

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese e avaliação de derivados galactosil-triazolo-
benzenossulfonamidas como potenciais inibidores de *trans*-
sialidase de *Trypanosoma cruzi***

Getúlio Gomes Junqueira

Ribeirão Preto
2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese e avaliação de derivados galactosil-triazolo-
benzenossulfonamidas como potenciais inibidores de *trans*-
sialidase de *Trypanosoma cruzi***

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais
e Sintéticos

Orientado(a): Getúlio Gomes Junqueira

Orientador(a): Profa. Dra. Ivone Carvalho

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em 01/07/2013. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

[Junqueira, Getúlio Gomes](#)

Síntese e avaliação de derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas como potenciais inibidores de *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi*. Ribeirão Preto, 2013.

145 p.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: [Carvalho, Ivone](#).

1. Doença de Chagas 2. *Trypanosoma cruzi* 3. *trans*-sialidase
4. galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas 5. Click chemistry

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do aluno: Getúlio Gomes Junqueira

Título do trabalho: Síntese e avaliação de derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas como potenciais inibidores de *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador(a): Profa. Dra. Ivone Carvalho

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

*Aos meus pais João e Antonia , a minha madrinha
Ângela, a minha irmã Lorena e ao meu amor Milena , pelos
incentivos, dedicação e apoio incondicionais.*

Agradecimentos

Agradeço à Deus pelas oportunidades que tem me proporcionado e por estar sempre ao meu lado

Agradeço à minha família por todo amor e apoio durante toda minha formação acadêmica

Agradeço à Milena por todo amor e dedicação durante esses anos

Agradeço à professora doutora Ivone Carvalho pela sua orientação e confiança que depositou em mim ao desenvolver este trabalho. Também agradeço pelas oportunidades que me ofereceu e o conhecimento que me agregou.

Agradeço aos técnicos Luís Otávio Zamoner, Marcelo Rodrigues de Carvalho, Vinícius Palaretti, Clóvis Júnior e à técnica Cláudia Castania pela dedicação ao longo desses anos.

Agradeço aos amigos do laboratório de Química Farmacêutica Milena, Lílian, Vanessa, Valquíria, Carol, Susimairé, Daniel, Pedro, Vinícius, Oswaldo, Flávio, Ricardo, Evandro, Jonathan, Paulo, Talita e Ana os momentos de alegria e de frustração que compartilhamos ao longo dos últimos anos.

Agradeço ao CNPq o financiamento, sem o qual não poderia ter trabalhado em tempo integral neste projeto.

JUNQUEIRA, G. G. **Síntese e avaliação de derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas como potenciais inibidores de *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi***. 2013. 145f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013

A doença de Chagas é considerada a terceira doença parasitária tropical de maior incidência no mundo, só superada pela malária e esquistossomose, e seu agente causador é o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. O parasita expressa uma enzima de superfície denominada *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi* (TcTS), responsável pela transferência do ácidos siálicos de células do hospedeiro para moléculas de β -galactose terminais presentes em glicoproteínas de sua superfície. As moléculas de glicoproteína sialiladas estão envolvidas na adesão e subsequente penetração do parasita em células hospedeiras. O papel fundamental da TcTS no reconhecimento e na invasão de células hospedeiras, bem como sua ausência em seres humanos, torna esta enzima um alvo potencial a ser estudado. A TcTS é específica em catalisar, preferencialmente, a transferência de ácido siálico para moléculas de mucina, originando ligações α -2,3 com unidades de β -galactose aceptoras na superfície do parasita. Considerando a importância da unidade de galactose e da função carboxila do ácido siálico para interações no sítio ativo de TcTS, priorizamos na síntese de derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas com diferentes substituintes, visto que o grupo sulfonamida é bioisótero do ácido carboxílico, na busca de potenciais inibidores de TcTS. Os derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas **45-51** foram preparados via estratégia de *click chemistry*, por reação de ciclo-adição azido-alcino catalisada por Cu(I) (CuAAC), a partir do intermediário de galactose contendo função amino terminal **30** e os derivados aril azidas **38-44**. Após etapa de desacetilação, os produtos obtidos **52-58** foram testado em TcTS por ensaio fluorimétrico *in vitro* para avaliação de sua atividade inibitória. Os resultados obtidos são interessantes e bastante promissores, principalmente com os obtidos com o produto **58** (contendo o grupo galactosil-triazólico ligado a sulfapiridina), que apresentou atividade inibitória promissora (81%) na concentração de 1,0 mM, abrindo perspectivas para a síntese de um maior número de derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas com diferentes substituintes em **R**, para o estabelecimento de estudos de relação estrutura-atividade. Adicionalmente, os compostos **53-55** foram testados em ensaios *in vitro* para avaliação de sua atividade tripanocida e citotóxica, e apresentaram atividade tripanocida máxima de 50%, normalmente nas concentrações de 500 a 250 μ M, com destaque para o derivado **55**, contendo o grupo galactosil-triazólico ligado a sulfamerazina, que apresentou atividade moderada, mas superior ao benznidazol nas concentrações mais baixas (15,0 - 1,9 μ mol.L⁻¹). Por outro lado, de acordo com os resultados do ensaio de citotoxicidade, a atividade citotóxica foi observada apenas nas concentrações mais elevadas, similar ao benznidazol.

Palavras-chave: Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; *trans*-Sialidase; Click chemistry; galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas

JUNQUEIRA, G. G. **Synthesis and evaluation of galactosyl-triazol benzenesulfonamides derivatives as potential inhibitors of *Trypanosoma cruzi trans-sialidase***. 2013. 145f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013

Chagas disease is considered the third most common tropical parasitic disease worldwide, after malaria and schistosomiasis, and its causer is the flagellate protozoan, *Trypanosoma cruzi*. The parasite expresses a surface enzyme known as *Trypanosoma cruzi trans-sialidase* (TcTS), responsible for the transference of sialic acid from host cell to β -galactose terminal molecules present in surface glycoproteins. Sialylated glycoproteins molecules are involved in adhesion and further penetration of parasite in host cell. Due to TcTS primordial role in recognizing and invasion of host cells, as well as its absence in humans, this enzyme becomes a potential target to be investigated. TcTS is specific on catalyzing, specially, transference of sialic acid to mucin molecule giving α -2,3 bond with β -galactose moiety in parasite surface. Considering the importance of the galactose moiety and the function of carboxylic in sialic acid for interactions in TcTS enzyme, we prioritized the synthesis of galactosyl-triazol-benzenesulfonamides derivatives with different substituents since sulfonamide group is bioisoster of carboxylic acid, in attempt to produce potential inhibitors of TcTS. The galactosyl-triazol-benzenesulfonamides derivatives **45-51** were prepared via *click chemistry* reaction (Copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC)) from galactose intermediate with terminal amino group **30** and aril azides derivatives **38-44**. After removing acetyl group, the inhibiting activity of products **52-58** were evaluated in TcTS fluorimetric *in vitro* assay. We found very promising results, specially with **58** (containing galactosyl-triazolic group bonded to sulfapyridine), wich showed 81% of inhibitory activity in 1,0mM solution, bringing expectations for synthesis of greater number of galactosyl-triazol-benzenesulfonamides derivatives with different substituents in R, to establish studies of structure relationship activity. Additionally, trypanocidal and cytotoxic activity of compounds **53-55** were tested and showed maximum activity of 50%, commonly in concentrations of 500 to 250 μ M, specially compound **55**, containing galactosyl-triazolic group bonded to sulfamerazine, with showed moderate activity, but higher then benznidazol in lower concentrations (15,0 - 1,9 μ mol.L⁻¹). On the other hand, according to cytotoxicity results, activity were observed only in higher concentrations, as for benznidazol.

Keywords: Chagas disease; *Trypanosoma cruzi*; *trans-sialidase*; click chemistry; galactosyl-triazol-benzenesulfonamides

1. INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias afetam milhares de pessoas ao redor do mundo, principalmente nos países em desenvolvimento, representando uma ameaça para a saúde humana e para o desenvolvimento econômico nestes países. São freqüentemente chamadas de doenças negligenciadas (DN), uma vez que afetam populações pobres e marginalizadas e para as quais não existe tratamento satisfatório (DIAS et al, 2009; VIK, 2009). Apesar dos maiores investimentos em pesquisa realizados principalmente por órgãos governamentais, a aprovação de novos fármacos para tratamento destas doenças ocorridos na última década é basicamente a mesma quando comparado a duas décadas e meia atrás, como relatado pelo DNDi (“Drugs for Neglected Diseases Initiative”) e MSF (“Médecins Sans Frontières”), Por exemplo, entre 2000 e 2011, das 850 novas terapias aprovadas pelas principais agências reguladoras, como FDA, apenas 37 foram destinadas para o tratamento de DN e somente 4 representavam novas entidades químicas. Por outro lado, entre 1975 e 1999, 1393 novos fármacos foram aprovados e apenas 16 foram destinados a DN, sendo 11 relacionados a novas entidades químicas. Adicionalmente, a maioria das novas alternativas terapêuticas refere-se à associação de fármacos já conhecidos e novos regimes terapêuticos (WILLYARD, 2013). Alguns problemas importantes na Pesquisa e Desenvolvimento de produtos P&D destinados a DN tem sido apontados pela World Health Organization (WHO), Programme for Tropical Disease Research (TDR) and BIO Ventures for Global Health, como dificuldades de tradução da pesquisa básica em desenvolvimento de fármacos e implementação de políticas públicas (NWAKA et al. 2009). A necessidade de novas alternativas terapêuticas que contornem problemas de resistência é evidente, mas os investimentos em pesquisa e desenvolvimento de produtos são insuficientes, por isso estimativa-se que cerca de 3 bilhões de indivíduos sofrem de uma ou mais infecções parasitárias (DIAS et al., 2009; KRAUS, 2009). A criação de consórcios de pesquisa envolvendo a Academia com a sua capacidade de pesquisa, a Indústria Farmacêutica, pesquisadores contratados, Agências Filantrópicas, Associações Públicas e Privadas ligadas à descoberta e desenvolvimento de fármacos coordenados pelo DNDi, tem sido extremamente promissora para a identificação e otimização de protótipos de fármacos uma vez que envolve o “screening” the bibliotecas de compostos, Química Medicinal, Farmacologia e Farmacodinâmica,

desenvolvimento de formulações, manufatura dos produtos e condução de triagens clínicas. O principal foco destas pesquisas na ordem dos Cinetoplastídeo, o qual inclui a família dos Tripanosomatídeos, tem sido direcionado à identificação de compostos ativos contra o parasita e não necessariamente contra determinado alvo macromolecular. A principal razão baseia-se no fato de que a maioria destes alvos não é validada e existe grande discrepância nos resultados obtidos entre os ensaios enzimáticos, por exemplo, e diretamente contra os parasitas. (CHATELAIN and LOSET, 2011).

1.1 Doença de Chagas

1.1.1 Aspectos gerais da doença de Chagas e do parasita *Trypanosoma cruzi*

Descoberta em abril de 1909 por Carlos Chagas (1878-1934), a nova doença foi caracterizada como uma expressiva endemia rural que atingia vários países latino-americanos (AMATO NETO; PASTERNAK, 2009; FIOCRUZ, 2009). Mesmo após 100 anos desde sua descoberta, a doença de Chagas ainda representa um grande desafio à saúde pública mundial (RASSI et al., 2009).

