

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

YANARA ALESSANDRA SANTANA MOURA

**ATIVIDADE TRIPANOCIDA DE COMPOSTOS BIOATIVOS
ORIUNDOS DE ALGAS E CIANOBACTÉRIAS: UMA REVISÃO**

RECIFE, 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**ATIVIDADE TRIPANOCIDA DE COMPOSTOS BIOATIVOS
ORIUNDOS DE ALGAS E CIANOBACTÉRIAS: UMA REVISÃO**

YANARA ALESSANDRA SANTANA MOURA

Monografia apresentada à coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob orientação da Professora Raquel Pedrosa Bezerra e co-orientação da Professora Daniela de Araújo Viana Marques, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, de acordo com as exigências.

RECIFE, 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M929a Moura, Yanara Alessandra Santana
Atividade tripanocida de compostos bioativos oriundos de algas e cianobactérias: uma revisão / Yanara Alessandra Santana Moura. - 2021.
59 f. : il.
- Orientadora: Raquel Pedrosa Bezerra.
Coorientadora: Daniela de Araujo Viana Marques.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2021.
1. Algas. 2. Tripanocidas. 3. Doença de Chagas. 4. Cianobactérias. I. Bezerra, Raquel Pedrosa, orient. II. Marques, Daniela de Araujo Viana, coorient. III. Título

YANARA ALESSANDRA SANTANA MOURA

ATIVIDADE TRIPANOCIDA DE COMPOSTOS BIOATIVOS ORIUNDOS DE ALGAS E
CIANOBACTÉRIAS: UMA REVISÃO

Monografia apresentada à coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob orientação da Professora Raquel Pedrosa Bezerra e co-orientação da Professora Daniela de Araújo Viana Marques, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, de acordo com as exigências.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Raquel Pedrosa Bezerra
(UFRPE)

Dr^a. Marlllyn Marques da Silva
(UFRPE)

Msc. José Noé da Silva Júnior
(UFPE)

RECIFE, 2021

À Deus, que me mantém de pé; à minha família, pelo apoio incondicional; e à minha orientadora Raquel Bezerra que é uma fonte constante de paciência, atenção e incentivo. Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder saúde e força para ultrapassar todos os obstáculos da minha vida. Toda a minha gratidão.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Raquel Bezerra por ter me aceitado como aluna e ter tido tanta paciência, atenção e gentileza no processo da minha graduação e desenvolvimento desse projeto me guiando e ensinando com suas valiosas orientações.

À Prof^a. Dr^a. Daniela Marques por suas valiosas contribuições e parceria durante todo o processo.

Ao Msc. José Noé que sempre me ajudou com sua grande experiência desde o início do projeto.

À toda minha família materna, em especial minha avó Neta, minha mãe Júlia, meu pai Alessandro, minha irmã Eyshila, minha tia Joseli, meu tio Natanael, Davi Murilo e Anthony Ethan por todo o apoio, incentivo e carinho durante todo esse processo.

À toda minha família paterna, em especial minha avó Luzia, minha tia Andréia, meu tio André, meu tio Alex e todos os meus primos.

Aos meus amigos e pais do coração Everaldo Correia e Lena Alves pelas orações, apoio e carinho.

Ao meu namorado Hericleyton Alves por todo o apoio, carinho e paciência.

Aos meus amigos Miriam, Kauã e Ayane Avelino, Victória Agnes, Carlos Eduardo, Acácia Santos e Jaime Gonçalves pela força e boas risadas nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos de laboratório José Noé, Leandro Paes, Andreza Amorim, Maria Laura, Priscilla Calaça, Ketyline Lira e Elaine Cristina pela troca de conhecimentos, pelos bons momentos e todo o carinho.

A todos os meus colegas de curso de graduação, em especial a Ueliton Silva, Letícia Oliveira, Eduarda Kusuki, Maria Clara e Alice Cabral pela amizade, colaboração e bons momentos que vivemos durante o curso.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e todo o seu corpo docente que com muito comprometimento e qualidade de ensino tornaram esse momento possível.

“Ser biólogo não é um trabalho, é um modo de vida.”

(Ernst Mayr)

RESUMO

A doença de Chagas (DC) é enfermidade tropical negligenciada causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* que possui três formas evolutivas, sendo as tripomastigotas e amastigotas as de interesse clínico. A DC possui duas fases clínicas, a fase aguda (assintomática na maioria dos casos) e a fase crônica (pode afetar os sistemas cardiovascular, digestório ou nervoso). As drogas disponíveis como tratamento contra a DC, benznidazol (BZN) e nifurtimox (NFX), possuem alta citotoxicidade, especialmente o NFX. O BZN, o tratamento de primeira linha, possui eficácia limitada na fase crônica da DC além de estar associada a mecanismos de resistência por parte dos parasitos. Assim, novos compostos com atividade tripanocida são necessários para agir como tratamento clínico contra DC. Vários compostos naturais são descritos como potenciais alternativas antichagásicas. Dentre eles, algas e cianobactérias são fontes promissoras desses compostos visto que eles realizam várias atividades biológicas relatadas na literatura, incluindo atividade anti-*T. cruzi*. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão sistemática de estudos envolvendo a ação tripanocida *in vitro*, *in vivo* ou *in silico* de algas e cianobactérias frente a formas tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi*. Para realizar as buscas, foram utilizadas as bases de dados Science Direct, Web of Science, Springer Link, Wiley Online Library, Scielo e MDPI. No total, 15 estudos foram incluídos, e os filos Rhodophyta e Ochrophyta foram os mais estudados e promissores para atividade anti-*T. cruzi*. As macroalgas *Dictyota dichotoma* e *Ulvalactuca* foram a mais estudadas. Contudo, as maiores atividades antiparasitárias foram apresentadas pelo extrato da macroalga *Styopodium zonale*, baseado na concentração do extrato capaz de inibir os parasitos em 50% (IC₅₀), enquanto *Tetraselmis suecica* e *Nostoc commune* exibiram os melhores valores de IC₅₀ entre microalgas e cianobactérias, respectivamente. Entre todos os estudos, apenas quatro princípios ativos foram identificados, sendo o elatol, obtido de *Laurencia dendroidea*, o mais promissor baseado no índice de seletividade para tripomastigotas (IS = 19,56) e amastigotas (IS = 26,73). O único estudo *in vivo* mostrou que *Arthrospira maxima* pode ser efetiva em ratos infectados com *T. cruzi*, como tratamento ou profilaxia. Apesar da atividade anti-*T. cruzi* de compostos bioativos de algas e cianobactérias ser promissora, estudos futuros devem explorar os mecanismos de ação dos compostos, bem como novos estudos *in vivo* são necessários para viabilizar futuras aplicações desses compostos para ensaios clínicos no tratamento da DC.

Palavras-chave: Algas; Tripanocidas; Doença de Chagas; Cianobactérias.

ABSTRACT

Chagas disease (CD), classified as a neglected tropical disease second to World Health Organization, is caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, which can assume two evolutive forms in the human host: trypomastigote and amastigote. DC possesses two clinical phases, the acute phase (generally asymptomatic) and the chronic phase (which can affect the cardiovascular, digestive and/or nervous systems). The currently available drugs to treat CD, benznidazole (BZN) and nifurtimox (NFX), are known for their high toxic profile, especially NFX. BZN, the first-line treatment, possesses limited efficacy in the chronic phase of CD and mechanisms of resistance had been associated to it. Thus, new compounds with trypanocidal activity are necessary to act as an alternative treatment against CD. Natural compounds are described as promising alternative for antiparasitic treatment. Algae and cyanobacteria are promising sources of bioactive compounds since they perform various biological activities reported in the literature, including antiparasitic activity. Therefore, this work aimed to make a review exploiting the antiparasitic activity of the biocompounds from algae and cyanobacteria against both trypomastigote and amastigote forms of *T. cruzi*. For this, it was conducted a search in Science Direct, Medline (PubMed), Web of Science (WoS), Springer Link, Wiley Online Library, Scielo, and MDPI. In total, 15 studies were included and the Rhodophyta and Ochrophyta phyla are the more studied and more promising for anti-*T. cruzi* activity. The macroalgae *Dictyota dichotoma* and *Ulva lactuca* were the most studied. However, the highest antiparasitic activity was presented by the extract from macroalgae *Styopodium zonale*, based on the extract concentration that can inhibit the parasites by 50% (IC₅₀), while the species *Tetraselmis suecica* and *Nostoc commune* exhibited the best IC₅₀ values among microalgae and cyanobacteria, respectively. Among all studies, only four active principles were identified, being elatol compound from *Laurencia dendroidea* the most promising based on its SI values for trypomastigotes (SI = 19.56) and amastigotes (SI = 26.73). The only *in vivo* study showed that microalgae *Arthrospira maxima* can be effective in *T. cruzi*-infected mice as treatment or prophylaxis. Although anti-*T. cruzi* activity of algal and cyanobacterial biocompounds is promising, further studies should exploit the mechanisms of action of the compounds, as well as new *in vivo* studies are required to make feasible future applications of these compounds for clinical trials in the treatment of CD.

Keywords: Algae; Trypanocidal; Chagas Disease; Cyanobacteria.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DC – Doença de Chagas;

OMS – Organização Mundial da Saúde;

SANAR – Programa de Enfrentamento a Enfermidades Negligenciadas;

BZN – Benznidazol;

NFX – Nifurtimox;

SES – Secretaria Estadual de Saúde;

Anvisa. – Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*;

CC₅₀ – Metade da concentração citotóxica máxima;

IC₅₀ – Metade da concentração inibitória máxima;

IS – Índice de seletividade;

MASTARI – *MetaAnalysis of Statistics Assessment and Review Instrument*;

MDCK – Células de rim de cachorro;

LLCMK2 – Células epiteliais de rim de macaco;

FDA – *Food and Drug Administration*;

TS – Tripanosomal sialidase;

ROS – Espécies reativas de oxigênio.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	<i>Trypanosoma cruzi</i> E A DOENÇA DE CHAGAS	13
2.2	EPIDEMIOLOGIA	16
2.3	TRATAMENTO CONVENCIONAL	16
2.4	CARACTERÍSTICAS GERAIS E MORFOLÓGICAS DAS ALGAS	17
2.5	ASPECTOS BIOQUÍMICOS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS ALGAS	19
3	OBJETIVOS	20
3.1	GERAL	20
3.2	ESPECÍFICOS	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1	ESTRATÉGIA DE BUSCA	20
4.2	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	21
4.3	SELEÇÃO DE ESTUDOS	21
4.4	EXTRAÇÃO DE DADOS	21
4.5	AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS	21
5	RESULTADOS	22
5.1	EXTRAÇÃO DE DADOS	22
5.2	ESPÉCIES DE ALGAS	23
5.3	MÉTODOS USADOS PARA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS	24
5.4	TIPOS DE ESTUDOS USADOS NA ATIVIDADE TRIPANOCIDA	36
5.5	AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE	36
5.6	ATIVIDADE TRIPANOCIDA	36
5.7	AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS	39
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC), uma das enfermidades classificadas como negligenciadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e o seu hospedeiro intermediário é um triatomíneo hematófago comumente chamado de barbeiro, agente transmissor da DC (RASSI *et al.*, 2010). Além da transmissão vetorial, a DC também pode ser transmitida de maneira oral, por transfusão sanguínea ou transplantes. No ser humano, o *T. cruzi* pode assumir duas formas: amastigota (intracelular) e tripomastigota (extracelular circulando na corrente sanguínea). Clinicamente, a DC é classificada em duas fases, são elas: a aguda, a qual é assintomática e a parasitemia é elevada pelas formas tripomastigotas, podendo ser sintomática apresentando sintomas inespecíficos como febre, dor de cabeça, mal estar e alguns sinais característicos como o Sinal de Romaña e alguns casos de hepatoesplenomegalia; e a crônica, a qual se apresenta como uma forma indeterminada que pode evoluir para as formas cardíaca, digestiva, nervosa ou cardiodigestiva depois de anos ou até décadas (LATAS; REAVILL, 2019; RASSI, A. *et al.*, 2017).

A DC é endêmica em 21 países da América Latina e cerca de 7 a 8 milhões de pessoas no mundo estão infectados com a DC. Anualmente, morrem cerca de 10 mil indivíduos infectados por ano, configurando a doença como um dos principais problemas de saúde pública (OMS, 2018). Além disso, países não endêmicos, tanto europeus quanto da América do Norte, vem notificando casos de DC devido ao aumento do fluxo migratório, que favorece a transmissão vertical, por transfusão sanguínea ou transplante de órgãos (ALBAJAR-VIÑAS; JANNIN, 2011; GASCON; BERN; PINAZO, 2010; JACKSON; PINTO; PETT, 2014).

De acordo com a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, em 2016, a estimativa de pessoas infectadas no Brasil era entre 1,9 - 4,6 milhões. Além disso, a DC é alvo do Programa de Enfrentamento às Enfermidades Negligenciadas (Sanar), sendo Pernambuco um estado considerado endêmico para a doença com 19 municípios prioritários para o Sanar que se distribuem principalmente no sertão e no agreste do estado (SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE., 2019).

Atualmente, o tratamento da DC é baseado no uso de benznidazol (BZN) e nifurtimox (NFX), os quais são efetivos na fase aguda da doença, mas possuem eficácia limitada na fase crônica da doença (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018). Especificamente, o NFX apresenta elevada toxicidade podendo levar a uma série de efeitos colaterais como desorientação,

insônia, esquecimento, espasmos, parestesia e polineurite (KAWAGUCHI *et al.*, 2018). Por isso, o BZN é a droga de primeira escolha na maioria dos países, pois esta droga apresenta menos efeitos adversos. Contudo, além do elevado perfil de toxicidade e limites associados à fase crônica da DC, também têm sido descritos mecanismos de resistência por parte dos parasitos a esses medicamentos (CAMPOS, M. C. O. *et al.*, 2014; GARCIA *et al.*, 2005; MOLINA *et al.*, 2015). Dessa forma, novos compostos efetivos e seguros são necessários para o tratamento da DC.

Nesse sentido, compostos naturais obtidos de organismos fotossintetizantes se destacam com potencial ação antiparasitária por possuírem um grande conteúdo de bioativos primários (proteínas, polissacarídeos e lipídeos) e metabólitos secundários (fitopigmentos, fenóis, flavonoides, terpenos e vitaminas) (MATHIMANI; PUGAZHENDHI, 2019; SATHASIVAM *et al.*, 2019; VAZ *et al.*, 2016) Em particular, algas (macroalgas e microalgas) e cianobactérias produzem compostos promissores com vários efeitos biológicos, como antitumoral, antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, antifúngico, antiviral, antidiabético (SILVA, *et al.*, 2021; SINGH *et al.*, 2020; SUDHAKAR *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2018) e atividade antiparasitária (especialmente contra tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi*), sem expressar toxicidade significativa para células de mamíferos (VEAS *et al.*, 2020; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010).

Dessa forma, nesse estudo foi realizada uma revisão sistemática de estudos relacionados a atividades de compostos bioativos de algas (macroalgas, microalgas e cianobactérias) frente a tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi* visando compreender quais possuem potencial para ser novos agentes antichagásicos e, portanto, justificar novas pesquisas. Para facilitar o processo de revisão, as cianobactérias foram consideradas como microalgas nesse trabalho, mesmo reconhecendo que elas representam um diferente grupo de organismos.

