



República Federativa do Brasil
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**ATIVIDADE DE FÁRMACO SELECIONADO *IN SILICO* SOBRE FORMAS EPIMASTIGOTAS DE
*Trypanosoma cruzi***

Luiz Felipe de Almeida Eckert

**CAMPO GRANDE - MS
NOVEMBRO - 2024**

LUIZ FELIPE DE ALMEIDA ECKERT

**ATIVIDADE DE FÁRMACO SELECIONADO *IN SILICO* SOBRE FORMAS EPIMASTIGOTAS DE
*Trypanosoma cruzi***

Trabalho de Conclusão de Curso para a graduação em
Ciência Biológicas Bacharelado da Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul.

Orientadora: Profa. Alda Maria Teixeira Ferreira

**CAMPO GRANDE - MS
NOVEMBRO - 2024**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer meu pai, Rafael Nilo Eckert, mãe, Patrícia Camila Cavalcanti de Almeida Eckert, e minha noiva, Lislainy da Silva Santos, por todo apoio durante esse longo período de estudo, mesmo passando por períodos cansativos, sempre estiveram do meu lado me dando apoio e tranquilidade durante esse período tão tumultuado que é o fim da graduação.

Gostaria de agradecer também ao meu co-orientador, Carlos Miguel de Freitas Simões, por sempre se disponibilizar a me ajudar em todos os aspectos da pesquisa, sempre sendo muito paciente e metódico. Por fim gostaria de agradecer à minha orientadora por me proporcionar a experiência dentro do laboratório de imunologia, além de propor um trabalho que se alinhasse com meus conhecimentos pessoais e gostos.

RESUMO

O protozoário *Trypanosoma cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas, classificada como uma doença negligenciada pela Organização Mundial da Saúde. Embora existam medicamentos disponíveis para o tratamento, seus efeitos colaterais comprometem a adesão dos pacientes, incentivando a busca por novas alternativas terapêuticas. Este estudo utilizou abordagens *in silico* para identificar proteínas do metabolismo energético do parasito, ausentes em humanos, como potenciais alvos terapêuticos, a fim de minimizar os efeitos adversos. Bancos de dados públicos como TDR Targets, TriTrypDB e DrugBank foram empregadas para selecionar esses alvos, resultando na identificação de seis fármacos, sendo o aciclovir o mais promissor. O efeito do aciclovir foi avaliado *in vitro* sobre a forma epimastigota de *T. cruzi* cepa Dm28c, durante 72 horas de tratamento para descobrir a concentração inibitória média (CI 50). Concluimos que o aciclovir não apresentou atividade frente ao parasito, nas condições do ensaio.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, *in silico*, reposicionamento de fármacos, Doença de Chagas e Aciclovir.

ABSTRACT

The parasite known as *Trypanosoma cruzi* is the cause of Chagas disease, which has been classified as a neglected tropical disease by the World Health Organization. Even though there are drugs used in the treatment of the disease, the side effects that occur are so overwhelming that most patients discontinue the treatment, creating a need for the search of new alternatives. This study utilizes *in silico* analysis to identify proteins from the parasite's energy metabolism, which are absent in humans, as potential therapeutic targets in order to minimize side effects. Public databases such as TDR Targets, TriTrypDB and DrugBank, were utilized in the selection of these targets, resulting in the selection of six pharmaceuticals, acyclovir being the most promising. The activity was analyzed over its impact on the growth of the epimastigote form of *T. cruzi* strain Dm28c, over 72 hours to determine the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀). We concluded that acyclovir had not show activity against the parasite under the study conditions.

Key words: *Trypanosoma cruzi*, *in silico*, drug repurposing, Chagas Disease e Acyclovir.

SUMÁRIO

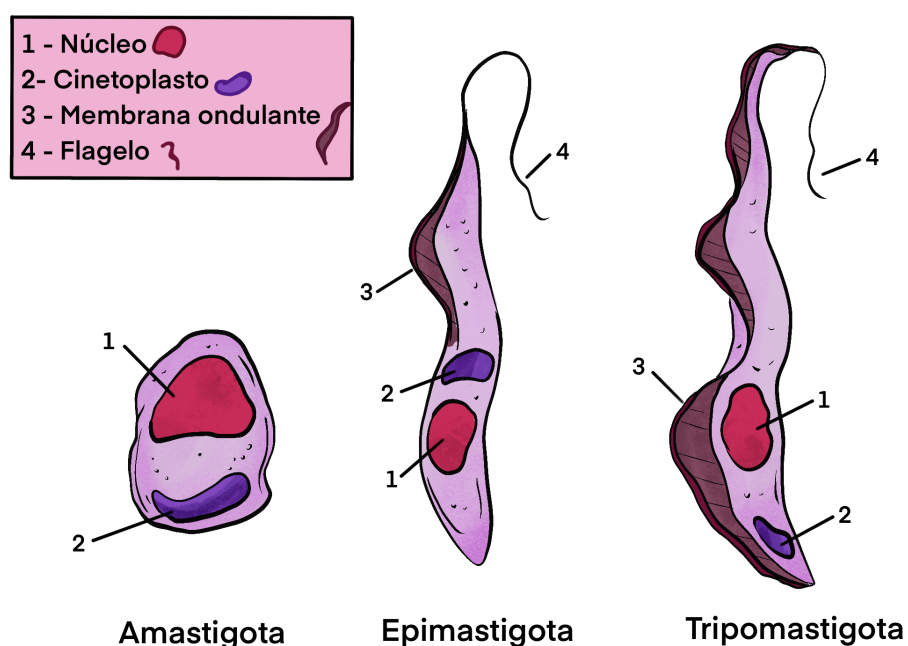
INTRODUÇÃO.....	7
1.1 <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
1.2 Doença de Chagas.....	8
1.3 Metabolismo de <i>T. cruzi</i>	10
1.4 <i>In silico</i>	12
1.5 Reposicionamento de fármacos.....	12
OBJETIVO GERAL.....	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
METODOLOGIA.....	13
4.1 Tipo de estudo.....	13
4.2 Cultivo de <i>T. cruzi</i>	13
4.3 Análise <i>in silico</i>	14
4.4 Ensaio de MTS.....	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5.1 Análise <i>in silico</i>	16
5.2 Ensaio com MTS.....	18
CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS.....	19

INTRODUÇÃO

1.1 *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi é um protozoário que apresenta três infectantes (Figura 01), epimastigota, tripomastigota e amastigota. As formas diferenciam-se quanto à morfologia e quanto ao local que infectam, no ciclo da doença (ZUMA, 2021).