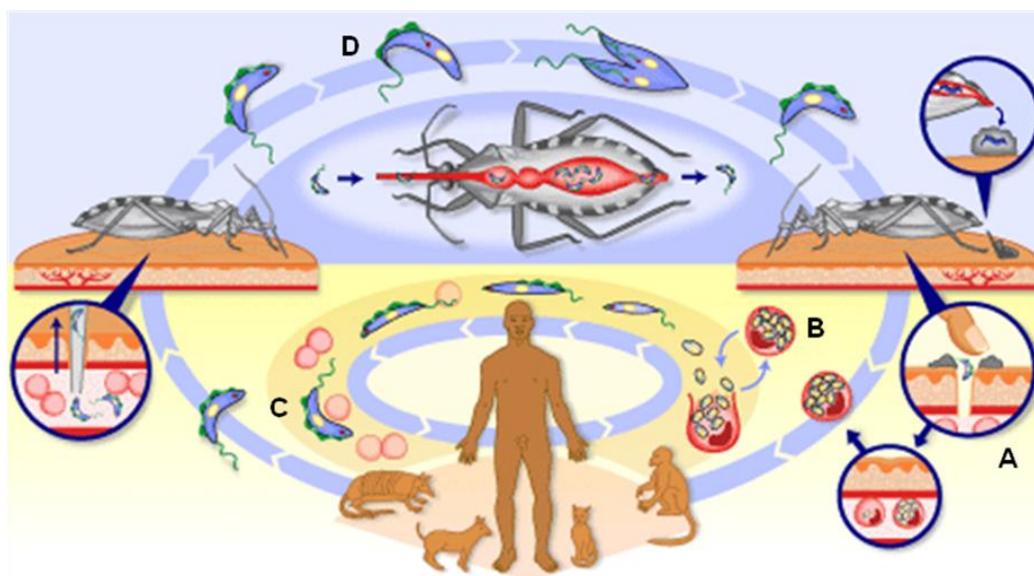
A doença de Chagas, causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) é considerada a terceira doença parasitária tropical de maior incidência no mundo, só superada pela malária e esquistossomose (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2011), e atualmente, estima-se que atinja aproximadamente 10 milhões de pessoas em todo o mundo, levando a óbito mais de 10 mil por ano (WHO, 2010; CLAYTON, 2010). O modo mais comum de transmissão ocorre quando as fezes do inseto vetor *Triatoma infestans* contaminadas com *T. cruzi* entram em contato com qualquer ruptura na pele (incluindo a mordida), mucosas dos olhos e boca. Outros modos de transmissão incluem transfusão de sangue infectado, transmissão oral com alimentos contaminados, transmissão vertical e transplante de órgãos (WHO, 2010; CLAYTON, 2010). Graças a medidas de controle sanitário, a transmissão via *Triatoma infestans* foi interrompida no Brasil em 2006 (MONCAYO; SILVEIRA, 2009).

No entanto, devido ao recente fluxo de imigrantes provenientes de países endêmicos, a doença tem se tornado problema de saúde na América do Norte e em

muitas partes da Europa, Ásia e Oceania, onde foi identificado número crescente de indivíduos infectados (RASSI et al., 2009).

A doença de Chagas é caracterizada pelas fases aguda e crônica com sinais e sintomas distintos. A fase aguda, período inicial da infecção, pode passar despercebida como também pode se iniciar com quadro febril prolongado, edemas localizados e generalizados e nos casos mais graves insuficiência cardíaca aguda e hepatoesplenomegalia. Já a fase crônica é caracterizada pela destruição de tecidos musculares e nervosos, causando danos irreversíveis a diversos órgãos como: coração, e esôfago (MONCAYO, 1999; DO CAMPO, 2001).

O ciclo de vida do *T. cruzi* é do tipo heteroxênico (Figura 1), no qual o parasita passa por uma fase de multiplicação intracelular no hospedeiro vertebrado, sendo encontrado as formas amastigota e tripomastigota, e por uma fase de multiplicação extracelular no inseto vetor (triatomíneos), sendo encontrado as formas epimastigota e tripomastigota metacíclica. (NEVES et al., 1995).



<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos/DoencadeChagas.php>

Figura 1 - Ciclo de vida do *T. cruzi*

A forma tripomastigota metacíclica (A), proveniente do inseto vetor, flagelada e altamente infecciosa, circula na corrente sanguínea e invade diversas células para escapar de mecanismos de defesa do hospedeiro. Após invasão, o parasita se diferencia na forma amastigota (B), aflagelada, que se prolifera por fissão binária e, eventualmente, se rediferencia na forma tripomastigota (C), destruindo as células e alcançando novamente a corrente circulatória. As formas tripomastigotas podem

invadir outros tecidos ou podem ser ingeridas por um vetor. Neste último caso, são convertidas na forma epimastigota (**D**) não infecciosa e posteriormente na forma tripomastigota metacíclica, completando o ciclo de vida (NEVES et al., 1995).

1.1.2 Tratamento da doença de Chagas

Desde a descoberta da doença, início do século XX, inúmeras tentativas de tratamento foram realizadas, mas sem obter um quimioterápico eficiente (MUELAS-SERRANO et al., 2002).

A quimioterapia específica para a doença de Chagas com os derivados nitro-heterocíclicos benznidazol (Rochagan[®]) e nifurtimox (Lampit[®]) foi introduzida no início dos anos 70 (Figura 2). Este último teve sua produção descontinuada devido aos graves efeitos colaterais (MUELAS et al., 2002; URBINA et al., 2003).

Ambos os fármacos apresentam eficácia significativa durante a fase aguda da doença, eficácia que não é mantida durante a fase crônica da doença (URBINA, 2009; CLAYTON, 2010). A razão para essa diferença de resultados entre as fases aguda e crônica ainda não estão claras, mas podem estar relacionadas com as propriedades farmacocinéticas dos intermediários destes compostos nitro-heterocíclicos, que apresentam meia-vida curta e baixa penetração nos tecidos, os quais limitam sua ação na fase crônica, quando os parasitas encontram-se dentro dos tecidos (URBINA, 2009).

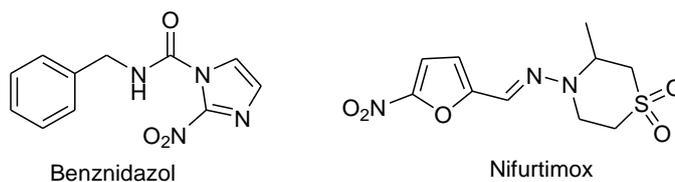


Figura 2 - Estrutura química dos fármacos Nifurtimox e Benznidazol.

Atualmente não existe tratamento eficiente para a fase crônica da doença, fase responsável pelos danos irreversíveis causados nos diversos órgãos (DIAS; SCHOFIELD, 1999). Outros inconvenientes para o tratamento com esses dois fármacos são a inexistência de formulações pediátricas e a duração do tratamento, 60 dias com benznidazol e até 90 dias com o nifurtimox (CLAYTON, 2010).

A utilização de agente profilático também se torna uma alternativa viável, devido à alta incidência de sangue contaminado em bancos de sangue (5 a 20%), sendo este mecanismo considerado como o segundo mais importante meio de transmissão em áreas endêmicas (COURA; De CASTRO, 2002). A violeta de genciana (cloreto de N-[4-bis-[[4-(dimetilamino)-fenil]metileno]-2,5-ciclo-hexadien-1-ilideno]N-metilamônio)(Figura 3) é o único agente quimioprofilático utilizado, mas seu uso é limitado devido aos efeitos colaterais e à coloração púrpura transferida à pele e às mucosas dos pacientes que recebem a transfusão de sangue, o que pode ser confundido com hipóxia naqueles que são submetidos a processos anestésicos (WENDEL; GONZAGA, 1993).

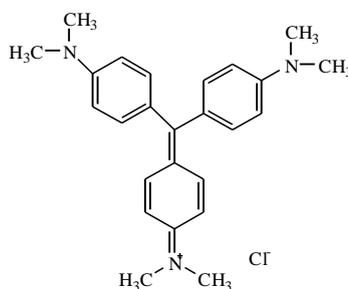


Figura 3 - Violeta de genciana

Todos esses fatos demonstram a extrema necessidade de novas abordagens para o tratamento quimioterápico específico da doença de Chagas. Neste sentido, algumas terapias alternativas aos fármacos nifurtimox e benznidazol têm sido testadas.

1.1.3 Novas abordagens terapêuticas

Algumas terapias alternativas aos fármacos nifurtimox e benznidazol estão sendo utilizadas.

Gallerano e colaboradores demonstraram que o alopurinol (figura 4) foi tão eficaz quanto o benznidazol na eliminação da parasitemia na fase crônica da infecção pelo *T. cruzi*, além de reduzir significativamente a frequência de reações adversas (GALLERANO et. al., 1990)

Embora o uso da combinação de medicamentos ser comprovadamente eficaz em outras infecções, sua utilização no tratamento da Doença de Chagas não é muito comum.

Recentemente um estudo piloto foi realizado para avaliar os efeitos do tratamento da fase crônica da doença de Chagas com os antiparasitários alopurinol e benznidazol (figura 4). Este estudo demonstrou que a combinação dos fármacos induziu significativas modificações na resposta imunológica, indicado por uma redução da carga parasitária. Sendo assim, uma estratégia possível para melhorar a eficácia do tratamentos é a combinação de medicamentos com diferentes mecanismos de ação, como já é utilizado em outras doenças crônicas, incluindo tuberculose, HIV e malária (PEREZ-MAZLIAH et. Al., 2013).

Outro estudo divulgado recentemente descreveu a associação do benznidazol (BZN) com a clomipramina (CLO) (figura 4), fármaco utilizado no tratamento da depressão. Neste estudo, o BZN apresentou eficácia superior a clomipramina na fase aguda da doença, no entanto, foram observados focos de necrose no fígado dos animais tratados com BZN. Entretanto, a associação BZN + CLO apresentou resultados comparáveis aos resultados obtidos apenas com BZN, mas sem ser observados focos de necrose no fígado. Adicionalmente a este resultado, a associação BZN + CLO apresentou menos efeitos colaterais do que o tratamento apenas com BZN. O efeito protetor da CLO nos tecidos estudados não foram explicados, sendo necessário investigações experimentais específicas. Os resultados obtidos neste estudo confirmam que a CLO é um interessante candidato para o tratamento da doença de Chagas na sua fase crônica, uma vez que diminui o dano cardíaco e melhora a sobrevivência dos indivíduos infectados (STRAUSS et. al., 2013).

Estes resultados sugerem a necessidade de se continuar testando novos protocolos com diferentes combinações na busca de um tratamento mais eficiente e seguro.

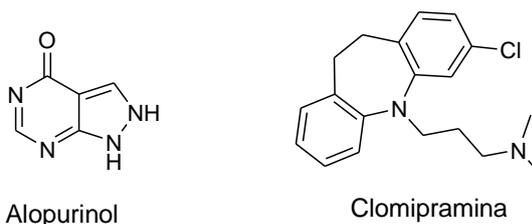


Figura 4. Medicamentos utilizados em associação no tratamento da Doença de Chagas

O medicamento amiodarona (AMD) (Figura 5), um conhecido agente antiarrítmico utilizado para o tratamento sintomático de pacientes chagásicos crônicos, também está sendo estudado frente à sua atividade tripanocida. Estudos recentes confirmaram que a AMD tem significativa atividade contra a proliferação das formas amastigotas de *T. cruzi*, sem afetar a viabilidade da célula hospedeira. Esta atividade resulta de um duplo mecanismo de ação, com a interrupção da homeostase do Ca^{2+} e bloqueio da biossíntese do lanosterol (PHERCYLES VEIGA-SANTOS et. al., 2012)

Esperandim e colaboradores utilizaram as lignanas cubebina (produto natural) e hinoquinina (obtida por semi-síntese) (Figura 5) para avaliar a atividade terapêutica *in vivo* durante a fase aguda da infecção por *T. cruzi*. Os resultados obtidos demonstram que estas lignanas podem ser consideradas candidatos promissores para o desenvolvimento de potenciais fármacos para o tratamento da doença de Chagas (ESPERANDIM et. al., 2013). Outros estudos também mostraram uma significativa atividade tripanocida *in vitro* e *in vivo* da cubebina e hinoquinina, bem como sua ação anti-inflamatória (DA SILVA et al., 2005).

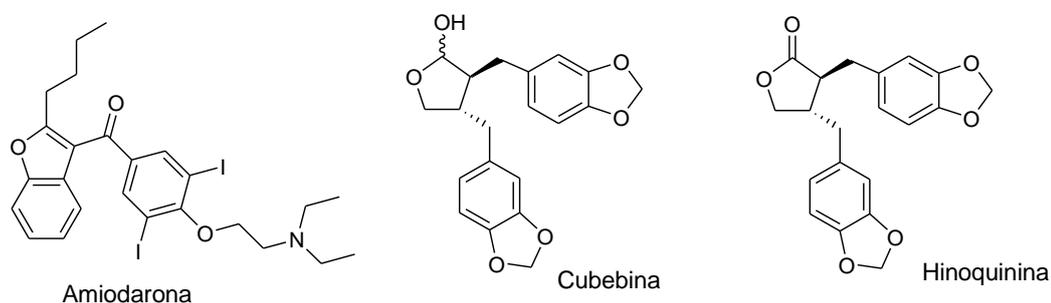


Figura 5. Potenciais agentes com atividade tripanocida

Em seus estudos, Molina et al. destaca a sensibilidade do *T. cruzi* aos inibidores da síntese de ergosterol (SBI's). Compostos como os derivados triazólicos têm a capacidade de serem reconhecidos pela enzima CYP51 (14- α -esterol demetilase), causando a sua inibição e, conseqüentemente, bloqueando a síntese do ergosterol (MOLINA et al., 2000).