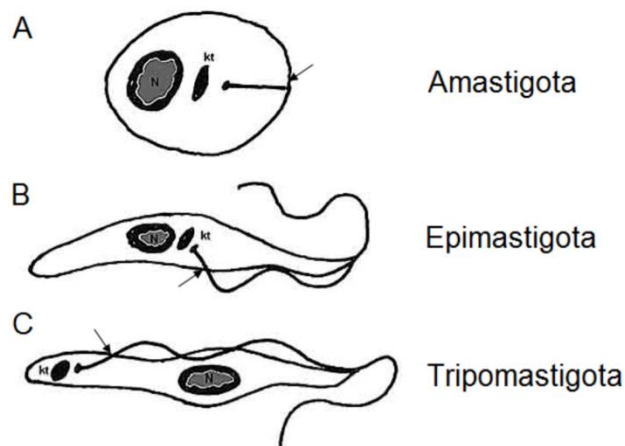
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Trypanosoma cruzi* E A DOENÇA DE CHAGAS

O *Trypanosoma cruzi* é um protozoário causador da DC, pertencente à ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. Esta espécie é uma população heterogênea constituída por diversas linhagens que circulam na natureza com uma variabilidade genética observada entre eles (MATTEI; GOLDENBERG; MOREL, 1977; NOGUEIRA; COURA, 1990; REY, 2008). Seu ciclo de vida varia entre insetos hematófagos da subfamília Triatominae e várias espécies de mamíferos, incluindo seres humanos (NOIREAU;

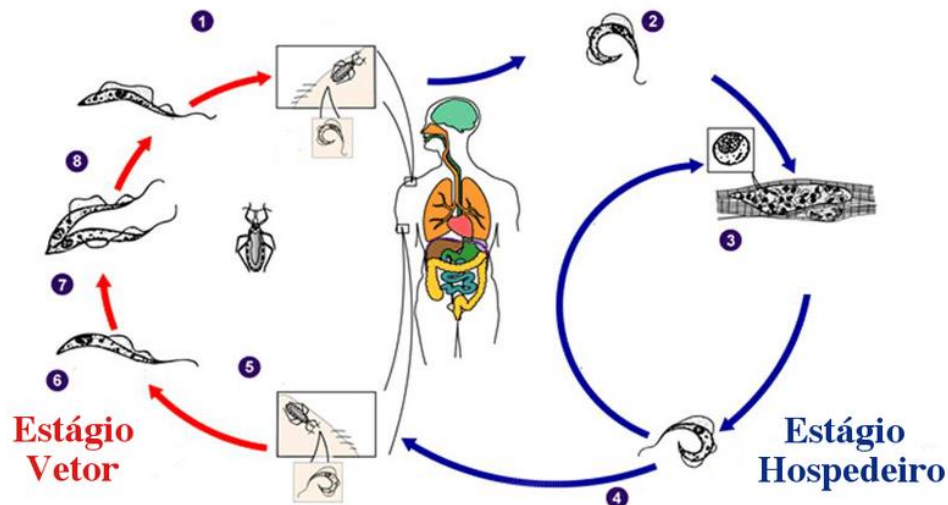
DIOSQUE; JANSEN, 2009). O protozoário possui três formas evolutivas (Figura 1) (amastigotas, epimastigotas e tripomastigotas metacíclicos e circulantes) que são identificadas pela posição do cinetoplasto em relação ao núcleo celular e pela emergência do flagelo (HOARE; WALLACE, 1966). A forma amastigota não possui um flagelo exterior e nem membrana ondulatória, por isso realiza seus movimentos apenas por rotação (LEY *et al.*, 1988); a forma epimastigota apresenta um flagelo livre e cinetoplasto anterior ao núcleo celular (LÓPEZ-VELÁZQUEZ *et al.*, 2005); a forma tripomastigota metacíclico possui um núcleo grande e central e cinetoplasto de alta densidade de DNA em uma posição posterior terminal e um flagelo curto emergindo de um corpúsculo basal perto do cinetoplasto; por fim, a forma tripomastigota circulante que está presente no sangue e outros líquidos corporais possui um flagelo longo que também emerge de um corpúsculo basal próximo ao cinetoplasto (REY, 2008). A forma evolutiva de *T. cruzi* varia de acordo com as etapas do seu ciclo de vida (Figura 2).

Figura 1 – Diferenças entre as formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi* (N: núcleo; kt: cinetoplasto; bolsa flagelar representada pela seta).



Fonte: Traduzida de Rossi et al (2003)

Figura 2 – Ciclo de vida do *T. cruzi*. (1) Inseto triatomíneo se alimenta do sangue de mamífero: tripomastigotas metacíclicos estão presentes nas fezes ou urina e invadem o organismo hospedeiro pelo local da picada ou via mucosa; (2) Tripomastigotas metacíclicos são altamente infectivos e penetram em diversas células próximas ao local da invasão; (3) Uma vez dentro das células do tecido infectado, tripomastigotas transformam-se em amastigotas, estágio replicativo no qual multiplicam-se por fissão binária; (4) Após alguns ciclos de divisão, amastigotas transformam-se em tripomastigotas que rompem as células, uma vez na corrente sanguínea os tripomastigotas podem invadir outras células (transformando-se novamente em amastigotas) ou eventualmente são ingeridos pelo inseto triatomíneo; (6) Tripomastigotas transformam-se em epimastigotas no intestino médio do inseto vetor; (7) Epimastigotas multiplicam-se no intestino médio do barbeiro; (8) Epimastigotas diferenciam-se em tripomastigotas metacíclicos na região do reto do inseto, completando o ciclo biológico do *T. cruzi*.



Fonte: Adaptado de Centre of Disease Control and Prevention. Disponível:
<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>

A DC é caracterizada por possuir uma fase aguda e uma fase crônica da infecção. A fase aguda geralmente é assintomática. Quando os sintomas aparecem, podem ser eles: febre prolongada contínua ou intermitente; mal-estar; aumento do baço, linfonodos e fígado e edemas subcutâneos; e quando a doença é transmitida através de um vetor, também ocorre um inchaço da pele na região da picada, sinal de Romaña (RASSI, A. J.; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

A fase crônica, na qual predominam as formas amastigotas intracelulares, começa aproximadamente 2 meses depois da infecção inicial, após o desaparecimento dos sintomas da fase aguda e a queda da parasitemia por tripomastigotas para níveis indetectáveis. Geralmente, a fase crônica se apresenta como uma forma indeterminada que pode evoluir para as formas cardíaca, digestiva, nervosa ou cardiodigestiva depois de anos ou até décadas (RASSI, A. *et al.*, 2017). A forma indeterminada se refere ao período de ausência de sinais ou sintomas da doença. A forma digestiva está ligada a disfunções gastrointestinais principalmente megaesôfago, megacólon ou ambos (DE REZENDE; LUQUETII, 1994). Os pacientes que desenvolvem megaesôfago têm uma prevalência aumentada de câncer de esôfago (BRANDALISE *et al.*, 1985). A forma cardíaca é a mais letal e mais frequente manifestação clínica da fase crônica. Ocorre em cerca de 20 a 30% dos indivíduos e leva a anormalidade do sistema de condução, bradiarritmias e taquiarritmias, aneurismas apicais, insuficiência cardíaca, tromboembolismo e morte súbita (RASSI, A., 2000). Quando há uma

associação da forma cardíaca com megaesôfago ou megacólon, ou ambos, diz-se que o paciente desenvolveu a forma cardiodigestiva da DC. Na maioria dos pacientes, o desenvolvimento de megaesôfago precede a doença cardíaca e do cólon, mas a prevalência exata da forma cardiodigestiva não é conhecida devido à escassez de estudos apropriados (RASSI, A. J.; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que cerca de 8 milhões de pessoas são infectadas no mundo todo, principalmente na América Latina. Além disso, ao longo do último século, a DC se espalhou para outros continentes, graças aos meios de viagens aprimorados e movimento populacional global para/da América Latina. Cerca de 10.000 pessoas morrem todos os anos devido às manifestações clínicas da Doença de Chagas e mais de 25 milhões de pessoas correm risco de adquirir a doença (OMS, 2019). Em 2016, a estimativa de pessoas infectadas no Brasil era entre 1,9 - 4,6 milhões.

O estado de Pernambuco é considerado um estado endêmico para a doença. Atualmente, 22 municípios pernambucanos são considerados prioritários para DC no Plano de Enfrentamento (2019-2022) às Doenças Negligenciadas e Relacionadas à Pobreza da Secretaria Estadual de Saúde (SES). A Vigilância em Saúde da SES coordena, entre várias ações, o acompanhamento dos casos crônicos atendidos nos serviços de referência, o monitoramento das localidades de risco e a qualificação do diagnóstico (SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE., 2019).

2.3 TRATAMENTO CONVENCIONAL

Atualmente, dois fármacos estão disponíveis para o tratamento da DC, são eles o BZN e o NFX. Ambos os medicamentos atuam diretamente sobre formas tripomastigotas circulantes e amastigotas intracelulares, podendo a chance de cura na fase aguda ser igual ou superior a 80% (COURA; CASTRO, 2002; KHAW; PANOSIAN, 1995). No entanto, a eficácia do BZN e NFX em indivíduos crônicos é questionável, além de serem consideravelmente tóxicas. Os dois medicamentos não devem ser tomados por mulheres grávidas ou pessoas com insuficiência renal ou hepática e o NFX também não é indicado para pessoas com distúrbios neurológicos ou psiquiátricos (OMS, 2019).

O NFX é um nitrofurano que tem como mecanismo de ação inibir a síntese de ácido pirúvico no *T. cruzi*. Possui uma série de efeitos colaterais que são frequentemente relatados. Os efeitos colaterais relacionados ao sistema gastrointestinal incluem anorexia, perda de peso, náusea e vômito e acometem até 70% dos pacientes (JACKSON; PINTO; PETT, 2014;

WEGNER; ROHWEDDER, 1972). Também possui efeitos neurotóxicos que incluem irritabilidade, insônia, desorientação e tremores. Além disso, também possui alguns efeitos colaterais mais raros, porém extremamente graves como parestesias, polineuropatia e neurite periférica (SGAMBATTI DE ANDRADE *et al.*, 1996). Devido a sua alta toxicidade, o NFX não é comercializado no Brasil, sendo o BZN o único autorizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para ser comercializado.

O BZN é um derivado do nitroimidazol e é o tratamento mais utilizado para a DC. Os efeitos colaterais mais frequentes são dermatológicos como erupções cutâneas que podem ser tratadas com anti-histamínicos. Casos de dermatite grave ou esfoliativa, dermatite associada a febre e linfadenopatia podem ocorrer e devem levar à interrupção imediata do tratamento. Outros efeitos colaterais também devem levar à interrupção imediata do tratamento, por exemplo: neuropatia periférica e supressão da medula óssea (BERN, 2015).

Tendo em vista os diversos efeitos adversos que as drogas convencionais acarretam nos pacientes e as contraindicações para algumas classes de pacientes, destaca-se a necessidade de novas terapias para a DC.

2.4 CARACTERÍSTICAS GERAIS E MORFOLÓGICAS DAS ALGAS

As algas são um grupo heterogêneo abrangente de organismos autotróficos unicelulares ou multicelulares, microscópicos (microalgas) ou macroscópicos (macroalgas) com grande diversidade em tamanho e aparência. O termo “algas” foi introduzido pela primeira vez por Linnaeus em 1753 e foi separada do resto do mundo vegetal ao seu estado atual por A. L. de Jussieu em 1789 (KAŠTOVSKÝ *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, os avanços dos estudos filogenéticos moleculares proporcionam constantes e rápidas mudanças taxonômicas à medida que novas informações são descobertas e acumuladas. Por isso, de maneira geral e didática, as publicações recentes dividem as algas em dois grupos principais: procariotos (representados apenas pelo filo Cyanobacteria do reino Bacteria) e eucariotos (distribuídos entre alguns filos dos reinos Plantae, Chromista e Protozoa) (BARSANTI; GUALTIERI, 2010). As cianobactérias são organismos procarióticos gram-negativos que recebem essa denominação pois são filogeneticamente mais próximos das bactérias procarióticas do que das algas eucarióticas (LEE, R. E., 2008). Contudo, devido a seu hábito de vida consideravelmente semelhante às algas, as cianobactérias são também chamadas popularmente de algas azuis.

As algas podem ser encontradas numa grande diversidade de ambientes, sendo a maioria delas aquáticas, incluindo água doce, lagoas, piscinas, lagos, rios, tanques ou

ambientes marinhos. Além de aquáticas, as algas também podem ser aerófitas (crescendo na superfície de folhas, cascas, pedras, etc.), endozóicas (crescendo dentro do corpo de vertebrados ou animais aquáticos), epizóicas (crescendo na superfície de animais aquáticos), epifíticas (na superfície plantas aquáticas) ou terrestres (solos, troncos, rochas, etc.). Além disso, as algas também podem ser encontradas em ambientes extremos como picos montanhosos nevados e ambientes de elevadas temperaturas e salinidade (KAŠTOVSKÝ *et al.*, 2019; SAHOO; SECKBACH, 2015).

As cianobactérias compreendem um importante grupo de microrganismos com grande riqueza morfológica podendo se apresentar como cocos ou bacilos unicelulares ou formar colônias ou filamentos multicelulares de vários arranjos e tamanhos (SILVA, C. S. P. Da, 2006). O arranjo formado por uma fileira de células recebe o nome de tricoma, o qual, por sua vez, recebe o nome de filamento se for envolto por uma bainha. Os filamentos podem ser constituídos por mais de um tricoma dando origem a filamentos ramificados, que podem ser classificados em unisseriados (formados por apenas uma linha de células) ou multisseriados (formados por duas ou mais linhas de células) (LEE, R. E., 2008).

Devido à grande diversidade morfológica das cianobactérias, esse aspecto é mais comumente utilizado para fins taxonômicos comparado a outros grupos. Anteriormente, baseado em critérios morfológicos, foram identificadas cerca de 1500 espécies e 150 gêneros de cianobactérias (GEITLER, 1932), o que foi drasticamente reduzido para cerca de 9 gêneros através de critérios ecofisiológicos os quais sugeriam que a grande diversidade morfológica e grande número de espécies de cianobactérias eram “ecophenes”, ou seja, eram a mesma espécie com variações morfológicas resultantes de estímulos ambientais (DROUET, 1981). Esse sistema de classificação também caiu em desuso devido ao surgimento de técnicas genéticas, bioquímicas e microbiológicas (MISHRA, 2020).

Em microalgas ou macroalgas a morfologia é determinada a partir da estrutura e organização de seus talos, os quais variam de formas unicelulares a multicelulares ou estruturas microscópicas a macroscópicas e tamanhos variando de alguns microns até alguns metros. As microalgas podem ser móveis ou não-móveis. Em geral, formas rizopodiais e flageladas são móveis, enquanto formas cocóides são não-móveis (SAHOO; SECKBACH, 2015).

As formas rizopodiais são caracterizadas pela ausência de uma parede celular rígida, o que permite alterações na forma e tamanho de seu talo. Além disso, essas formas não possuem flagelo e se movimentam através de movimentos ameboides. Diferentemente, as algas

unicelulares flageladas podem possuir forma esférica, alongada ou ovóide e ter um, dois ou vários flagelos. Por fim, as formas cocóides geralmente não são móveis e possuem uma parede celular rígida e não possuem flagelos. Essa forma ocorre na maioria das classes, sendo 70% pertencentes à classe Xanthophyceae (SAHOO; SECKBACH, 2015).

