



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

VALMIR JOSÉ BEZERRA JÚNIOR

**BENZNIDAZOL ASSOCIADO A OUTROS FÁRMACOS PARA  
O TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS**

Brasília – DF

2018

VALMIR JOSÉ BEZERRA JÚNIOR

**BENZNIDAZOL ASSOCIADO A OUTROS FÁRMACOS PARA  
O TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Enfermagem

**Professora Orientadora: Dra. Flávia Nader Motta.**

Brasília – DF

2018

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e por toda luz que me guia. Agradeço a toda minha família por sempre estar ao meu lado em todos os momentos. Minha mãe Maria e meu pai Valmir, que sempre foram minha inspiração, por todo o amor, coragem e força que representam. Minhas irmãs Moema e Paloma e meus irmãos Múcio e Rayan, e ao Daniel também, por mostrarem a cada dia o que significa família e o mais importante, se fazer família.

Agradeço à Flávia pelos ensinamentos, amizade, por todos os conselhos bem dados e paciência que sempre teve comigo. A todos aqueles que fazem parte do SOU e da Assistência Estudantil que desde o início contribuíram para minha permanência na universidade, em especial à Tamara Miranda por seu olhar tão atento ao próximo. A todos aqueles que compõem o LIPH por todo o carinho e ensinamentos transmitidos. Agradeço ao Jackson e ao Pedro pela Amizade. Ao Jonas por se fazer presente, à Ana, Carla, Larissa, Marjorie e Roberta por se fazerem amor e Luz, à Victória por ser minha eterna dupla. Laís, Tatielle e Valdiane por todo o carinho e amizade. Amélia e Samir pelas referências. E a todos aqueles que tornaram esta conquista possível.

## EPÍGRAFE

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

(Madre Tereza de Calcutá)

## RESUMO

**Introdução:** a doença de Chagas é uma doença parasitária endêmica na América Latina, com cerca de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas. Embora descoberta a mais de 100 anos seu tratamento limita-se ao Benznidazol e Nifurtimox, dois nitro-imidazóis de eficácia limitada que promovem uma série de efeitos adversos importantes. **Objetivo:** o presente trabalho busca evidências que apontam para uma melhora na terapêutica da doença por meio da associação de Benznidazol a outros fármacos. **Metodologia:** para tal foi realizado uma revisão de artigos indexados nas principais bases de dados, em busca de trabalhos que abordam a associação do Benznidazol a outros fármacos no tratamento dessa enfermidade. Em seguida foi realizada a extração padronizada dos dados, análise criteriosa dos resultados e agrupamento em classes. **Resultados:** foram encontrados um total de 17 artigos dos quais 6 deles associados a Benznidazol resultaram em cura, no entanto, outros efeitos sinérgicos foram detectados em boa parte das associações como redução da parasitemia, diminuição dos danos cardíacos e aumento da atividade motora e exploratória em murinos. **Consideração final:** foi possível concluir que os resultados apontam evidências que no futuro podem resultar em terapêuticas mais eficazes, entretanto, os resultados evidenciam em boa parte efeitos sinérgicos expressivos, mas tratam-se de estudos pré-clínicos que precisam seguir em direção as demais fases da pesquisa clínica.

**Palavras chaves:** Benznidazol, doença de Chagas, doenças negligenciadas, sinergismo farmacológico, *Trypanosoma cruzi*.

## ABSTRACT

**Introduction:** Chagas' disease is an endemic parasitic disease in Latin America, with about 6 to 7 million people infected. Although discovered more than 100 years ago, its treatment is limited to Benznidazole and Nifurtimox, two limited-effectiveness nitroheterocyclics that promote a number of important adverse effects. **Objective:** the present work seeks evidence to show an improvement in the treatment of chagas' disease through the association of BZ with other drugs. **Methodology:** a review of articles indexed in the main databases, then standardized extraction of the data, careful analysis of the results and grouping in classes. **Results:** a total of 21 articles were found, 6 of them associated with BZ resulted in cure; however, other synergistic effects were detected in most of the associations, such as reduction of parasitemia, reduction of cardiac damage and increased motor and exploratory activity in murine. **Final considerations:** although the results show a significant synergistic effect, these are preclinical studies that need to follow the other phases of clinical research.

**Key Words:** Benznidazole, Chagas Disease, Neglected Diseases, Pharmacological Synergism, *Trypanosoma cruzi*.

## SUMÁRIO

1. <b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
2. <b>OBJETIVO</b> .....	17
3. <b>METODOLOGIA</b> .....	18
4. <b>RESULTADOS</b> .....	19
Inibidor da $\gamma$ -glutamilcisteína.....	24
Derivados de quinoxalina .....	24
Antidepressivo tricíclico.....	25
Derivados da ureia .....	25
Complexo de rutênio .....	26
Fluoroquinolona .....	27
Anti-histamínico .....	27
Dibenzilidenoacetona .....	27
Anti hipertensivo .....	28
Curcuminoides.....	29
Diamidinas aromáticas e Arilimidamidas .....	31
Inibidores da biossíntese de ergosterol.....	33
Cetoconazol .....	33
Posaconazol .....	34
Itraconazol .....	36
Inibidor da via de recuperação de purina.....	37
Derivados do ácido gálico .....	37
5. <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> no homem.....	10
Figura 2 - Diagnóstico laboratorial para doença de chagas na fase crônica.....	13
Figura 3 - Diferentes mecanismos de ação BZ contra o <i>T.cruzi</i> .....	14

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Relação de artigos encontrados e seus efeitos contra <i>T. cruzi</i> .....	20
<b>Tabela 2</b> - Resultados da associação de Curcumina e BZ em camundongos infectados com <i>T. cruzi</i> . Fonte: Autoria própria. ....	30
<b>Tabela 3</b> - Parasitemia após o uso de DB289 e DB766 associado ou não a BZ. Fonte: Batista et al., 2011. Adaptado.....	31
<b>Tabela 4</b> - Avaliação da mortalidade e cura na utilização de DB89 e DB766 associadas ou não a BZ. Fonte: Batista et al., 2011. ....	32
<b>Tabela 5</b> - Resultado da associação de BZ e Itraconazol contra <i>T. cruzi</i> . Fonte: autoria própria.....	36

## 1. INTRODUÇÃO

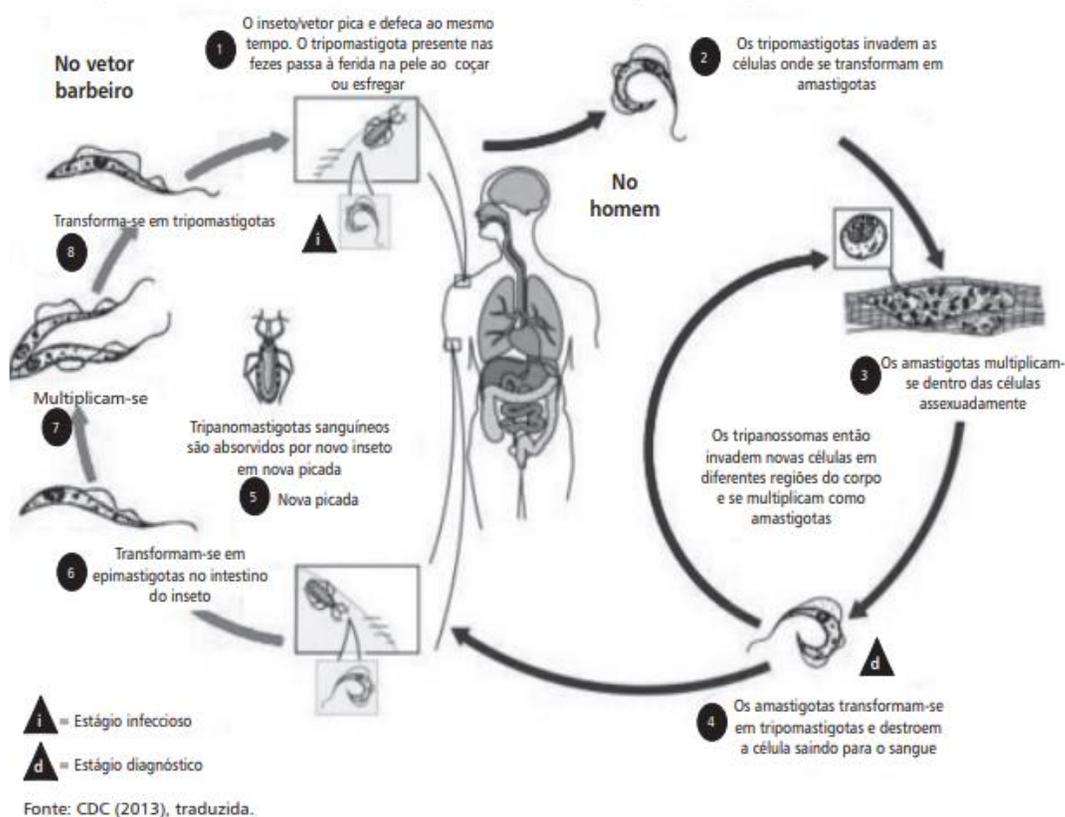
Descoberta em 1909 por Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, sendo batizada com seu nome, a doença de Chagas é uma doença parasitária que tem como agente etiológico o protozoário *Trypanosoma cruzi*. A doença é transmitida por insetos comumente conhecidos como barbeiros pertencentes a família *Reduviidae*, subfamília *Triatominae*. Esses vetores podem transmitir a doença tanto para os seres humanos quanto para animais domésticos como gatos e cães, e animais silvestres, como roedores e tatus (Santos *et al*, 2016).

É uma doença preocupante devido a sua endemicidade na América Latina que se distribui por 21 países como Brasil, Argentina, Bolívia, México, entre outros, com maior frequência nos países continentais. No entanto, outras regiões do mundo sofrem com o aumento no número de casos, como nos Estados Unidos e Europa e até mesmo em países do Pacífico Ocidental. Isso se deve aos movimentos migratórios e ao fluxo de viagens para essas regiões. A prevalência da doença é de cerca de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas, ocasionando 10 mil óbitos por ano. Além disso, 25 milhões de pessoas estão em risco de contrair a doença no mundo (WHO, 2018). No Brasil há estimativas de cerca de 1,5 milhão de pessoas infectadas (WHO, 2015). Outras estimativas relatam um total de 14.000 óbitos por ano na América Latina (SCHMUNIS& YADON, 2010) e cerca de 6.000 óbitos no Brasil (MARTINS-MELO *et al*, 2012).