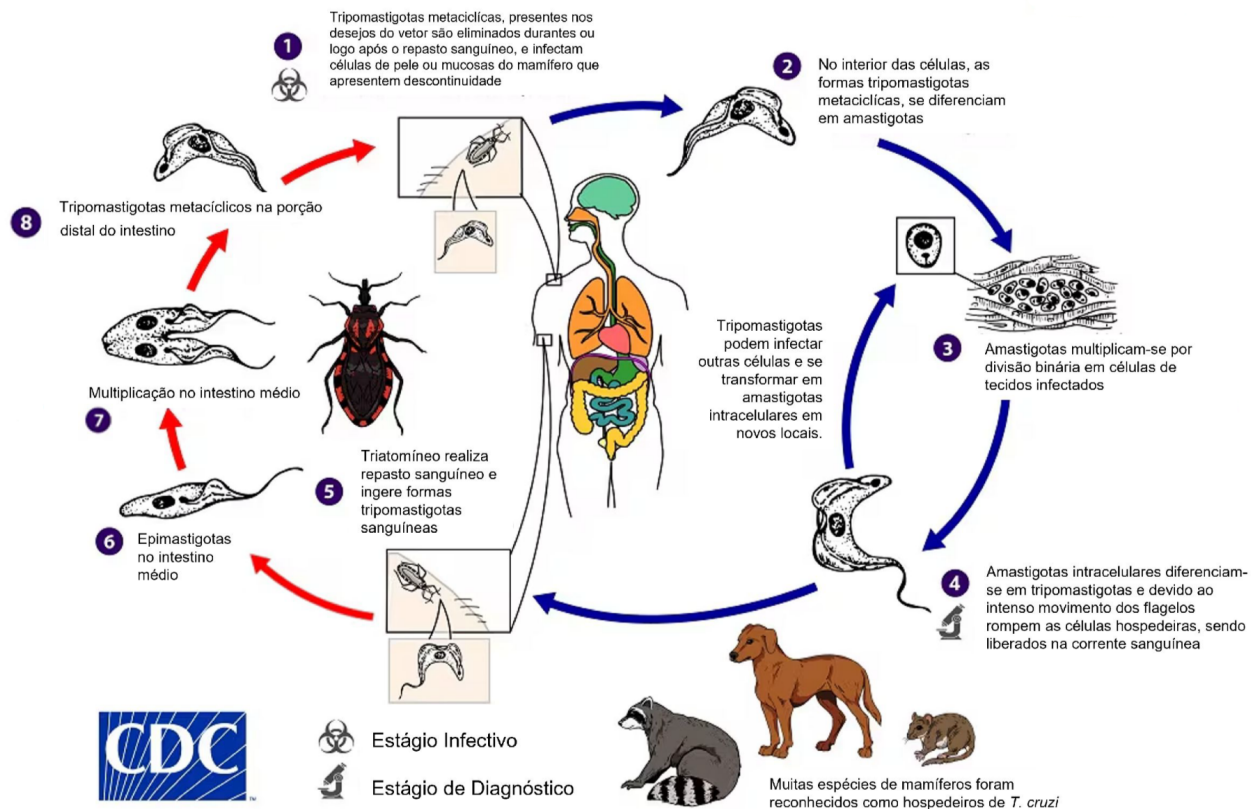
Figura 01 - Formas parasitárias de *Trypanosoma cruzi*.



Fonte: Autoria própria.

A forma tripomastigota é alongada e fusiforme, o núcleo se localiza no centro da célula, o cinetoplasto está localizado na extremidade posterior da célula e possui uma membrana ondulante ao longo do corpo e um flagelo livre que emerge da extremidade inferior se encontra principalmente no sangue do hospedeiro vertebrado e na porção posterior do intestino do inseto vetor. Quanto à forma epimastigota ela apresenta forma alongada, o cinetoplasto está próximo ao núcleo, na região anterior da célula. Apresenta um flagelo menos pronunciado e mais curto. Está presente predominantemente na porção inicial do intestino do inseto vetor. Já a forma amastigota é reconhecida por ter um formato esférico, apresentando flagelo não proeminente. No ciclo de vida de *T. cruzi* (Figura 02) essa forma se encontra em maior proporção no espaço intracelular. Uma vez que é a forma replicante dentro do hospedeiro vertebrado, e por ser a menor, isso facilita a reprodução do protozoário dentro da célula hospedeira (ZUMA; DOS SANTOS BARRIAS; DE SOUZA, 2021).

Figura 02 - Ciclo de vida do *T. cruzi*



Fonte: Adaptado CDC, 2021

1.2 Doença de Chagas

Trypanosoma cruzi é o agente etiológico da tripanossomíase americana, mais conhecida como doença de Chagas, nomeada em homenagem ao médico e pesquisador brasileiro Carlos Chagas (CHAGAS, 1909). O parasito é um protozoário da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae (RIVERO et al., 2021; TRINDADE et al., 2021).

A doença de Chagas é classicamente transmitida pelas fezes do inseto vetor, o triatômíneo, também conhecido como "barbeiro". No entanto, há transmissão por formas acidentais, como em laboratórios e ingestão acidental do agente vetor; transmissão gestacional, quando o protozoário avança a barreira placentária infectando o feto, e principalmente por via oral que consiste no consumo de um alimento contaminado pelo parasito, como açaí e caldo-de-cana (COURA, 2006). Também pode ocorrer através do uso de drogas intravenosas, transfusão de sangue, e doação de órgãos de pacientes infectados; que ocorre em menor proporção. (ZUMA; DOS SANTOS BARRIAS; DE SOUZA, 2021).