Os talos de algas podem ser sifonocladados, sifonados, parenquimatosos ou pseudoparenquimatosos ou palmeloides. Algas sifonocladadas são compostas por células multinucleadas e filamentos unicelulares ramificados ou não-ramificados, como em algas do gênero *Cladophora* da classe Ulvophyceae (Chlorophyceae). Diferentemente, as algas sifonadas são uma única célula grande e tubular contendo de milhares a milhões de núcleos caracterizando-as, portanto, como unicelulares, porém multinucleadas, a exemplo de *Vaucheria* sp. (Ochrophyta) e *Bryopsis* sp. e *Acetabularia* sp. (Chlorophyta). No caso das algas parenquimatosas, as células do filamento primário se dividem em várias direções e qualquer estrutura filamentosa essencial pode ser perdida, como ocorre frequentemente em *Ulva* (Chlorophyta) e algumas algas marrons como em *Laminaria* ou *Fucus*. Por outro lado, as algas pseudoparenquimatosas são constituídas por uma agregação de vários filamentos entrelaçados e ramificados, os quais constituem o talo e são unidos pela mucilagem, como ocorre especialmente em Rhodophyta. Por fim, a organização do talo do tipo palmelóide, é caracterizado por células não-móveis, independentes e embutidas em uma matriz mucilagínosa em comum, como em *Tetraspora* (Chlorophyta) (BARSANTI; GUALTIERI, 2010).

O cultivo de algas oferece algumas vantagens importantes, como uma alta taxa de crescimento dos organismos, sua capacidade de crescimento em terras não aráveis (TOLBOOM *et al.*, 2019) e sua capacidade de consumir CO₂ derivado do tratamento de gases em combustão (tornando o processo mais sustentável) (BEZERRA *et al.*, 2013; DEMIRBAS; DEMIRBAS, 2010; FAN *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2016).

2.5 ASPECTOS BIOQUÍMICOS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS ALGAS

Além de sua grande diversidade morfológica, as algas e cianobactérias também apresentam grande diversidade bioquímica e constituem fontes naturais importantes de vários compostos bioativos como proteínas, lipídeos, polissacarídeos, óleos e outros biopolímeros, o que vem agregando valor à biomassa desses organismos (KARTIK *et al.*, 2021). Essas moléculas biologicamente ativas presentes em extratos de algas e cianobactérias possuem diversas aplicações biotecnológicas como a produção de biocombustíveis, ação biorremediativa, aplicação em cosméticos e na indústria de alimentos, além de possuírem

diversas ações farmacológicas já relatadas (POONIA *et al.*, 2022; SITTHER *et al.*, 2020; UDAYAN; ARUMUGAM; PANDEY, 2017).

Dentre as principais ações farmacológicas associadas a compostos bioativos provenientes de algas, destacam-se algumas como a atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica, anti-inflamatória, antitumoral, antibacteriana e anti-hipertensiva (ALVES *et al.*, 2020; MESQUITA *et al.*, 2021; PARTHASARATHY *et al.*, 2020; SURABHI *et al.*, 2021). Além disso, extratos de algas também mostraram atividade antiparasitária promissora contra *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania amazonensis* e *Plasmodium falciparum* (AYAL; WAHAB, 2021; GHANIA *et al.*, 2019; POWERS *et al.*, 2017; SOARES *et al.*, 2016).

Em especial, extratos e compostos obtidos de algas e cianobactérias também possuem atividade antiparasitária contra *Trypanosoma cruzi* relatada em alguns estudos disponíveis na literatura científica, o que torna as algas fontes promissoras de compostos antichagásicos com potencial para representarem uma alternativa ao tratamento atual de DC.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Analisar sistematicamente a ação antiparasitária de compostos bioativos de algas e cianobactérias frente a formas tripomastigota e amastigota de *T. cruzi*.

3.2 ESPECÍFICOS

- Selecionar estudos que avaliaram atividade tripanocida de compostos de algas e cianobactérias frente a *T. cruzi*;
- Identificar grupos e espécies mais estudadas como fonte de compostos anti-*T. cruzi*;
- Verificar os métodos de extração mais utilizados para obtenção de compostos tripanocidas de algas;
- Verificar as células mais utilizadas para avaliação da citotoxicidade dos compostos, bem como os valores de concentração dos extratos capaz de inibir os parasitos em 50%;
- Verificar quais compostos exibiram maior atividade tripanocida;
- Verificar qual o método de atividade tripanocida foi mais utilizado pelos estudos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA

Esta revisão sistemática foi conduzida de acordo com o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)* (MOHER *et al.*, 2009). Foram utilizadas as

bases de dados Science Direct, Medline (PubMed), Web of Science (WoS), Springer Link, Wiley Online Library, Scielo e MDPI para identificar artigos relevantes publicados em inglês e sem um limite de tempo. As seguintes palavras-chave foram usadas isoladamente e em combinação para identificar os artigos: “Chagas disease”, “*Trypanosoma cruzi*”, “trypanocidal”, “algae” e “cyanobacteria”. Além disso, as referências bibliográficas dos artigos incluídos foram checadas para identificar possíveis artigos elegíveis.

4.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Os critérios de inclusão para esta revisão foram artigos originais e comunicações curtas descrevendo a atividade antiparasitária de extratos ou compostos isolados de cianobactérias, microalgas e macroalgas frente a formas tripomastigota e amastigota de *T. cruzi*. Os critérios de exclusão foram revisões, monografias, dissertações, teses, cartas, capítulos de livros, resumos apresentados em conferências, patentes e editoriais, bem como estudos utilizando a forma epimastigota de *T. cruzi* para avaliação da atividade anti-*T. cruzi*, visto que formas tripomastigota e amastigota são mais relevantes para o desenvolvimento de drogas terapêuticas.

4.3 SELEÇÃO DE ESTUDOS

Depois da remoção das duplicadas das bases de dados, os títulos e resumos dos artigos foram analisados e aqueles que não atendiam aos critérios de inclusão foram excluídos. Então, os textos completos de cada estudo selecionado foram revisados para confirmar a inclusão do estudo na revisão sistemática (Figura 3).

4.4 EXTRAÇÃO DE DADOS

Para cada estudo selecionado, os seguintes dados foram extraídos e resumidos (como mostrado nas Tabelas 1 e 2: grupo de organismo, tipo de estudo (*in vitro*, *in vivo* ou *in silico*), produtos bioativos, métodos de extração, princípios ativos, forma evolutiva do *T. cruzi*, método de atividade tripanocida, metade da concentração inibitória máxima (IC₅₀), controle negativo, metade da concentração citotóxica mínima (CC₅₀), controle positivo e índices de seletividade (IS).

4.5 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS

Os critérios de qualidade utilizados nesta revisão foram adaptados do protocolo do *MetaAnalysis of Statistics Assessment and Review Instrument* (MASTARI) (INSTITUTE, 2014). Os artigos foram avaliados através de seis critérios de qualidade expressos como perguntas: 1) O artigo descreve o processo de obtenção dos compostos bioativos?; 2) O artigo relata os princípios ativos envolvidos na atividade anti-*T. cruzi*?; 3) A concentração necessária

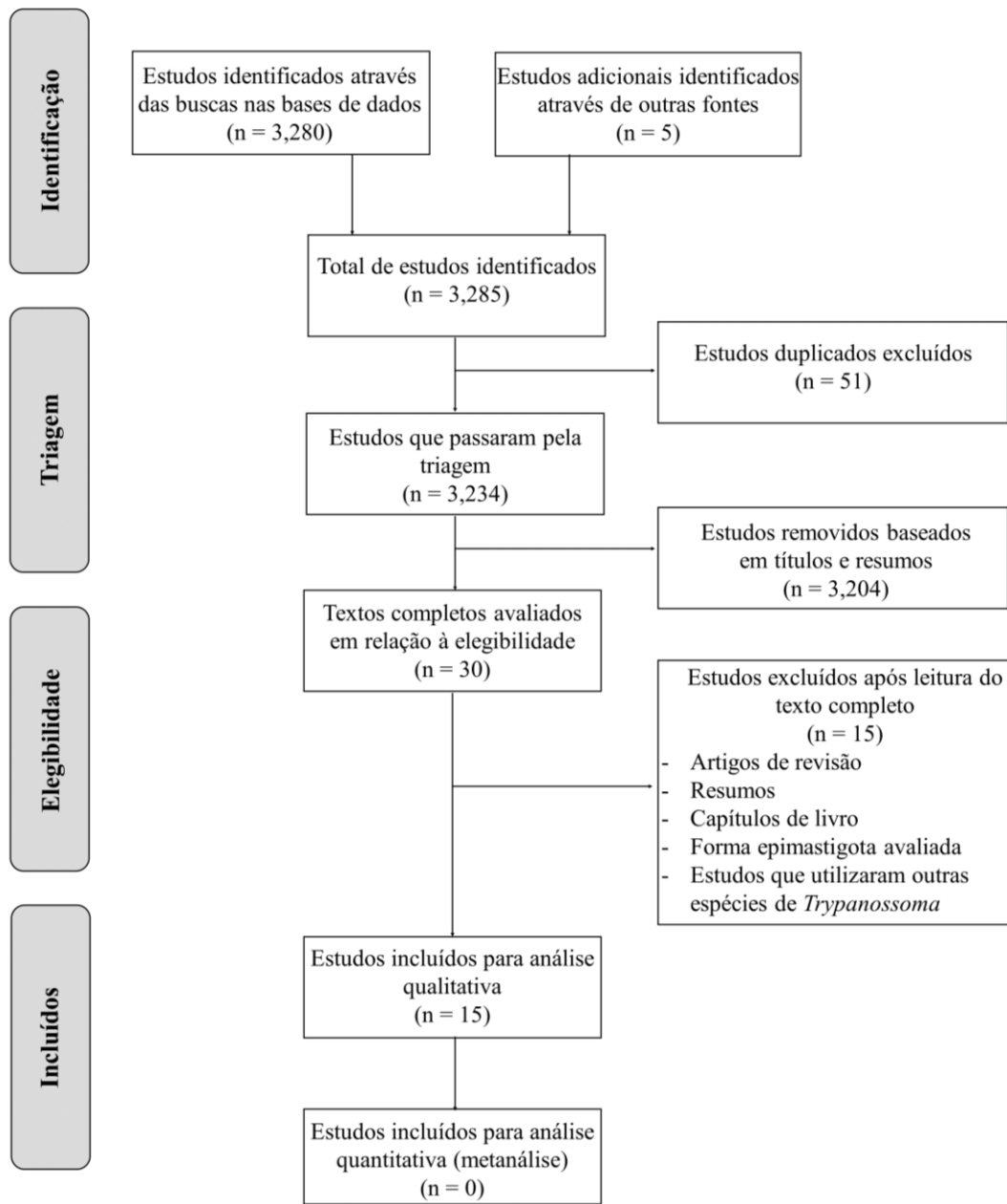
para inibir os parasitos em 50% foi determinada no estudo?; 4) Foram realizados testes suplementares para validar a atividade tripanocida realizada no estudo?; 5) Foram realizados testes para identificar possíveis mecanismos de ação dos compostos?; 6) Foram realizados testes de citotoxicidade para determinar o índice de seletividade dos compostos?. Cada item foi avaliado como “sim”, “não”, “não claro” ou “não aplicável”. A frequência de respostas “sim” para cada questão foi obtida para avaliar o risco de viés dos estudos em relação a atividade antiparasitária dos compostos bioativos. Estudos com frequência de “sim” foram maiores do que 70%, entre 50% e 69%, e menor do que 50% foram classificados como tendo baixo, moderado e alto risco de viés, respectivamente (PEINADO *et al.*, 2020).

5 RESULTADOS

5.1 EXTRAÇÃO DE DADOS

Dos 3.285 artigos obtidos nas bases de dados, 51 foram identificados como duplicatas e foram excluídos. Então, depois da triagem dos títulos e resumos, 3.204 dos 3.234 artigos restantes foram eliminados, restando 30 estudos com atividade tripanocida de algas para revisões posteriores. Depois da avaliação do texto completo dessas publicações, 15 foram excluídos por não se encaixarem nos critérios de inclusão. Portanto, 15 artigos foram finalmente selecionados para análise qualitativa nesta revisão, como mostrado pelo fluxograma do PRISMA na Figura 3. Contudo, devido ao alto grau de heterogeneidade das metodologias usadas entre os estudos, não foi realizada metanálise nesta revisão. Além disso, apenas um estudo *in vivo* foi encontrado, o que também torna a metanálise inviável.

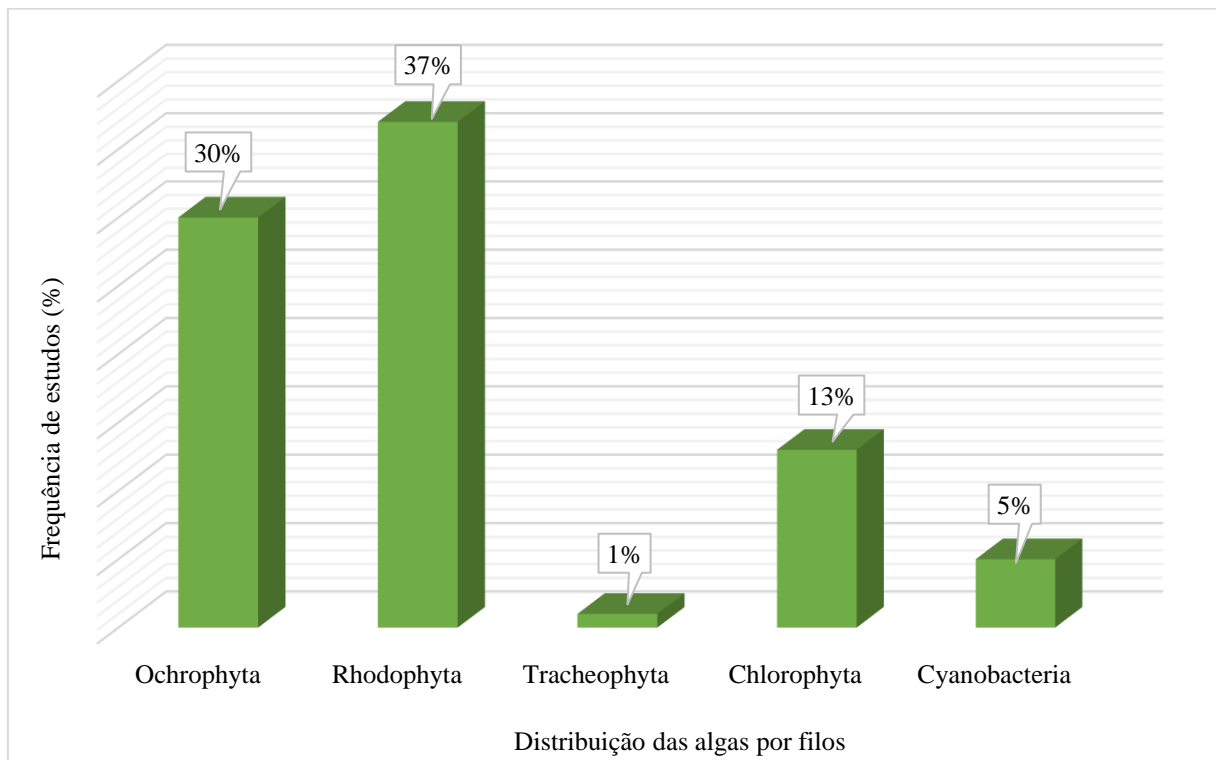
Figura 3 – Diagrama PRISMA descrevendo o fluxo de informações através de várias etapas da revisão sistemática.