A endemia da doença de Chagas é resultado de um desequilíbrio ecológico que resultou em prejuízos substanciais que afetaram a sobrevivência dos triatomíneos na natureza. O desmatamento progressivo contribuiu em muito para o estabelecimento desse quadro, uma vez que a redução de animais silvestres resulta em menor quantidade de alimento disponível e a necessidade de se procurar alternativas fez com que esses vetores se aproximassem de residências para se alimentarem de animais domésticos e até mesmo das pessoas que ali residem (WHO, 2018).

As doenças negligenciadas apresentam números alarmantes de cerca de 1 bilhão de pessoas infectadas em todo mundo, que em sua maioria vivem em situação de pobreza. São exemplos destas enfermidades: malária, dengue e hanseníase, além da doença de Chagas. Uma crítica que se faz para a capacidade de superação desse quadro é a dificuldade em transformar o conhecimento obtido nas pesquisas científicas em novas alternativas terapêuticas ou formas de diagnóstico. Esse fato está relacionado com o desinteresse da

indústria farmacêutica devido a baixa garantia de lucro uma vez que a população afetada, em sua maioria, é de baixa renda e residente em países em desenvolvimento (BRASIL, 2010). No entanto, a doença de Chagas tem impacto econômico importante, pois o custo anual no mundo supera U\$ 7 bilhões (LEE *et al*, 2013).



**Figura 1 - Ciclo de vida do *T. cruzi* no homem (BRASIL, 2016).**

A transmissão da doença de Chagas ocorre por diferentes meios: vetorial, via transplante de órgãos, via oral por meio de alimentos contaminados, durante a gestação por via congênita ou por transfusão de sangue (Coura, 2007, de Noya, 2015). Durante o ciclo biológico do *T. cruzi*, conforme a **figura 1**, o parasita transita por hospedeiros vertebrados e invertebrados apresentando diferentes formas. O triatomíneo no momento do repasto, a partir de um mamífero infectado, ingere a forma tripomastigota sanguínea. Posteriormente, no intestino médio do barbeiro, ela vai se diferenciar em epimastigota e, em seguida, em tripomastigota metacíclico, forma infectante que permanece na porção final do trato

digestivo. Em um próximo repasto, ao se alimentar de outro mamífero, os tripomastigotas metacíclicos serão eliminados nas fezes ou na urina podendo infectar o hospedeiro ao entrar em contato com a lesão feita para o repasto ou em contato com as mucosas. O hospedeiro pode adquirir a infecção também por via oral, nesse caso as fezes ou urina do barbeiro contaminadas com o parasita entrarão em contato com alimentos que serão posteriormente ingeridos (Bern, 2015, Coura, 2015, de Souza *et al.*, 2010).

Dentro do hospedeiro, o tripomastigota metacíclico pode infectar diferentes tipos de células nucleadas, dentre elas fibroblastos e macrófagos. Durante o processo de invasão, um passo importante é a formação de vacúolos parasitóforos que envolvem o parasito e que irão se fundir com o lisossomo conferindo as características ácidas necessárias para a diferenciação de tripomastigota metacíclico em amastigotas, a forma replicativa intracelular presente no hospedeiro vertebrado. Após sucessivas divisões e transformação em tripomastigota sanguíneo, o parasita rompe a célula hospedeira sendo liberada na corrente sanguínea, infectando outras células ou o vetor no momento do repasto (Barrias *et al.*, 2013, Bern, 2015).

A doença se divide nas seguintes fases: aguda e crônica. A fase aguda é caracterizada pela alta parasitemia na corrente sanguínea. Geralmente os sintomas são inespecíficos como, por exemplo, vômitos, cefaleia, diarreia, mialgia. No entanto, o paciente pode vir a apresentar manifestações cardíacas como miocardite difusa, arritmias, insuficiência cardíaca, palpitação, tamponamento cardíaco; manifestações pulmonares como tosse, dispneia, derrame pleural; assim como esplenomegalia e/ou hepatomegalia e edema local ou generalizado. Deve-se ressaltar que a doença de Chagas decorrente de transmissão por via oral se torna mais relevante ao elevar a taxa de morbimortalidade, tendo em vista que a insuficiência cardíaca se torna mais frequente e por vezes mais grave; nesse caso pode aparecer também melena, hematêmese e hematoquezia (BRASIL, 2016).

A fase crônica por sua vez, subdivide-se nas formas indeterminada, cardíaca, digestiva e mista (BRASIL, 2016).

A fase indeterminada é o período de latência entre a fase aguda e crônica. Nesse caso, o hospedeiro apresenta sorologia positiva para *T. cruzi*, mas baixa parasitemia. Essa fase pode durar décadas sem manifestação dos sintomas, algo entre 20 e 30 anos. No entanto, 50-60% dos portadores permanecerão nessa fase e os demais seguirão para as

formas crônicas (cardíaca, digestiva ou mista) a uma taxa de 2 a 3% ao ano (BARBOSA *et al.*, 2015).

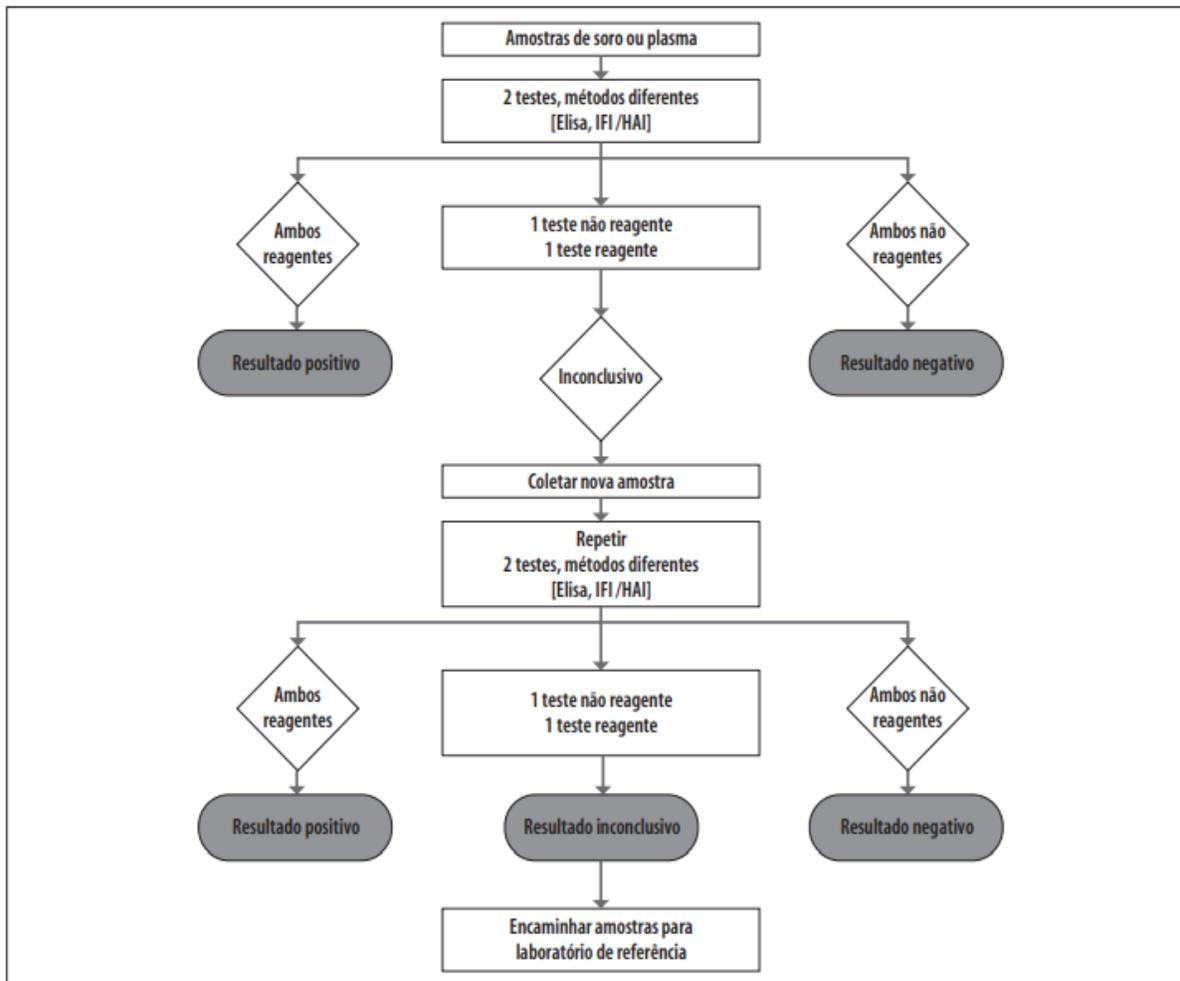
A prevalência da forma cardíaca fica entre 20-30%, sendo a complicação mais frequente e a mais preocupante da doença. As manifestações clínicas podem se dar por meio de arritmias, insuficiência cardíaca, tromboembolismo e, em casos mais graves, pode haver morte súbita (BARBOSA *et al.*, 2015).

A forma digestiva, na maioria das vezes, irá afetar o esôfago e o colón, resultando em megaesôfago e megacolon, respectivamente. Em menor escala afeta o estômago e duodeno, levando aos quadros de megaestomago e megaduodeno, respectivamente. O termo mega se refere a dilatação das vísceras ocas não causadas por obstrução mecânicas. A fisiopatologia é decorrente da destruição do sistema nervoso autônomo, principalmente dos plexos Meissner e Auerbach, que resulta em incoordenação da atividade motora. (BARBOSA *et al.*, 2015). Essa desordem da atividade motora, no caso do megaesôfago, resulta em um mal funcionamento dos esfíncteres esofagianos superior e inferior, afetando o trânsito do bolo alimentar. No entanto, pode ocorrer também azia, sialorreia, desnutrição e regurgitação, resultando em complicações como broncoaspiração e aumento das chances de desenvolver câncer no esôfago. O megacolon atinge cerca de 4% dos pacientes chagásicos, a destruição do plexo neural leva a uma não coordenação dos movimentos peristálticos acompanhados de dilatação e hipertrofia do intestino. Esse quadro de estase intestinal resulta principalmente em obstipação, fecaloma e distensão abdominal. (BARBOSA *et al.*, 2015).