Existem duas principais fases da doença de Chagas: fase aguda e fase crônica. A fase aguda é raramente diagnosticada devido aos sintomas leves e inespecíficos que os pacientes apresentam, como febre, fadiga, erupções cutâneas, e inchaço nos olhos, os quais geralmente

desaparecem após 4 a 8 semanas. Durante essa fase, a parasitemia é alta e o *T. cruzi* pode ser detectado microscópicamente no sangue (DIAS, 2004).

Já na fase crônica, cuja manifestação pode variar anos ou até décadas, a infecção persiste e os sintomas podem se manifestar de formas diversas. É nesta fase que os anticorpos IgG anti-*T. cruzi* podem ser detectados por meio de sorologia, confirmando o diagnóstico. A fase crônica pode progredir para formas clínicas graves, afetando o coração e o sistema digestivo, levando a complicações como cardiomiopatia chagásica, megacólon e megaesôfago. A forma neurológica é rara, e a forma mista (cardíaca juntamente com digestiva) também pode ocorrer. Alguns pacientes podem permanecer assintomáticos (ARAÚJO, 2022).

A reativação da doença pode ocorrer em pacientes imunocomprometidos, como aqueles com HIV/AIDS ou em uso de imunossupressores. Nesses casos, a infecção pode se manifestar novamente com sintomas graves e risco aumentado de complicações fatais (ZUMA; DOS SANTOS BARRIAS; DE SOUZA, 2021).

A doença de Chagas é um exemplo típico de doença que se propaga devido às alterações ambientais causadas pelo ser humano. A destruição de habitats naturais do vetor, como o triatomíneo, facilita a sua disseminação para áreas urbanas. Como resposta a essa situação, o controle do vetor tem sido uma estratégia chave na luta contra a doença. Em 2006, o Ministério da Saúde do Brasil recebeu a Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão da Doença de Chagas pelo *Triatoma infestans*, conferida pela Organização Pan-Americana da Saúde. No entanto, essa eliminação não significou o fim da doença, já que outros vetores também são responsáveis pela transmissão no país (CHALELA et al., 2021; KOHL et al., 1982; PINAZO et al., 2013; REZENDE et al., 2006; RODRIGUES et al., 2005).

Atualmente há dois fármacos utilizados para o tratamento da doença de Chagas, sendo eles o benznidazol e o nifurtimox. O benznidazol provoca danos ao DNA do parasito por meio da produção de radicais livres, interferindo na síntese de ácidos nucleicos do *T. cruzi*, levando à morte do parasito. Já o nifurtimox, mesmo não sendo amplamente utilizado no Brasil, é aprovado para uso na doença de Chagas. Entretanto, não é o fármaco de primeira escolha, ele só é liberado para tratamento nos casos em que o paciente apresenta resistência ao benznidazol. Ele age semelhantemente ao benznidazol, também gerando radicais livres que danificam o DNA do parasito, comprometendo seu funcionamento biológico. Entretanto, ambos os fármacos passam pelos mesmos problemas, como a distribuição, por ser limitada em território nacional, e muitos pacientes na fase crônica têm dificuldade em completar o tratamento devido aos efeitos colaterais significativos. Além disso, o tratamento antiparasitário é mais eficaz na fase aguda, embora o tratamento na fase crônica raramente tem efeito, este pode retardar a progressão dos danos aos órgãos (OMS, 2024; CDC, 2024; ROCHA et. al., 2007; BRASIL, 2019).

Diante do exposto, este trabalho focou na busca por fármacos compatíveis com enzimas do metabolismo energético de *T. cruzi* por meio de análises *in silico* e *in vitro*.