Derivados triazólicos como o D0870 (Zeneca Farmacêutica), TAK-187 (Takeda Chemical Company) e posaconazol (SCH 56592, Schering-Plough Research Institute) (figura 6) foram descritos como os primeiros compostos a mostrar atividade curativa nas duas fases da doença de Chagas, sem efeitos

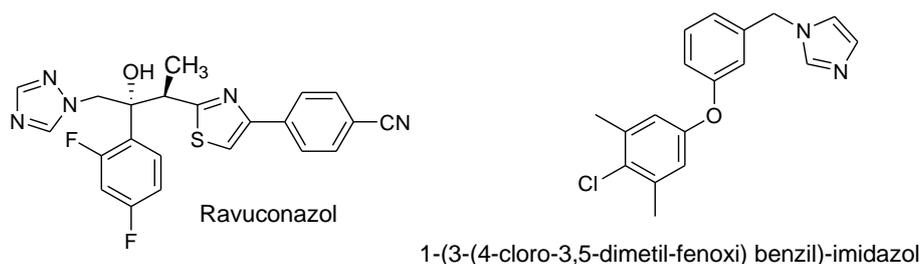


Figura 6. Inibidores da síntese de ergosterol

Junior et al. (2008) em seus trabalhos com quinonas, demonstrou que naftoquinonas triazólicas obtidas através de reações de ciclo-adição azido-alcino 1,3-dipolar catalisadas por cobre (CuAAC) apresentaram significativa atividade contra a forma tripomastigota de *T. cruzi*, destaque para o derivado **1** (figura 7) com IC_{50} de 17,3 μ M, sendo mais potente que a quinona sem o núcleo triazólico. Estes resultados demonstram que o núcleo triazólico atua aumentando a atividade tripanocida do composto, sendo alternativa viável em estudos na busca de quimioterápicos mais eficazes para o tratamento das infecções causadas por tripanosomatídeos.

Em outro trabalho com naftoquinonas, Da silva e colaboradores sintetizaram uma série de naftoquinonas substituídas que foram submetidas a ensaio de atividade tripanocida contra forma tripomastigota de *T. cruzi*. Desta série, 3 derivados apresentaram atividade relevante, destaque para o composto **2** (figura 7) com IC_{50} de 7,8 μ M (DA SILVA et. al., 2013).

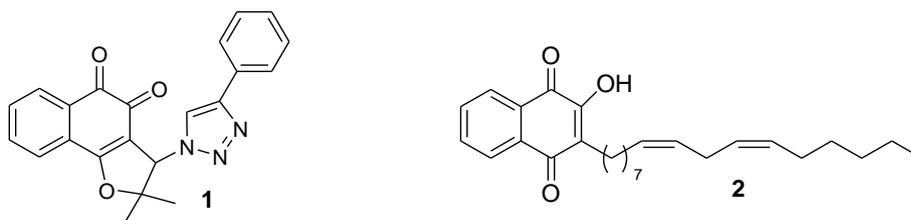


Figura 7. Naftoquinonas com atividade tripanocida

Derivados sulfonamidas têm sido descritos como potenciais agentes tripanocida. Da SILVA et. al. (2007) sintetizou o derivado *N*-quinolin-8-il-arilsulfonamida (**3**) (figura 8), através da técnica de hibridação molecular de um grupo sulfonamida e um anel de quinolina, que exibiu atividade tripanocida sobre *T. cruzi*. Em outro trabalho, Pagliero e colaboradores (2010) relataram os derivados

benzenossulfonil -2-metil- 1,2,3,4-tetra-hidroquinolina como potenciais inibidores de *T. cruzi*, relevância para o derivado 1 - (4-nitro-benzenossulfonil)-2-metil-1,2,3,4-tetra-hidroquinolina (**4**) (figura 8), com IC_{50} de 11,44 μ M.

Bocanegra-Garcia e colaboradores sintetizaram uma série de 11 derivados sulfonamidas. Todos os derivados apresentaram atividade lítica, similar ou superior quando comparados aos fármacos de referência nifurtimox e benznidazol, com destaque para o derivado N-(bifenil-4-il-sulfonil)-nicotinamida (**5**) (figura 8) com LC_{50} = 50,61 μ g/ml, benznidazol e nifurtimox com LC_{50} > 250 μ g/ml, para cepa NINOA (Bocanegra-Garcia et. al., 2012).

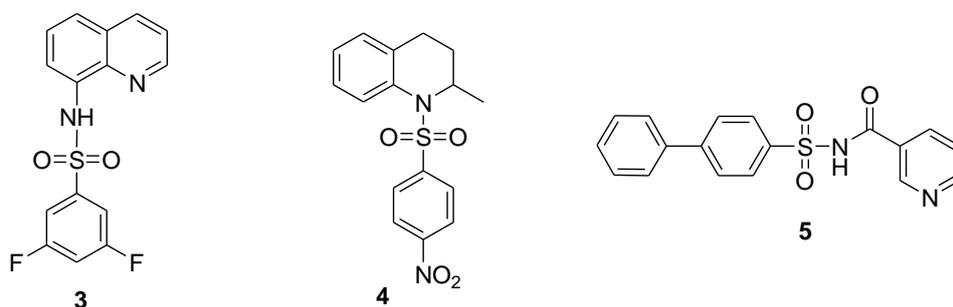


Figura 8. Derivados sulfonamidas com atividade tripanocida

Derivados de sulfonamidas também têm sido descritos como potenciais inibidores da enzima *trans*-sialidase de *T. cruzi* (TcTS), cuja importância é descrita no item 1.2. NERES et al. (2009) utilizou a estratégia de aplicação de filtros em *screening* virtual, um trabalho de docking molecular utilizando o programa GOLD, para identificar moléculas capazes de formar interações com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo de TcTS. Essas interações envolveram especificamente ligação de hidrogênio com os resíduos de Arg 314, Arg 245, Arg 53, Asp 96, Asp 59 e interações hidrofóbicas com resíduos de Tyr 312 e Tyr 119. Estes filtros foram escolhidos com base em interações que são comumente observadas nas estruturas de complexos TcTS, obtidos por cristalografia de raio X. A fase final do processo de seleção envolveu 1819 moléculas, que tiveram sua estrutura bidimensional e encaixe no sítio ativo de TcTS analisados, o que resultou na seleção de 23 moléculas com estruturas diversas, mas que tinham pelo menos um grupo carregado negativamente (sulfonamida ou carboxilato). Das 23 moléculas, 21 foram testadas com sucesso e quatro apresentaram inibição superior a 80% da atividade de TcTS.

Dentre essas, merece destaque o derivado sulfonamida **6** (figura 9), cujo valor de IC_{50} obtido foi de $280\mu M$.

Em outro estudo, KIM et al. (2009) sintetizou sulfonamidas derivadas de chalconas por meio da reação de condensação de Claisen-Schmidt. Todos os compostos sintetizados foram testados em TcTS, e os derivados 3,4-diidroxilados foram os mais potentes, com destaque para o composto **7** (Figura 9) com IC_{50} de $0,9\mu M$.

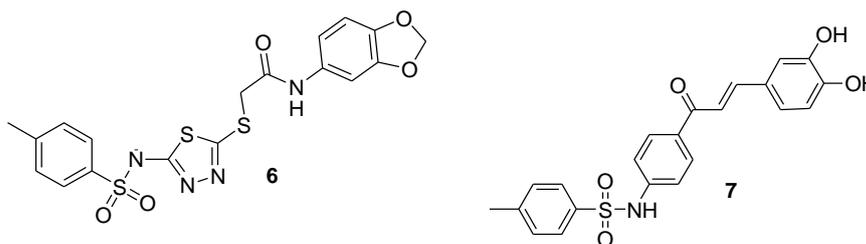


Figura 9. Estrutura química dos derivados sulfonamidas **6** e **7** com atividade inibidora de TcTS.

A atividade observada para os derivados **6** e **7** pode ser devido ao fato do grupo sulfonamida ser bioisómero do ácido carboxílico, o qual está presente na estrutura química do ácido siálico. Dessa forma, o grupo sulfonamido seria capaz de mimetizar o ácido carboxílico do ácido siálico e interagir no sítio doador da enzima *trans*-sialidase, promovendo sua inibição.

Dessa forma, a descoberta de novos fármacos antichagásicos, mais seguros e eficazes, é de fundamental importância e depende de investigações de novos alvos moleculares. Neste sentido, diversos alvos terapêuticos entre os quais a enzima *trans*-sialidase vêm sendo utilizados em pesquisas para o desenvolvimento de novos compostos contra o *T. cruzi* (RIVERA et al., 2009)

1.1.4 Alvos terapêuticos

A descoberta de novos alvos depende, em grande parte, da interpretação de informações contidas no genoma do parasita. Assim, o seu sequenciamento pode conduzir a um maior entendimento da relação estrutura-função de proteínas e exploração dos mecanismos de resistência a fármacos, como também interação parasita-hospedeiro e patologia das doenças (COURA; De CASTRO, 2002).

O seqüenciamento completo do genoma do *Trypanosoma cruzi* (cepa CL Brener), mais da metade sendo constituído por seqüências repetidas, revelou 22 mil

genes que codificam proteínas. Estas seqüências incluem genes para uma superfamília de moléculas de superfície, incluindo *trans*-sialidases, proteases gp 63 e proteínas de superfície associadas à mucina (MASPs) (CLAYTON, 2010). Na superfície celular das formas tripomastigotas de *T. cruzi* são expressos vários grupos de proteínas, sendo que as moléculas de mucina e a enzima *trans*-sialidase (TS) fazem parte do grupo melhor caracterizado; as 223 unidades protéicas detectadas no genoma da TS são compostas de 15 genes capazes de codificar a enzima ativa (EL-SAYED, 2005).

Vários critérios devem ser considerados na seleção de potenciais inibidores. O alvo a ser explorado deve ser encontrado unicamente no parasita e, portanto, ausente na célula do hospedeiro; deve ser essencial para o desenvolvimento do parasita em algum dos estágios de seu ciclo replicativo. O uso de enzimas e metabólitos como alvos terapêuticos permite melhor investigação em termos mecanísticos e estruturais, além de contribuir significativamente para o planejamento racional de fármacos (FAIRLAMB, 1999).

Os alvos identificados que têm sido explorados para o planejamento racional de fármacos antichagásicos envolvem a inibição seletiva de enzimas fundamentais no desenvolvimento do parasita, entre elas destacam-se :

- **Tripanotiona redutase** (KRAUTH-SIEGEL; COOMBS, 1999), relacionada ao estresse oxidativo.
- ***trans*-Sialidase** (PREVIATO et al., 1995; HARRISON et al., 2001), envolvida na glicosilação de mucinas de âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) para reconhecimento e adesão do parasita na célula do hospedeiro.
- **C₁₄D^{24,25}-esterol metiltransferase** (STTOPANI, 1999), essencial na biossíntese de ergosterol.
- **Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase** (PAVÃO et al., 2002), presente na via glicolítica.
- **Cisteína proteases (Cruzipaína)** (RAMOS et al., 2002; STEVERDING; TYLER, 2005), relacionadas à atividade proteolítica e penetração do parasita na célula do hospedeiro.
- **Diidrofolato redutase** (ZUCCOTTO et al., 1999), responsável pela geração de cofator na síntese “de novo” de timidina.

- **Prolil endopeptidase** (VENDEVILLE et al., 1999), envolvida na clivagem de pequenos peptídeos biologicamente ativos.
- **Hipoxantina-fosforibosiltransferase** (STTOPANI, 1999), essencial na síntese de nucleotídeos purínicos.
- **DNA topoisomerasas I e II** (MUELAS-SERRANO et al., 2002; STEVERDING; TYLER, 2005), enzimas essenciais que catalisam alterações topológicas na molécula de DNA. Elas desempenham um papel fundamental no metabolismo do DNA, incluindo replicação, transcrição, recombinação e condensação.
- **Farnesilpirofosfato sintase** (MUELAS-SERRANO et al., 2002), envolvida na biossíntese de uma variedade de esteróides e poliisoprenóides a partir de farnesilpirofosfato.