A presença do parasito é um dos fatores responsáveis pelo estabelecimento de lesões no organismo tanto na fase aguda quanto na crônica, por esse motivo recomenda-se o tratamento antiparasitário tanto na fase aguda quanto na crônica. No entanto, quando se fala em cura alguns fatores devem ser considerados, como a fase da doença, o tempo de infecção, a resistência da cepa, os métodos utilizados para atestar a eficácia do tratamento além do tempo de avaliação dos resultados (DIAS *et al.*, 2016).

O diagnóstico na fase aguda pode dar-se de maneira direta ou indireta. Na direta, exames parasitológicos são realizados para detectar a presença do parasita no sangue. Já na indireta, busca de anticorpos IgG e IgM anti-*T. cruzi* são feitas. No entanto, a forma indireta é apenas complementar uma vez que sua indicação se dá somente quando o exame

parasitológico for negativo e ainda houver suspeitas clínicas. São exemplos desses métodos a hemaglutinação indireta ou o método imunoenzimático. Já o diagnóstico da fase crônica, elucidada na figura 2, se dá necessariamente por técnicas sorológicas de alta sensibilidade e/ou especificidade, podendo ser hemaglutinação indireta, assim como imunofluorescência indireta ou ELISA. É preciso que dois desses testes se mostrem reagentes para que haja a confirmação do diagnóstico como demonstrado na **figura 2**. A avaliação do aparelho circulatório por meio de eletrocardiograma, Ecodopplercardiografia e radiografia de tórax para a detecção de aumento da área cardíaca, e distúrbios no ritmo cardíaco e de condução; assim como, a do trato gastrointestinal por meio de técnicas radiológicas de investigação do esôfago e colón para a detecção de megacólon ou megaesôfago são determinantes para a identificação da forma crônica (BRASIL, 2016).



**Figura 2 - Diagnóstico laboratorial para doença de chagas na fase crônica. Fonte: Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015.**

O tratamento da doença está restrito a dois nitro-heterocíclicos: Nifurtimox e Benznidazol (BZ) e permanece o mesmo desde a década de 70. (DOCAMPO; STOPPANI, 1979). Tudo indica que o grupo nitro ( $\text{NO}_2$ ), presente na molécula de BZ, é reduzido ao grupo amino  $\text{NH}_2$  pela ação de nitrorredutases. A enzima NADPH P450 redutase catalisa essa reação transformando o  $\text{NO}_2$  em um intermediário radicalar ( $\text{R-NO}_2^-$ ) e, posteriormente, em hidroxilamina ( $\text{R-NOH}$ ). O efeito tóxico contra o *T. cruzi* se deve a ação do radical nitro  $\text{R-NO}_2^-$  e as ligações covalentes estabelecidas com macromoléculas do parasita como DNA nuclear e mitocondrial, lipídeos e proteínas (CASTRO; DIAZ DE TORANZO, 1988; URBINA, 2002). É sabido que o BZ estimula a liberação de interferon gama ( $\text{INF-}\gamma$ ) acarretando aumento da fagocitose e consequente lise celular do parasito. E por fim, o BZ promove a inibição enzimática de NADH-fumarase redutase que resulta em inibição do crescimento do parasita (RAJÃO et al., 2014; ROMANHA et al., 2002). A figura 3 reúne os principais mecanismos.

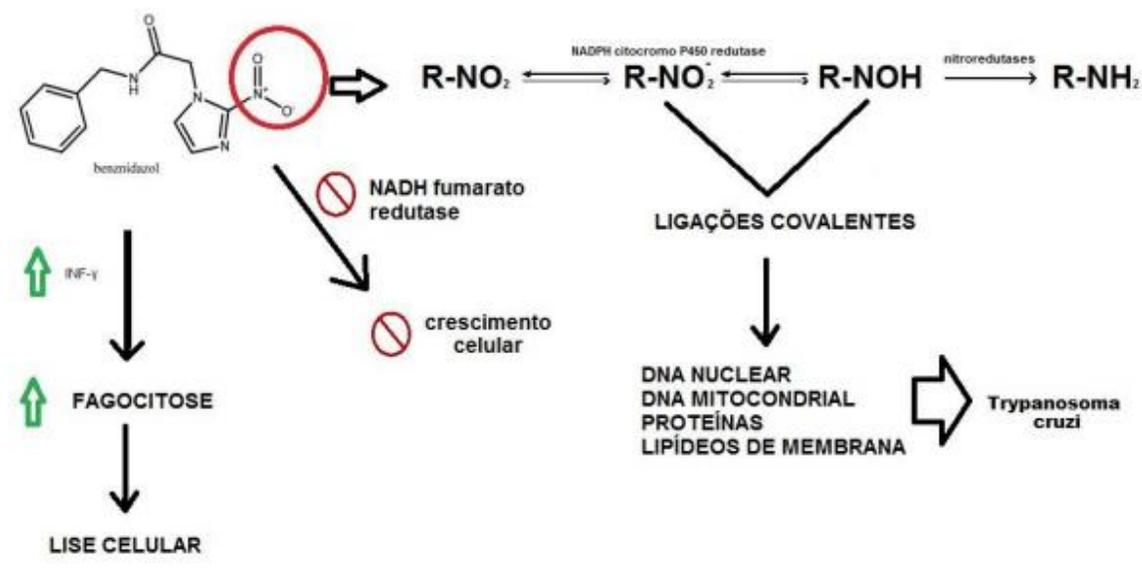


Figura 3 - Diferentes mecanismos de ação BZ contra o *T.cruzi* (DAVANÇO, 2016).

No entanto, o Nifurtimox foi proibido em diversos países dentre eles o Brasil devido à sua genotoxicidade, aos seus efeitos gastrointestinais e sob o sistema nervoso central (DAVANÇO, 2015). O mecanismo de ação do Nifurtimox envolve a redução do grupo

nitro por ação de nitrorredutases o que leva a geração de radicais livres e metabólitos eletrolíticos que acarretam dano oxidativo (Oliveira *et al.*, 2018). O fármaco de primeira escolha é o BZ, mas nos casos de intolerância ou casos refratários ao BZ usa-se o Nifurtimox (BRASIL, 2016).

A forma de apresentação do BZ é de comprimido de 100 mg, e o tratamento consiste em duas a três doses diárias durante 60 dias. Para adultos, a dose é de 5 mg/kg/dia, para crianças, 5-10 mg/kg/dia e para lactantes, 10 mg/kg/dia. A dose máxima de BZ é 300 mg/dia. Os efeitos adversos derivados do uso de BZ são: diarreias, vômitos e náuseas, além de dermatopatias, neuropatia periférica e hipoplasia medular que podem resultar em abandono do tratamento. Embora os efeitos adversos do Nifurtimox sejam semelhantes ao BZ, o Nifurtimox vai provocar efeitos digestivos mais acentuados, além de distúrbios neuropsíquicos e anorexia (BRASIL, 2005). O tratamento com BZ nos casos de transmissão congênita atingiram taxas de cura entre 66 -100% (Chippaux *et al.*, 2010, Schijman *et al.*, 2003. DINIZ, 2013). Durante a fase aguda, a taxa de cura parasitológica é 40-76% (Andrade *et al.*, 1992; Cançado, 2002). Nos casos crônicos recentes de crianças e adolescentes tratados com BZ a cura parasitológica varia entre 62-87% no Brasil e Argentina, mas na Bolívia foi limitada a 5,4%. Uma explicação plausível é a resistência aos fármacos presente nas diferentes cepas (Andrade *et al.*, 1996; Silveira *et al.*, 2000; Streiger *et al.*, 2004; DINIZ, 2013). No caso de pacientes crônicos tardios, as taxas de cura não superaram 19,1%. (DINIZ, 2013).

A pesquisa por novas alternativas terapêuticas contra a doença de Chagas se faz necessária por uma série de razões. Essa patologia atinge um grande contingente populacional dentro e fora das áreas endêmicas, apresenta alta taxa de mortalidade e incapacidade.

É importante destacar que é uma doença negligenciada e, como tal, sofre com a carência nos investimentos destinados à pesquisa, pois o tratamento atual é reduzido ao BZ e Nifurtimox que são fármacos utilizados desde a década de 70 que apresentam altos níveis de toxicidade e efeitos colaterais e, além disso, apresentam pouca efetividade na fase crônica.

Sendo o BZ o fármaco mais seguro e com menos efeitos colaterais em relação ao Nifurtimox, esse trabalho busca referências nas quais a associação do BZ a outros fármacos

possa resultar em maior eficácia. Espera-se que por meio de abordagens que utilizem diferentes mecanismos de ação concomitantemente possa resultar em tratamento menos tóxicos, que aumentam as chances de cura e que possam ser estendidos à fase crônica.

## **2. OBJETIVO**

Diante disso, esse trabalho tem como objetivo o levantamento e análise críticos das produções científicas referentes ao uso do Benznidazol associado a outros fármacos no tratamento da doença de Chagas, e com isso apontar para possíveis alternativas que aperfeiçoem o tratamento atual da doença.

É esperado que os resultados apontem para uma maior taxa de cura, principalmente na fase crônica. Para aqueles que não apresentem cura espera-se efeitos sinérgicos como redução da parasitemia , assim como, redução da progressão das manifestações clínicas da doença.

### 3. METODOLOGIA

A revisão integrativa, que foi metodologia utilizada neste trabalho, foi realizada de acordo com as seguintes etapas: delimitação do tema, busca na base de dados, aplicação dos critérios de inclusão, extração padronizada das informações, análise dos dados orientada pela questão norteadora: “O uso do Benznidazol associado a outros fármacos pode indicar uma melhor alternativa farmacológica em relação a seu uso isolado no tratamento da doença de Chagas” e, por fim, apresentação da revisão.

A busca foi feita nas seguintes bases de dados: PUBMED, Portal de periódicos da CAPES, Portal de periódicos da FIOCRUZ e Biblioteca Virtual em Saúde, utilizando os seguintes descritores MeSH (*Medical Subject Headings*) “Benznidazole” and “drug therapy, combination”. Em seguida, foram aplicados os critérios de inclusão: textos disponíveis na íntegra; artigos publicados em espanhol, francês, inglês ou português; no período de 2000 a 2018; foram excluídas as duplicações. E por fim, foram considerados aqueles que apresentaram adequação ao tema em questão por meio da leitura do título e resumo do trabalho.

Para a extração padronizada dos dados foi elaborado um instrumento (Anexo I), que permitiu a categorização dos resultados de acordo com a classe farmacológica.