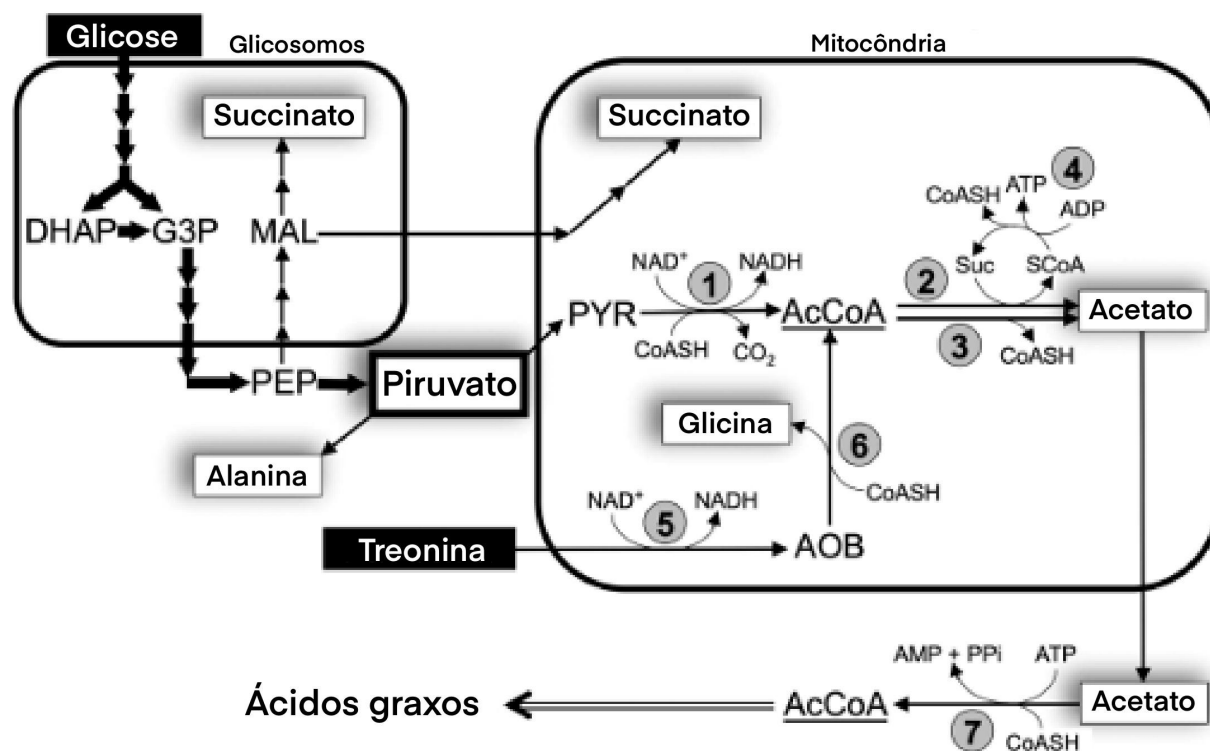
1.3 Metabolismo de *T. cruzi*

O metabolismo energético de *T. cruzi* é altamente diverso, uma vez que suas diferentes formas apresentam cada uma diferentes preferências energéticas. A forma amastigota utiliza carboidratos fosforilados em sua via energética, por estarem presentes no citoplasma das células do hospedeiro. As três formas infectantes (amastigota e tripomastigota), se utilizam da glicose com o intuito de produzir adenosina trifosfato pentose (ATP). Essas diferentes fontes de energia são um reflexo das necessidades específicas de cada forma do protozoário (PAULI, 2021).

O protozoário apresenta dez enzimas na via glicolítica responsáveis pela quebra da glicose em piruvato com a concomitante produção de ATP (VERLINDE, 2001). *T. cruzi* degrada carboidratos pela via glicolítica e sintetiza bases e aminoácidos úteis para seu funcionamento, tais como aspartato, alanina, glutamato e pirimidina. Entretanto, como ele não é capaz de sintetizar purinas e esteróis ele os retira do hospedeiro humano, durante as formas de tripomastigota e amastigota (BASSO, 2020).

Para os integrantes da ordem Kinetoplastida a glicólise ocorre no glicosomo, organela que tem como função principal agrupar as principais enzimas responsáveis pela quebra da glicose (TIELENS, 2009). O glicosomo apresenta uma grande quantidade de proteínas, além de conter praticamente todas as enzimas da via glicolítica do protozoário, como é exemplificado na Figura 03 com *T. brucei* (NOGUEIRA, K. S. 2015).

Figura 03 Ciclo do metabolismo energético do *T. brucei*



Fonte: NOGUEIRA, K. S. 2015

Na forma tripomastigota sanguínea, que circula no sangue do hospedeiro mamífero, o metabolismo energético de *T. cruzi* é predominantemente aeróbico, embora possa utilizar vias anaeróbicas em ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio. Nesta fase, o principal combustível metabólico é a glicose. O piruvato produzido na glicólise é convertido em lactato na ausência de oxigênio ou pode entrar na mitocôndria para ser totalmente oxidado pela via ciclo do ácido cítrico e cadeia transportadora de elétrons em condições aeróbicas. Além da glicose, essa forma do parasito também pode metabolizar aminoácidos, especialmente a prolina, que pode ser oxidada na mitocôndria, contribuindo para a produção de energia. A capacidade de utilizar diferentes fontes de carbono é crucial para a sobrevivência do parasito em diferentes ambientes (CUNHA-ESCADA, 2017; LIMA, 2020; ULIANA, 2020).

Na forma epimastigota o metabolismo energético de *T. cruzi* é ainda mais diverso. Nesta fase, o protozoário também utiliza a glicólise para gerar ATP, mas a oxidação completa do piruvato via ciclo do ácido cítrico e cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria desempenham um papel mais proeminente (TOMÁS, 2018).

Além da glicose, a forma epimastigota é capaz de metabolizar aminoácidos e ácidos graxos, mostrando uma flexibilidade metabólica que lhes permite adaptar-se às variações na disponibilidade de nutrientes no intestino do inseto vetor. A prolina, em particular, é um importante substrato energético nesta fase, sendo oxidada na mitocôndria para gerar ATP (ALVES, 2019).

Além disso, a capacidade de *T. cruzi* de sobreviver em ambientes com diferentes concentrações de oxigênio e diferentes fontes de nutrientes é mediada por uma regulação complexa da expressão gênica e da atividade enzimática, permitindo ao parasito ajustar seu metabolismo conforme necessário para maximizar a produção de energia e garantir sua sobrevivência e multiplicação (VERLINDE, 2001).

1.4 *In silico*

As análises *in silico* são fundamentais na descoberta de alvos para os modelos de pesquisa selecionados. O objetivo da identificação e codificação genética desses alvos é encontrar e validar alvos de medicamentos já testados e aprovados, adequados para intervenções terapêuticas, e compreender como eles se relacionam com diferentes condições (HOPKINS; GROOM, 2002).

Com a conclusão do sequenciamento do genoma humano, a bioinformática se tornou uma ferramenta essencial na descoberta de alvos terapêuticos. A análise *in silico* da expressão e função genética agora integra esse processo, facilitando a seleção dos alvos mais relevantes para a doença em estudo (VENTER et al., 2001).

A descoberta de compostos que apresentam atividade biológica desejada contra um alvo específico (leads) permitiram o desenvolvimento de bibliotecas de compostos projetados *in silico*.

Métodos computacionais também estão sendo desenvolvidos para prever a semelhança dos compostos com medicamentos. Dessa forma, a descoberta de medicamentos está avançando em direção à pesquisa e desenvolvimento eletrônicos (TERSTAPPEN; REGGIANI, 2001). A descoberta de alvos visa identificar e validar alvos de medicamentos adequados para intervenções terapêuticas, enquanto a descoberta de leads busca identificar novas moléculas químicas que possam atuar nesses alvos (LIPINSKI; LOMBARDO; DOMINY; FEENEY, 2001).

1.5 Reposicionamento de fármacos

O reposicionamento de fármacos, também conhecido como reaproveitamento de fármacos, de acordo com definição proposta pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), consiste em uma estratégia que busca descobrir novas utilizações de fármacos já aprovados, descontinuados ou em investigação, que não foram previamente referenciadas e que atualmente não são prescritas ou investigadas (SLEIMAN, 2020).