5.2 ESPÉCIES DE ALGAS

Os filos Rhodophyta, Ochrophyta, Chlorophyta, Cyanobacteria e Tracheophyta foram avaliados por sua atividade anti-*T. cruzi* (Figura 4). Rhodophyta e Ochrophyta foram os filos mais estudados e mostraram ser as algas mais promissoras para atividade anti-*T. cruzi* devido a seus altos valores de IS, como observado nas macroalgas *Styopodium zonale* e *Laurencia dendroidea*.

Figura 4 – Porcentagem de filos diferentes usados nos estudos incluídos.



As Tabelas 1 e 2 apresentam uma visão geral das principais características metodológicas e resultados dos estudos selecionados. Macroalgas foram usadas na maioria dos estudos ($n = 11$, 73,3%), seguidas pelas cianobactérias ($n = 3$, 20,0%) e apenas um estudo usou tanto as microalgas e as cianobactérias ($n = 1$, 6,6%). Dez estudos (66,6%) utilizaram os extratos de mais de uma espécie de algas, microalgas ou cianobactérias para obter os compostos bioativos. Apesar de apenas 15 estudos terem sido incluídos na revisão, eles abordaram 114 espécies de macroalgas, microalgas e cianobactérias no total.

Entre as 105 espécies de macroalgas estudadas, *Dictyota dichotoma* e *Ulva lactuca* foram descritas na maioria dos estudos envolvendo este tipo de algas ($n = 3$ estudos; 27,2% para cada espécie) (ORHAN *et al.*, 2006; SPAVIERI *et al.*, 2010a; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011). Das quatro espécies de cianobactérias estudadas (*Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima*, *Rivularia biaolettiana* e *Oscillatoria nigro-viridis*), cada uma foi relatada por um estudo ($n = 1$; 25,0% para cada espécie) (BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; REBOREDA-HERNANDEZ, *et al.*, 2020; SIMMONS *et al.*, 2008; VEAS *et al.*, 2020). Finalmente, apenas um estudo usou as microalgas *Chlamydomonas reinhardtii*, *Nannochloris oculata*, *Tetradismus obliquus* e *Tetraselmis suecica* (VEAS *et al.*, 2020) (Tabela 1).

5.3 MÉTODOS USADOS PARA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Como mostrado na Tabela 1, o termo “extrato orgânico” foi usado para representar artigos os quais utilizaram uma “mistura de solventes” (ou seja, mais de um solvente) para

extração dos compostos bioativos. Por outro lado, o nome do solvente foi utilizado para indicar aqueles estudos nos quais apenas um solvente foi usado (por exemplo: “extrato etanólico” para extração usando etanol).

No geral, 10 diferentes tipos de solventes foram usados para extração dos compostos tripanocidas (Tabela 1), sendo os extratos orgânicos os mais frequentemente obtidos (n = 6; 40,0%) (ALLMENDINGER *et al.*, 2010; BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; LEÓN-DENIZ *et al.*, 2009; SIMMONS *et al.*, 2008; SPAVIERI *et al.*, 2010a, 2010b), seguidos de extratos etanólicos (n = 4; 26,6%) (NARA *et al.*, 2005; ORHAN *et al.*, 2006; VEAS *et al.*, 2020; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011). Extrações de hexano (13,3%) (BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; DE FELÍCIO *et al.*, 2010), metano (13,3%) (SÜZGEÇ-SELÇUK *et al.*, 2011; VEAS *et al.*, 2020), diclorometano (13,3%) (DE FELÍCIO *et al.*, 2010; TEIXEIRA *et al.*, 2019), acetato de etila (13,3%) (TEIXEIRA *et al.*, 2019; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011) e água (aquoso) (13,3%) (REBOREDA-HERNANDEZ, *et al.*, 2020; VEAS *et al.*, 2020) foram realizadas em dois estudos cada uma. Adicionalmente, éter de petróleo (6,6%) (TEIXEIRA *et al.*, 2019), hexano-diclorometano (6,6%) (DE FELÍCIO *et al.*, 2010), hidroetanol (6,6%) (TEIXEIRA *et al.*, 2019), hidrometanol (6,6%) (BRONIATOWSKA *et al.*, 2011) e clorofórmio (6,6%) (BRONIATOWSKA *et al.*, 2011) foram usados para o processo de extração em um estudo cada (Tabela 1).

No total, cinco diferentes métodos mecânicos foram utilizados para obtenção dos bioativos: homogeneização por agitação; homogeneização por blender; maceração; percolação; e sonicação. Oito estudos (53,3%) realizaram a extração usando homogeneização, dos quais 5 estudos (33,3%) usaram blender (ALLMENDINGER *et al.*, 2010; BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; SPAVIERI *et al.*, 2010a, 2010b; TEIXEIRA *et al.*, 2019), 2 estudos (13,3%) usaram agitação (ALLMENDINGER *et al.*, 2010; VEAS *et al.*, 2020) e 1 estudo (6,6%) não mencionaram nenhum dos tipos de homogeneização (NARA *et al.*, 2005). Maceração foi usado por três estudos (20%) (DE FELÍCIO *et al.*, 2010; LEÓN-DENIZ *et al.*, 2009; ORHAN *et al.*, 2006), enquanto percolação (6,6%) (SÜZGEÇ-SELÇUK *et al.*, 2011) e sonicação (6,6%) foram respectivamente usados por um estudo cada (REBOREDA-HERNANDEZ, *et al.*, 2020). Dois estudos usaram cromatografia para obtenção dos compostos (SIMMONS *et al.*, 2008; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a) (Tabela 1).

Tabela 1 – Características dos estudos usando algas e cianobactérias com atividade anti-*Trypanosoma*.

Organismo	Espécies	Solvente de extração	Método de extração	IC ₅₀	CC ₅₀	IS	Princípio ativo	Referência
Macroalga	<i>Halopteris scoparia</i>	Extrato etanólico	Maceração	> 90 µg/ml	> 90 µg/ml	ND	ND	Orhan et al. (2006)
	<i>Stypocaulon scoparium</i>							
	<i>Dictyota dichotoma</i>							
	<i>Scinaia furcellata</i>							
	<i>Sargassum bacciferum</i>							
	<i>Ulva lactuca</i>							
	<i>Posidonia oceanica</i>							
	<i>Cladophora glomerata</i>							
	<i>Plocamium brasiliense</i>	Extrato de éter de petróleo	Homogeneização por blender	39.2 ± 3.6 µg/ml	126 ± 9.1 µg/ml	3.21	5-chloro-1-(E)-chlorovinyl-2,4-dibromo-1,5-dimethylcyclohexane (IC ₅₀ = 7.1 ± 2.1 µg/ml; CC ₅₀ = 21.0 ± 0.9 µg/ml; SI = 2.95)	Teixeira et al. (2019)
		Extrato de diclorometano		58.9 ± 6.7 µg/ml	137.8 ± 20.0 µg/ml	2.33	Meroterpenos halogenados (IC ₅₀ = 4.9 ± 3.7 µg/ml; CC ₅₀ = 20.3 ± 6.7 µg/ml)	
	Extrato de acetato de etil		50.6 ± 9.5 µg/ml	154.0 ± 24.9 µg/ml	3.04	ND		
		Extrato hidroetanólico		>200 µg/ml	>200 µg/ml	ND		

<i>Styopodium zonale</i>	ND		$2.4 \pm 1.8 \mu\text{g/ml}$ (5.4 μM)	$40.2 \pm 4.9 \mu\text{g/ml}$ (90.8 μM)	16.75	Ácido atomárico (Meroditerpeno) (IC = $2.4 \pm 1.8 \mu\text{g/ml}$ (5.4 μM); CC = 40.2 ± 4.9 $\mu\text{g/ml}$ (90.8 μM); SI = 16.75)	
<i>Bostrychia tenella</i>	Extrato de n-hexano	Maceração	18.8 $\mu\text{g/ml}$	ND	ND	ND	De Felício et al. (2010)
<i>Pylaiella littoralis</i>	Extrato de diclorometano		19.1 $\mu\text{g/ml}$				
<i>Chorda filum</i>							
<i>Leathesia difformis</i>							
<i>Dictyota dichotoma</i>							
<i>Ascophyllum nodosum</i>	1) algas embebidas em i-PrOH; 2) extraídas em CHCl_3 e MeOH (3:1 e 1:1, subsequentemente); 3) combinada com o extrato de i-PrOH obtido previamente; 4) extrato combinado dissolvido em EtOAc e MeOH (1:1).	Homogeneização por blender	> 90 $\mu\text{g/ml}$	> 90 $\mu\text{g/ml}$	ND	ND	Spavieri et al. (2010)a
<i>Fucus ceranoides</i>							
<i>Fucus serratus</i>							
<i>Fucus spiralis</i>							
<i>Fucus vesiculosus</i>							
<i>Pelvetia canaliculata</i>							
<i>Himanthalia elongata</i>							
<i>Laminaria digitata</i>							
<i>Saccorhiza polyschides</i>							
<i>Cystoseira baccata</i>			79.3 $\mu\text{g/ml}$		>1.13		

<i>Cystoseira tamariscifolia</i>			61.0 µg/ml	62.5 µg/ml	1.02		
<i>Bifurcaria bifurcata</i>			34.7 µg/ml	32.7 µg/ml	0.94		
<i>Halidrys siliquosa</i>			34.6 µg/ml	45.0 µg/ml	1.30		
<i>Sargassum muticum</i>							
<i>Colpomenia peregrina</i>							
<i>Scytosiphon lomentaria</i>			> 90 µg/ml	> 90 µg/ml	ND		
<i>Stypocaulon scoparium</i>							
<i>Cladophora rupestris</i>	1) algas embebidas em i-PrOH; 2) extraídas em CHCl ₃ e MeOH (3:1 e 1:1, subsequentemente); 3) combinada com o extrato de i-PrOH obtido previamente; 4) extrato combinado dissolvido em EtOAc e MeOH (1:1).	Homogeneização por blender	80.8 µg/ml		>1.11	Spavieri et al. (2010)b	
<i>Codium fragile ssp. tomentosoides</i>			>90 µg/ml		ND		
<i>Ulva intestinalis</i>				> 90 µg/ml			ND
<i>Ulva lactuca</i>				34.9 µg/ml			>2.57
<i>Caulerpa racemosa</i>							
<i>Codium bursa</i>							
<i>Cystoseira barbata</i>							
<i>Cystoseira crinata</i>							
<i>Corallina granifera</i>	Extrato metanólico	Percolação	>90 µg/ml	> 90 µg/ml	ND	Süzgeç-Selçuk et al. (2010)	
<i>Jania rubens</i>					ND		
<i>Ceramium rubrum</i>							
<i>Gracilaria verrucosa</i>							
<i>Dasya pedicellata</i>					62.02 µg/ml		14.7 µg/ml
<i>Gelidium crinale</i>			>90 µg/ml	> 90 µg/ml	ND		

<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Extrato etanólico	Homogeneização por agitação	ND	ND	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)																																			
	Extrato de acetato de etil			6 µg/ml																																						
<i>Calliblepharis jubata</i>	Extrato etanólico			ND																																						
	Extrato de acetato de etil			71 µg/ml																																						
<i>Codium tomentosum</i>	Extrato etanólico			Homogeneização por agitação				ND	ND	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)																														
	Extrato de acetato de etil								ND																																	
<i>Chondrus crispus</i>	Extrato etanólico								Homogeneização por agitação				ND	84 µg/ml	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)																									
	Extrato de acetato de etil													84 µg/ml																												
<i>Dictyopteris polypodioides</i>	Extrato etanólico													Homogeneização por agitação				ND	ND	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)																				
	Extrato de acetato de etil																		87 µg/ml																							
<i>Dictyota dichotoma</i>	Extrato etanólico																		Homogeneização por agitação				ND	ND	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)															
	Extrato de acetato de etil																							27 µg/ml																		
<i>Dilsea carnososa</i>	Extrato etanólico																							Homogeneização por agitação				ND	ND	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)										
	Extrato de acetato de etil																												74 µg/ml													
<i>Fucus serratus</i>	Extrato etanólico																												Homogeneização por agitação				ND	ND	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)					
	Extrato de acetato de etil																																	ND								
<i>Gelidium latifolium</i>	Extrato etanólico																																	Homogeneização por agitação				ND	62 µg/ml	ND	ND	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)
	Extrato de acetato de etil																																						62 µg/ml			
<i>Gracilaria gracilis</i>	Extrato etanólico	Homogeneização por agitação	ND		ND	ND	ND																																Vonthron-Sénécheau et al. (2011)			
	Extrato de acetato de etil				71 µg/ml																																					

<i>Grateloupia turuturu</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	71 µg/ml
<i>Halurus flosculosus</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	58 µg/ml
<i>Himanthalia elongata</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	88 µg/ml
<i>Laminaria digitata</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	ND
<i>Mastocarpus stellatus</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	>90 µg/ml
<i>Palmaria palmata</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	ND
<i>Pelvetia canaliculata</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	87 µg/ml
<i>Sargassum muticum</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	63 µg/ml
<i>Ulva lactuca</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	ND
<i>Ulva clathrata</i>	Extrato etanólico	ND
	Extrato de acetato de etil	ND

<i>Boergeseniella fruticulosa</i>							
<i>Calliblepharis jubata</i>							
<i>Ceramium virgatum</i>					>90 µg/ml	ND	
<i>Chylocladia verticillata</i>							
<i>Claviclonium ovatum</i>							
<i>Corallina officinalis</i>					88.6 µg/ml	<0.98	
<i>Cryptopleura ramosa</i>							
<i>Cystoclonium purpureum</i>							
<i>Dumontia incrassata</i>							
<i>Furcellaria lumbricalis</i>							
<i>Gelidium pulchellum</i>							
<i>Gracilaria gracilis</i>							
<i>Halopitys incurvus</i>							
<i>Halurus equisetifolius</i>							
<i>Jania rubens</i>							
<i>Lomentaria articulata</i>							
<i>Mastocarpus stellatus</i>							
<i>Osmundea hybrida</i>							
<i>Osmundea pinnatifida</i>							
<i>Plocamium cartilagineum</i>							
<i>Polyides rotundus</i>							
<i>Porphyra leucosticta</i>							
<i>Porphyra linearis</i>							
	1) algas embebidas em i-PrOH; 2) extraídas em CHCl ₃ e MeOH (3:1 e 1:1, subsequentemente); 3) combinada com o extrato de i-PrOH obtido previamente; 4) extrato combinado dissolvido em EtOAc e MeOH (1:1).	Homogeneização por blender	>90 µg/ml			ND	Allmendinger et al. (2010)

<i>Laurencia dendroidea</i>	Extrato de hexano-diclorometano	ND	ND	ND	ND	Elatol (IC ₅₀ = 1.38 ± 0.15 μM para tripomastigotas e 0.01 01 ± 0.65 μM para amastigotas; CC ₅₀ = 27.0 ± 0.51 μM; IS = 19.56 para tripomastigotas e 26.73 for amastigotas)	Veiga-Santos et al. (2010)
<i>Agardhiella</i> sp.	Extrato aquoso Extrato orgânico						Léon-Deniz et al. (2009)
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Ceramium nitens</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Champia salicornioides</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Eucheuma isiforme</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico	Maceração	ND	ND	ND	ND	
<i>Gracilaria caudata</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Gracilaria cervicornis</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Gracilaria damaecornis</i>	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Gracilaria</i> sp.	Extrato aquoso Extrato orgânico						
<i>Halymenia floresii</i>	Extrato aquoso						