#### 4. RESULTADOS

Foram encontrados, 1613 artigos indexados nas bases de dados, dos quais 93 na PUBMED, 6 no PORTAL DE PERIÓDICOS DA FIOCRUZ, 1426 no PORTAL DE PERIÓDICOS DA CAPES e 88 na BVS. Após a seleção orientada pelos critérios de inclusão, restaram um total de 45 artigos, posteriormente, os mesmos foram lidos na íntegra e 17 artigos (BVS 1, PERIÓDICOS DA CAPES 4, PORTAL DE PERIÓDICOS DA FIOCRUZ 0 e PUBMED 12) atenderam a proposta deste estudo.

Dentre os artigos selecionados, seis apresentaram atividade curativa maior quando comparado aqueles trabalhos onde foi utilizada a monoterapia com BZ (Tabela 1). Há uma maior predominância de experimentos *in vivo* em relação aqueles *in vitro*, sendo que todos os experimentos *in vivo* foram realizados em modelo murino. Os compostos utilizados para o tratamento da doença associado ao BZ foram categorizados em 14 classes diferentes de acordo com as informações dos artigos.

**Tabela 1 - Relação de artigos encontrados e seus efeitos contra *T. cruzi***

<b>Artigo</b>	<b>Classe</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Modelo</b>	<b>Fase</b>	<b>Sinergismo</b>	<b>Cura</b>
(FAUNDEZ <i>et al.</i> , 2005)	Inibidor da $\gamma$ -glutamylcisteína sintetase.	Butionina Sulfoximina (BSO)	Inibição da biossíntese de glutatona.	<i>In vitro</i>	Não se aplica	Sim	Não se aplica
(DA SILVA RODRIGUES <i>et al.</i> , 2014)	Derivados de quinoxalina	Quinoxalina 4	Desconhecido	<i>In vitro</i>	Não se aplica	Sim	Não se aplica
(GARCÍA <i>et al.</i> , 2016).	Antidepressivo tricíclico	Clomipramina	Inibidor da tripanotona redutase resultando em aumento de estresse oxidativo.	<i>In vitro In vivo</i>	Aguda	Sim	Não
(SANTOS <i>et al.</i> , 2015)	Derivados da ureia	Suramina	Desconhecido	<i>In vivo</i>	Aguda	Não	Não
(SESTI-COSTA <i>et al.</i> , 2014)	Complexo de rutênio	RuBzNO <sub>2</sub>	Aumenta a hidrossolubilidade do BZ, além de servir como doador de NO exercendo efeito tripanocida.	<i>In vitro e In vivo</i>	Aguda	Sim	Não
(ARAÚJO <i>et al.</i> , 2000)	Fluoroquinolona	Ofloxacino	Inibidor da Topoisomerase II	<i>In vivo</i>	aguda	Não	Não

			bacteriana, no T. cruzi inibe a proliferação e diferenciação.				
(PLANER <i>et al.</i> , 2014)	Anti-histamínico	Clemastina	Inibidor seletivo dos receptores H1	<i>In vivo</i>	Aguda	Não	Não
(PERON <i>et al.</i> , 2017)	Dibenzilidenoacetona	A3K2A3	Possui dois grupos nitro em sua estrutura que vão participar na geração de ROS e consequente estresse oxidativo.	<i>In vitro</i>	Aguda	Sim	Não
(PENITENTE <i>et al.</i> , 2015)	Anti hipertensivo	Enalapril	Inibição da via do citocromo P450. E ainda diminuição do processo inflamatório.	<i>In vivo</i>	Aguda e Crônica	Sim	Não
(ALVES <i>et al.</i> , 2012)	Anti-hipertensivo	Espironolactona	Antagonista dos receptores de aldosterona.	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Não
(NOVAES <i>et al.</i> , 2016)	Curcuminoides	Curcumina	Potencialização das respostas imunológicas inatas e adaptativas.	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Sim

(BATISTA <i>et al.</i> , 2011)	Diamidinas aromáticas e arilimidamidas	DB289 e DB766	Ligação nas moléculas de DNA em tripanossomatídeos.	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Sim
(DA SILVA <i>et al.</i> , 2012)	Arilimidamidas	DB1831 e DB1965	Ligação nas moléculas de DNA em tripanossomatídeos.	<i>In vivo</i>	Aguda	Não	Não
(ARAÚJO <i>et al.</i> , 2000)	Inibidores da biossíntese de ergosterol	Cetoconazol	Inibição da esterol C14 $\alpha$ - desmetilase CYP51	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Sim
(DE FIGUEIREDO DINIZ <i>et al.</i> , 2013)	Inibidores da biossíntese de ergosterol	Posaconazol	Inibição da esterol C14 $\alpha$ - desmetilase CYP51	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Sim
(BUSTAMANTE <i>et al.</i> , 2013)							
(PLANER <i>et al.</i> , 2014)							

(MARTINS <i>et al.</i> , 2015)	Inibidores da biossíntese de ergosterol	Itraconazol	Inibição da esterol C14 $\alpha$ - desmetilase CYP51	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Sim
(BUSTAMANTE <i>et al.</i> , 2013)  (PLANER <i>et al.</i> , 2014)	Inibidor da via de recuperação de purina.	Alopurinol	Inibição de proteína e RNA, pela ação da enzima Hipoxantina-guanina que vai integrar o alopurinol ao DNA do parasita.	<i>In vivo</i>	Aguda	Sim	Sim
(ANDRÉO <i>et al.</i> , 2015)	Derivados do ácido gálico	Ésteres de ácido gálico.	Indução de apoptose e inibição da esqualeno epoxidase que é uma enzima envolvida na biossíntese de ergosterol.	<i>In vitro</i>	Não se aplica	Sim	Não

### ***Inibidor da $\gamma$ -glutamilcisteína***

A Butionina Sulfoximina (BSO) é um inibidor da  $\gamma$ -glutamilcisteína, interrompendo assim a biossíntese de glutathione. A glutathione é uma molécula necessária no processo de neutralização dos radicais de oxigênio, diminuindo possíveis danos causados por estresse oxidativo no parasita (FAUNDEZ *et al*, 2005).

FAUNDEZ *et al.* (2005) buscaram avaliar a toxicidade do Nifurtimox e do Benznidazol isoladamente ou associados a BSO sobre as formas tripomastigotas, amastigotas e epimastigotas de *T. cruzi*. Testes *in vitro* revelaram que o uso associado de BSO com BZ resultou em aumento de até duas vezes a toxicidade em epimastigotas. Na forma tripomastigota, houve diminuição da motilidade (observada por microscopia direta) e a toxicidade foi aumentada em torno de 3-4 vezes. Na presença de BSO e BZ, a quantidade de células infectadas e a quantidade de parasitos intracelulares foram reduzidas em 43% e 84%, respectivamente. Esses resultados apontam para um sinergismo entre BSO e BZ, isso se deve à inibição do sistema de proteção contra radicais de oxigênio do parasita, o que leva a danos devido ao estresse oxidativo.

### ***Derivados de quinoxalina***

DA SILVA RODRIGUES *et al.* (2014) investigaram a atividade do derivado de quinoxalina o 4(3-cloro-6-metoxi-2 (metilsulfonil) chamado de quinoxalina 4 contra a cepa Y de *T. cruzi*. Em epimastigotas, o crescimento foi inibido e o composto promoveu alterações estruturais como enrugamento da superfície celular e diminuição do corpo. Foi verificado também presença de autofagossomos e desorganização do complexo de Golgi. Os efeitos deste composto foram maiores que o BZ isolado. A viabilidade das formas tripomastigotas foi inibida com IC<sub>50</sub> de 7.1  $\mu$ M, no entanto, quando testado na presença de sangue, os derivados de quinoxalina apresentaram redução na sua atividade tripanocida com IC<sub>50</sub> de 109.5  $\mu$ M. Além disso, a análise em microscópio eletrônico de varredura permitiu a observação do encurtamento e enrolamento do corpo celular. As formas amastigotas, quando tratadas com quinoxalina 4, mostraram uma redução do número de células infectadas e ainda da replicação no interior das células hospedeiras, observando-se uma redução de 50% da replicação com 2.6  $\mu$ M. No ensaio de citotoxicidade foi demonstrado que quinoxalina 4 é mais ativa contra o parasito do que tóxica para as células hospedeiras. O teste de hemólise demonstrou uma taxa < 3% na presença. Esses dados

apontam para uma maior seletividade e segurança da quinoxalina 4. Os tratamentos com quinoxalina 4 associado ao BZ mostraram sinergismo contra as formas epimastigotas e tripomastigotas.

### ***Antidepressivo tricíclico***

Clomipramina é um inibidor da tripanotona redutase, enzima que desempenha papel importante na biossíntese de tióis com efeito antioxidante para controle do estresse oxidativo (DIAS *et al*, 2009).

GARCÍA *et al*. (2016) avaliaram a associação de BZ e Clomipramina (CMP) em modelo *in vitro* e *in vivo* utilizando a cepa Tulahuen. *In vitro*, a associação do BZ com CMP demonstrou efeito sinérgico contra a forma tripomastigota e amastigotas. Para os testes *in vivo* foram realizados dois experimentos. No primeiro, camundongos foram tratados com doses variáveis de BZ isoladamente ou em associação à 7,5 mg/kg CMP (dose fixa). Foi verificado um sinergismo quando 25 ou 12,5 mg/kg/dia BZ foi associado com 7,5 mg/kg CMP. A combinação levou à redução da parasitemia sendo que este efeito não foi verificado na monoterapia com BZ. No segundo, a dose de BZ foi fixa (25mg/kg) e a de CMP variou. Neste modelo, as combinações atingiram resultados satisfatórios, pois suprimiram a parasitemia, com exceção do esquema 25 mg/kg/dia BZ + 2,5 mg/kg CMP que apenas reduziu a parasitemia. Neste mesmo trabalho também foi desenvolvido um modelo para a fase crônica da doença. Aqueles animais que receberam a associação 25 mg/kg/dia BZ + 7,5 mg/kg CMP apresentaram diminuição do peso do coração, da atividade da creatinoquinase isoenzima MB (CK-MB), que é um biomarcador de lesão cardíaca. A técnica de PCR também demonstrou redução da parasitemia no tecido cardíaco nesta associação.