A estratégia de reposicionamento de fármacos têm demonstrado ser promissora uma vez que se baseia em dados de segurança, farmacocinéticos e de fabricação que já estão disponíveis. Nesse sentido, o reposicionamento de fármacos representa uma alternativa, visto que o custo para realização desse tipo de processo é muito menor comparado ao processo tradicional da síntese do fármaco. Além de gerar menos riscos aos pesquisadores e voluntários uma vez que o medicamento já foi aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o manuseio e a concentração utilizados para evitar letalidade são mais facilmente evitados (ASHTON, 2018).

Um estudo que utilizou métodos de triagem virtual e *docking* molecular identificou diversos fármacos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) como potenciais inibidores da enzima cruzafina, essencial para a sobrevivência do *T. cruzi*. Entre os medicamentos avaliados, antibióticos como piperacilina, cefoperazona e flucloxacilina mostraram atividade tripanocida significativa tanto *in vitro* quanto em modelos *in vivo*, apresentando uma nova abordagem promissora para o tratamento da doença de Chagas (PALOS et al., 2017).

OBJETIVO GERAL

Avaliar atividade *in vitro* de fármaco selecionado *in silico* sobre formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Associar os alvos encontrados com sistemas já descritos pela literatura para *T. cruzi* cepa Dm28c;

- Elaborar uma relação de potenciais alvos terapêuticos (proteínas) presentes no metabolismo energético de *T. cruzi* e ausentes em humanos, utilizando ferramentas *in silico* para pesquisa;

METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa experimental conduzida com ensaios *in silico*, utilizando banco de dados genéticos públicos associando possível atividade de fármacos já aprovados com o *T. cruzi*. Já o estudo *in vitro*, se utiliza de uma população clonal de *T. cruzi* (DTU I), cepa Dm28c (CONTRERAS et al., 1985). O material experimental empregado neste projeto está registrado no Sistema de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob o número A64768A e não está sujeito às disposições da Lei 13.123/2015, que regula o acesso ao patrimônio genético. O material original foi cedido pelo Dr. Stenio Perdigão Fragoso, pesquisador responsável pelo banco de microrganismos do Instituto Carlos Chagas - Fiocruz Paraná.

4.2 Cultivo de *T. cruzi*

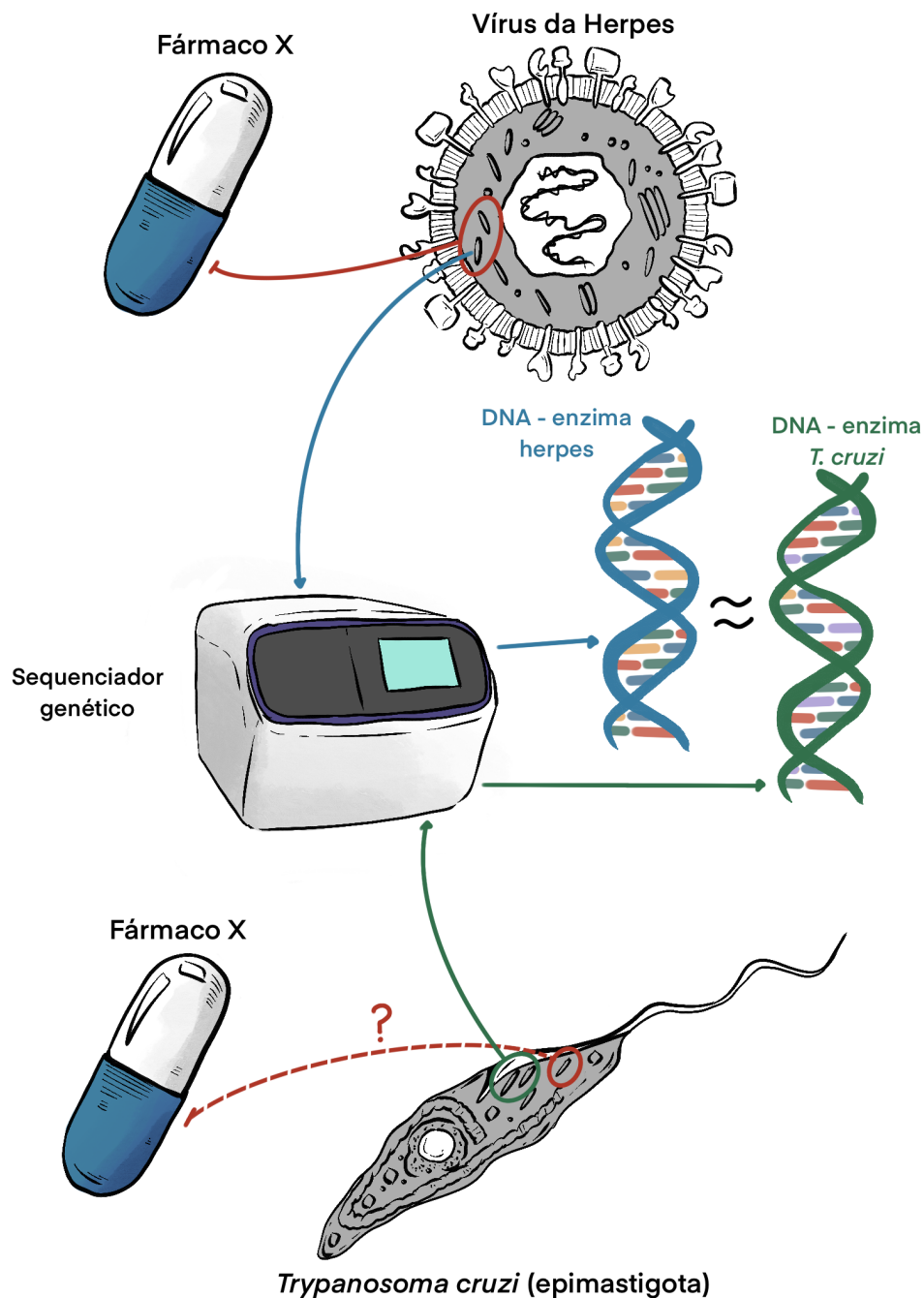
Para a análise *in vitro*, mantivemos ativa uma cultura da cepa Dm28c de *T. cruzi*. No laboratório a cepa utilizada é uma linhagem clonal, que oferece maior robustez dos resultados obtidos. A cultura foi mantida em uma concentração 1×10^6 parasitos/mL, sendo mantida em uma BOD que varia sua temperatura entre 27 e 28°C. O repique é realizado a cada três dias. O meio utilizado é o LIT (*Liver Infusion Tryptose*) comumente utilizado para a identificação e isolamento das formas epimastigotas de *T. cruzi* (CAMARGO, 1964).