<i>Heterosiphonia gibbesii</i>	Extrato orgânico					
	Extrato aquoso					
<i>Hydropuntia cornea</i>	Extrato orgânico					
	Extrato aquoso					
<i>Jania capillacea</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Laurencia microcladia</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Dictyopteris jamaicensis</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Dictyota caribaea</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Lobophora variegata</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Padina pavonica</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Padina perindusiata</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Sargassum fluitans</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Turbinaria turbinata</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Avrainvillea digitata</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					
<i>Halimeda incrassata</i>	Extrato aquoso					
	Extrato orgânico					

Microalga	<i>Halimeda tuna</i>	Extrato aquoso	Homogeneização	ND	ND	ND	ND	Nara et al. (2005)
		Extrato orgânico						
	<i>Penicillus dumetosus</i>	Extrato aquoso						
		Extrato orgânico						
	<i>Penicillus lamourouxii</i>	Extrato aquoso						
		Extrato orgânico						
	<i>Rhipocephalus phoenix</i>	Extrato aquoso						
		Extrato orgânico						
	<i>Udotea conglutinata</i>	Extrato aquoso						
		Extrato orgânico						
	<i>Udotea flabellum</i>	Extrato aquoso						
		Extrato orgânico						
Cianobacteria	<i>Fucus evanescens</i>	Extrato etanólico	Homogeneização por agitação	67.0 ± 4.12 µg/ml	220.3 ± 6.7 µg/ml	3.28	4.76	Veas et al. (2020)
	<i>Pelvetia babingtonii</i>	Extrato etanólico						
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Extrato etanólico						
	<i>Tetraselmis suecica</i>	Extrato etanólico						
		Extrato aquoso						
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Extrato metanólico						
	<i>Nannochloris oculata</i>	Extrato etanólico						
	Extrato aquoso							
	<i>Arthrospira platensis</i>	Extrato etanólico	Homogeneização por agitação	ND	ND	ND	ND	
		Extrato aquoso						

<i>Nostoc commune</i>	Extrato orgânico		>90 µg/ml	> 90 µg/ml	ND	ND	Broniatowska et al. (2011)
	Extrato de hexano		65.0 µg/ml	> 90 µg/ml	> 1.38		
	Extrato de clorofórmio		12.3 µg/ml	40.5 µg/ml	3.29		
<i>Rivularia biasolettiana</i>	Extrato hidrometanólico	Homogeneização por blender	71.1 µg/ml	> 90 µg/ml	> 1.26	ND	
	Extrato orgânico		>90 µg/ml	84.3 µg/ml	< 0.93		
	Extrato de hexano		54.1 µg/ml	> 90 µg/ml	> 1.66		
<i>Oscillatoria nigro-viridis</i>	Extrato de clorofórmio		19.4 µg/ml	47.4 µg/ml	2.44	Viridamida A Viridamida B	Simmons et al. (2008)
	Extrato hidrometanólico		85.4 µg/ml	> 90 µg/ml	> 1.05		
<i>Arthrospira maxima</i>	Extrato orgânico	ND	1.1 ± 0.1 µM ND	ND	ND	ND	Reboreda-Hernandez et al. (2020)
	Extrato aquoso	Sonicação	ND	ND	ND		

ND = não determinado; i-PrOH = álcool isopropílico; CHCl₃ = clorofórmio; MeOH = metanol; EtOAc = acetato de etil; IC₅₀ = metade da concentração inibitória máxima; CC₅₀ = 50% da concentração citotóxica.

5.4 TIPOS DE ESTUDOS USADOS NA ATIVIDADE TRIPANOCIDA

Geralmente, estudos *in vitro*, *in vivo* e *in silico* podem ser usados para testar a atividade anti-*T. cruzi*. Contudo, todos os 15 estudos utilizaram testes *in vitro* (n = 15; 100%), nenhum utilizou testes *in silico* e apenas um estudo conduziu um estudo *in vivo* (REBOREDA-HERNANDEZ, O. A. *et al.*, 2020) (Tabela 2).

5.5 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE

No total, sete estudos (46,6%) avaliaram a citotoxicidade de 114 diferentes extratos em células musculares esqueléticas de ratos, com a maioria dos extratos (n = 67; 58,7%) mostrando valores de CC₅₀ maiores ou iguais a 90 µg/mL, seguidos por 14 extratos (12,2%) que exibiram valores de CC₅₀ de aproximadamente 50-89 µg/mL e 7 extratos (6,1%) que apresentaram valores menores que 49 µg/mL. Os valores de CC₅₀ de 26 extratos (22,8%) não foram determinados (Tabela 1) (ALLMENDINGER *et al.*, 2010; BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; ORHAN *et al.*, 2006; SPAVIERI *et al.*, 2010a, 2010b; SÜZGEÇ-SELÇUK *et al.*, 2011; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011).

Apenas dois estudos usaram células Vero (13,3%), obtendo valores CC₅₀ maiores que 100 µg/mL (TEIXEIRA *et al.*, 2019; VEAS *et al.*, 2020). As linhas celulares HeLa e rim canino Madin-Darby foram usadas por um estudo cada (6,6%), mas os valores de CC₅₀ não foram determinados. A linhagem celular LLCMK₂ (células epiteliais renais de macaco Rhesus) foi usada por apenas um estudo, com o valor de CC₅₀ de 27 µM (LEÓN-DENIZ *et al.*, 2009; NARA *et al.*, 2005; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a). Finalmente, três estudos (20,0%) não realizaram nenhum ensaio de citotoxicidade (DE FELÍCIO *et al.*, 2010; REBOREDA-HERNANDEZ, O. *et al.*, 2020; SIMMONS *et al.*, 2008).

5.6 ATIVIDADE TRIPANOCIDA

Como mostrado na Tabela 2, 12 estudos (80,0%) avaliaram a atividade tripanocida contra a forma tripomastigota (ALLMENDINGER *et al.*, 2010b; BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; DE FELÍCIO *et al.*, 2010; LEÓN-DENIZ *et al.*, 2009; ORHAN *et al.*, 2006; SIMMONS *et al.*, 2008; SPAVIERI *et al.*, 2010a, 2010b; SÜZGEÇ-SELÇUK *et al.*, 2011; VEAS *et al.*, 2020; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011) e apenas dois estudos (13,3%) usaram formas amastigotas (NARA *et al.*, 2005; TEIXEIRA *et al.*, 2019), enquanto poucos estudos (n = 3; 20,0%) mostraram atividade antiparasitária contra ambas as formas de *T. cruzi* (REBOREDA-HERNANDEZ, O. *et al.*, 2020; VEAS *et al.*, 2020; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010). A maioria dos estudos (n = 10; 66,6%) usaram BZN como controle (ALLMENDINGER *et al.*, 2010; BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; DE FELÍCIO *et al.*, 2010;

ORHAN *et al.*, 2006; SPAVIERI *et al.*, 2010a, 2010b; SÜZGEÇ-SELÇUK *et al.*, 2011; TEIXEIRA *et al.*, 2019; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011), exceto por dois estudos (13,3%) que usaram NFX (SIMMONS *et al.*, 2008; VEAS *et al.*, 2020) e três não mencionaram controles (LEÓN-DENIZ *et al.*, 2009; NARA *et al.*, 2005; REBOREDA-HERNANDEZ, O. *et al.*, 2020) (Tabela 2).

Apesar de *Dictyota dichotoma* e *Ulva lactuca* terem sido as macroalgas mais estudadas, *Styopodium zonale* mostrou a maior atividade antiparasitária baseando-se no IC₅₀ (IC₅₀ = 2,4 ± 1.8 µg/mL vs. 90 µg/mL de *Dictyota dichotoma* e 39,4 µg/mL de *Ulva lactuca*; (Tabela 1). Com relação a cianobactérias e microalgas, *Nostoc commune* e *Tetraselmis suecica* tiveram os menores valores de IC₅₀ (12,3 e 60,9 ± 14,30 µg/mL, respectivamente) (Tabela 1).

Os compostos isolados de *Laurencia dendroidea* foram os mais seletivos contra formas tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi* (IS = 19,26 e 26,73, respectivamente), seguido por compostos meroditerpenoides de *Styopodium zonale* e o extrato metanólico de *Tetrademus obliquus* contra tripomastigotas de *T. cruzi* (IS = 16.75 e 11.16, respectivamente). Apenas três estudos (20,0%) descreveram o princípio ativo, como 5-chloro-1-(E)-chlorovinyl-2,4-dibromo-1,5-dimethylcyclohexane (IC₅₀ = 7.1 ± 2.1 µg/mL; CC₅₀ = 21.0 ± 0.9 µg/mL), ácido atomárico (IC₅₀ = 2.4 ± 1.8 µg/mL; CC₅₀ = 40.2 ± 4.9 µg/mL), viridamida A (IC₅₀ = 1.1 ± 0.1 µM), viridamida B (IC₅₀ = 12.3 µg/mL) e elatol (IC₅₀ = 1.01 ± 0.65 µM) (SIMMONS *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2019; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a).

Entre os estudos, duas diferentes metodologias foram usadas para a quantificação da atividade tripanocida: o método de colorimetria e o de contagem. O método de colorimetria foi usado em 11 estudos (73,3%), enquanto o método de contagem foi usado em 4 estudos (26,6%). Oito estudos (53,3%) realizaram os testes com 96h de incubação (ALLMENDINGER *et al.*, 2010; BRONIATOWSKA *et al.*, 2011; NARA *et al.*, 2005; ORHAN *et al.*, 2006; SPAVIERI *et al.*, 2010a, 2010b; SÜZGEÇ-SELÇUK *et al.*, 2011; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011), enquanto um estudo testou com 24h (6,6%) (VEAS *et al.*, 2020) e outro em 72h de incubação (6,6%) (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Além disso, um estudo testou ambas 24h e 96h de incubação para testar a atividade tripanocida contra formas amastigotas e tripomastigotas, respectivamente (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a); outro estudo (6,6%) testaram com 24h, 48h e 7 dias de incubação (LEÓN-DENIZ *et al.*, 2009); e um outro estudo (6,6%) não relatou a duração da incubação utilizada (Tabela 2).

Tabela 2 – Diferentes protocolos usados para avaliar a atividade anti-*T. cruzi* dos estudos incluídos.

Tipo de estudo	Forma evolutiva	Controle positivo	Controle negativo	Método para atividade tripanocida	Tempo de incubação	Referência
<i>in vitro</i>	Tripomastigota	Células musculares esqueléticas de ratos	Benznidazol	Colorimetria	96h	Orhan et al. (2006)
	Amastigota	Células VERO	Benznidazol	Colorimetria	72h	Teixeira et al. (2019)
	Tripomastigota	ND	Benznidazol	Colorimetria	24h	De Felício et al. (2010)
	Tripomastigota	Células musculares esqueléticas de ratos	Benznidazol	Colorimetria	96h	Spavieri et al. (2010)a
						Spavieri et al. (2010)b
						Süzgeç-Selçuk et al. (2010)
	Tripomastigota	Células LLCMK2	Benznidazol	Contagem	24h	Vonthron-Sénécheau et al. (2011)
						Amastigota
	Tripomastigota	Células MDCK	ND	Contagem	24h; 48h; 7 days	Veiga-Santos et al. (2010)
	Amastigota	Células HeLa	ND	Contagem	96h	León-Deniz et al. (2009)
	Tripomastigota	Células VERO	Nifurtimox	Colorimetria	24h	Nara et al. (2005)
	Tripomastigota	Células musculares esqueléticas de ratos	Benznidazol	Colorimetria	96h	Veas et al. (2020)
						Broniatowska et al. (2011)
						Simmons et al. (2008)
Tripomastigota	ND	Nifurtimox	Colorimetria	ND	Reboreda-Hernandez et al. (2020)	
Tripomastigota	ND	ND	Contagem	Cada 2h, durante 6 h		
<i>in vivo</i>	Amastigota	N/A	N/A	N/A	ND	

ND = não determinado; N/A = não aplicável.

5.7 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS

Os critérios de qualidade descritos na seção 4.5 foram usados para avaliar o risco de viés dos estudos e sua qualidade. Quatro dos seis critérios foram respondidos positivamente pela maioria dos estudos, exceto por dois critérios (2 e 5) que obtiveram apenas 20,0% de respostas “sim” (Tabela 3). Apenas um estudo (SIMMONS *et al.*, 2008) se adequou totalmente a todos os critérios e outro teve baixo risco de viés por responder positivamente a cinco critérios (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a), ou seja, apenas dois artigos tiveram baixo risco de viés (13,3%). A maioria dos estudos (n = 10; 66,6%) tiveram um risco de viés moderado, enquanto três (20,0%) tiveram um alto risco de viés (NARA *et al.*, 2005; VONTHRON-SÉNÉCHEAU *et al.*, 2011) (Tabela 4). Visto que a qualidade e risco de viés dos estudos foram baseados em critérios de qualidade específicos delineados para esta revisão, os estudos classificados como tendo risco de viés alto ou moderado, podem ter outros objetivos não considerados para este trabalho.

Tabela 3 – Percentual de respostas “sim” para os vários critérios de qualidade.

Critério de qualidade	Percentual de respostas “sim”
O artigo descreve o processo de obtenção dos compostos bioativos?	100.0
O artigo relata os princípios ativos envolvidos na atividade anti- <i>T. cruzi</i> ?	20.0
A concentração necessária para inibir os parasitos em 50% foi determinada no estudo?	73.3
Foram realizados testes suplementares para validar a atividade tripanocida realizada no estudo?	80.0
Foram realizados testes para identificar possíveis mecanismos de ação dos compostos?	20.0
Foram realizados testes de citotoxicidade para determinar o índice de seletividade dos compostos?	73.3

Tabela 4 – Avaliação dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Referência	O artigo descreve o processo de obtenção dos compostos bioativos?	O artigo relata os princípios ativos envolvidos na atividade anti- <i>T. cruzi</i> ?	A concentração necessária para inibir os parasitos em 50% foi determinada no estudo?	Foram realizados testes suplementares para validar a atividade tripanocida realizada no estudo?	Foram realizados testes para identificar possíveis mecanismos de ação dos compostos?	Foram realizados testes de citotoxicidade para determinar o índice de seletividade dos compostos?	Percentual de respostas “sim” para cada critério de qualidade de cada estudo.
TEIXEIRA et al., (2019)	S	N	S	S	N	S	66.6%
SÜZGEÇ-SELÇUK et al., (2011)	S	S	S	N	N	S	66.6%
NARA et al., (2005)	S	N	S	S	N	N	50.0%
SIMMONS et al., (2008)	S	N	S	S	N	S	66.6%
ORHAN et al., (2006)	S	N	S	S	N	S	66.6%
DE FELÍCIO et al., (2010)	S	N	S	S	N	S	66.6%
SPAVIERI et al., (2010)a	S	N	N	S	N	P/C	33.3%
SPAVIERI et al., (2010)b	S	N	S	S	N	S	66.6%
VEAS et al., (2020)	S	S	S	S	N	S	83.3%
ALMMENDINGER et al., (2010)	S	N	N	N	N	S	33.3%
LEÓN-DENIZ et a., (2009)	S	N	N	N	S	N	33.3%
VEIGA-SANTOS et al., (2010)	S	N	S	S	N	S	66.6%
VONTHRON-SÉNÉCHEAU et al., (2011)	S	N	S	S	N	S	66.6%
REBOREDA-HERNANDEZ et al., (2020)	S	S	S	S	S	S	100.0%
BRONIATOWSKA et al., (2011)	S	N	N/A	S	S	N/A	50.0%

S = sim; N = não; P/C = pouco claro; N/A = não aplicável

6 DISCUSSÃO

O principal papel das drogas para tratamento da DC são eliminar o parasito ou reduzir o desenvolvimento de complicações associadas à doença. Contudo, BZN e NFX, drogas sintéticas atualmente disponíveis para o tratamento de pacientes com DC, possuem perfis de toxicidade conhecidos e índices de cura parasitológicas reduzidos no tratamento de infecções crônicas (BERMUDEZ *et al.*, 2016; PEREZ-MOLINA *et al.*, 2009). Apesar do BZN e NFX serem conhecidos por serem compostos nitroheterocíclicos que são ativados por nitrorredutase mitocondrial tipo 1 dependente de flavina do *T. cruzi* (TcNTR-1) e produzem metabólitos reativos que poderiam causar danos do DNA do parasito, porém os mecanismos de ação exatos de ambas as drogas ainda não são bem compreendidos. Adicionalmente, o mecanismo de resistência ao BZN e NFX tem sido ligado ao acúmulo de mutações em todo o genoma do parasito. Por exemplo, para mutações geradoras de códons em TcNTR-1 ou parasitos sem uma cópia inteira do cromossomo contendo o gene pode resultar em um mecanismo de perda de função, em que a falta de TcNTR-1 para ativar BZN ou a incapacidade da droga de se ligar com a proteína levaria à resistência aos medicamentos (WILKINSON *et al.*, 2008). Adicionalmente, foi observado que o tratamento a longo prazo com BZN poderia gerar alta atividade mutagênica e causa alterações fenotípicas que são associadas a resistência cruzada a outras drogas nitro-heterocíclicas (multirresistência) (CAMPOS, M. C. *et al.*, 2017).