1.2 *Trans*-Sialidase

O parasita intracelular *T. cruzi* desenvolve uma enzima regulatória de superfície, denominada *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi* (TcTS), envolvida nas interações entre célula do hospedeiro e parasita; etapa inicial no processo de infecção (PREVIATO et al., 1995). A TcTS tem como seu principal substrato o ácido siálico, o qual está presente em glicoconjugados das células do hospedeiro e desempenha papel fundamental durante a invasão celular pelo parasita. *T. cruzi* é incapaz de sintetizar ácido siálico e através desta enzima o parasita torna-se capaz de transferi-lo e incorporá-lo a moléculas de mucina ligadas à sua membrana através de âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (COREY et al., 2002; PEREIRA-CHIOCCOLA et al., 2000).

1.2.1 Ácido siálico e mucinas

Dentre os carboidratos presentes nos glicoconjugados de membrana destaque para os ácidos siálicos, uma superfamília de carboidratos complexos de nove carbonos que ocorrem na natureza em cerca de 50 tipos (ANGATA et al., 2002). O ácido *N*-acetil-neuramínico (Neu-5-Ac) é o precursor biossintético de todos os derivados de ácido siálico (Figura 10) (DENINNO, 1991).

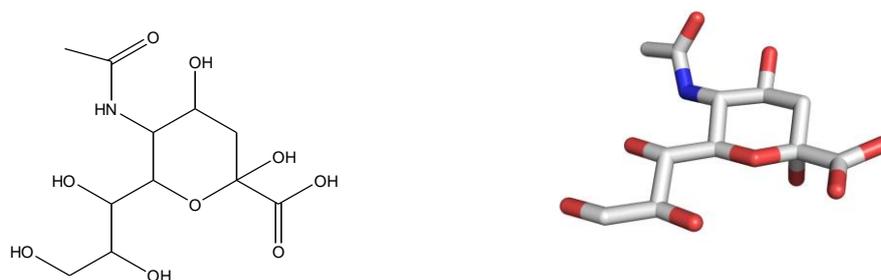


Figura 10 - Estruturas unidimensional e tridimensional do ácido *N*-acetil-neuramínico.

As glicoproteínas de mucina são moléculas multigalactosiladas, cujas unidades de galactose encontram-se ligadas, através de unidades de α -*N*-acetil-glicosamina (α GlcNAc), à cadeia peptídica com sequência rica em aminoácidos de Thr e Pro ($\text{Thr}_8\text{LysPro}_2$) (Figuras 11 e 12) (ACOSTA-SERRANO et al., 2001). As moléculas de mucina sialiladas, invisíveis à ação de proteases presentes na membrana plasmática de *T. cruzi*, estão envolvidas no processo de aderência e subsequente penetração do parasita nas células do hospedeiro (AGRELLOS et al., 2003; PREVIATO et al., 1995).

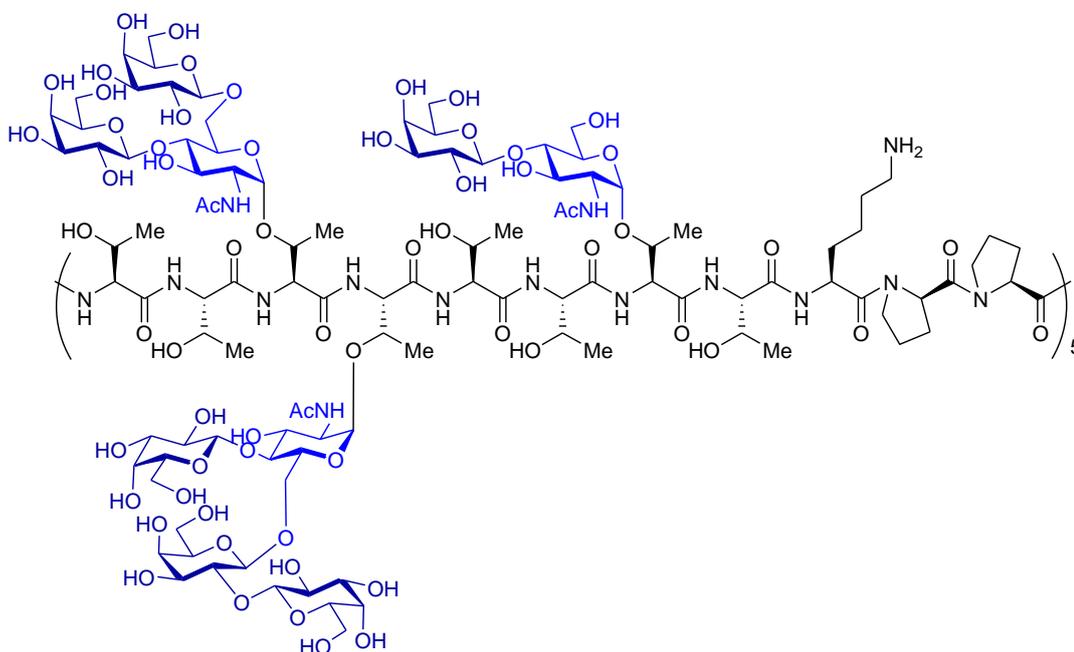


Figura 11 - Representação dos glicopeptídeos de mucina, contendo unidades multigalactosiladas ligadas à unidade repetitiva $\text{Thr}_8\text{LysPro}_2$.

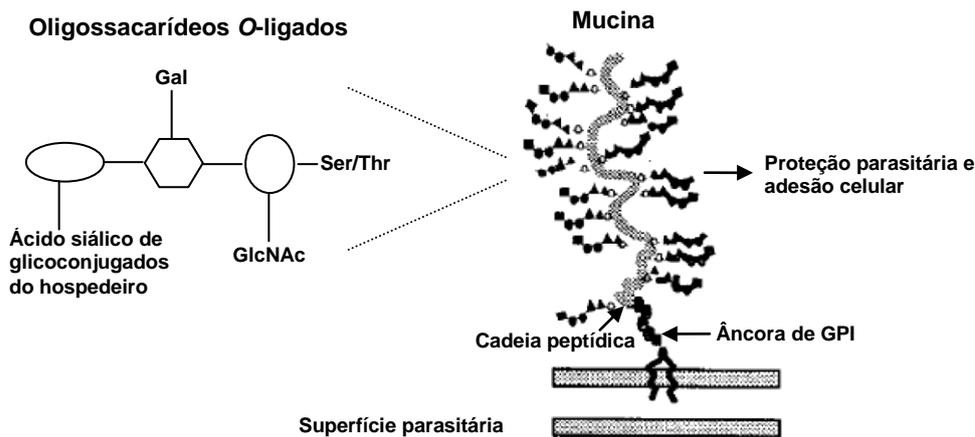


Figura 12 - Modelo estrutural de moléculas de mucina de *T. cruzi* aceptoras de ácido siálico.

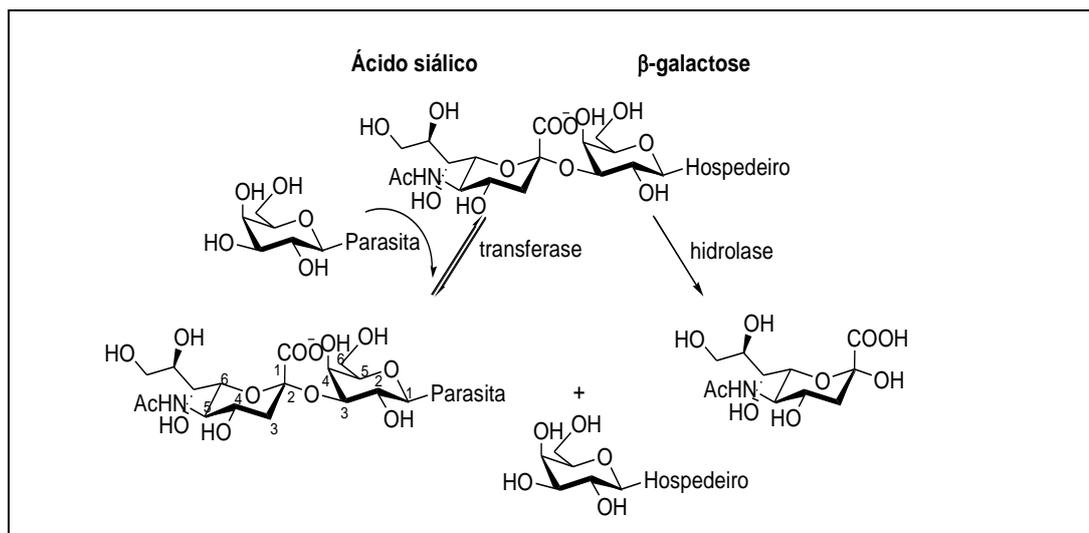
As moléculas de mucina de *T. cruzi* assemelham-se às de mamíferos, no entanto as unidades oligossacarídicas nos mamíferos estão ligadas à cadeia peptídica por unidades de *N*-acetil-galactosamina (GalNAc), e não α -*N*-acetil-glicosamina (α GlcNAc) (DI NOIA et al., 1996).

1.2.2 Atividade enzimática

A *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi* (TcTS) pertence à família de glicoproteínas de superfície do parasita. Esta enzima não utiliza ácido siálico livre, apenas transfere-o do hospedeiro para o parasita no sentido de controlar o nível de infecção (FRASCH et al., 1998).

A TcTS tem duas atividades: uma transferase e outra hidrolase. Esta enzima é específica em catalisar, preferencialmente, a transferência de ácido siálico para moléculas de mucina, originando ligações α -2,3 com unidades de β -galactose aceptoras, na superfície do parasita (PEREIRA-CHIOCCOLA et al., 2000). Assim, TcTS é uma sialiltransferase *in vivo* e *in vitro* na presença de substratos adequados, como β -galactose terminal de glicoconjugados (Esquema 1) (PARODI et al., 1992).

Apesar de ser primariamente classificada como transferase, promovendo reações reversíveis, a *trans*-sialidase também possui ação hidrolítica em ocasiões específicas de ausência de substratos aceptores (Esquema 1) (BUSCHIAZZO et al., 2002).



Esquema 1 - Reação de transferência e hidrólise de ácido siálico catalisada pela *trans*-sialidase de *T. cruzi*.

1.2.3 Estrutura 3D de *trans*-Sialidase e mecanismo de ação

A enzima TcTS possui dois domínios distintos: um domínio catalítico-propulsor *N*-terminal (resíduos 1-371) estritamente associado, através de uma longa α hélice (resíduos 372-394), ao domínio *C*-terminal de lectina (resíduos 395-632) (BUSCHIAZZO et al., 2002).

A estrutura de *trans*-sialidase de *T. cruzi* foi determinada a uma resolução de 1.6 Å e sua estrutura cristalográfica está disponível no PDB (“Protein Data Bank”) (AMAYA et al., 2003).

A Figura 13 mostra a estrutura unidimensional e tridimensional do inibidor DANA (2-desóxi-2,3-dehidro-*N*-acetil-ácido neuramínico), análogo de ácido siálico, e o complexo cristalográfico (código PDB: 1MS8) deste inibidor com a enzima TcTS.