4.3 Análise *in silico*

Para a seleção dos alvos terapêuticos foi utilizado o banco de dados *Targets Database* (TDR targets). No site foram selecionados caracteres de pesquisa, tais como: via do metabolismo energético, compatibilidade do alvo apenas com enzimas de *T. cruzi* (a fim de evitar uma possível atividade do fármaco no ser humano).

A lista gerada identificou genes do *T. cruzi*. Esse banco de dados estava associado ao site TriTrypDB. A sequência de aminoácidos coletada era então copiada no site DrugBank que comparava fármacos que têm atividade em enzimas que apresentam um gene semelhante ao da enzima alvo no *T. cruzi*.

Figura 04 Exemplificação de como o DrugBank identifica os possíveis fármacos



Fonte: Autoria própria.

Como critério de inclusão para os fármacos encontrados, utilizamos: sua aprovação para uso humano, aprovação pela Anvisa, ser um fármaco, desconsiderando moléculas e nutracêuticos, e por fim, o *E-value* ser inferior a $1e-10$.

O valor de *E*, ou *E-value* (*Expected value*), é uma medida estatística usada principalmente em bioinformática para avaliar a significância dos resultados de alinhamentos de sequência

gerados por ferramentas como BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). O *E-value* indica o número esperado de acertos aleatórios em uma base de dados com uma pontuação igual ou superior à pontuação do alinhamento observado. Em outras palavras, ele fornece uma estimativa da probabilidade de que o alinhamento observado tenha ocorrido por acaso. O valor de E ajudou a identificar proteínas alvo que têm alta probabilidade de ligação com moléculas de drogas conhecidas, baseado em alinhamentos de sequência com proteínas de outras espécies ou estruturas conhecidas (Frequently Asked Questions — BLASTHelp documentation, 2024)

4.4 Ensaio de MTS

Com o intuito de determinar a concentração inibitória média (CI₅₀) do aciclovir em uma cultura de *T. cruzi*, o teste do MTS ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -5 -(3-carboxymethoxyphenyl)- 2 -(4-sulphophenyl)- 2H -tetrazolium bromide) foi realizado de acordo com Henriques et al, 2011.

Utilizou-se distintas concentrações do fármaco a ser testado, variando de 200ug/mL até 6,25ug/mL, além do controle sem a adição de fármaco. Em todas as condições, inclusive no controle, foram utilizadas 4 réplicas.

Após a montagem da placa de teste, o material foi incubado por 72 horas em temperatura de 28 °C. Após o período de incubação foi adicionado Paraformaldeído (PF) 4% ao quarto poço de cada concentração de fármaco, que agiu como fixador da atividade celular, eliminando a possível interferência da coloração do meio de cultivo, do fármaco e da própria turvação produzida pelo crescimento celular. Dessa forma, a medida da absorbância gerada pela redução do MTS foi eliminada do cálculo da viabilidade celular, uma vez que o MTS reage com as células vivas, produzindo um composto colorido que pode ser mensurado pela medida da absorbância em 492 nm para determinar a viabilidade de *T. cruzi* (TADDEI et al, 2007).

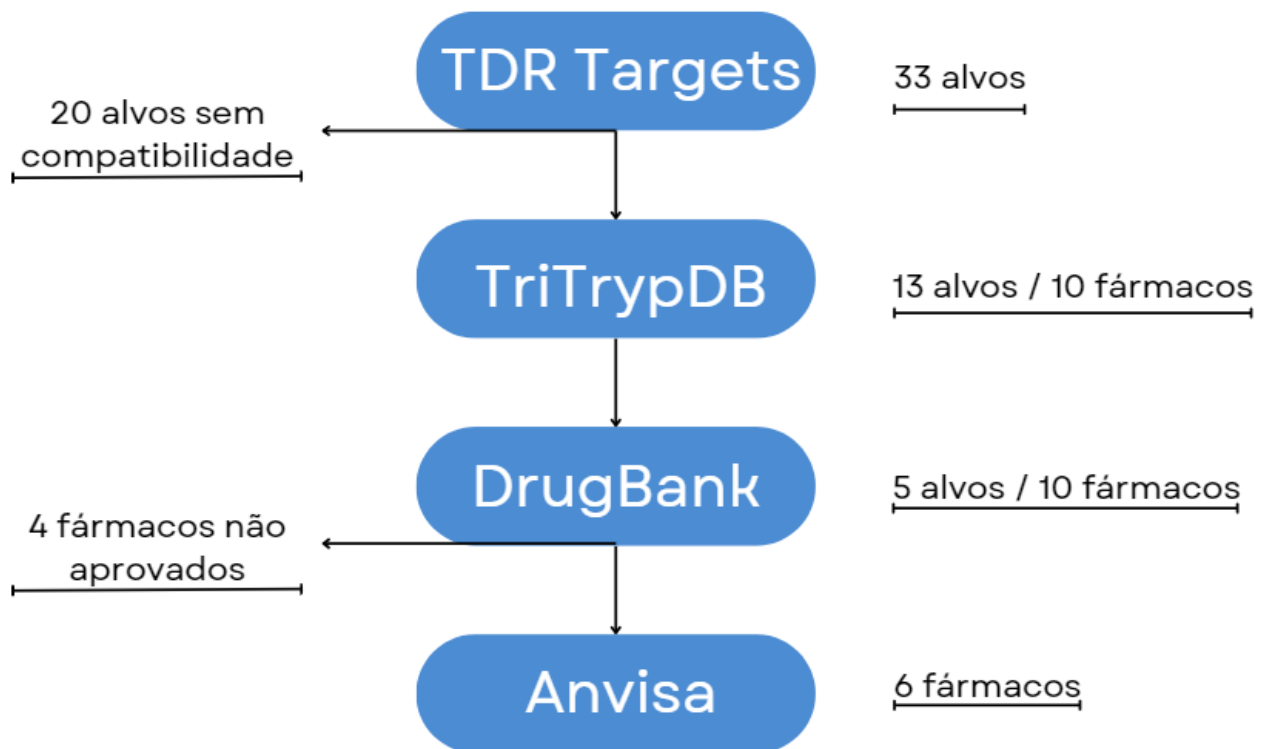
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise *in silico*