Portanto, compostos naturais obtidos de organismos como algas têm sido explorados por seus efeitos anti-*T. cruzi*. Apesar de alguns estudos terem relatados alta atividade tripanocida dos compostos de algas, seus dados ainda não foram sistematicamente analisados para esclarecer seu impacto nos parasitos e células controle. Portanto, tais investigação são altamente fundamentais. Em resumo, a maioria dos estudos incluídos nesta revisão sistemática utilizaram extratos orgânicos e etanólicos de compostos bioativos de *Dictyota dichotoma* e *Ulva lactuca* através de métodos de homogeneização e avaliaram suas atividades *in vitro* frente a tripomastigotas de *T. cruzi*.

Dictyota dichotoma e *Ulva lactuca* foram as mais estudadas entre as espécies de macroalgas. Essas algas são conhecidas por produzir vários compostos com atividades antitumoral, anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante, como relatado em vários estudos *in vitro* e *in vivo* (ABD-ELRAHMAN *et al.*, 2017; BAKAR *et al.*, 2019; EL-SHAIBANY *et al.*, 2020; YOON *et al.*, 2009). Contudo, a macroalga *Styopodium zonale* obteve a maior atividade anti-*T. cruzi* (baseada nos valores de IS) provavelmente devido a

seus compostos meroterpenóides, os quais podem ativar os macrófagos levando à eliminação das formas amastigotas. Esse mecanismo de ação devem ser os mesmos que agem em formas infectantes de *Leishmania* (SOARES *et al.*, 2016).

Cianobactérias foram estudadas apenas no artigo de Broniatowska *et al.*, (2011), no qual *Nostoc commune* mostrou o menor valor de IC₅₀ (12,3 µg/mL) contra *T. cruzi* entre todas as algas revisadas e valor de IS de 3,29. Essa espécie é também conhecida por ter efeitos antibacterianos relacionados a polissacarídeos presentes na sua biomassa (QUAN *et al.*, 2015), os quais também podem ter atividade tripanocida. Além disso, esses polissacarídeos também estão associados a efeitos anti-inflamatórios e benefícios para a mucosa intestinal (XU *et al.*, 2021), os quais também podem estar relacionados a mecanismos de proteção das células de mamíferos.

Da mesma forma, o estudo de Veas *et al.*, (2020) foi o único a relatar que *Tetraselmis suecica* mostrou o menor valor de IC₅₀ (60,9 µg/mL) e o maior IS (11,16) comparada às outras espécies de microalgas avaliadas em seu estudo. Essa espécie tem mostrado inibir o crescimento de várias bactérias através da secreção de peptídeos antimicrobianos e sua atividade antioxidante (AUSTIN; BAUDET; STOBIE, 1992; AUSTIN; DAY, 1990; GUZMÁN *et al.*, 2019; LEE, S.-H. *et al.*, 2009). É possível que esses peptídeos poderiam também ser responsáveis por sua atividade anti-*T. cruzi*. Essas descobertas indicam que importantes compostos bioativos com atividade tripanocida podem ser encontrados na biomassa de *Tetraselmis suecica*, especialmente em extratos etanólicos e metanólicos. Esses compostos também oferecem proteção para células humanas.

Vários métodos para obtenção de extratos a partir da biomassa de algas foram investigados nos artigos revisados, com homogeneização e maceração sendo os mais relatados. Apesar de maceração e homogeneização por agitação serem comumente usados por serem processos mais, eles possuem uma baixa capacidade de rompimento celular, levando a redução na quantidade de compostos liberados pelas células (MOHAMMAD AZMIN *et al.*, 2016; RASUL, 2018). Por outro lado, o processo de percolação consome menos tempo, mas a necessidade de uma grande quantidade de solventes torna esse método mais caro (RASUL, 2018). Sonicação é outra ferramenta eficiente e exige menor tempo para extração dos compostos (MOHAMMAD AZMIN *et al.*, 2016); contudo, a aplicação de parâmetros impróprios no processo de sonicação pode resultar em danos irreversíveis para os compostos bioativos, o que pode ser a razão porque a maioria dos autores escolhe homogeneização por blender para esse processo. Parâmetros como temperatura, tempo de extração e velocidade de

agitação influenciam na quantidade e atividade dos biocompostos extraídos (AZWANIDA, 2015). Uma escolha imprópria dos métodos de extração e seus respectivos parâmetros podem danificar os compostos bioativos ou resultar na extração de compostos indesejados, os quais poderiam influenciar a atividade contra *T. cruzi*, além de possivelmente aumentar a citotoxicidade do extrato.

Atualmente, o método mais frequentemente utilizado para a análise quantitativa de novos compostos para o tratamento da DC é colorimetria, com o ensaio baseado em 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) sendo o mais conhecido. Esse teste envolve a redução de MTT a formazan por enzimas mitocondriais de células em atividade metabólica. Portanto, células saudáveis exibem altas taxas de formação de formazan, enquanto células mortas ou inativas não (BAHUGUNA *et al.*, 2017). Testes colorimétricos são rápidos e precisos para determinação de atividade anti-*T. cruzi*, ao contrário do método de contagem, o qual exige maior trabalho e tempo por parte do pesquisador, além de ser dependente do observador (MUELAS-SERRANO; NOGAL-RUIZ; GÓMEZ-BARRIO, 2000). Consequentemente, métodos colorimétricos foram usados mais frequentemente nos testes *in vitro* dos estudos.

Em geral, os extratos mostraram baixa toxicidade contra células musculares esqueléticas de rato e células Vero e não mostraram nenhuma toxicidade contra células HeLa. A citotoxicidade desses extratos deve ser associada com várias atividades ligadas a saúde humana. Por exemplo, Sansone *et al.*, (2017) relatou que o extrato etanólico da microalga *Tetraselmis suecica* possuem uma alta capacidade antioxidante e poderia induzir a mecanismos de reparo nas células humanas, proporcionando uma função protetiva. Além disso, *Chlamydomonas reinhardtii* e várias outras espécies de macroalgas mostraram atividade de eliminação de radicais livres e efeitos anti-inflamatórios, equilibrando a produção celular de espécies reativas de oxigênio e a geração de marcadores inflamatórios, como fator de necrose tumoral alfa, interleucina-6 e óxido nítrico. A superexpressão desses marcadores poderiam levar a efeitos citotóxicos e, consequentemente, danos celulares a células de mamíferos. (JAYSHREE; JAYASHREE; THANGARAJU, 2016; SAKTHIVEL; DEVI, 2019). Apesar dessas atividades terem provavelmente contribuído para a segurança de células mamárias, elas poderiam também influenciar a eliminação de parasitos visto que a resposta imune do hospedeiro contribui para a eficácia da droga antiparasitária (CARDILLO *et al.*, 2015).

Em geral, estudos que identificaram os princípios ativos dos extratos obtiveram maiores atividades e valores de IS contra *T. cruzi*, indicando que eles são os mais promissores para o desenvolvimento de futuras drogas. Os maiores valores de IC₅₀ e CC₅₀ foram obtidos pelo ácido atomárico de *Styopodium zonale* e elatol de *Laurencia dendroidea*. O elatol (CC₅₀ = 27.0 µM) foi mais citotóxico e mostrou maior atividade contra tripomastigotas (IC₅₀ = 1.38 µM) e amastigotas (IC₅₀ = 1.01 µM) do que o ácido atomárico (CC₅₀ = 90.8 µM; IC₅₀ = 5.4 µM contra amastigotas). O elatol é provavelmente o composto de algas mais promissor contra anti-*T. cruzi* devido a sua alta seletividade contra tripomastigotas (IS = 19,56) e amastigotas (IS = 26,73) comparado com o ácido atomárico (IS = 16,76). Adicionalmente, o elatol é mais efetivo do que o BZN, o qual tem valores de IC₅₀ de 12.8 µM e 24.3 µM contra tripomastigotas e amastigotas, respectivamente (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010). Sabe-se que biocompostos com um valor de IS maior ou igual a 10 são considerados como terapêuticos potenciais (PEÑA-MORÁN *et al.*, 2016). Portanto, a aquisição de informações posteriores sobre a relação entre a atividade antiparasitária do elatol e sua toxicidade é importante para avaliar sua efetividade, seletividade e segurança.

Em contraste, o uso de 5-chloro-1-(E)-chlorovinyl-2,4-dibromo-1,5-dimethylcyclohexane obtido de *Plocamium brasiliense* poderia ser considerado menos viável devido à sua menor seletividade, visto que os valores de IC₅₀ (7.1 µg/mL contra amastigotas) e CC₅₀ (21.0 µg/mL) são significativamente próximos (IS = 2,95). Finalmente, não foram determinados valores de CC₅₀ para as viridamidas A e B obtidas de *Oscillatoria nigro-viridis*. É importante que esses valores sejam estabelecidos antes de avaliações pré-clínicas envolvendo esses compostos sejam iniciadas.

O estudo de Reboreda-Hernandez, *et al.*, (2020) foi o único a realizar testes *in vivo* e utilizou ratos infectados com *T. cruzi* para avaliar a atividade antiparasitária de *Arthrospira maxima*. Como um tratamento e profilaxia, a biomassa de *Arthrospira máxima* na dose de 142,8 mg/kg poderia atenuar significativamente os níveis de parasitemia bem como poderia reduzir a taxa de mortalidade. Quando usado como tratamento, o composto foi altamente efetivo contra amastigotas, mas resultou em maior processo inflamatório. Em contraste, quando usado como profilaxia, a inflamação foi reduzida, mas a quantidade de amastigotas foi maior. Esses efeitos devem ser associados com a ligação entre os polissacarídeos e os efeitos imunomodulatórios da biomassa de *Arthrospira máxima*. Balachandran *et al.*, (2006) demonstrou que polissacarídeos derivados de *Arthrospira platensis* podem ativar monócitos que agem como fagócitos para ingestão e remoção de células microbianas estranhas e de

células mortas ou danificadas (ESPINOZA; EMMADY, 2021), o que poderia explicar os efeitos anti-*T. cruzi* de *Arthrospira*.

A maioria dos estudos anti-*T. cruzi* usaram tripomastigotas, os quais são a forma circulante no corpo humano e que podem invadir células e tecidos adjacentes, como células musculares e ganglionares para serem transformados em amastigotas. É importante destacar que visto que os amastigotas são a forma reprodutiva no hospedeiro humano e, por se alojarem nos tecidos, é iniciada uma série de respostas inflamatórias que podem lesionar os tecidos, por isso, sua resposta a drogas tem mais importância do que a dos tripomastigotas (APT, 2017). Dado que apenas quatro estudos nesta revisão avaliaram os efeitos de compostos de algas em amastigotas, novas pesquisas são necessárias para comparar os efeitos dos compostos naturais com as drogas convencionais contra essa forma particular de *T. cruzi*. A revisão sistemática de Nweze *et al.*, (2021) incluiu quatro estudos que relataram altas ou moderadas atividades de alcalóides e terpenóides de microalgas contra epimastigotas, em particular. Adicionalmente, Díaz-Marrero *et al.*, (2019), Veiga-Santos *et al.*, (2010) e Nara *et al.*, (2005) mostraram atividades moderadas ou baixas de saiyacenois A, elatol e extratos etanólicos de macroalgas contra epimastigotas de *T. cruzi*. Esses resultados não foram analisados sistematicamente nesta revisão porque eles não são relevantes para o desenvolvimento de drogas anti-*T. cruzi*, dado que as formas epimastigotas de *T. cruzi* são encontradas apenas nos insetos vetores. Adicionalmente, compostos obtidos de algas têm também exibido atividade antiparasitária contra *Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum* (o agente causador da malária) (GALLE *et al.*, 2012), *Trichomonas vaginalis* e algumas espécies de *Leishmania* (as quais pertencem a mesma família taxonômica de *T. cruzi*) (CLEMENTINO *et al.*, 2020; KHALAF, 2020). A alga *Ascoseira mirabilis* mostrou atividade significativa contra *Leishmania* sp. (valor de IC₅₀ de 40,0 µg/mL; IS de 3) (CLEMENTINO *et al.*, 2020).

A maioria dos estudos da revisão usaram o BZN como controle, visto que essa droga é vista pelos especialistas como sendo o melhor tratamento para DC até o momento. Contudo, devido a elevada toxicidade do BZN e por sofrer mecanismos de resistência por parte dos parasitos, novas drogas são necessárias. Em geral, apesar dos compostos avaliados mostrarem boas atividades tripanocidas, seus valores de IC₅₀ foram ainda baixos comparados com as drogas padrão, exceto pelos compostos relatados por Veiga-Santos *et al.*, (2010) e Simmons *et al.*, (2008). Tanto a viridamida A (IC₅₀ = 1,1 µM) obtida da cianobactéria *Oscillatoria nigro-viridis* e o elatol (IC₅₀ = 7.8 µM) obtido de *Laurencia dendroidea* foram efetivos contra

T. cruzi em concentrações menores do que as do NFX (10 μM) e BZN (12,8 μM) (SIMMONS *et al.*, 2008; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a). Portanto, esses compostos precisam de estudos futuros devido às suas vantagens potenciais sobre as drogas sintéticas convencionais, especialmente elatol, o qual mostrou um IS significante de 19,56.

Solventes orgânicos foram usados na maioria dos estudos para a extração de compostos não-polares, como terpenoides, fenóis, esteróis e pigmentos. Todas essas moléculas têm sido estudadas como compostos antiparasitários, especialmente os terpenoides e esteróis, que tiveram suas propriedades tripanocidas já descritas na literatura (DE MACEDO-SILVA; SOUZA; RODRIGUES, 2015; DE MORAES *et al.*, 2014). De Felício *et al.*, (2010) mostrou que uma fração *n*-hexano da macroalga *Bostrychia tenella* contém substâncias ativas (por exemplo: ácido benzeneacético, aldeídos aromáticos e fitol) contra *T. cruzi*, com um baixo valor de IC_{50} (18.8 $\mu\text{g/mL}$). Especificamente, o fitol tem sido descrito como agente terapêutico contra *Trypanosoma congolense* e seus efeitos inibitórios na enzima parasitária tripanosomal sialidase tem sido investigado (SAAD *et al.*, 2020). Esta enzima catalisa a transferência de moléculas de ácido sialico dos glicoconjugados do hospedeiro para moléculas receptoras na superfície do parasito, levando a atenuação da resposta imune do hospedeiro, o que beneficia a sobrevivência do parasito (NARDY *et al.*, 2016). Apesar desses efeitos serem estudados em *Trypanosoma congolense*, especula-se que eles se aplicam também a *T. cruzi*.