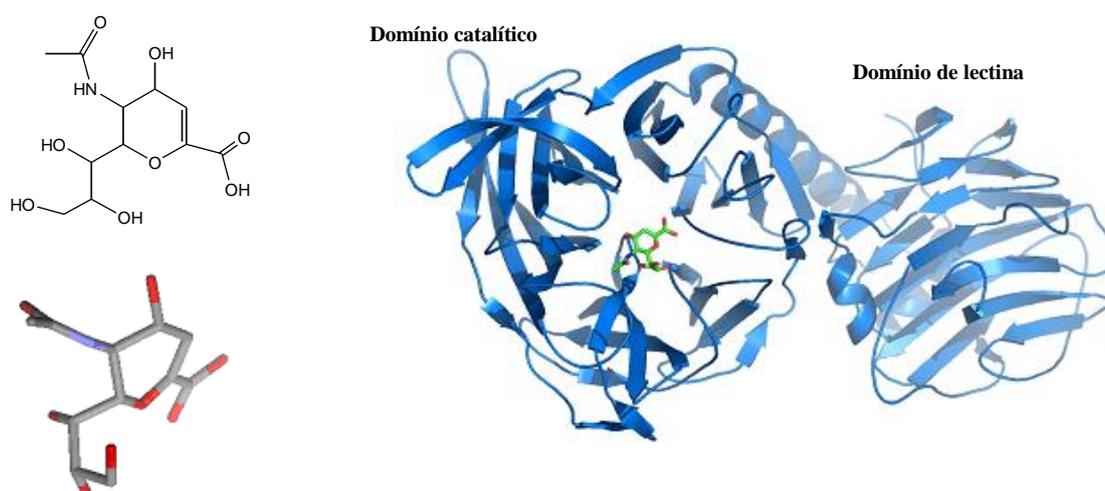


Figura 13 - Estruturas unidimensional e tridimensional do inibidor DANA e o complexo cristalográfico TcTS – DANA (Código PDB: 1MS8).

Dentre as interações entre TcTS e DANA, podemos destacar: uma tríade de aminoácidos Arg (Arg35, Arg245 e Arg314) que se liga ao grupo carboxilato presente em todos os derivados de ácido siálico, um resíduo de ácido aspártico (Asp59), essencial para a atividade catalítica, e dois resíduos (Tyr342 e Glu230) na porção inferior do sítio ativo, os quais estão adequadamente posicionados para estabilizar os estados de transição (Figura 14) (NERES et al., 2008).

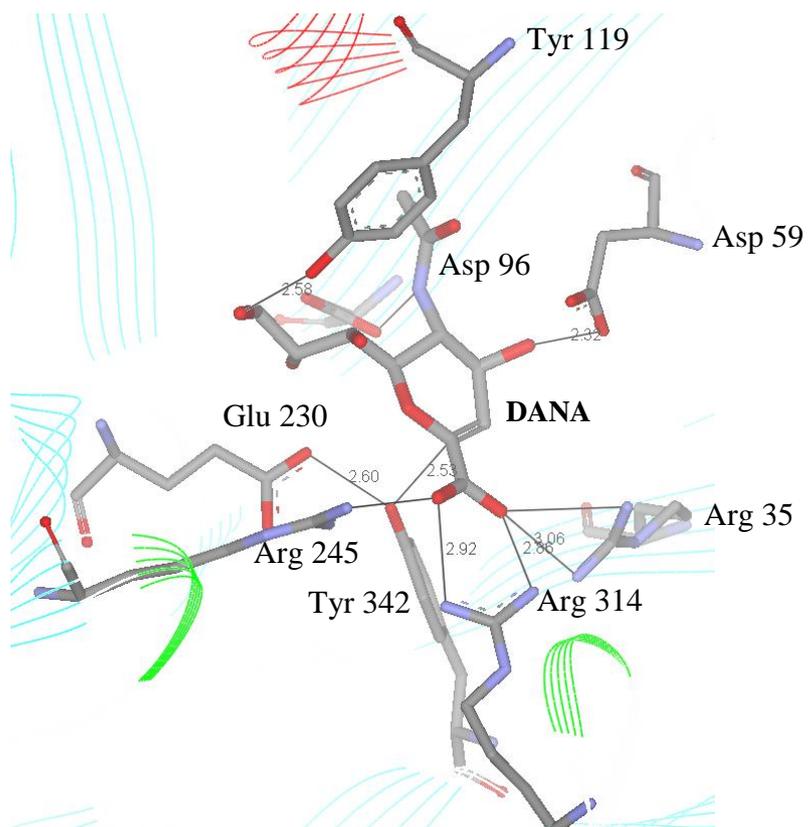


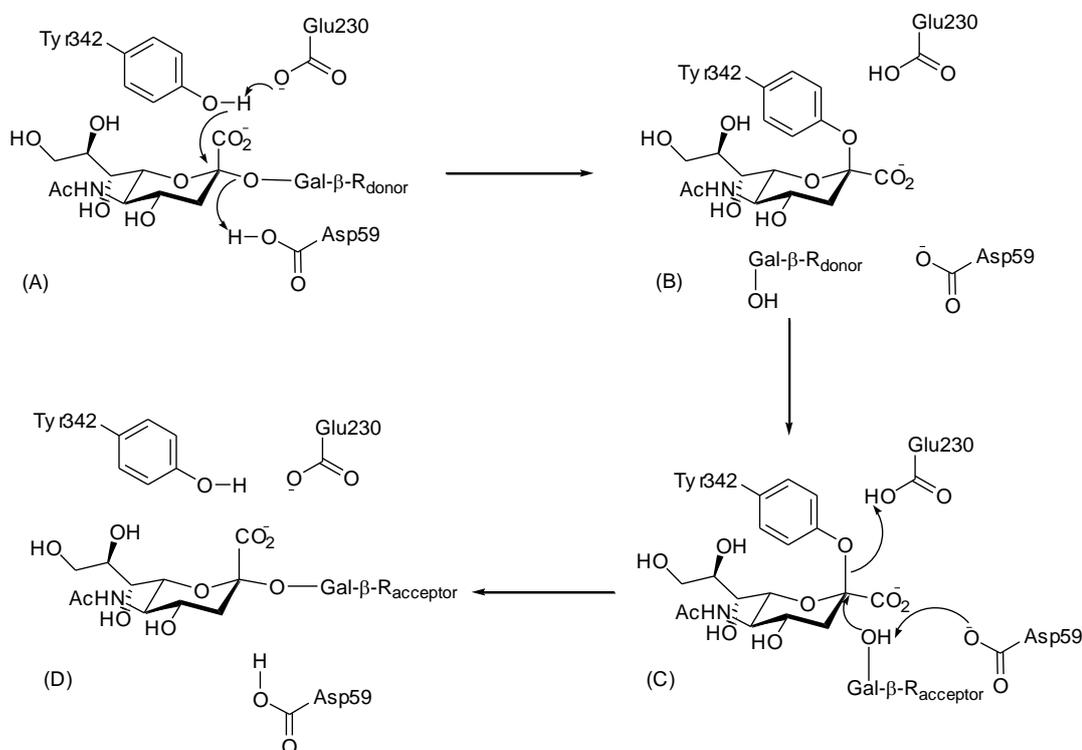
Figura 14 - Principais interações entre TcTS e DANA obtidas do PDB.

As principais funções dos resíduos de aminoácidos do sítio catalítico de TcTS, fundamentais para o processo de transglicosilação estão resumidas na Tabela 1 (BUSCHIAZZO et al., 2002).

Tabela 1 - Principais aminoácidos do sítio catalítico de TcTS e suas funções

Principais aminoácidos presentes no sítio catalítico de TcTS	Funções dos resíduos de aminoácidos do sítio catalítico de TcTS no processo de transglicosilação
Tríade de Arg: Arg35, Arg245 e Arg314	Ligam-se ao grupo carboxilato de ácido siálico.
Glu357	Estabiliza o resíduo de Arg35.
Asp59	É essencial para a catálise: realiza ligação de hidrogênio com 4-OH de ácido siálico e 3-OH de galactose.
Tyr342 e Glu230	Localizados na região inferior do sítio catalítico, estabilizam o estado de transição da reação de transglicosilação.
Val95, Leu176 e Trp120	Presentes na cavidade hidrofóbica, acomodam o grupo <i>N</i> -acetil.
Tyr119 e Tyr248	Estes resíduos, juntamente com os resíduos Trp120, Val203 e Trp312, definem o ambiente hidrofóbico que contribui para a exclusão de água do centro reacional, favorecendo a trans-glicosilação. Tyr119 também realiza ligação de hidrogênio com o resíduo de glicerol do ligante.
Pro283	Importante na transglicosilação em experimentos prévios de mutagênese.
Asp96	Sua orientação no sítio catalítico afeta a posição precisa de ácido siálico, pois interage com a porção glicerol.

A enzima TcTS catalisa a reação de transglicosilação por meio de um mecanismo conhecido como duplo-deslocamento (“ping pong”), tendo em vista que a ligação de lactose (substrato aceptor contendo galactose) ao sítio ativo enzimático ocorre somente após a entrada da molécula de ácido siálico (substrato doador) (Esquema 2). Após ligação do substrato doador de ácido siálico, o grupo hidroxílico de Tyr342, com assistência de Glu230 atuando como base, realiza ataque nucleofílico ao C-2 do ácido (A), com deslocamento do grupo abandonador protonado e formação do intermediário TcTS-sialosídeo (B). Posteriormente, o grupo hidroxila 3-OH da molécula aceptor de lactose, na presença do resíduo Asp59 como base, realiza um segundo ataque nucleofílico ao C-2 do ácido (C), resultando em retenção de configuração da molécula de ácido siálico (D) (NERES et al., 2008).



Esquema 2 - Mecanismo da reação de transglicosilação catalisada por TcTS.

1.2.4 Inibidores de *trans*-Sialidase de *T. Cruzi*

Apesar da importância de TcTS para a patogênese da doença de Chagas, sua inibição ainda é um desafio. Considerando a estrutura cristalográfica de TcTS, a maioria de seus inibidores foi classificada de acordo com a região do sítio ativo onde

eles se ligam, ou seja, sítio de ligação de ácido siálico (doador) e sítio de ligação de β -galactose (aceptor).

Assim os inibidores de TcTS são agrupados em três categorias: i) miméticos de substrato doador (ácido siálico), que se ligam na região do substrato doador, ii) miméticos de substratos aceptores (lactose e galactose), que se ligam na região do substrato aceptor e iii) miméticos do estado de transição (Esquema 2), que se ligam em ambas as regiões do sítio ativo (NERES et al., 2009).

1.2.4.1 Inibidores miméticos de substrato doador

Dentre as estratégias utilizadas na busca de novos inibidores específicos de TcTS, houve predominância significativa no uso do bioisosterismo como método de modificação molecular na estrutura do ácido siálico (Figura 15) (MOREIRA et al., 2009).

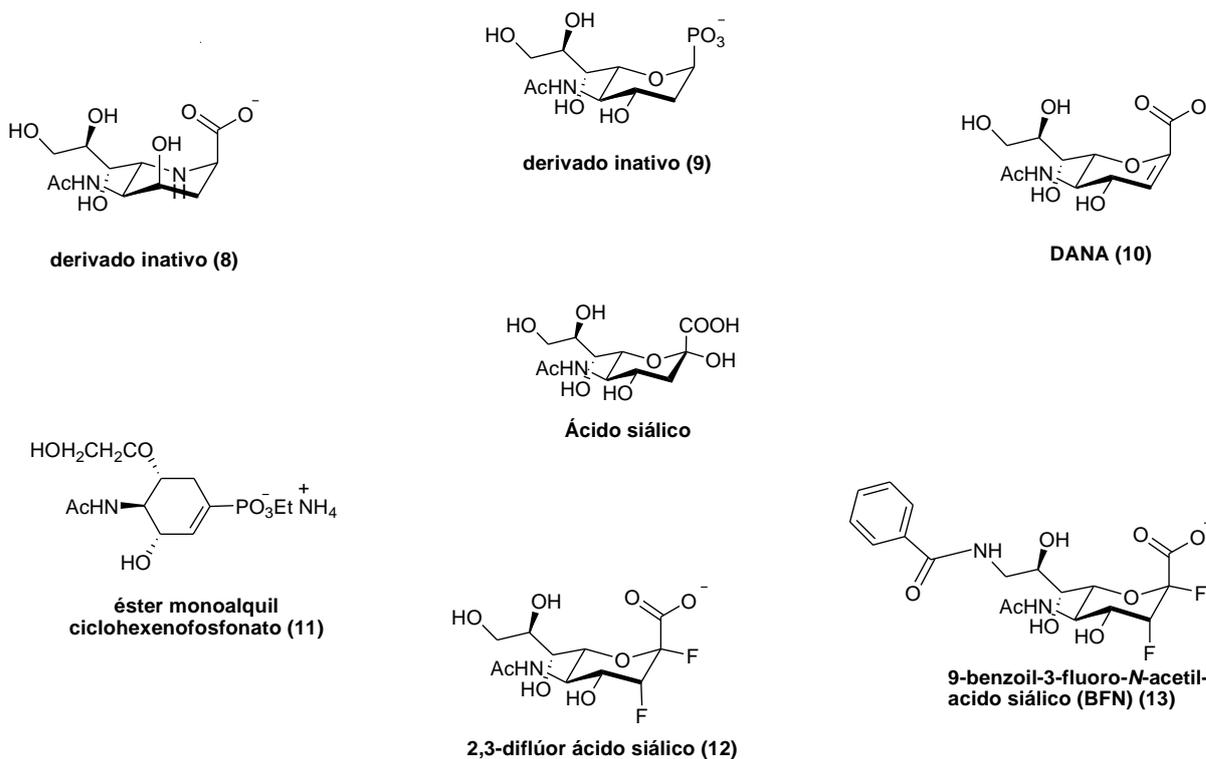


Figura 15 - Estruturas de inibidores miméticos de ácido siálico

De início, o átomo de oxigênio do anel pirano da estrutura de ácido siálico foi substituído por um átomo de nitrogênio ou o grupo carboxila foi substituído por grupo fosfato, porém essas modificações resultaram em moléculas inativas (**8** e **9**) frente TcTS. Num segundo momento foi considerada a estrutura do estado de transição de reações do ácido siálico, levando à síntese do derivado **10** (DANA) (K_i 12,3 mM) através da restrição conformacional do anel pirano e manutenção do farmacóforo básico (MOREIRA et al., 2009). Apesar de ser um potente inibidor de neuraminidase de influenza, DANA apresentou fraca inibição de TcTS.