A coleta de dados realizada indicou que um dos fármacos apresentava compatibilidade com a enzima fosfoglicerato quinase 3, glicosomal que está presente no *T. cruzi*. Com os fármacos encontrados foram utilizados os critérios de qualificação do estudo, como: sua aprovação para uso humano, aprovação pela Anvisa, ser um fármaco, ou seja, possuir uma estrutura química definida e que propriedades farmacológicas conhecidas, desconsiderando moléculas e nutracêuticos, e por fim, o E-value ser inferior a 1e-10, que significa que estatisticamente que há uma maior chance de compatibilidade. Estabelecidos os critérios foram obtidos 10 fármacos e desses, apenas 6 se classificaram no estudo (Figura 05). Não foram

encontrados relatos na literatura de testes dessas drogas com *T. cruzi* ou qualquer outro tripanosomatídeo.

Figura 05 Fluxograma dos passos e critérios utilizados na escolha dos fármacos.



Fonte: Autoria própria.

Quadro 01 Fármacos selecionados do estudo, seus nomes, estados de aprovação na ANVISA e o *E-value*.

Nome	Enzima alvo	Ação	Fármaco	ANVISA	Valor-E
TcCLB.50599 9.100	Fosfoglicerato quinase 3, glicosomal	Substrato	Lamivudina	Aprovado	1,33E-86
		Ligante	Artenimol	-	
		Substrato	Aciclovir	Aprovado	
TcCLB.50664 9.20	H ⁺ -ATPase do tipo P, putativa	Inibidor	Desflurano	Caduco	1,62E-40
			Ritodrina	Caduco	
			Sevoflurano	Aprovado	
			Enflurano	Aprovado	1,81E-40
			Isoflurano	Aprovado	
			Halotano	Caduco	1,63E-15
TcCLB.50788 3.100	Malato desidrogenase, putativa	Cofator	Xantinon	Aprovado	1,41E-46
TcCLB.51077 3.20	Pirofosfatase protona vacuolar 1, putativa	Ligante	Artenimol	-	0.0in
TcCLB.511385 .30	Pirofosfatase de translocação de prótons do tipo vacuolar 1	Ligante	Artenimol	-	0.0

Fonte: Autoria própria.

Dos selecionados somente 6 fármacos cumpriam todos os requisitos, dentre esses selecionou-se o aciclovir, por não ser um nutracêutico, ser um fármaco facilmente diluído e translúcido; devido ao teste de MTS ser colorimétrico; apresentar um *E-value* baixo e ser aprovado pela Anvisa.

O aciclovir é um medicamento antiviral disponível em diversas formas, como comprimidos, cápsulas, suspensões orais, creme e pomadas. Ele é amplamente utilizado no tratamento de infecções causadas pelo vírus do herpes, tanto na forma oral quanto genital. Em pacientes imunocompetentes, o aciclovir é indicado para o tratamento de herpes labial recorrente, podendo ser administrado como creme oral ou por via oral em comprimidos e cápsulas. Para herpes genital inicial e herpes simples mucocutâneo em pacientes imunocomprometidos, recomenda-se o uso de pomada tópica. Um creme de aciclovir com hidrocortisona pode acelerar a cicatrização de herpes labial em pacientes com 6 anos ou mais, enquanto uma pomada oftálmica é usada para tratar ceratite herpética aguda (DrugBank, 2024)

5.2 Ensaio com MTS

Após os ensaios de 72h foi identificado que não houve atividade biológica de aciclovir sobre a viabilidade de formas epimastigotas de *T. cruzi* em todas as concentrações testadas.

Alguns motivos que possam ter influenciado a viabilidade do *T. cruzi* pode se dar por alguns fatores, tais como, o código genético apresentado no site não indicava a fase do protozoário, cada um das fases apresenta diferente morfologia entre si, apresentando ou não algumas enzimas no organismo. Outro fator pode ser originado na cepa, uma vez que utilizada no *TriTrypDB* é a CLBrener.

CONCLUSÃO

Concluimos que o processo *in silico* foi capaz de identificar possíveis alvos terapêuticos em *T. cruzi* compatíveis com fármacos já aprovados para uso humano, como o Aciclovir. Entretanto, este não apresentou atividade em nossas análises.

REFERÊNCIA

ALVES, Maria J. M. et al. Proline metabolism in *Trypanosoma cruzi*: adaptation and importance in the insect vector and mammalian host. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, p. 1-13, 2019.

ARAÚJO, Andréa Berna et al. Chronic Chagas disease: pathogenesis and pathophysiology. *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 35, n. 5, p. 465-472, 2022.

ASHTON, W. T.; NIELSEN, T. E.; NIELSEN, J. Drug repurposing: an emerging therapeutic strategy. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 61, n. 22, p. 9425-9442, 2018.

Acyclovir: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00787>. Acesso em: 13 jun. 2024.

BASSO, Bárbara et al. Metabolic flexibility of *Trypanosoma cruzi* during host infection: insights from omics studies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, p. 1-14, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doença de Chagas: guia de vigilância epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas>. Acesso em: 12 set. 2024.

CAMARGO, E. P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop São Paulo, 1964.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease). Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/index.html>. Acesso em: 12 set. 2024.

