

Malaria: From old drugs to new molecular targets

Malária: Dos velhos fármacos aos novos alvos moleculares

Franco Henrique Andrade Leite¹, Amanda Luisa da Fonseca^{2*}, Renata Rachide Nunes², Moacyr Comar Júnior², Fernando de Pilla Varotti², Alex Gutterres Taranto²

ABSTRACT

Malaria is a parasite disease that most affects humans with a global impact, without an effective treatment. According to the World Health Organization (WHO), the absence of a new therapeutic alternative, soon all strains will be resistant to current drugs. This study reports historical aspects, biological life cycle, current drugs, molecular targets able to therapeutic intervention and recent pharmacological receptors. This review concludes with a brief discussion of the prospects and difficulties contributing for advance for new antimalarials development.

Keywords: PfHT, PfATPase, modelagem molecular, drug design

RESUMO

Malária é a doença parasitária que mais acomete o homem. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o aparecimento de cepas de *Plasmodium* resistentes a artemisinina tornam a busca de novos alvos e compostos com ação antimalárica extremamente necessária. Neste estudo relatamos aspectos históricos, ciclo biológico, atuais fármacos, alvos moleculares passíveis de intervenção terapêutica e recentes receptores farmacológicos. Esta revisão conclui com uma breve discussão das perspectivas e dificuldades contribuindo para o avanço no desenvolvimento de novos antimaláricos.

Palavras-chave: PfHT, PfATPase, modelagem molecular, desenvolvimento de fármacos.

¹ Laboratório de Modelagem Molecular, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA

² Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João Del-Rei, Rua Sebastião Gonçalves Coelho 400, Chanadour, Divinópolis, 35501-296, MG, Brasil.

*Autor para correspondência

INTRODUÇÃO

Aspectos históricos da malária

Alguns estudos apontam que a malária tenha sido a principal causa de mortalidade entre os principais precursores do *Homo sapiens*, como os *Australopithecus* (CAMARGO, 2003; TARANTO et al., 2006).

A malária representa uma doença humana antiga. Os sintomas como febres periódicas e esplenomegalia já eram mencionados em 2700 a.C em escritos egípcios e chineses. A malária chegou a Roma em 200 a.C, difundiu-se pela Europa durante o século XII, e chegou à Inglaterra no século XIV. Assume-se que os exploradores europeus, os conquistadores e colonizadores trouxeram *P. malariae* e *P. vivax* para as Américas e a chegada do *P. falciparum* coincidiu com o comércio escravocrata nos anos de 1800. A malária teve um impacto maior na história mundial do que qualquer outra doença infecciosa, influenciando no resultado das guerras, migrações, desenvolvimento e declínio de várias nações. Antes da Guerra Civil Americana, a malária foi encontrada do norte até o sul dos EUA. No entanto, no início dos anos 1950 já não era uma doença endêmica nos Estados Unidos, devido à intensa atividade da vigilância epidemiológica (VALE; MOREIRA; GOMES, 2005).

Muitos representantes da história padeceram da febre maligna proveniente da malária. Santo Agostinho, o primeiro arcebispo de Canterbury, faleceu de uma doença que muito provavelmente era malária. O imperador do sacro império Romano Germânico Carlos V morreu de malária na Espanha em 1558. Durante a Primeira Guerra Mundial, os exércitos foram debilitados pela malária, na campanha da Macedônia, e na Segunda Guerra, em algumas frentes, as baixas por essa parasitose foram maiores que as de combate (COSTA et al., 2010).

Considerações sobre a malária

O nome malária tem origem latina e literalmente significa “ar ruim”, pois acreditava-se que a doença resultasse de emanções de pântanos. Nomes alternativos, como paludismo e impaludismo, são de origem francesa e têm o mesmo significado. Outros sinônimos, menos comuns são: bateadeira, carneirada, febre intermitente e febre palustre (TARANTO et al., 2006).