Outra abordagem importante foi substituir o anel pirano presente no ácido siálico por cicloexeno com simultânea mudança do grupo carboxila por fosfato, molécula **11** (IC_{50} 5,0 mM), que apresentou melhor atividade que o DANA (STREICHER; BUSSE, 2006). Também foi utilizada a estratégia de fluorinação do ácido siálico, que levou à síntese de derivados de ácido siálico 2,3 difluorados (**12** e **13**) que inibiram a enzima TcTS de forma tempo-dependente. No entanto, para completa inativação, houve necessidade de concentrações muito elevadas dos inibidores (20,0 mM) (BUCHINI et al., 2008 ;WATTS et al., 2003).

Ferrero-Garcia et al. investigaram estruturas não relacionadas com carboidratos (Figura 16), e como resultado desse trabalho foi obtido do composto **14** (piridoxal 5'-fosfato) (K_i 7,3 mM) (FERRERO-GARCIA et al., 1993). Posteriormente, Neres et al. sintetizaram os derivados de ácido benzóico **15** (IC_{50} 0,54 mM) e de piridina **16** (IC_{50} 0,44 mM), que apresentaram atividade inibitória moderada (NERES et al., 2007).

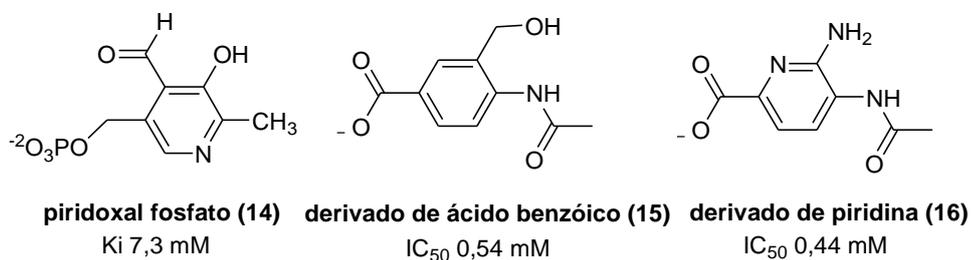


Figura 16 - Estruturas de inibidores miméticos de ácido siálico não relacionados com carboidratos.

1.2.4.2 Inibidores miméticos de substratos aceptores

O Lactitol **17** (Figura 17) foi o melhor inibidor análogo de lactose descoberto até o momento, com IC_{50} de 0,21 mM. No entanto, ele não inibe a atividade catalítica de TcTS, atuando somente como um acceptor preferencial de ácido siálico (AGUSTI et al., 2004).

Oligossacarídeos de alditóis, tais como tetra- e pentassacarídeo alditóis, contendo uma unidade externa de galactofuranose **18** (Figura 17) também foram sintetizados por Agusti e colaboradores como potenciais substratos para a transferência de ácido siálico, inibindo a transferência de ácido siálico para o substrato acceptor *N*-acetillactosamina com valores de IC_{50} entre 0,6 e 4,0 mM (AGUSTI et al., 2007).

Tendo em vista que compostos ativos tais como lactitol apresentaram baixa meia-vida plasmática devido à elevada excreção renal ou inativação por enzimas plasmáticas, foi realizada conjugação de derivados de lactose com polietileno glicol (PEG) visando ao aumento da biodisponibilidade. Desta forma, o composto **19** apresentou a maior taxa de inibição de transferência (82%), com IC_{50} de 0,34 mM, enquanto os derivados **20** e **21** apresentaram somente 21% (IC_{50} 2,7 mM) e 3,5% (IC_{50} 4,52 mM) de inibição, respectivamente (EUGENIA-GIORGI et al., 2010).

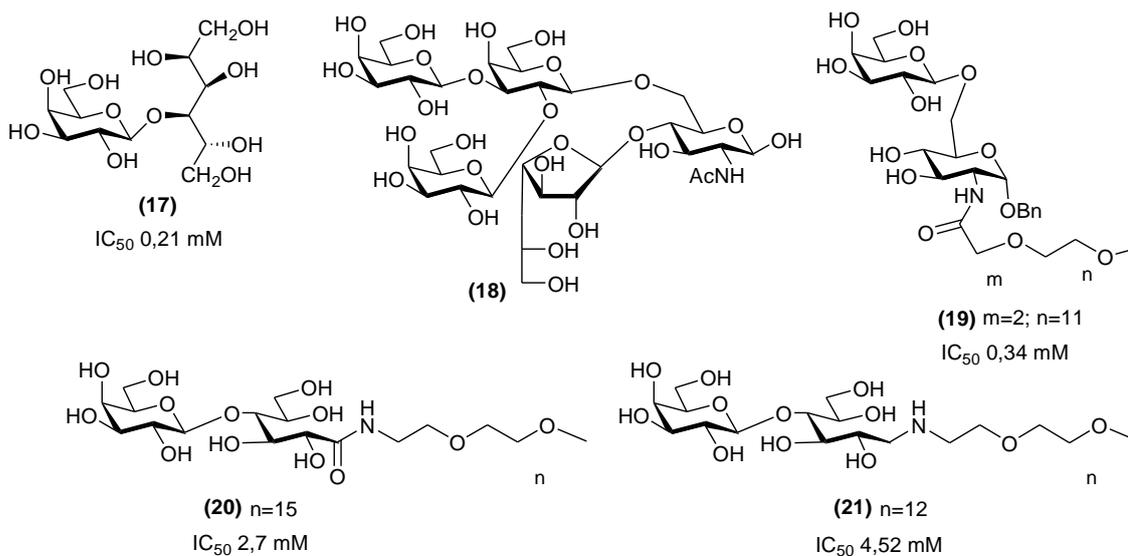


Figura 17 - Derivados miméticos de substratos aceptores de ácido siálico.

1.2.4.3 Inibidores miméticos do estado de transição

Dentre os inibidores planejados para ocupar ambas as regiões do sítio ativo de TcTS (Figura 18), destacam-se os derivados fosforilados de galactose **22** (IC_{50} 3,0mM) e **23** (IC_{50} 1,5 mM) e o derivado de gangliosídeo **24** (IC_{50} na ordem de 100 μ M) (BUSSE et al., 2007; VANDEKERCKHOVE et al., 1992).

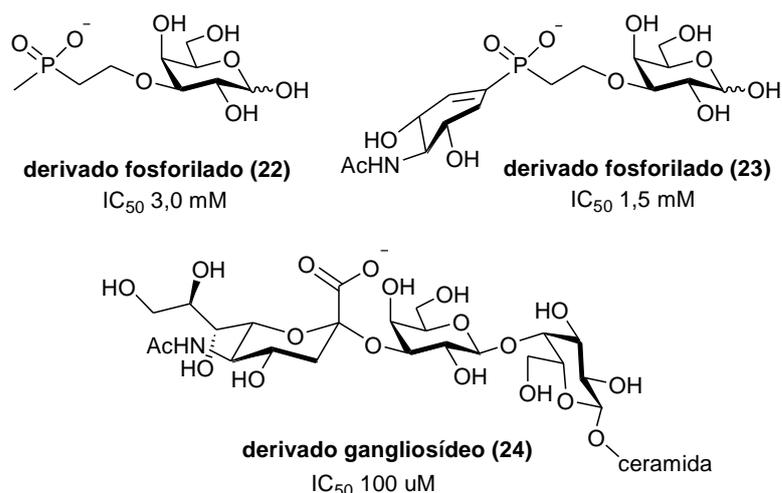


Figura 18 - Estruturas de derivados miméticos do estado de transição de TcTS.

Devido a esses resultados, a literatura sugere que a melhor estratégia para inibir a enzima deva envolver estruturas que ocupem tanto o sítio ativo doador quanto o sítio ativo aceptor de ácido siálico, representando os inibidores do estado de transição (NERES et al., 2009).

Neres e colaboradores relataram a descoberta de inibidores ativos de TcTS aplicando estratégia de *screening* virtual a partir de bibliotecas de compostos comercialmente disponíveis, considerando as interações destes compostos com o sítio ativo de TcTS. As maiores atividades encontradas são atribuídas aos compostos **25** (IC_{50} 0,15 mM) e **26** (IC_{50} 0,12 mM) (Figura 19) (NERES et al., 2009).

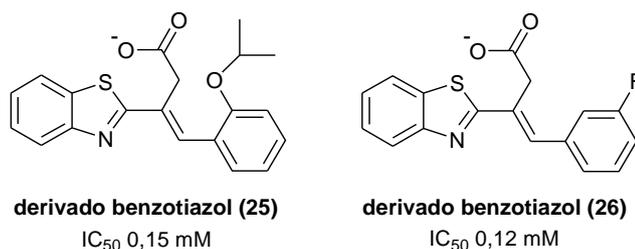


Figura 19 - Estruturas de derivados benzotiazol miméticos do transição de TcTS.

5. CONCLUSÕES

Frente às dificuldades encontradas na síntese, é importante destacar que o método utilizado na preparação de vários compostos foi reavaliado, repetido e/ou alterado a fim de que os rendimentos fossem otimizados.

O trabalho permitiu a síntese do intermediário de galactose contendo a função alcino terminal **30**, bem como dos derivados aril azidas **38-44**, que após reação de CuAAC resultaram nos derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas acilados **45-51**. A desacetilação permitiu a obtenção dos produtos galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas **52-58** em rendimentos satisfatórios.

Por fim, os produtos **52-58** foram submetidos a ensaio de inibição de TcTS. A inibição de 81% apresentada pelo produto **58** (1,0 mM), derivado contendo o grupo galactosil-triazólico ligado a sulfapiridina, foi bastante promissora e abre perspectivas para a síntese de um maior número de derivados galactosil-triazolo-benzenossulfonamidas com diferentes substituintes em **R** para o estabelecimento de estudos de relação estrutura-atividade e a taxa de inibição da enzima *trans*-sialidase.

Os produtos **53-55** também foram testados em ensaios *in vitro*, envolvendo a forma tripomastigota de *T. cruzi* cepa Tulahuen, trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP - USP). O resultado apresentado pelo produto **55**, derivado contendo o grupo galactosil-triazólico ligado a sulfamerazina, parece ser bastante promissor, pois sua atividade foi superior ao benznidazol nas concentrações mais baixas. A realização dos estudos sobre a influência do pKa sobre a atividade tripanocida dependerá dos resultados de atividade tripanocida apresentada pelos produtos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-SERRANO, A.; ALMEIDA, I. C.; FREITAS-JUNIOR, L. H.; YOSHIDA, N.; SCHENKMAN, S. The mucin-like glycoprotein superfamily of *Trypanosoma cruzi*: Structure and biological roles. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 114, p.143-150, 2001.