CHALELA, R. M. et al. Chagas Disease: Epidemiology, Control, and Surveillance in Latin America. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 104, n. 2, p. 27-35, 2021.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico da nova entidade morbida do homem. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 1, p. 159–218, ago. 1909.

CONTRERAS, V. T.; SAWYER, R. H.; MARTINEZ, M. R. Cloning and expression of biological activities of *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes. Journal of Protozoology, v. 32, n. 2, p. 383–385, 1985.

COURA, J. R. Chagas disease: what is known and what is needed – A background article, 2007.

COURA, José Rodrigues. Transmission of Chagas disease. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 39, supl. 3, p. 32-34, 2006.

CUNHA-ESCADA, Andrea C. et al. Metabolic adaptations in *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes: role of glucose and proline. Molecular and Biochemical Parasitology, v. 216, p. 1-10, 2017.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. [s.l.]: Editora FIOCRUZ, 1997.

DIAS, J. C. P. et al. II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 25, p. 7-86, 2016.

DIAS, João Carlos Pinto; RAMOS JÚNIOR, Antônio Narciso; GONÇALVES, Tânia Maria. Aspectos clínicos da doença de Chagas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 37, n. 4, p. 400-410, 2004.

Frequently Asked Questions — BLASTHelp documentation. Disponível em: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastDocs. Acesso em: 13 jun. 2024.

GLOSSARY of terms used in medicinal chemistry. Part II (IUPAC Recommendations 2013). Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/PAC-REC-12-07-12/html>. Acesso em: 13 jun. 2024.

HENRIQUES, C. et al. Tetrazolium salt based methods for high-throughput evaluation of anti-parasite chemotherapy. *Analytical Methods*, v. 3, n. 9, 2011.

HOPKINS, A. L.; GROOM, C. R. The druggable genome. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 1, n. 9, p. 727-730, 2002.

KOHL, L. et al. The Life Cycle and Pathogenesis of *Trypanosoma cruzi*. *Annual Review of Microbiology*, v. 36, p. 107-128, 1982.

LIMA, Franco M. et al. The crucial role of the glycosome in *Trypanosoma cruzi* energy metabolism. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 5, p. e0008475, 2020.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 46, n. 1-3, p. 3-26, 2001.

NEVES, David Pereira. *Parasitologia Humana*. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

NOGUEIRA, K. S. Avaliação do metabolismo energético *in vitro* de formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* pré e pós tratamento específico com benzonidazol. L. 50 f.: il., 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Chagas Disease (also known as American trypanosomiasis). Disponível em: <https://www.who.int/chagas/en>. Acesso em: 15 maio 2024.

PALOS, I. et al. Repositioning FDA Drugs as Potential Cruzain Inhibitors from *Trypanosoma cruzi*: Virtual Screening, In Vitro and In Vivo Studies. *Molecules*, v. 22, n. 6, p. 1015, 18 jun. 2017.

PAULI, Julia C.; SCHNEIDER, Paula. Metabolic adaptation in *Trypanosoma cruzi*: the role of glucose and amino acid metabolism in different stages of the life cycle. *Journal of Eukaryotic*

Microbiology, v. 68, n. 1, p. 123-134, 2021.

PINAZO, M.-J. et al. A strategy for scaling up access to comprehensive care in adults with Chagas disease in endemic countries: The Bolivian Chagas Platform. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 11, n. 8, e0005770, 2017.

REZENDE, J. M. et al. Epidemiological and Clinical Aspects of Chagas Disease. Revista de Patologia Tropical, v. 34, p. 205-210, 2006.

RIVERO, C. V. et al. Repurposing Carvedilol as a Novel Inhibitor of the *Trypanosoma cruzi* Autophagy Flux That Affects Parasite Replication and Survival. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v. 11, p. 657257, 12 ago. 2021.

ROCHA, Helenice Moraes da et al. Tratamento da Doença de Chagas: benzonidazol e nifurtimox, suas limitações e novos alvos terapêuticos. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 40, n. 3, p. 252-256, 2007.

RODRIGUES, M. M. et al. Chagas Disease Immunopathology and Vaccine Development. Infection and Immunity, v. 73, n. 12, p. 7185-7193, 2005.

SLEIMAN, Jaafar; CHICHE, Jocelyne D.; LAGARDE, Jean Marc. Drug repurposing: new approaches to old therapies. British Journal of Pharmacology, v. 177, n. 19, p. 4289-4292, 2020.

TADDEI, G. et al. Carbon fluxes at the water-sediment interface in Reunion Island fringing reef. Western Indian Ocean Journal of Marine Science, v. 6, n. 2, 2007.

TERSTAPPEN, G. C.; REGGIANI, A. *In silico* research in drug discovery. Trends in Pharmacological Sciences, v. 22, n. 1, p. 23–26, jan. 2001.

TIELENS, A. G. M.; VAN HELLEMOND, J. J. Surprising variety in energy metabolism with in Trypanosomatidae. Trends in Parasitology, v. 25, p. 482-490, 2009.

TOMÁS, Ana M.; CASTRO, Helena. The mitochondrion of *Trypanosoma cruzi*: metabolism and bioenergetics. Molecular and Biochemical Parasitology, v. 219, p. 17-25, 2018.

TRINDADE, J. D. S. et al. Drug repurposing for Chagas disease: *In vitro* assessment of nimesulide against *Trypanosoma cruzi* and insights on its mechanisms of action. PLOS ONE, v. 16, n. 10, p.

e0258292, 22 out. 2021.

ULIANA, Silvia R. B. et al. Aerobic and anaerobic metabolism of *Trypanosoma cruzi*: the key role of mitochondrial bioenergetics. Trends in Parasitology, v. 36, n. 8, p. 663-675, 2020.

VERLINDE, C. L. et al. Glycolysis as a target for the design of new anti-trypanosome drugs. Drug Resist Updat, v. 4, p. 50–65, 2001.

ZUMA, A. A.; DOS SANTOS BARRIAS, E.; DE SOUZA, W. Basic Biology of *Trypanosoma cruzi*. Current Pharmaceutical Design, v. 27, n. 14, p. 1671–1732, 2021.