### ***Derivados da ureia***

SANTOS *et al*. (2015) investigaram o uso associado ou não a BZ em camundongos infectados por *T. cruzi*. Normalmente, quando ocorre lise celular há uma liberação de ATP extracelular que age como sinalizador para a liberação de citocinas pró-inflamatórias por ativação de receptores purinérgicos do tipo P2 do hospedeiro, que auxiliam no processo de contenção do processo infeccioso. No entanto, o *T. cruzi* possui ectonucleotidases que são enzimas capazes de

hidrozilar o ATP afetando esse mecanismo de resposta imune. Trabalhos anteriores viram que a Suramina, um derivado da uréia, atua como antagonista dos receptores P2 e como inibidore das ectonucleotidases do parasita. Neste trabalho, verificou-se em modelo murino, que aqueles infectados e tratados com a Suramina isolada ou associada a BZ apresentavam maiores níveis de parasitemia quando comparados ao controle infectado/não tratado. Quantidade de DNA do parasita no tecido cardíaco foi inversamente proporcional à dose de BZ administrada, ou seja, quanto menor a dose de BZ, maior a presença do DNA do parasito. Para aqueles tratados somente com Suramina foram verificados valores mais altos de DNA do parasito e uma taxa de mortalidade de 60% enquanto aqueles não tratados apresentaram 40%. A Suramina sozinha revelou uma piora do quadro inflamatório do coração quando comparado ao tratamento associado ou não ao BZ. O grupo não tratado e aquele tratado somente com Suramina apresentaram aumento das citocinas pro-inflamatórias IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 enquanto o BZ ou BZ associado a Suramina foi capaz de reduzir os níveis dessas citocinas. A terapia associada e o BZ reduziram os níveis IFN- $\gamma$ . Quanto aos valores de CK-MB, a monoterapia apresentou maiores valores o que pode ser interpretado como um indício de lesão cardíaca. Sendo assim nesse modelo murino a Suramina exerce um efeito antagônico quando associado ao BZ, e quando utilizada sozinha promove uma piora do quadro infeccioso.

### ***Complexo de rutênio***

SESTI-COSTA *et al.* (2014) demonstraram que RuBzNO<sub>2</sub>, é uma estrutura molecular capaz de aumentar a hidrossolubilidade do BZ. Na sua estrutura está presente também molécula de óxido nítrico que exerce um efeito tripanocida também. Nesse trabalho, foi evidenciado um maior efeito tripanocida contra tripomastigotas da cepa Y em relação ao BZ, sendo o IC<sub>50</sub> do RuBzNO<sub>2</sub> igual a 7,28 mM já o do BZ, 110,48 mM. Além disso o RuBzNO<sub>2</sub> apontou para uma maior segurança já que a citotoxicidade foi observada somente em doses a partir de 250 mM. Células Vero infectadas com *T. cruzi* e incubadas com 50 mM RuBzNO<sub>2</sub> apresentaram maior concentração de NO, houve também redução no número de células infectadas, além da replicação de amastigotas, enquanto o BZ teve o mesmo efeito somente em concentrações de 200 mM.. Testes *in vivo* utilizando camundongos infectados com a cepa Y e tratados por 10 dias com a mesma concentração de RuBzNO<sub>2</sub> 4  $\mu$ mol/Kg ou BNZ 4  $\mu$ mol/Kg evidenciaram que RuBzNO<sub>2</sub>

garantiu uma maior redução na parasitemia e uma maior sobrevida. Outro aspecto importante é que 20 dias após a infecção o RuBzNO<sub>2</sub> 4 µmol/Kg foi mais eficiente na diminuição do infiltrado inflamatório no tecido cardíaco e na concentração de CK-MB comparado ao BNZ 4 µmol/Kg.

### ***Fluoroquinolona***

ARAÚJO *et al.* (2000) fizeram um estudo para avaliar o tratamento com BZ + Ofloxacino, uma fluoroquinolona que atua como inibidor da topoisomerase II bacteriana e que no *T. cruzi* inibe a proliferação e diferenciação do parasita. Camundongos foram divididos em grupos de 10-14 animais e infectados com diferentes cepas de *T. cruzi* (CL Brener, Y e Colombiana). Uma hora após o tratamento com BZ, o Ofloxacino era administrado. O esquema de tratamento foi iniciado logo após a detecção da parasitemia (12-15 dias para CL e Colombiana e 8-10 dias para Y) e durou 20 dias. Foram montados diferentes esquemas: BZ 25mg/kg, BZ 50mg/kg, BZ 100 mg/kg, e as associações dessas doses de BZ com 100 mg/kg de Ofloxacino. Os camundongos para serem considerados curados tinham que apresentar hemocultura, xenodiagnóstico e anticorpos anti-tripomastigotas negativos. No entanto, não foram verificadas diferenças de cura em nenhuma das três cepas usando o Ofloxacino isolado ou em associação com BZ.

### ***Anti-histamínico***

PLANER *et al.* (2014) investigou a associação de Clemastina, um inibidor seletivo dos receptores H1, a BZ. Para tanto, foi utilizado um modelo *in vivo* para testar os efeitos da associação de 5 mg/kg Clemastina + 5 mg/kg BZ no tratamento da doença. Os compostos foram administrados por via oral durante 5 dias em camundongos infectados com a cepa Tulahuen. No entanto, a Clemastina não demonstrou efeito sinérgico junto com BZ.

### ***Dibenzilidenoacetona***

As dibenzilidenoacetona são compostos de estrutura semelhantes aos curcuminoides, e possuem atividade antitumoral, antiplasmodial e tripanocida. Nesse trabalho, o composto (1E,4E)-2-methyl-1,5-bis(4nitrophenyl) penta-1,4-dien-3-one ou (A3K2A3) foi capaz de inibir a

proliferação da forma epimastigota com desempenho superior ao do BZ, uma vez que o IC<sub>50</sub> do **A3K2A3** foi de 1.99µM enquanto o BZ foi IC<sub>50</sub> 6.4µM. A proliferação de formas amastigotas também foi inibida, isso foi evidenciado pela redução do número de células infectadas além da redução da carga parasitária por célula, apresentando um IC<sub>50</sub> 1.2µM. Um dado importante é que A3K2A3 não apresentou toxicidade para célula hospedeira LLCMK2 e tampouco induziu hemólise, mesmo em altas doses como 1 mM. O tratamento do BZ + A3K2A3 apresentou um efeito sinérgico para tripomastigotas, enquanto para epimastigotas e células LLCMK2, o efeito foi antagônico. Esse efeito sinérgico para a forma tripomastigota é de importante destaque por esta ser a forma infectiva do parasita no hospedeiro vertebrado (PERON *et al.*, 2017).

### ***Anti hipertensivo***

PENITENTE *et al.* (2015) avaliaram os aspectos inflamatórios de camundongos tratados com Enalapril sozinho ou associado ao BZ. Enalapril é um inibidor da enzima conversora de angiotensina exercendo um efeito anti-hipertensivo. É sabido também que em modelo murino de miocardite aguda uma melhora do quadro foi verificada devido a um efeito modulador do sistema imune em que houve redução do infiltrado de leucócitos e de citocinas circulantes. Para isso 5 grupos de camundongos foram infectados com a cepa VL-10, e posteriormente tratados por 30 dias com diferentes esquemas (infectado tratado com veículo, Enalapril 25mg/kg/dia, BZ 100 mg/kg/dia, Não infectado tratado com veículo) e analisados após 120 dias. Não houve diferenças no pico de parasitemia daqueles grupos tratados com BZ, Enalapril ou BZ + Enalapril. Nos camundongos infectados, os níveis de quimiocinas pró-inflamatórias e IL-10 foram maiores no dia 120 quando comparado aos não infectados. No entanto, aqueles tratados com BZ, Enalapril ou BZ + Enalapril demonstraram menor infiltrado de leucócitos no musculo cardíaco. Camundongos infectados e tratados com BZ, Enalapril ou BZ + Enalapril apresentaram uma redução na produção de colágeno tipo I e II no tecido cardíaco comparado com o grupo infectado e não tratado. No entanto, não houve diferenças significativas entres as terapêuticas adotadas. Nos camundongos infectados houve um aumento das quimiocinas pro-inflamatórias CCL2 e CLL5, o grupo que recebeu a associação de BZ + Enalapril conseguiu reduzir os níveis dessas quimiocinas. A produção de IL-10 foi elevada tanto nos grupos infectados tratados como aqueles não tratados. O tratamento com BZ ou enalapril isoladamente foi capaz de reduzir os níveis de

Proteína C-reativa(CRP), já nos grupos tratados com a associação desses dois fármacos houve redução dos biomarcadores de lesão cardíaca CK, CK-MB e CRP.

Espironolactona é um antagonista dos receptores de aldosterona aumentando a reabsorção renal de potássio, foi descrito que em modelo de infecção tratados com esse fármaco houve redução de 40% da mortalidade. ALVES *et al.* (2012) buscaram uma avaliação da condição física, por meio de parâmetros não invasivos (peso corporal, consumo de água e ração, atividade motora, exploratória e temperatura corporal), de camundongos portadores da doença de Chagas na fase aguda após tratamento associado de BZ 100 mg/kg/dia e Espironolactona 20 mg/kg/dia (*SP*). Para isso, camundongos foram divididos em :não infectados e não tratados (*N*); Infectado e não tratado (*Inf*); camundongos infectados e tratados com Bz (*Inf/Bz*); camundongos infectados e tratado com Espironolactona (*Inf/Sp*) e Camundongos infectados e tratado como Bz e Espironolactona (*Inf/Bz/Sp*). Os grupos *Inf* e *Inf/BZ* apresentaram valores de parasitemia semelhantes, atingindo pico no 8º dia de tratamento. Os grupos *Inf/BZ* e *Inf/BZ e SP* apresentaram baixa parasitemia até o 7º dia e indetectável no 8º dia. Em relação à mortalidade cumulativa: *Inf* apresentou 80, *Inf/SP* 40, *Inf/BZ e Inf/BZ e SP* 0%. Em relação ao ganho de peso: *N* ↑3,4 g; *Inf* ↓2,8 g; *Inf/SP* ↓1,6 g, *Inf/BZ* ↑3,7 g; e *Inf/BZ e SP* ↑4,7g. Sobre o consumo de ração e água: *Inf* ↓2,8g e 3ml; *Inf/BZ* ↓2,1g e 1,7ml; *Inf/SP* ↓1g e 1ml; *Inf/BZ e SP* sem alteração. Por último, na avaliação sobre atividade física: *Inf/BZ e SP* apresentou uma maior atividade física e maior interesse exploratório em comparação a *Inf/BZ*. Diante disso, a associação de BZ com Espironolactona quando comparada a monoterapia com BZ promove uma melhora da condição física quando se destaca o aumento da atividade motora, o aumento do ganho de peso e maior interesse exploratório.