Em três estudos, diferentes classes do princípio ativo com efeitos promissores contra tripomastigotas e amastigotas foram identificados; esses incluem o monoterpeneo 5-chloro-1-(E)-chlorovinyl-2,4-dibromo-1,5-dimethylcyclohexane (**1**) de *Plocamium brasiliense*, o meroditerpeneo ácido atomárico (**2**) de *Styopodium zonale* (TEIXEIRA *et al.*, 2019), o peptídeo linear viridamida (**3**) de *Oscillatoria nigro-viridis* (SIMMONS *et al.*, 2008) e o sesquiterpeneo elatol (**4**) de *Laurencia dendroidea* (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a). O composto **4** mostrou maior atividade contra amastigotas e tripomastigotas e agiu causando danos no corpo celular, provocando a formação de vesículas dentro das organelas, especialmente na mitocôndria. Em contraste, o composto **3** mostrou maior IC_{50} contra tripomastigotas ($1.1 \pm 0.1 \mu\text{M}$) do que o **4** ($1.38 \pm 0.15 \mu\text{M}$). Adicionalmente, entre os compostos **1** e **2**, este último mostrou maior valor de IC_{50} contra amastigotas ($\text{IC}_{50} = 2.4 \mu\text{g/mL}$), o qual age modulando a produção de óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio em macrófagos infectados ou não-infectados dos hospedeiros para matar os parasitos intracelulares (SOARES *et al.*, 2016; TEIXEIRA *et al.*, 2019). Além disso, Smyrniotopoulos

et al., (2017) isolaram e identificaram o bifurcatriol como o princípio ativo responsável pela atividade tripanocida da macroalga *Bifurcaria bifurcata* ($IC_{50} = 47.8 \mu\text{g/mL}$). Contudo, esse estudo não foi incluído nesta revisão sistemática porque a forma evolutiva de *T. cruzi* usada no estudo não foi informada.

A maioria dos medicamentos obtidos de fontes naturais são conhecidos por serem usados na medicina tradicional e são os principais alvos da indústria farmacêutica para o desenvolvimento de terapêuticos contra doenças infecciosas e câncer (ATANASOV *et al.*, 2015). Adicionalmente, alguns biocompostos possuem vantagens sobre produtos sintéticos, visto que eles são caracterizados por sua enorme diversidade e complexidade estrutural e a maioria deles podem ser usados oralmente (ATANASOV *et al.*, 2021). Por exemplo, os polissacarídeos fucoidano e laminarina têm sido usados com sucesso como drogas orais para prevenir a adesão do biofilme de *Helicobacter pylori* a mucosa gástrica (SHANNON; ABU-GHANNAM, 2016).

Apesar do grande progresso, ainda existem lacunas no conhecimento sobre compostos naturais que precisam ser preenchidas antes que possam ser, de fato, utilizadas como drogas alternativas obtidas de algas para uso em pacientes com DC e outras doenças parasitárias. Alguns estudos relacionados a extração, purificação e caracterização de compostos com atividade antiparasitária e seus testes *in vitro* ainda estão em progresso, enquanto outros já foram concluídos (TEIXEIRA *et al.*, 2019; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2010a). Naturalmente, estudos clínicos e pré-clínicos de alvos terapêuticos obtidos de fontes naturais requerem mais tempo para serem executados, visto que esses compostos precisam apresentar um alto grau de pureza, efetividade e segurança e baixa toxicidade dependendo da intenção de seu uso. O único estudo que conduziu tanto experimentos *in vitro* como *in vivo* com a cianobactéria *Arthrospira maxima* foi realizado por Reboreda-Hernandez, *et al.*, (2020). Nesse estudo, a cianobactéria foi obtida comercialmente e um extrato aquoso foi obtido utilizando um método de ultrassom simples. Os testes *in vitro* mostraram que o extrato proporcionou fagocitose, intensificou a produção de espécies reativas de oxigênio e diminuiu a habilidade replicativa da forma intracelular de *T. cruzi* e, conseqüentemente, a parasitose. Os experimentos *in vivo* revelaram que *Arthrospira máxima* em baixas doses possui atividade anti-inflamatória, promovendo uma possível prolongação da resposta imune e, conseqüentemente, exacerbando o dano tecidual.

Em geral, esta revisão mostrou que vários compostos de algas possuem atividade tripanocida significativa. Contudo, a realização do uso de compostos de algas frente a *T. cruzi*

ainda requer maiores evidências para verificar sua efetividade e segurança, visto que apenas uma avaliação pré-clínica e, até o momento, nenhum estudo clínico foi identificado. Portanto, apesar da atividade tripanocida promissora de alguns compostos de algas, várias etapas e desafios devem ser avaliados em estudos futuros antes deles serem usados como novos tratamentos para DC.

6.1 LIMITAÇÕES E IMPLICAÇÕES PARA FUTURAS PESQUISAS

Apesar desta revisão ter identificado alguns biocompostos tripanocidas promissores, as descobertas foram limitadas pela falta de tipos de estudos particulares. Futuros estudos *in vitro* devem realizar avaliações de citotoxicidade em células humanas normais para permitir novos estudos usando abordagem *in vivo*, o que foi realizado em apenas um estudo que utilizou ratos. Adicionalmente, não foi encontrado nenhum estudo *in silico*, o que limita a exploração de resultados *in vitro* e *in vivo* para futuros estudos clínicos. Além disso, 80,0% dos estudos relatou a atividade tripanocida apenas contra tripomastigotas e 13,3% contra apenas amastigotas, mas o uso das duas formas evolutivas, avaliado apenas por 20,0% dos estudos, é importante para obter melhor compreensão sobre os efeitos tripanocidas, o que é essencial para o desenvolvimento de novas drogas antichagásicas. Os modos de ação da maioria dos compostos avaliados não foram bem compreendidos e precisam de novos estudos para esclarecer seus resultados. Adicionalmente, apenas 15 estudos que usaram algas como tratamento alternativo foram encontradas, o que deve ter limitado o entendimento dos resultados. Apesar dessas limitações, esta revisão sistemática contribui como uma fonte valiosa para futuras pesquisas associadas ao desenvolvimento de novos compostos naturais com ação contra *Trypanosoma* e outros parasitos.

7 CONCLUSÃO

DC é causada por formas tripomastigota e amastigota de *T. cruzi*, o que pode levar a vários sintomas e complicações na ausência de tratamento efetivo. Por meio desta revisão sistemática, foi possível identificar vários compostos bioativos de algas que podem agir contra ambas as formas evolutivas de *T. cruzi* com valores de IS promissores, o que foi determinado através de testes *in vitro* e *in vivo* utilizando principalmente tripomastigotas. Até agora, não existem muitos estudos publicados sobre os efeitos de compostos de algas frente a amastigotas. Essa revisão mostrou que a atividade tripanocida de extratos de algas são associados com compostos bioativos presentes principalmente em extratos orgânicos ou etanólicos obtidos principalmente por métodos de homogeneização e a atividade quantificada através de testes colorimétricos. Algas com as mais promissoras atividades tripanocidas

pertencem principalmente aos filos Rhodophyta e Ochrophyta. Apenas um desses estudos realizou testes *in vivo* e mostrou que os extratos de algas diminuíram os níveis de parasitemia e reduziram as taxas de mortalidade de ratos. Os mecanismos de ação desses compostos precisam ser esclarecidos por futuros estudos para que esses compostos possam avançar para testes clínicos e pré-clínicos.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELRAHMAN, Gamal Eldein *et al.* *Ulva lactuca* polysaccharides prevent Wistar rat breast carcinogenesis through the augmentation of apoptosis, enhancement of antioxidant defense system, and suppression of inflammation. **Breast Cancer: Targets and Therapy**, [s. l.], v. Volume 9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/BCTT.S125165>
- ALBAJAR-VIÑAS, P; JANNIN, J. The hidden Chagas disease burden in Europe separator commenting unavailable . **Eurosurveillance**, [s. l.], 2011.
- ALLMENDINGER, Andrea *et al.* Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of twenty-three British and Irish red algae. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 7, 2010a. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3094>
- ALLMENDINGER, Andrea *et al.* Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of twenty-three British and Irish red algae. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 1099–1103, 2010b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3094>
- ALVES, Mayara Freire de Alencar *et al.* Antihyperglycemic and antioxidant activities of a lectin from the marine red algae, *Bryothamnion seaforthii*, in rats with streptozotocin-induced diabetes. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 158, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.238>
- APT, W. Treatment of Chagas disease. *In*: AMERICAN TRYPANOSOMIASIS CHAGAS DISEASE. [S. l.]: Elsevier, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801029-7.00032-0>
- ATANASOV, Atanas G. *et al.* Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 33, n. 8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>
- ATANASOV, Atanas G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 20, n. 3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>
- AUSTIN, B.; BAUDET, E.; STOBIE, M. Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis suecica*. **Journal of Fish Diseases**, [s. l.], v. 15, n. 1, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1992.tb00636.x>
- AUSTIN, B.; DAY, J.G. Inhibition of prawn pathogenic *Vibrio* spp. by a commercial spray-dried preparation of *Tetraselmis suecica*. **Aquaculture**, [s. l.], v. 90, n. 3–4, 1990. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90261-K](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90261-K)
- AYAL, Raisan; WAHAB, Abdul. Effect of Methanolic Extract of Green Algal *Enteromorpha Intestinalis* on the Bioactivity of *Giardia lamblia* Parasite. **Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 1847–1852, 2021.

AZWANIDA, N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. **Medicinal & Aromatic Plants**, [s. l.], v. 04, n. 03, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>

BAHUGUNA, Ashutosh *et al.* MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 12, n. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i2.30892>

BAKAR, Kamariah *et al.* Sterols compositions, antibacterial, and antifouling properties from two Malaysian seaweeds: *Dictyota dichotoma* and *Sargassum granuliferum*. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, [s. l.], v. 9, n. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.91006>

BALACHANDRAN, Premalatha *et al.* Toll-like receptor 2-dependent activation of monocytes by *Spirulina* polysaccharide and its immune enhancing action in mice. **International Immunopharmacology**, [s. l.], v. 6, n. 12, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.08.001>

BARSANTI, Laura; GUALTIERI, Paolo. **Algae anatomy, biochemistry, and biotechnology**. [S. l.: s. n.], 2010.

BERMUDEZ, José *et al.* Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 156, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.12.017>

BERN, Caryn. Chagas' Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 373, n. 5, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1410150>

BEZERRA, Raquel Pedrosa *et al.* Fed-Batch Cultivation of *Arthrospira platensis* Using Carbon Dioxide from Alcoholic Fermentation and Urea as Carbon and Nitrogen Sources. **BioEnergy Research**, [s. l.], v. 6, p. 1118–1125, 2013.

BRONIATOWSKA, Barbara *et al.* Antiprotozoal, antitubercular and cytotoxic potential of cyanobacterial (blue-green algal) extracts from Ireland. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 689–694, 2011a.

BRONIATOWSKA, Barbara *et al.* Antiprotozoal, Antitubercular and Cytotoxic Potential of Cyanobacterial (Blue-Green Algal) Extracts from Ireland . **Natural Product Communications** , [s. l.], v. 6, n. 5, p. 689–694, 2011b.

CAMPOS, Mônica C. *et al.* Genome-wide mutagenesis and multi-drug resistance in American trypanosomes induced by the front-line drug benznidazole. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14986-6>

CAMPOS, Mônica C.O. *et al.* Benznidazole-resistance in *Trypanosoma cruzi*: Evidence that distinct mechanisms can act in concert. **Molecular and Biochemical Parasitology**, [s. l.], v. 193, n. 1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2014.01.002>

CARDILLO, Fabíola *et al.* Immunity and immune modulation in *Trypanosoma cruzi* infection. **Pathogens and Disease**, [s. l.], 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv082>

CLEMENTINO, Leandro da Costa *et al.* The antileishmanial activity of the antarctic brown alga *Ascoseira mirabilis* Skottsberg. **Natural Product Research**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1782403>

- COURA, José Rodrigues; CASTRO, Solange L de. A Critical Review on Chagas Disease Chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 97, n. 1, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000100001>
- DE FELÍCIO, Rafael *et al.* Trypanocidal, leishmanicidal and antifungal potential from marine red alga *Bostrychia tenella* J. Agardh (Rhodomelaceae, Ceramiales). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 52, n. 5, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.02.018>
- DE MACEDO-SILVA, Sara; SOUZA, Wanderley; RODRIGUES, Julianny. Sterol Biosynthesis Pathway as an Alternative for the Anti-Protozoan Parasite Chemotherapy. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 22, n. 18, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0929867322666150319120337>
- DE MORAES, Josué *et al.* Phytol, a Diterpene Alcohol from Chlorophyll, as a Drug against Neglected Tropical Disease Schistosomiasis Mansoni. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002617>
- DE REZENDE, JM; LUQUETII, AO. Chagasic megavisceras. *In:* , 1994, Washington. (Pan American Health Organization, Org.) **Chagas' disease and the nervous system**. Washington: Scientific publication, 1994. p. 149–171.
- DEMIRBAS, Ayhan; DEMIRBAS, M. Fatih. **Algae Energy**. London: Springer London, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-84996-050-2>
- DÍAZ-MARRERO, Ana R. *et al.* Antiprotozoal activities of marine polyether triterpenoids. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 92, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103276>
- DROUET, F. Summary of the classification of blue-green algae. **Nova Hedwig**, [s. l.], v. 66, p. 133–209, 1981.
- EL-SHAIBANY, Amina *et al.* The Yemeni Brown Algae *Dictyota dichotoma* Exhibit High *In Vitro* Anticancer Activity Independent of Its Antioxidant Capability. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/2425693>
- ESPINOZA, Valerie E.; EMMADY, Prabhu D. Histology, Monocytes. **StatPearls**, [s. l.], 2021.
- FAN, Yuping *et al.* Characterisation of floc size, effective density and sedimentation under various flocculation mechanisms. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 82, n. 7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2166/wst.2020.385>
- GALLE, JB *et al.* Diterpenes from the French marine alga *Bifurcaria bifurcata* (Sargassaceae) inhibit growth of the human pathogen *P. Falciparum*. **Planta Medica**, [s. l.], v. 78, n. 11, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1320721>
- GARCIA, Simone *et al.* Treatment with Benznidazole during the Chronic Phase of Experimental Chagas' Disease Decreases Cardiac Alterations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 49, n. 4, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.49.4.1521-1528.2005>
- GASCON, Joaquim; BERN, Caryn; PINAZO, María-Jesús. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 115, n. 1–2, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.07.019>

