S.L.], v. 14, n. 7, p. 636, 30 jun. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph14070636>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1). Acesso em: 25 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neglected tropical diseases (NTDs)**. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_3). Acesso em: 12 abr. 2024.

YANG, Gyongseon; ZHU, Wei; WANG, Yang; HUANG, Guozhong; BYUN, Soo Young; CHOI, Gahee; LI, Kai; HUANG, Zhuoli; DOCAMPO, Roberto; OLDFIELD, Eric. **In Vitro and in Vivo Activity of Multitarget Inhibitors against Trypanosoma brucei**. *Acs*

**Infectious Diseases**, [S.L.], v. 1, n. 8, p. 388-398, 31 jul. 2015. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00068>.