### ***Curcuminoides***

A Curcumina é um composto bioativo extraído da planta *Curcuma longa*, e possui propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e antioxidantes. Camundongos infectado com a cepa Y de *T. cruzi* foram tratados, com os esquemas ilustrados na **tabela 2**, por cerca de 20 dias (NOVAES *et al.*, 2016).

**Tabela 2 - Resultados da associação de Curcumina e BZ em camundongos infectados com *T. cruzi*. Fonte: autoria própria.**

Esquema	Mortalidade em %	Ausência de parasitemia sanguínea em %	Recrudescimento em %	Cura em %
Não infectado	0%	-	-	-
Infectado e não tratado	58.33%	0%	-	-
BZ 100 mg/kg/dia	0%	100%	25%	8.33%
BZ 50 mg/kg/dia	0%	100%	66,67%	58.33%
Curcumina 100 mg/kg/dia	25%	75%	75%	0%
BZ 100 mg/kg/dia + Curcumina 100 mg/kg/dia	0%	100%	0%	83.33%
BZ 50 mg/kg/dia + Curcumina 100 mg/kg/dia	0%	100%	0%	41.67%

Afim de avaliar o recrudescimento da infecção aqueles camundongos que continuaram com parasitemia negativa foram submetidos a uma sequência de três experimentos: primeiro a parasitemia foi monitorada por 20 dias após o tratamento, em seguida aqueles que continuavam com parasitemia negativa foram imunossuprimidos com Ciclofosfamida, e por último foram analisados por hemocultura os camundongos que continuavam com parasitemia negativa. Para ser considerado curado o camundongo deveria ser aprovado nos testes de recrudescimento e ainda apresentar parasitemia indetectável por PCR (NOVAES *et al.*, 2016).

Como pode ser visto na **tabela 2** a associação de BZ à Curcumina possui um efeito sinérgico quando se leva em consideração principalmente a reativação da parasitemia e a taxa de cura daqueles camundongos tratados somente com BZ e aqueles tratados com as associações (NOVAES *et al.*, 2016).

### ***Diamidinas aromáticas e Arilimidamidas***

BATISTA *et al.* (2011) submeteram camundongos infectados com parasitos da cepa Y a diferentes esquemas de tratamentos associando BZ com DB289 e DB766. Todos os tratamentos eram iniciados no 5º dia após a infecção e tiveram duração de 20 dias. Os critérios de cura foram PCR e ensaio de hemocultura negativos realizados 40 dias após o tratamento, sendo obrigatório a negatificação dos dois resultados. Na tabela 3 é possível ver a redução dos níveis de parasitemia sendo possível destacar o efeito sinérgico da associação de DB289 e DB766 com BZ.

**Tabela 3 - Parasitemia após o uso de DB289 e DB766 associado ou não a BZ. Fonte: adaptado Batista *et al.*, 2011.**

<b>Esquema</b>	<b>Via</b>	<b>Redução da parasitemia em %</b>
BZ 50 mg/kg	Oral	93%
DB766 50 mg/kg	Intraperitoneal	99.4%
DB766 50 mg/kg+Bz 50 mg/kg	Intraperitoneal/oral	100%
BZ 50 mg/kg	Oral	89%
DB766 50 mg/kg	Oral	17%
DB766 50 mg/kg + BZ 50 mg/kg	Oral/oral	54%
DB766 50 mg/kg	Intraperitoneal	96%
DB766 50 mg/kg + BZ 50 mg/kg	Intraperitoneal/oral	99.5%
DB289 25 mg/kg	Oral	72%
DB289 25 mg/kg + BZ 50 mg/kg	Oral/Oral	99%

Na tabela 4 se observa o efeito sinérgico da associação quando se destaca a redução da taxa de mortalidade quando utilizadas as essas associações. Entretanto a cura, foi observada somente no esquema DB766 50 mg/kg + BZ 50 mg/kg com taxa de 13%.

**Tabela 4 - Avaliação da mortalidade e cura na utilização de DB89 e DB766 associadas ou não ao BZ. Fonte: Batista et al., 2011.**

<b>Esquema</b>	<b>Via</b>	<b>Mortalidade em %</b>	<b>Cura</b>
Não infectado	-	0%	0%
Não tratado	-	73%	0%
BZ 50 mg/kg/dia	Oral	6%	0%
DB289 25 mg/kg	Oral	16%	0%
DB289 25 mg/kg + BZ 50 mg/kg	Oral	0%	0%
DB766 50 mg/kg	Intraperitoneal	60%	0%
DB766 50 mg/kg + BZ 50 mg/kg	Intraperitoneal + Oral	0%	13%
DB766 50 mg/kg	Oral	57%	0%
DB766 50 mg/kg + BZ 50 mg/kg	Oral + Oral	0%	0%

Em relação aos danos hepáticos, o BZ não foi capaz de reverter, mas DB766 ou DB766 associada à BZ reduziu em 69% e 57%, respectivamente, os níveis de TGP, biomarcador de lesão hepática, quando comparado aqueles não tratados. Para avaliar os níveis de lesão musculares foram considerados as dosagens de CK (creatinina quinase). BZ isoladamente reduziu em 70% os níveis de CK, para BD 766 associado ou não ao BZ esses valores foram acima de 91% (BATISTA *et al.*, 2011).

DA SILVA *et al.* (2012) propôs a investigação de DB1831 e DB1965 como alternativa para a doença de chagas. Para isso camundongos foram infectados com a cepa Y e submetidos a diferentes esquemas de tratamento. Os critérios de cura foram: hemocultura, PCR e parasitemia observada por microscopia de luz. O DB1831 apresentou efeito tripanocida dose dependente, com eficácia maior que o BZ. O DB1831 foi capaz de reduzir o número de cardiomiócitos

infectadas e o número de parasitas por célula. No entanto, devido a baixa solubilidade de DB1831 foi necessário desenvolver um sal (DB1965) com características mais solúveis (da SILVA *et al.*, 2012).

*In vitro* DB1965 demonstrou maior eficácia e seletividade contra tripomastigotas e amastigotas que o BZ. Fêmeas foram tratadas com DB1965 por via intraperitoneal e demonstrou efeitos colaterais importantes a partir de 200 mg/kg/dia e mortalidade com 400 mg/kg/dia. Já por via oral não houve efeitos tóxicos e nem mortalidade. Posteriormente machos e fêmeas foram tratados com doses crescentes de DB1965, a dose de 400mg/kg foi fatal (da SILVA *et al.*, 2012).

No primeiro esquema onde foram administradas 5 doses diárias durante 5 dias consecutivos, e os tratados por via intraperitoneal com 12,5mg/kg/dia reduziram em 93% os níveis de parasitemia, já para aqueles tratados com 25 mg/kg/dia a redução foi de 99%. O DB1965 na concentração de 100 mg/kg/dia com administração via oral reduziu em 51% e BZ via oral 100%. Não foi verificada cura em nenhum dos grupos (da SILVA *et al.*, 2012).

No segundo esquema o DB1965 na dose 12,5mg/kg/dia foi utilizado durante 10 doses diárias consecutivas. O BZ na concentração de 100 mg/kg/dia reduziu em 99,8% a parasitemia e DB1965 em 97%. A taxa de sobrevivência para os murinos tratados com DB1965 foi de 90% e para aqueles tratados com BZ 100%. Não houve cura (da SILVA *et al.*, 2012).

No terceiro esquema foram adotados DB1965 5 mg / kg / dia, BZ 50 mg / kg / dia ou a associação dos dois por 20 doses consecutivas. Todos os esquemas apresentaram 100% de sobrevivência, a redução da parasitemia foi de 100% (BZ), 100% (BZ + DB1965) e 84% (DB1965). Nos três esquemas o peso do coração atingiu parâmetros daqueles não infectados. O peso do fígado ficou dentro dos parâmetros daqueles não infectados apenas na associação de BZ + DB1965. Não houve cura. Não foi constatada diferenças histopatológicas entre os tecidos cardíacos nos grupos infectados (da SILVA *et al.*, 2012).

### ***Inibidores da biossíntese de ergosterol***

#### ***Cetoconazol***

ARAÚJO *et al.* (2000) investigaram o possível efeito sinérgico da associação de BZ com Cetoconazol no tratamento da doença de Chagas. Os camundongos foram divididos em grupos de

10-14 animais, posteriormente infectados com diferentes cepas. Uma hora após o tratamento com BZ, o Cetoconazol foi administrado. O esquema durou 20 dias e foi iniciado logo após a detecção da paresitemia (12-15 dias para as cepas CL e Colombiana e 8-10, para a cepa Y). Os animais considerados curados tinham que apresentar hemocultura, xenodiagnóstico e anticorpos anti-tripomastigotas negativos. A taxa de cura para a cepa CL evidenciou um efeito sinérgico na associação de BZ e cetoconazol. A exemplo disso, o tratamento com BZ (25 mg/kg/dia) ou cetoconazol (120 mg), isoladamente, ou em associação cetoconazol (120 mg/kg/dia + BZ 25 mg/kg/dia) resultaram em cura de 0%, 0% e 9,1% dos animais, respectivamente. Entretanto, resultados mais eficazes foram obtidos na associação de BZ a 50 mg/kg/dia ou a 100 mg/kg/dia com cetoconazol (120 mg/kg/dia) com taxas de cura de 100%, enquanto BZ 50 mg/kg/dia ou a 100 mg/kg/dia isoladamente apresentaram 9,1% e 100% de cura, respectivamente. Na infecção com a cepa Y, o tratamento com Cetoconazol 120 mg/kg/dia obteve cura de 9,1%, já os tratamentos com BZ 25 mg/kg/dia ou a 50 mg/kg/dia apresentaram 0% de cura em ambos, porém quando associados ao Cetoconazol (120 mg/kg/dia) atingiram cura de 38,5% e 92,3%, respectivamente; 100% de cura foi atingido com o esquema de BZ 100 mg/kg/dia + Cetoconazol 120 mg/kg/dia, enquanto o uso de BZ (100 mg/kg/dia) isoladamente atingiu apenas 30,8%. Curiosamente, a cepa Colombiana apesar de apresentar cura de 30,8% usando BZ a 100 mg/kg/dia + Cetoconazol a 120 mg/kg/dia não teve o valor considerada pois o valor de p estava acima do adotado:  $p > 0.05$ .