AGRELLOS, O. A.; JONES, C.; TODESCHINI, A. R.; PREVIATO, J. O. A novel sialylated and galactofuranose-containing O-linked glycan, Neu5Ac α 2 \rightarrow 3 Galp β 1 \rightarrow 6(Galf β 1 \rightarrow 4)GlcNAc, is expressed on the sialoglycoprotein of *Trypanosoma cruzi* Dm28c. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.126, p.93-96, 2003.

AGUSTI, R.; PARIS, G.; RATIER, L.; FRASCH, A. C. C.; LEDERKREMER, R. M. Lactose derivatives are inhibitors of *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase activity toward conventional substrates *in vitro* and *in vivo*. **Glycobiology**, v.14, p.659-670, 2004.

AGUSTI, R.; GIORGI, M. E.; MENDOZA, V. M.; GALLO-RODRIGUEZ, C.; LEDERKREMER, R. M. Comparative rates of sialylation by recombinant trans-sialidase and inhibitor properties of synthetic oligosaccharides from *Trypanosoma cruzi* mucins-containing galactofuranose and galactopyranose. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.15, p.2611-2616, 2007.

AMATO NETO, V.; PASTERNAK, J. Chagas disease centenary. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, p.381-382, 2009.

AMAYA M. F.; BUSCHIAZZO A.; NGUYEN T.; ALZARI P. M. The high resolution structures of free and inhibitor-bound *Trypanosoma rangeli* sialidase and its comparison with T-cruzi trans-sialidase. **Journal of Molecular Biology**, v.325, p.773-784, 2003.

ANDRIANI, G; AMATA, E; BEATTY, J; CLEMENTS, Z; COFFEY, B; COURTEMANCHE, G ; DEVINE, W; ERATH, J; JUDA, C; WAWRZAK, Z; WOOD, J; LEPESHEVA, G; RODRIGUEZ, A; POLLASTRI, M. Antitrypanosomal Lead Discovery: Identification of a Ligand-Efficient Inhibitor of *Trypanosoma cruzi* CYP51 and Parasite Growth. **J. Med. Chem.**,v. 56, p. 2556–2567, 2013

ANGATA, T.; VARKI, A. Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related Alpha-keto Acids: an Evolutionary Perspective. **Chemical Reviews**, v.102, p.439-469, 2002.

BARRAL, K; MOORHOUSE, A. D. ; MOSES, J. E. Efficient conversion of aromatic amines into azides: a One-Pot synthesis of triazole linkages. **Organic Letters**, vol. 9, n. 9, p. 1809-1811, 2007

BOCANEGRA-GARCIA, V.; VILLALOBOS-ROCHA, J.; NOGUEDA-TORRES, B.; LEMUS-HERNANDEZ, M.; CAMARGO-ORDOÑEZ, A.; ROSAS-GARCIA, N.; RIVERA, G. Synthesis and Biological Evaluation of New Sulfonamide Derivatives as Potential Anti-*Trypanosoma cruzi* Agents. **Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 1039-1044, 2012

BRASE, S.; GIL, C.; KNEPPER, K.; ZIMMERMANN, V. Organic Azides: An Exploding Diversity of a Unique Class of Compounds. **Angew. Chem. Int. Ed**, v.44, p. 5188-5240, 2005.

BOCK, V. D.; HIEMSTRA, H.; VAN MAARSEVEEN, J. H. Cu(I)-catalyzed alkyne-azide click cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. **Eur. J. Org. Chem.**, v. 1, p. 51-68, 2006.

BUCHINI, S.; BUSCHIAZZO, A.; WITHERS, S. G. A New Generation of Specific *Trypanosoma cruzi* *trans*-Sialidase Inhibitors. **Angew. Chem. Int. Ed**, v.47, p.2700-2703, 2008.

BUSCHIAZZO A.; AMAYA M. F.; CREMONA M. L.; FRASCH A. C.; ALZARI P. M. The crystal structure and mode of action of *trans*-sialidase, a key enzyme in *Trypanosoma cruzi* pathogenesis. **Molecular Cell**, v.10, p.757-768, 2002.

BUSSE, H.; HAKODA, M., STANLEY, M.; STREICHER, H. Galactose-phosphonates as mimetics of the sialyltransfer by trypanosomal sialidases. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v.26, p.159-194, 2007.

CHATELAIN, E.; LOSET, J-R. Drug discover and development for neglected diseases: the DNDi model. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 5, p. 175-181, 2011.

CHENG, H.; CAO, X.; XIAN, M.; FANG, L.; CAI, T. B.; JI, J. J.; TUNAC, J. B.; SUN, D.; WANG, P.G. Synthesis and Enzyme-Specific Activation of Carbohydrate-Geldanamycin Conjugates with Potent Anticancer Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.48, p.645-652, 2005.

CLAYTON, J. **Outlook Nature**, p.S4-S5. Disponível em: <<http://www.nature.com/outlooks>>. Acesso em: 15 fev. 2011 .

CLAYTON, J. **Outlook Nature**, p. S12-S15. Disponível em: <<http://www.nature.com/outlooks>>. Acesso em: 15 fev. 2011.

CLAYTON, J. **Outlook Nature**, p. S16-S17. Disponível em: <<http://www.nature.com/outlooks>>. Acesso em: 15 fev. 2011 .

COREY, W. T.; LIMA, M. F.; VILLALTA, F. *Trypanosoma cruzi* Uses a 45-kDa Mucin for Adhesion to Mammalian Cells. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v.290, p.29-34, 2002.

COURA, J. R.; De CASTRO, S. L. A Critical Review on Chagas Disease Chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.3-24, 2002.

DA SILVA, R.; DE SOUZA, G.H.; DA SILVA, A.A.; DE SOUZA, V.A.; PEREIRA, A.C.; ROYO, V.A.; SILVA, M.L.A.; DONATE, P.M.; DE MATOS ARAUJO, A.L.; CARVALHO, J.C.; BASTOS, J.K. Synthesis and biological activity evaluation of

lignan lactones derived from (-)- cubebin. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v.15, p.1033–1037, 2005

DA SILVA , A.; LOPES , R.; LIMA , R.; TOZATTI , C.; MARQUES, M.; ALBUQUERQUE, S.; BEATRIZ, A.; LIMA, D. Synthesis and biological activity against *Trypanosoma cruzi* of substituted 1,4-naphthoquinones. **European Journal of Medicinal Chemistry.** V.60, p.51e56, 2013

DA SILVA, L.E.; JOUSSEF A.C.; PACHECO, LK.; DA SILVA, D.G.; STEINDEL, M.; REBELO R.A. Synthesis and *in vitro* evaluation of leishmanicidal and trypanocidal activities of N-quinolin-8-ylarylsulfonamides. **Bioorg. Med. Chem.** v.15, p.7553-7560, 2007

DAS, J.; PATIL, S. N.; AWASTHI, R.; NARASIMHULU, C. P.; TREHAN, S. An easy access to aryl azides from aryl amines under neutral conditions. **Synthesis**, v.11, p. 1801-1806, 2005.

DENINNO, M. P. The synthesis and glycosidation of. *N*-acetylneuraminic acid. **Synthesis**,v. 8, p. 593, 1991.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. 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.

DIAS, J. C. P.; SCHOFIELD, C. J. The evolution of chagas disease(American Trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, p. 103-121, 1999.

DI-NOIA, J. M.; POLLEVICK, G. D.; XAVIER, M. T.; PREVIATO, J. O.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; SANCHEZ, D. O.; FRASCH, A. C. C. High diversity in mucin genes and mucin molecules in *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Biological Chemistry**, v.271, p.32078-32083, 1996.

DO CAMPO, R. Recent developments in the chemotherapy of Chagas disease. **Current Pharmaceutical Design**, v.7, p.1157-1164, 2001.

EL-SAYED, N. M. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. **Science**, v.309, p.409-415, 2005.

ESPERANDIM, V; FERREIRA , D; REZENDE, K; CUNHA, W; SARAIVA, J; BASTOS , J; ANDRADE, J; ALBUQUERQUE, S. Evaluation of the *in vivo* therapeutic properties of (-)-cubebin and (-)-hinokinin against *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology** , v.133 p. 442–446, 2013

FAIRLAMB, A. H. Future prospects for the chemotherapy of Chaga's Disease. **Medicina (Buenos Aires)**, v.59, supl.II, p.179-187, 1999.

FERRERO-GARCIA, M. A.; TROMBETTA, S. E.; SANCHEZ, D. O.; REGLERO, A.; FRASCH, A. C. C.; PARODI, A. J. The action of *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase

on glycolipids and glycoproteins. **European Journal of Biochemistry**, v.213, p.765-771, 1993.

FRASCH, A. C. C.; BUSCAGLIA, C. A.; LEGUIZAMON, M. S.; CAMPETELLA, O. The repetitive domain of *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase enhances the immune response against the enzymatic domain. **Journal of Infectious Disease**, v.177, p.431, 1998.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). **Centenário de Descoberta da Doença de Chagas**. Portal da Fiocruz, 2009. Disponível em: <www.fiocruz.br>. Acesso em: 17 de janeiro de 2011.

GALLERANO R., MARR J., SOSA R. Therapeutic efficacy of allopurinol in patients with chronic Chagas' disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*; v. 43 p.159–66, 1990.

GEDYE, R.; SMITH, F.; WESTAWAY, K.; ALI, H.; BALDISERA, L.; LABERGE, L.; ROUSELL, J. The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. **Tetrahedron Lett.**, v.27, p. 279-282, 1986.

GIGUERE, R. J.; BRAY, T. L.; DUNCAN, M. S.; MAJETICH, G.. Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. **Tetrahedron Lett.**, v. 27, p. 4945-4948, 1986.

GRAEBIN, C. S.; UCHOA, F. D.; BERNARDES, L.S.C.; CAMPO, V.L.; CARVALHO, I.; EIFLER-LIMA, V. L. Antiprotozoal Agents: An Overview. **Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry**, v.8, p.345-366, 2009.

GUEDES, P. M.M.; OLIVEIRA, F. S.; GUTIERREZ, F. R.; DA SILVA, G. K.; RODRIGUES, G. J.; BENDHACK, L. M.; FRANCO, D. W.; DO VALLE MATTA, M. A.; ZAMBONI, D. S.; DA SILVA, R. S.; SILVA, J. S. BR. Nitric oxide donor *trans*-[RuCl([15]aneN4)NO]2+ as a possible therapeutic approach for Chagas' disease. **Journal of Pharmacology**, v.160, n.2, p.270 -282, 2010.

HARRISON, J. A.; KARTHA, K. P. R.; TURNBULL, W. B.; SCHEUERL, S. L.; NAISMITH, J. H.; SCHENKMAN, S. R.; FIELD, A. Hydrolase and sialyltransferase activities of *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase towards NeuAc- α -2,3-Gal- β -O-PNP. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.11, p.141-144, 2001.

HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF, R.; ROSTOVTSEV, V. V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V. Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 127, p. 210-216, 2005.

JACOBSSON, M.; MALMBERG, J.; ELLERVIK, U. Aromatic O-glycosylation. **Carbohydrate Research**, v.341, p.1266-1281, 2006.

JUNIOR, E. N. S.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; PINTO, M. C. F. R.; SILVA, R. S. F.; TEIXEIRA, D. V.; SOUZA, M.C.B.V.; SIMONE, C. A.; CASTRO, S. L.; FERREIRA, V. F.; PINTO, A, V. Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active

against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.43, p. 1774-1780, 2008.

KARTHA K. P. R.; FIELD, R. A. Iodine: A versatile reagent in carbohydrate chemistry IV. Per-O-acetylation, regioselective acylation and acetolysis. **Tetrahedron**, v.53, n.34, p.11753-11766, 1997.

KAPPE, C. O. Controlled Microwave Heating in Modern Organic Synthesis. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 43, p. 6250–6284, 2004.

KIM, J. H.; RYU, H. W.; SHIM, J. H.; PARK, K. H.; WITHERS, S. G. Development of New and Selective **Trypanosoma cruzi** *trans*-Sialidase Inhibitors from Sulfonamide Chalcones and Their Derivatives. **Chembiochem**, v.10, p.2475-2479, 2009.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angew. Chem. Int. Edn** v. 40, p. 2004–2021, 2001.

KRAUS J. M.; VERLINDE, C. L.; KARIMI, M.; LEPESHEVA, G. I.; GELB, M. H.; BUCKNER, F. S. Rational Modification of a Candidate Cancer Drug for Use Against Chagas Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.52, p.1639–1647, 2009.