- GEITLER, L. **Cyanophyceae**. Germany: Akademische Verlagsgesellschaft, 1932. v. 14
- GHANIA, Aissaoui *et al.* Antimicrobial and antiparasitic activities of three algae from the northwest coast of Algeria. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 33, n. 5, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1405403>
- GUZMÁN, Fanny *et al.* Identification of Antimicrobial Peptides from the Microalgae *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher and Bactericidal Activity Improvement. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 17, n. 8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md17080453>
- HOARE, CECIL A.; WALLACE, FRANKLIN G. Developmental Stages of Trypanosomatid Flagellates: a New Terminology. **Nature**, [s. l.], v. 212, p. 1385–1386, 1966.
- INSTITUTE, The Joanna Briggs. **Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2014 Edition**. Joanna Briggs Institute, [S. l.: s. n.], 2014.
- JACKSON, Yves; PINTO, Angie; PETT, Sarah. Chagas disease in Australia and New Zealand: risks and needs for public health interventions. **Tropical Medicine & International Health**, [s. l.], v. 19, n. 2, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tmi.12235>
- JAYSHREE, A; JAYASHREE, S; THANGARAJU, N. *Chlorella vulgaris* and *Chlamydomonas reinhardtii*: Effective Antioxidant, Antibacterial and Anticancer Mediators. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 78, n. 5, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000155>
- KARTIK, Ashokkumar *et al.* A critical review on production of biopolymers from algae biomass and their applications. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 329, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124868>
- KAŠTOVSKÝ, Jan *et al.* Algae. In: BIODIVERSITY OF PANTEPUI. [S. l.]: Elsevier, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815591-2.00005-7>
- KAWAGUCHI, Wilton H. *et al.* Efficacy and Safety of Chagas Disease Drug Therapy and Treatment Perspectives. In: CHAGAS DISEASE - BASIC INVESTIGATIONS AND CHALLENGES. [S. l.]: InTech, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.74845>
- KHALAF, Amal KH. In Vitro Activity of Methanol Extract of Microalgae *Hapalosiphon aureus* Against *Trichomonas vaginalis*. **The 4th Scientific Conference**, [s. l.], v. 7, n. 2, 2020.
- KHAW, M; PANOSIAN, CB. Human antiprotozoal therapy: past, present, and future. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 427–439, 1995.
- LATAS, Patricia J.; REAVILL, Drury. Trypanosoma Cruzi Infection in Sugar Gliders (*Petaurus Breviceps*) and Hedgehogs (*Atelerix Albiventris*) Via Ingestion. **Journal of Exotic Pet Medicine**, [s. l.], v. 29, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2018.10.007>
- LEE, Robert Edward. **Phycology**. [S. l.: s. n.], 2008.
- LEE, Seung-Hong *et al.* Antioxidant Activity of Solubilized *Tetraselmis suecica* and *Chlorella ellipsoidea* by Enzymatic Digests. **Preventive Nutrition and Food Science**, [s. l.], v. 14, n. 1, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3746/jfn.2009.14.1.021>
- LEÓN-DENIZ, Lorena V. *et al.* Antitrypanosomal *in vitro* activity of tropical marine algae

extracts. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 47, n. 9, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13880200902950777>

LEY, V *et al.* Amastigotes of *Trypanosoma cruzi* sustain an infective cycle in mammalian cells. **Journal of Experimental Medicine**, [s. l.], v. 168, n. 2, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1084/jem.168.2.649>

LIU, Junzhuo *et al.* Nutrient removal from horticultural wastewater by benthic filamentous algae *Klebsormidium* sp., *Stigeoclonium* spp. and their communities: From laboratory flask to outdoor Algal Turf Scrubber (ATS). **Water Research**, [s. l.], v. 92, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.01.049>

LÓPEZ-VELÁZQUEZ, Gabriel *et al.* Electron Microscopy Analysis of the Nucleolus of *Trypanosoma cruzi*. *Microscopy and Microanalysis*. **Microscopy and Microanalysis**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 293–299, 2005.

LÓPEZ-VÉLEZ, Rogelio; NORMAN, Francesca F.; BERN, Caryn. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *In: HUNTER'S TROPICAL MEDICINE AND EMERGING INFECTIOUS DISEASES*. [S. l.]: Elsevier, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-55512-8.00103-4>

MATHIMANI, Thangavel; PUGAZHENDHI, Arivalagan. Utilization of algae for biofuel, bio-products and bio-remediation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.007>

MATTEI, Denise M.; GOLDENBERG, Samuel; MOREL, Carlos. Biochemical strain characterization of *Trypanosoma cruzi* by restriction endonuclease cleavage of kinetoplast-DNA. **FEBS Letters**, [s. l.], v. 74, n. 2, 1977. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(77\)80860-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(77)80860-0)

MESQUITA, Jacilane Ximenes *et al.* Lectin from red algae *Amansia multifida* Lamouroux: Extraction, characterization and anti-inflammatory activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 170, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.203>

MISHRA, Swati. Cyanobacterial imprints in diversity and phylogeny. *In: ADVANCES IN CYANOBACTERIAL BIOLOGY*. [S. l.]: Elsevier, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819311-2.00001-2>

MOHAMMAD AZMIN, Siti Nuurul Huda *et al.* Herbal Processing and Extraction Technologies. **Separation & Purification Reviews**, [s. l.], v. 45, n. 4, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15422119.2016.1145395>

MOHER, David *et al.* Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. **PLoS Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 7, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>

MOLINA, I. *et al.* Toxic Profile of Benzimidazole in Patients with Chronic Chagas Disease: Risk Factors and Comparison of the Product from Two Different Manufacturers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 59, n. 10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.04660-14>

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL-RUIZ, J. J.; GÓMEZ-BARRIO, A. Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes.

Parasitology Research, [s. l.], v. 86, n. 12, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/PL00008532>

NARA, Takeshi *et al.* Inhibitory action of marine algae extracts on the Trypanosoma cruzi dihydroorotate dehydrogenase activity and on the protozoan growth in mammalian cells.

Parasitology International, [s. l.], v. 54, n. 1, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2004.11.001>

NARDY, Ana F. F. R. *et al.* Role of Trypanosoma cruzi Trans-sialidase on the Escape from Host Immune Surveillance. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00348>

NOGUEIRA, N; COURA, J. R. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Tropical and Geographical Medicine**, [s. l.], n. 2, 1990.

NOIREAU, François; DIOSQUE, Patricio; JANSEN, Ana Maria. Trypanosoma cruzi : adaptation to its vectors and its hosts. **Veterinary Research**, [s. l.], v. 40, n. 2, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/vetres/2009009>

NWEZE, Justus Amuche *et al.* Potentials of marine natural products against malaria, leishmaniasis, and trypanosomiasis parasites: a review of recent articles. **Infectious Diseases of Poverty**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40249-021-00796-6>

ORHAN, I. *et al.* Turkish freshwater and marine macrophyte extracts show in vitro antiprotozoal activity and inhibit FabI, a key enzyme of Plasmodium falciparum fatty acid biosynthesis. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 388–393, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2005.10.010>

PARTHASARATHY, Ramalingam *et al.* Molecular profiling of marine endophytic fungi from green algae: Assessment of antibacterial and anticancer activities. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 96, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.05.012>

PEINADO, F.M. *et al.* Influence of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides on the inflammatory milieu. A systematic review of in vitro, in vivo and epidemiological studies. **Environmental Research**, [s. l.], v. 186, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109561>

PEÑA-MORÁN, Omar *et al.* Cytotoxicity, Post-Treatment Recovery, and Selectivity Analysis of Naturally Occurring Podophyllotoxins from Bursera fagaroides var. fagaroides on Breast Cancer Cell Lines. **Molecules**, [s. l.], v. 21, n. 8, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21081013>

PEREZ-MOLINA, J. A. *et al.* Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 64, n. 6, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkp357>

PÉREZ-MOLINA, José A; MOLINA, Israel. Chagas disease. **The Lancet**, [s. l.], v. 391, n. 10115, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31612-4)

POONIA, Anil K. *et al.* Algae: The high potential resource for biofuel production. *In: AN INTEGRATION OF PHYCOREMEDIATION PROCESSES IN WASTEWATER TREATMENT.* [S. l.]: Elsevier, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12->

823499-0.00019-5

POWERS, Jonathan L *et al.* Activity of Green Algae Extracts against *Toxoplasma gondii*. **Medicinal & Aromatic Plants**, [s. l.], v. 06, n. 03, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000293>

QUAN, Yue *et al.* Optimization for the extraction of polysaccharides from *Nostoc commune* and its antioxidant and antibacterial activities. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, [s. l.], v. 52, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.02.004>

RASSI, A. *et al.* Clinical phases and forms of Chagas disease. *In*: AMERICAN TRYPANOSOMIASIS CHAGAS DISEASE. [S. l.]: Elsevier, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801029-7.00029-0>

RASSI, A. Fase aguda da doença de Chagas. *In*: TRYPANOSOMA CRUZI E DOENÇA DE CHAGAS. 2a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 241–245.

RASSI, A Jr; RASSI, A; MARIN-NETO, JA. Chagas disease. **The Lancet**, [s. l.], v. 375, p. 1388–1402, 2010.

RASUL, Mohammed Golam. Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. **International Journal of Basic Sciences and Applied Computing**, [s. l.], v. 2, n. 6, 2018.

REBOREDA-HERNANDEZ, Oscar *et al.* *Arthrospira maxima* Paradoxical Effect on *Trypanosoma cruzi*-Infection. **Iranian Journal of Parasitology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 223–232, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.18502/ijpa.v15i2.3304>

REBOREDA-HERNANDEZ, Oscar A *et al.* *Arthrospira maxima* Paradoxical Effect on *Trypanosoma cruzi* Infection. **Iranian Journal of Parasitology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 223–232, 2020.

REY, L. **Parasitologia**. 4a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SAAD, Saad Bello *et al.* The therapeutic potential of phytol towards *Trypanosoma congolense* infection and the inhibitory effects against trypanosomal sialidase. **Experimental Parasitology**, [s. l.], v. 216, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107943>

SAHOO, Dinabandhu; SECKBACH, Joseph. **The Algae World**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. v. 26 Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7321-8>

SAKTHIVEL, Ravi; DEVI, Kasi Pandima. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer potential of natural bioactive compounds from seaweeds. *In*: [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817901-7.00005-8>

SANSONE, Clementina *et al.* The green microalga *Tetraselmis suecica* reduces oxidative stress and induces repairing mechanisms in human cells. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep41215>

SATHASIVAM, Ramaraj *et al.* Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 26, n. 4, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE. **SES promove curso sobre Doença de Chagas.**

[S. l.], 2019.

SGAMBATTI DE ANDRADE, Ana Lucia S *et al.* Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early Trypanosoma cruzi infection. **The Lancet**, [s. l.], v. 348, n. 9039, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)04128-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)04128-1)

SHANNON, Emer; ABU-GHANNAM, Nissreen. Antibacterial Derivatives of Marine Algae: An Overview of Pharmacological Mechanisms and Applications. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 14, n. 4, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md14040081>

SILVA, Caroline Souza Pamplona da. **Caracterização molecular de cianobactérias brasileiras e distribuição de genes de produtos naturais**. 2006. - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SILVA, Maria Rafaela Oliveira Bezerra da *et al.* Assessment of the potential of Dunaliella microalgae for different biotechnological applications: A systematic review. **Algal Research**, [s. l.], v. 58, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102396>

SIMMONS, T. Luke *et al.* Viridamides A and B, Lipodepsipeptides with Antiprotozoal Activity from the Marine Cyanobacterium *Oscillatoria nigro-viridis*. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 71, n. 9, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np800110e>

SINGH, Shailendra Kumar *et al.* Biotechnological exploitation of cyanobacteria and microalgae for bioactive compounds. *In: BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS*. [S. l.]: Elsevier, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64323-0.00008-4>

SITHTER, Viji *et al.* Cyanobacteria as a biofuel source: advances and applications. *In: ADVANCES IN CYANOBACTERIAL BIOLOGY*. [S. l.]: Elsevier, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819311-2.00018-8>

SMYRNIOPOULOS, Vangelis *et al.* Bifurcatriol, a New Antiprotozoal Acyclic Diterpene from the Brown Alga *Bifurcaria bifurcata*. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 15, n. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md15080245>

SOARES, Deivid *et al.* The Brown Alga *Styopodium zonale* (Dictyotaceae): A Potential Source of Anti-Leishmania Drugs. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 14, n. 9, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md14090163>

SPAVIERI, Jasmine *et al.* Antimycobacterial, antiprotozoal and cytotoxic potential of twenty-one brown algae (phaeophyceae) from British and Irish waters. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 11, 2010a. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3208>

SPAVIERI, Jasmine *et al.* Antimycobacterial, antiprotozoal and cytotoxic potential of twenty-one brown algae (phaeophyceae) from British and Irish waters. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 11, p. 1724–1729, 2010b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3208>

SPAVIERI, Jasmine *et al.* Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of some british green algae. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 7, 2010c. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3072>

SUDHAKAR, M.P. *et al.* A review on bioenergy and bioactive compounds from microalgae and macroalgae-sustainable energy perspective. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 228, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.287>

- SURABHI, Gangadhar *et al.* Polygalacto-fucopyranose from marine alga as a prospective antihypertensive lead. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 183, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.140>
- SÜZGEÇ-SELÇUK, Sevda *et al.* Evaluation of Turkish seaweeds for antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic activities. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 778–783, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3330>
- TEIXEIRA, Valéria Laneuville *et al.* Natural products from marine red and brown algae against *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 29, n. 6, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.08.003>
- TOLBOOM, Stefan Noël *et al.* Algal-based removal strategies for hazardous contaminants from the environment – A review. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 665, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.129>
- UDAYAN, A.; ARUMUGAM, M.; PANDEY, A. Nutraceuticals From Algae and Cyanobacteria. In: **ALGAL GREEN CHEMISTRY**. [S. l.]: Elsevier, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63784-0.00004-7>
- VAZ, Bruna da Silva *et al.* Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.12.006>
- VEAS, Rhonda *et al.* Microalgae extracts: Potential anti-*Trypanosoma cruzi* agents? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 127, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110178>
- VEAS, Rhonda *et al.* Microalgae extracts: Potential anti-*Trypanosoma cruzi* agents? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 127, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110178>
- VEIGA-SANTOS, Phercyles *et al.* *In vitro* anti-trypanosomal activity of elatol isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*. **Parasitology**, [s. l.], v. 137, n. 11, 2010a. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S003118201000034X>
- VEIGA-SANTOS, P. *et al.* *In vitro* anti-trypanosomal activity of elatol isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*. **Parasitology**, [s. l.], v. 137, n. 11, 2010b. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S003118201000034X>
- VONTHRON-SÉNÉCHEAU, Catherine *et al.* Antiprotozoal Activities of Organic Extracts from French Marine Seaweeds. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 9, n. 6, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md9060922>
- WEGNER DH; ROHWEDDER RW. Experience with nifurtimox in chronic Chagas' infection: preliminary report. **Arzneimittelforschung**, [s. l.], v. 22, p. 1631–1641, 1972.
- WHO HEALT ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. . [S. l.], 2019.
- WILKINSON, Shane R. *et al.* A mechanism for cross-resistance to nifurtimox and benznidazole in trypanosomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 105, n. 13, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0711014105>
- XU, Xiaotian *et al.* New discovery of anti-ulcerative colitis active ingredients of *Nostoc*

commune: p-Hydroxy benzaldehyde. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 77, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104327>

YOON, Weon-Jong *et al.* Anti-inflammatory activity of brown alga *Dictyota dichotoma* in murine macrophage RAW 264.7 cells. **Journal of Medicinal Plants Research**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 001–008, 2009.

ZHAO, Chao *et al.* Bioactive compounds from marine macroalgae and their hypoglycemic benefits. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 72, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.001>