### ***Posaconazol***

É um inibidor da biossíntese de ergosterol no parasita através da inibição da C14 $\alpha$ -esterol desmetilase CYP51. O ergosterol é um componente necessário para sua sobrevivência e proliferação. Devido ao fato de o parasita não conseguir utilizar o colesterol do hospedeiro isso confere uma maior seletividade do fármaco (URBINA, 2009).

Foram investigadas as combinações de BZ e Posaconazol como terapia contra a doença de Chagas aguda em murinos. Foi avaliada a atividade curativa em murinos infectados com a cepa Y utilizando a monoterapia com BZ ou Posaconazol ou terapia combinada por 20 dias consecutivos: BZ a 100, 75, 50 ou 25 mg/kg/dia e Posaconazol a 20, 10 ou 5 mg/kg/dia. Posteriormente, os animais foram submetidos a um tratamento sequencial que consistia na administração de 100

mg/kg/dia de BZ por 10 dias consecutivos e 20 mg/kg/dia de Posaconazol por mais 10 dias. Também foi avaliada a cura e sobrevivência de murinos infectados com a cepa VL-10, altamente resistente a BZ. Os animais foram submetidos por 20 dias a monoterapia ou associação de BZ + Posaconazol: 100 ou 50 mg/kg/dia de BZ isoladamente ou combinado com 20 ou 10 mg/kg/dia de Posaconazol. Na cepa Y, as diferentes doses associadas resultaram em níveis de parasitemia estatisticamente significativos, diferente do tratamento isolado onde a resposta foi dose dependente. Quando associados BZ e Posaconazol, mesmo em doses menores, além de reduzirem a parasitemia também foram capazes de elevar a sobrevivência para 83% (50 mg/kg/dia de BZ + 10 mg/kg/dia de Posaconazol) e 100% (25 mg/kg/dia de BZ + 5 mg/dia/kg de Posaconazol). Quando tratados isoladamente com 100 mg/kg/dia de BZ ou 20 mg/kg/dia de Posaconazol houve uma taxa de cura de 70% e 80%, respectivamente. As doses sub ótimas de BZ obtiveram entre 20% e 0% cura. No entanto, foi notado um efeito sinérgico quando associados doses menores, resultando em taxas de cura maiores que o tratamento isolado. O esquema de 100 mg/kg/dia BZ associado a qualquer dose de Posaconazol resultou taxas de cura entre 90 e 100% e boa tolerância ao tratamento com 100% de sobrevivência. O tratamento sequencial em murinos infectados com cepa Y utilizando BZ 100 mg/kg/dia por 10 dias e posteriormente Posaconazol 20 mg/kg/dia por 10 dias resultaram em 80% de cura, enquanto o inverso resultou em 30% de cura. Murinos infectados com a cepa VL10 foram tratados com 100 mg/kg/dia de BZ ou 40 mg/kg/dia de Posaconazol e foi obtido 0% de cura. Quando tratados com 100 mg/kg/dia de BZ mais 5 ou 10 mg/kg/dia de Posaconazol a taxa de cura variou em 20-30% e os valores de parasitemia foram menores quando comparado às monoterapias. O tratamento sequencial em murinos infectados com cepa Y utilizando BZ 100mg/kg/dia por 10 dias e posteriormente Posaconazol 20 mg/kg/dia por 10 dias resultaram em 80% de cura, enquanto o inverso resultou em 30% de cura (DE FIGUEIREDO DINIZ *et al*, 2013).

Outro estudo utilizou-se da associação entre BZ (100 mg/kg/dia) + Posaconazol (20 mg/kg/dia), mas em camundongos imunossuprimidos com ciclofosfamida e busca pela presença do parasita através de PCR e hemocultura. Aqueles camundongos infectados com a cepa CL e tratados com a associação de BZ + Posaconazol por 10 dias atingiram a cura com eficácia similar ao BZ sozinho por 20 dias. Esse esquema obteve melhores resultados que a monoterapia com BZ por 10 dias (12% de cura). Em camundongos infectados com a cepa Brasil, foi atingida cura de

100% no grupo tratado com 5 doses diárias de Posaconazol, seguido de 7 doses de BNZ com intervalos de 5 dias entre cada uma. Animais infectados com a cepa Colombiana que receberam 5 doses de Posaconazol seguidas de 7 doses de BZ intercaladas por 5 dias atingiram níveis de cura semelhantes aqueles tratados com BZ ou Posaconazol diariamente por 40 dias (BUSTAMANTE; *et al*, 2013).

PLANER *et al.* (2014) testaram a associação de Benznidazol 5 mg/kg + Posaconazol 0.04 mg/kg administrados por via oral durante 5 dias em camundongos infectados com a cepa Tulahuen. Posaconazol + BZ demonstrou uma discreta supressão na parasitemia.

### ***Itraconazol***

MARTINS *et al.* (2015) investigou a associação de BZ + Itraconazol contra *T. cruzi* em modelo murino. Os seguintes critérios de cura foram utilizados: exame de sangue fresco, PCR em parasitemia negativa no 1º e 6º meses após o tratamento e a presença, no 1º mês após o tratamento, de anticorpos IgG anti-*T. cruzi*. Alguns efeitos sinérgicos da associação de BZ + Itraconazol podem ser vistos na tabela 5 . Quando as lesões no coração foram avaliadas por meio de análise da inflamação e tecido fibrótico foi verificado que o BZ protege o coração de murinos contra tais lesões, já o itraconazol, mesmo em dose ideal, não conseguiu esse efeito. Associação BZ + Itraconazol preveniu ou atenuou as lesões cardíacas, enquanto o itraconazol não desempenha esse papel quando empregado isoladamente.

**Tabela 5 - Resultado da associação de BZ e Itraconazol contra *T. cruzi*. Fonte: autoria própria.**

<b>Esquema</b>	<b>Parasitemia</b>	<b>Mortalidade</b>	<b>Cura</b>
BZ 100 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	0%	70%
BZ 75 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	0%	20%
BZ 50 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	0%	0%
Itraconazol 100 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	0%	0%

Itraconazol 75 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	40%	0%
Itraconazol 50 mg/kg/dia	Não houve supressão da parasitemia	40%	0%
BZ 100 mg/kg/dia + Itraconazol 100 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	0%	80%
BZ 75 mg/kg/dia + Itraconazol 75 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	0%	80%
BZ 50 mg/kg/dia + Itraconazol 50 mg/kg/dia	Supressão da parasitemia	10%	20%

#### ***Inibidor da via de recuperação de purina***

BUSTAMANTE *et al* (2013) utilizou associações entre BZ (100 mg/kg/dia) + Alopurinol (30 mg/kg/dia), em seguida os camundongos foram imunossuprimidos com ciclofosfamida e finalmente foi realizada a pesquisa pela presença do parasito por meio de PCR e hemocultura. A associação de BZ + Alopurinol por 10 dias consecutivos resultou em 20% de cura enquanto BZ isoladamente atingiu 12% de cura.

PLANER *et al.* (2014) demonstrou que os resultados para a administração por via oral durante 5 dias de Alopurinol a 15 mg/kg + Benznidazol a 5 mg/kg em camundongos infectados com a cepa Tulahuen destacaram que Alopurinol não tem efeito sinérgico com BZ.

#### ***Derivados do ácido gálico***

ANDRÉO *et al.* (2015) propôs a investigação da atividade do ácido gálico e seus ésteres contra epimastigotas da cepa Y. Os resultados demonstraram que esses compostos possuem atividade tripanocida onde sua potência está relacionada com o aumento de carbonos da cadeia lateral atingindo um pico no undecil galato (que foi 23 vezes mais potente que o Benznidazol), depois há um decaimento. Quanto ao sinergismo entre os ésteres e o Benznidazol, resultados

diferentes foram obtidos de acordo com o comprimento de cadeia lateral dos galatos. Ácido gálico e seus ésteres curtos metil galato, etil galato e propil galato quando associado com benznidazol foram indiferentes. hexil galato, heptil gallate e octil galato que são éteres de cadeia média junto com o tetradecil galato de cadeia longa exibiram sinergismo. Heptil galato obteve o melhor resultado, reduzindo o IC<sub>50</sub> do Benznidazol em cerca de 10<sup>5</sup>. Os demais derivados obtiveram efeitos aditivos.

## 5. CONCLUSÃO

Como já foi dito, por mais que tenha se passado mais de um século da descoberta da doença de Chagas, o tratamento se restringe a apenas dois medicamentos o Benznidazol e o Nifurtimox. No entanto, ambos não possuem efetividade em todas as fases da doença, além disso a toxicidade outro fator muito importante que em muitos casos é o responsável pela suspensão do tratamento. No Brasil, apenas o Benznidazol está liberado devido a maior segurança em relação ao Nifurtimox.

Diante disso, todos os esforços na tentativa de encontrar alternativas terapêuticas mais eficazes e mais seguras se fazem necessários. Tendo em vista o longo tempo para pesquisar, desenvolver e atestar a eficácia e segurança de um novo fármaco, o reposicionamento de fármacos já existentes para tratar outras patologias se configura como uma alternativa válida (ALBERCA et al, 2016).

Este trabalho, por meio de uma revisão criteriosa da literatura, evidenciou resultados positivos que vão ao encontro dessa perspectiva. A cura foi evidenciada na combinação de BZ a outros 6 compostos: Curcumina, DB766, Cetoconazol, Posaconazol, Itraconazol e Alopurinol.

Entre as associações que demonstraram cura, os inibidores da biossíntese de ergosterol Cetoconazol, Posaconazol e Itraconazol se sobressaem. No caso do Cetoconazol e Itraconal o sinergismo foi tão evidente que esquemas adotados utilizando doses subótimas de BZ foram capazes de obter o mesmo efeito que doses ótimas de BZ. O Alopurinol e a Arilimidamida DB766 apresentaram taxas de cura mais discretas, 13% para a DB766 e 20% para Alpurinol.

A possibilidade de aumentar as taxas de cura e proporcionar menores efeitos adversos é a grande contribuição que uma nova terapêutica baseada nas combinações pode oferecer. No entanto, outros achados também podem ser considerados relevantes. Testes *in vitro* associando

BZ e BSO destacam o aumento da toxicidade contra as formas tripomastigotas e a redução do número de células infectadas e da quantidade de amastigotas por célula infectada. Nesse sentido, a clomipramina é destaque, pois, em associação com BZ, foi capaz de suprimir a parasitemia em modelo murino na fase aguda da doença e, ainda, de diminuir a carga parasitária e a lesão cardíaca na fase crônica.