KRAUTH-SIEGEL, R. L.; COOMBS, G. H. Enzymes of parasite thiol metabolism as drug targets. **Parasitology Today**, v.15, p.404-409, 1999

LEE, S-G.; KIM, B-G. Development of spectrophotometric method for monitoring *trans*-sialidase reaction and its application **Biotechnology Letters**, v.22, p.819-823, 2000.

MOLINA, J.; BRENER, Z.; ROMANHA, A, J.; URBINA. *In vivo* activity of the bis-triazole D0870 against drug-susceptible and drug-resistant strains of the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. **J. Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, p. 137-140, 2000.

MOREIRA, D. R. M.; LEITE, A. C. L.; DOS SANTOS, R. R.; SOARES, M. B. P. Approaches for the development of new anti-*Trypanosoma cruzi* agents. **Current Drug Targets**, v.10, p.212-231, 2009.

MONCAYO, A.; SILVEIRA, A. C. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.1, p.17-30, 2009.

MONCAYO, A. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, p.401-404, 1999.

MUELAS, S.; SUÁREZ, M.; PÉREZ, R.; RODRIGUEZ, H.; OCHOA, C.; ESCARIO, J. A.; GOMEZ-BARRIO, A. *In vitro* and *in vivo* assays of 3,5-disubstituted-tetrahydro-2H-1,3,5-tiadizin-2-thione derivatives against *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.269-272, 2002.

MUELAS-SERRANO, S.; LE-SENNE, A.; FERNÁNDEZ-PORTILLO, C.; NOGAL, J. J.; OCHOA, C.; GÓMEZ-BARRIO, A. *In vitro* and *in vivo* anti-*Trypanosoma cruzi* activity of a novel nitro-derivative. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.9, p.553-557, 2002.

MUTHANA, S.; YU, H.; HUANG, S.; CHEN, X. Chemoenzymatic Synthesis of Size Defined Polysaccharides by Sialyltransferase-Catalyzed Block Transfer of Oligosaccharides. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 11918-11919, 2007.

NERES, J.; BUSCHIAZZO, A.; ALZARI, P. M.; WALSH, L.; DOUGLAS, K. T. Continuous Fluorimetric assay for high-throughput screening of inhibitors of *trans*-sialidase from *Trypanosoma cruzi*. **Analytical Biochemistry**, v.357, p.302-304, 2006.

NERES, J.; BONNET, P.; EDWARDS, P. N.; KOTIAN, P. L.; BUSCHIAZZO, A.; ALZARI, P. M.; BRYCE, R. A.; DOUGLAS, K. T. Benzoic acid and pyridine derivatives as inhibitors of *Trypanosoma cruzi trans*-sialidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.15, p.2106-2119, 2007.

NERES, J.; BRYCE, R. A.; DOUGLAS, K. T. Rational drug design in parasitology: *trans*-sialidase as a case study for Chagas disease. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 110-117, 2008.

NERES, J.; BREWER, M. L.; RATIER, L.; BOTTI, H.; BUSCHIAZZO, A.; EDWARDS, P. N.; MORTENSON, P. N.; CHARLTON, M. H.; ALZARI, P. M.; FRASCH, A. C.; BRYCE, R. A.; DOUGLAS, K. T. Discovery of novel inhibitors of *Trypanosoma cruzi trans*-sialidase from in silico screening. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.19, p. 589-596, 2009.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia Humana**. 9a. edição, Ed. Atheneu, Belo Horizonte, 1995, p.82.

NWAKA, S.; RAMIREZ, B.; BRUN, R.; MAES, L.; DOUGLAS, F.; RIDLEY, R. Advancing drug innovation for neglected diseases- Criteria for Lead Progression. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, p. 1-13, 2009.

OMS. Report sobre la enfermedad de Chagas. Actualizado en Julio de 2007, Buenos Aires, Argentina. Disponível em: <<http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdr-research-publications/reporte-enfermedad-chagas>>. Acesso em: 30 jan. 2011.

OSBORN, H. M. I. **Synthetic Methods of Carbohydrates**; 1^o ed.; The Boulevard, Langford Lane Kidlington, Oxford, UK, Academic Press, 2003.

PAGLIERO, R.J.; LUSVARGHI, S.; PIERINI, A.B.; BRUN, R.; MAZZIERI, MR. Synthesis, stereoelectronic characterization and antiparasitic activity of new 1-benzenesulfonyl-2-methyl-1,2,3,4- tetrahydroquino-lines. **Bioorg. Med. Chem.**, v.18, p.142-150, 2010.

PARODI, A. J.; POLLEVICK, G. D.; MAUTNER, M.; BUSCHIAZZO, A.; SÁNCHEZ, D. O.; FRASCH, A. C. C. Identification of the Gene(S) Coding for the *trans*-Sialidase of *Trypanosoma cruzi*. **EMBO Journal**, v.11, p.1705, 1992.

PAVÃO, F.; CASTILHO, M. S.; PUPO, M. T.; DIAS, R. L. A.; CORREA, A. G.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F.; MAFEZOLI, J.; VIEIRA, P. C.; OLIVA, G. Structure of *Trypanosoma cruzi* glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase complexed with chalepin, a natural product inhibitor, at 1.95 angstrom resolution. **Federation of European Biochemical Societies (FEBS Letters)**, v.520, p.13-17, 2002.

PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L.; ACOSTA-SERRANO, A.; DE ALMEIDA, I. C.; FERGUSON, M. A. J.; SOUTO-PADRON, T.; RODRIGUES, M. M.; TRAVASSOS, L. R.; SCHENKMAN, S. Mucin-like molecules form a negatively charged coat that protects *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes from killing by human anti- α -galactosyl antibodies. **Journal of Cell Science**, v. 113, p. 1299-1307, 2000.

PEREZ-MAZLIAH, D; ALVAREZ, M; COOLEY, G; LOCOCO, B; BERTOCCHI, G; PETTI, M; ALBAREDA, M; ARMENTI, A; TARLETON, R; LAUCELLA, S; R. VIOTTI. Sequential combined treatment with allopurinol and benznidazole in the chronic phase of *Trypanosoma cruzi* infection: a pilot study. **J Antimicrob Chemother**, v.68, p. 424–437, 2013

PETHERICK, A. **Outlook Nature**, p. S10-S11. Disponível em: <<http://www.nature.com/outlooks>>. Acesso em: 15 fev. 2011

PREVIATO, J. O.; JONES, C.; XAVIER, M. T.; WAIT, R.; PARODI, A. J.; PREVIATO, L. M. Structural characterization of the major glycosylphosphatidylinositol membrane-anchored glycoprotein from epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi* Y-strain. **Journal of Biological Chemistry**, v.270, p.7241-7250, 1995.

RAMOS, A. M.; DUSCHAK, V. G.; GEREZ DE BURGOS, N. M.; BARBOZA, M.; REMEDI, M. S.; VIDES, M. A.; CHIABRANDO, G. A. *Trypanosoma cruzi*: cruzipain and membrane-bound cysteine proteinase isoform(s) interacts with human α -2-macroglobulin and pregnancy zone protein. **Experimental Parasitology**, v.100, p.121-130, 2002.

RASSI, A.; DIAS, J. C.; MARIN-NETO, J. A.; RASSI, A. Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. **Heart**, v.95, p.524-534, 2009.

REN, T.; ZHANG, G.; LIU, D. Synthesis of bifunctional cationic compound for gene delivery. **Tetrahedron Letters**, v.42, p.1007–1010, 2001.

RIVERA, G.; BOCANEGRA-GARCIA, V.; ORDAZ-PICHARDO, C.; NOGUEDA-TORRES, B.; MONGE, A. New therapeutic targets for drug design against *Trypanosoma cruzi*, advances and perspectives. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 3286-3293, 2009.

RODIONOV, V. O.; FOKIN, V. V.; FINN, M. G. Mechanism of the Ligand-Free CuI-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 44, p. 2215-2220, 2005.

SANCHEZ-MORENO, M.; SANZ, A. M.; GÓMEZ-CONTRERAS, F.; NAVARRO, P.; MARIN, C.; RAMÍREZ-MACIAS, I.; ROSALES, M. J.; OLMO, F.; GARCIA-ARANDA, I.; CAMPAYO, L.; CANO, C.; ARREBOLA, F.; YUNTA, M. J. R. *In Vivo* Trypanosomicidal Activity of Imidazole- or Pyrazole-Based Benzo[g]phthalazine Derivatives against Acute and Chronic Phases of Chagas Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.54, p.970-979, 2011.

SCHRADER, S.; TIRALONGO, E.; PARIS, G.; YOSHINO, T.; SHAUER, R. A nonradioactive 96-well plate assay for screening of *trans*-sialidase activity. **Analytical Biochemistry**, v.322, p.139-147, 2003.

STEVERDING D. AND TYLER, K. M. Novel antitrypanosomal agents. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.14, p.939-955, 2005.

STREICHER, H.; BUSSE, H. Building a successful structural motif into sialylmimetics-cyclohexene phosphonate monoesters as pseudo-sialosides with promising inhibitory properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.14, p.1047-1057, 2006.

STTOPANI, A. O. M. Quimioterapia de La Enfermedad de Chagas. **Medicina (Buenos Aires)**, v.59 (Supl II), p.147-165, 1999.

STRAUSS, M; LO PRESTI, M; BAZÁN, P; BAEZ, A; FAURO, R; ESTEVES, B; NEGRETE, O; CREMONEZZI, D; PAGLINI-OLIVA, P; RIVAROLA, H. Clomipramine and benznidazole association for the treatment of acute experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Parasitology International** , v.62, p.293–299, 2013.

URBINA, J. A.; PAYARES, G.; SANOJA, C.; MOLINA, J.; LIRA, R.; BRENER, Z.; ROMANHA, A. J. Parasitological cure of acute and chronic experimental Chagas disease using the long-acting experimental triazole TAK-187. Activity against drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strains. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.21, p.39-48, 2003.

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

VANDEKERCKHOVE, F.; SCHENKMAN, S.; PONTES DE CARVALHO, L.; TOMLINSON, S.; KISO, M., YOSHIDA, M.; HASEGAWA, A.; NUSSENZWEIG, V. Substrate specificity of the *Trypanosoma cruzi trans*-sialidase. **Glycobiology**, v.2, p.541-548, 1992.

VENDEVILLE, S.; BOUREL, L.; DAVIOUD-CHARVET, E.; GRELLIER, P.; DEPRez, B.; SHERGHERAERT, C. Uromated parallel synthesis of a tetrahydroisoquinolin-based library: potential prolyl endopeptidase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.9, p.437-442, 1999.

VEIGA-SANTOS, P; BARRIAS, E; SANTOS, J; MOREIRA, T; CARVALHO, T; URBINA, J; SOUZA, W. Effects of amiodarone and posaconazole on the growth and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 40, p. 61– 71, 2012

VIK, A.; PROSZENYÁK, A.; VERMEERSCH, M.; COS, P.; MAES, L.; GUNDERSEN, L. L. Screening of agelasine D and analogs for inhibitory activity against pathogenic protozoa; identification of hits for visceral leishmaniasis and Chagas disease. **Molecules**, v.14, p.279-288, 2009.

WATTS, A. G.; DAMAGER, I.; AMAYA, M. L.; BUSCHIAZZO, A.; ALZARI, P. M.; FRASCH, A. C.; WITHERS, S. G. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase operates through a covalent sialyl-enzyme intermediate: Tyrosine is the catalytic nucleophile. **Journal of the American Chemical Society**, v.125, p.532-7533, 2003.

WENDEL, S.; GONZAGA, A. L. Chaga's Disease and Blood Transfusion: a new world problem? **Vox Sanguinis**, v.64, p.1-12, 1993.

WILLYARD, C. Neglected diseases see few new drugs upped investment, **Nature Medicine**, v. 19, p. 2, 2013.

ZHANG, F.; MOSES, J. E. Benzyne Click Chemistry with in Situ Generated Aromatic Azides. **Organic Letters**, vol. 11, n. 7, p. 1587-1590, 2009

ZUCCOTTO, F.; BRUM, R.; PACANOWSKA, D. G.; PEREZ, L. M. R.; GILBERT, I. H. The structure-based design and synthesis of selective inhibitors of *Trypanosoma cruzi* dihydrofolate reductase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.9, p.1463-1468, 1999.