Diante disso, é possível destacar que o redirecionamento de fármacos no campo da doença de Chagas se mostra promissor. Os trabalhos analisados abordam experimentos *in vitro* e *in vivo*, no entanto, aqueles *in vivo* foram realizados em modelo murino. Sendo assim, é necessário que as pesquisas avancem, saindo da fase de estudos pré-clínicos e caminhem em direção às demais fases dos ensaios clínicos, esse caminho pode ser menos demorado quando se considera o fato de que muitos deles já possuem o perfil toxicológico e farmacocinético descritos na terapêutica original para a qual a mesmo é empregado

## 6. REFERÊNCIAS

ALBERCA, Lucas N. et al. Discovery of novel polyamine analogs with anti-protozoal activity by computer guided drug repositioning. **Journal of computer-aided molecular design**, v. 30, n. 4, p. 305-321, 2016.

ALVES, Monique Castro da Silva et al. Uso da associação de Benznidazol e Espironolactona em camundongos na fase aguda da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. 2012.

ANDRADE, Sonia G. et al. Specific chemotherapy of Chagas disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 6, p. 624-626, 1992.

ANDRADE, Sonia G. et al. Treatment with benznidazole in association with immunosuppressive drugs in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*: investigation into the possible development of neoplasias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 441-447, 2003.

ANDRÉO, Rogério et al. Toxicity and loss of mitochondrial membrane potential induced by alkyl gallates in *trypanosoma cruzi*. **International scholarly research notices**, v. 2015, 2015.

ARAÚJO, M. S. S. et al. A combination of benznidazole and ketoconazole enhances efficacy of chemotherapy of experimental Chagas' disease. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 45, n. 6, p. 819-824, 2000.

BARRIAS, Emile Santos; CARVALHO, Tecia Maria Ulisses; DE SOUZA, Wanderley. *Trypanosoma cruzi*: entry into mammalian host cells and parasitophorous vacuole formation. **Frontiers in immunology**, v. 4, p. 186, 2013.

BATISTA, Denise da Gama Jaén et al. Combined treatment of heterocyclic analogues and benznidazole upon *Trypanosoma cruzi* in vivo. **PloS one**, v. 6, n. 7, p. e22155, 2011.

BERN, Caryn. Chagas' disease. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 5, p. 456-466, 2015.

BLANCO, Sonia B. et al. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and treating infected infants in north-western Argentina. **Tropical Medicine & International Health**, v. 5, n. 4, p. 293-301, 2000.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde - Texto de difusão técnico-científica do Ministério de Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. **Rev Saúde Pública** 44: 200-202, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Guia de vigilância em saúde. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância em Saúde: zoonoses. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. (Cadernos de Atenção Básica, n. 22) (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

BUSTAMANTE, Juan M. et al. New, combined, and reduced dosing treatment protocols cure *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **The Journal of infectious diseases**, v. 209, n. 1, p. 150-162, 2013.

CANÇADO, J. Romeu. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 44, n. 1, p. 29-37, 2002.

CASTRO, J. A.; DIAZ DE TORANZO, E. G. Toxic effects of nifurtimox and benznidazole, two drugs used against American trypanosomiasis (Chagas'disease). **Biomed Environ Sci**, v. 1, n. 1, p. 19-33, 1988.

CHIPPAUX, Jean-Philippe et al. Antibody drop in newborns congenitally infected by *Trypanosoma cruzi* treated with benznidazole. **Tropical Medicine & International Health**, v. 15, n. 1, p. 87-93, 2010.

COURA, José Rodrigues. Chagas disease: what is known and what is needed-A background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 113-122, 2007.

COURA, José Rodrigues. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions-A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 277-282, 2015.

DA SILVA RODRIGUES, J. H et al. A quinoxaline derivative as a potent chemotherapeutic agent, alone or in combination with benznidazole, against *Trypanosoma cruzi*. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e85706, 2014.

DA SILVA, Cristiane França et al. In vitro and in vivo investigation of the efficacy of arylimidamide DB1831 and its mesylated salt form-DB1965-against Trypanosoma cruzi infection. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e30356, 2012.

DAVANÇO, M. G. **Farmacocinética do benznidazol administrado em coelhos na forma de comprimidos de liberação imediata e comprimidos de liberação prolongada. 2016.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

DAVANÇO, Marcelo Gomes. Farmacocinética do Benznidazol administrado em coelhos na forma de comprimidos de liberação imediata e comprimidos de liberação prolongada. 2015.

DE CARVALHO, Valeria B. et al. Heart transplantation in Chagas' disease: 10 years after the initial experience. **Circulation**, v. 94, n. 8, p. 1815-1817, 1996.

DE FIGUEIREDO DINIZ, Livia et al. Benznidazole and posaconazole in experimental Chagas disease: positive interaction in concomitant and sequential treatments. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 8, p. e2367, 2013.

DE NOYA, Belkisyolé Alarcón; GONZÁLEZ, Oscar Noya; ROBERTSON, Lucy J. Trypanosoma cruzias a Foodborne Pathogen. 2015.

DE SOUZA, Wanderley; DE CARVALHO, Tecia Maria Ulisses; BARRIAS, Emile Santos. Review on Trypanosoma cruzi: host cell interaction. **International journal of cell biology**, v. 2010, 2010.

DIAS, João Carlos Pinto et al. II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 7-86, 2016.

DIAS, Luiz C. et al. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444-2457, 2009.

DINIZ, Livia de Figueiredo. Avaliação do efeito do tratamento com benznidazol em combinação com derivados azólicos na infecção experimental por Trypanosoma cruzi. 2013.

DOCAMPO, R.; STOPPANI, A. Generation of Superoxide Anion and Hydrogen Peroxide Induced by Nifurtimox in Trypanosoma cruzi. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 19, n. 1, p. 317-321, 1979.

FAUNDEZ, Mario et al. Buthionine sulfoximine increases the toxicity of nifurtimox and benznidazole to *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 49, n. 1, p. 126-130, 2005.

GARCÍA, Mónica Cristina et al. Clomipramine and benznidazole act synergistically and ameliorate the outcome of experimental Chagas disease: In vivo and in vitro assessments. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, p. AAC. 00404-16, 2016.

LEE, B. Y.; BACON, K. M.; BOTTAZZI, M. E.; HOTEZ, P. J. Global economic burden of Chagas Disease: a computational simulation model. **Lancet Infect Dis**. 13: 342–348, 2013.

MARTINS, Tassiane Assíria Fontes et al. Benznidazole/itraconazole combination treatment enhances anti-*Trypanosoma cruzi* activity in experimental Chagas disease. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0128707, 2015.

MARTINS-MELO, F. R.; ALENCAR, C. H.; RAMOS J. R. A. N.; HEUKELBACH, J. Epidemiology of Mortality Related to Chagas' Disease in Brazil, 1999–2007. **PLoS Negl Trop Dis** 6: 1-8, 2012a.

Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38 Supl 3:1-29.

NOVAES, Rômulo Dias et al. Curcumin enhances the anti-*Trypanosoma cruzi* activity of benznidazole-based chemotherapy in acute experimental Chagas disease. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, p. AAC. 00343-16, 2016.

OLIVEIRA, Bárbara Catrine Alves de et al. Síntese, caracterização e avaliação do potencial anti-*Trypanosoma cruzi* de cinco novos complexos de cobre (II) com  $\beta$ -dicetonas e bases heterocíclicas. 2018.

PAULA COSTA, G. et al. Enalapril prevents cardiac immune-mediated damage and exerts anti-*Trypanosoma cruzi* activity during acute phase of experimental Chagas disease. **Parasite immunology**, v. 32, n. 3, p. 202-208, 2010.

PENITENTE, Arlete Rita et al. Enalapril in combination with benznidazole reduces cardiac inflammation and creatine kinases in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 93, n. 5, p. 976-982, 2015.

PERON, Francieli et al. Effects of (1E, 4E)-2-Methyl-1, 5-bis (4-nitrophenyl) penta-1, 4-dien-3-one on *Trypanosoma cruzi* and Its Combinational Effect with Benznidazole, Ketoconazole, or Fluconazole. **BioMed research international**, v. 2017, 2017.

PLANER, Joseph D. et al. Synergy testing of FDA-approved drugs identifies potent drug combinations against *Trypanosoma cruzi*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, p. e2977, 2014.

RAJÃO, M. A. et al. Unveiling Benznidazole's mechanism of action through overexpression of DNA repair proteins in *Trypanosoma cruzi*. *Environ Mol Mutagen*, v. 55, n. 4, p. 309–321, 2014.

ROMANHA, A. J. et al. Experimental Chemotherapy against *Trypanosoma cruzi* Infection: Essential Role of Endogenous Interferon-g in Mediating Parasitologic Cure. *J Infect Dis*, v. 186, n. 6, p. 823-828, 2002.

SANTOS, Danielle Silva dos et al. **Órgãos alvo do *Trypanosoma cruzi* em modelo experimental de fase aguda da doença de Chagas por transmissão oral**. 2016. Tese de Doutorado.

SANTOS, Eliziária C. et al. Concomitant benznidazole and suramin chemotherapy in mice infected with a virulent strain of *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 10, p. 5999-6006, 2015.

SCHIJMAN, A.G.; ALTCHER, J.; BURGOS, J.M.; BIANCARDI, M.; BISIO, M.; LEVIN, M.J.; FREILIJ, H. 2003. Aetiological treatment of congenital Chagas'disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. *J. Antimicrob. Chemother.* 52; 441-449.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas' disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop* 115: 14–21, 2010.

SESTI-COSTA, Renata et al. Ruthenium complex with benznidazole and nitric oxide as a new candidate for the treatment of chagas disease. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 10, p. e3207, 2014.

SILVEIRA, Antonio Carlos. Current situation with Chagas disease vector control in the Americas. **Cadernos de saúde pública**, v. 16, p. S35-S42, 2000.

URBINA, J. A. Chemotherapy of Chagas disease. *Curr Pharm Des*, v. 8, n. 4, p. 287–295, 2002.

URBINA, Julio A. Ergosterol biosynthesis and drug development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 311-318, 2009.

WORD HEALTH ORGANIZATION – Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. 6: 33-44, 2015.

World Health Organization (WHO). Chagas disease (American trypanosomiasis). Geneva: WHO; 2016. [cited 2016 Jun 2]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/>