A malária manifesta-se por episódios de calafrios, seguidos de febre alta que duram de 3 a 4 horas. Esses episódios são, em geral, acompanhados de profundo mal-estar, sudorese, náuseas, cefaléias e dores articulares. O controle da malária exige uma abordagem integrada entre a prevenção, principalmente o controle do vetor, e o tratamento imediato dos casos com antimaláricos eficazes. As principais características de uma droga antimalárica eficiente são: rápida ação, altamente potente contra a fase assexuada sanguínea, minimamente tóxica e principalmente ter baixo custo. Quando tratada a tempo, só excepcionalmente morre-se de malária (CAMARGO, 2003; TARANTO et al., 2006).

O protozoário do subfilo *Apicomplexa* do gênero *Plasmodium* é o agente etiológico da malária. Das quatro espécies mais comuns que infectam o homem (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*) 95% das infecções são causadas por *P. falciparum*, considerado o mais letal, seguido do *P. vivax*, o mais amplamente distribuído pelos trópicos. A espécie *P. malariae* tem distribuição esporádica enquanto que o *P. ovale* se concentra na região Centro-Oeste da África e algumas ilhas do Pacífico Sul (GARCIA, 2010). Uma espécie emergente, a quinta espécie – *P. knowlesi*, existente no Sudeste Asiático e infectante de macacos, foi descrita recentemente como um importante patógeno da malária humana (GARCIA, 2010; WHITE, 2008).

Atualmente, cerca de 1,5 a 2 milhões de pessoas morrem de malária, sendo que as principais vítimas são crianças (MILLER, L. H. et al., 2013). A

doença causa por ano mais mortes em valores absolutos que a AIDS e que qualquer outra doença infecciosa ([FRANCA; DOS SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008](#)). Os países mais comprometidos são Índia, Brasil (cerca de 300 mil casos/ano), Afeganistão e outros países asiáticos, incluindo a China. Além disso, especula-se que metade dos casos de mortalidade entre a população indígena no Brasil deve-se à malária causada por *P. falciparum* ([KAGER, 2002](#)).

De acordo com a OMS, a malária ocasiona cerca de 700 mil mortes a cada ano ([AGUIAR *et al.*, 2012](#)), no qual 89% estão na região da África; 4% no sudeste asiático e o restante na parte leste do mediterrâneo e nos países amazônicos da América do Sul ([STEKETEE; CAMPBELL, 2010](#)). O risco de morte de malária é considerado mais alto na África do que em outras partes do mundo. Uma estimativa global é que 85% das mortes ocorrem em crianças menores de 5 anos, devido ao sistema imune que ainda está em formação, mas a proporção é muito maior na África, cerca de 88%. De acordo com as estimativas, aproximadamente 1 em 5 mortes reportadas no mundo no ano de 2009 foram devido à malária ([ROGIER; HENRY; TRAPE, 2009](#)).

No Brasil, a malária provavelmente surgiu devido ao intenso transporte marítimo com o Senegal. No início da década de 40 houve uma grande incidência da doença com cerca de 6 milhões de pessoas infectadas. Uma campanha nacional de erradicação baseada na pulverização de diclorodifeniltricloroetano (DDT) e tratamento dos casos febris com cloroquina foi lançada pelo governo nos anos 50, conforme recomendações da OMS. Em 1952, um método de profilaxia medicamentosa -o sal cloroquinado- idealizado por Mário Pinotti, diretor do Serviço Nacional de Malária, foi instituído experimentalmente em trabalhos de campo na tentativa de solucionar o problema endêmico da Amazônia ([SILVA; HOCHMAN, 2011](#)). Essas campanhas conseguiram conter a malária, pois na década seguinte registrou-se o menor número de casos ([OLIVEIRA-](#)

[FERREIRA *et al.*, 2010](#)). No entanto, em meados dos anos 60 o governo brasileiro lançou e patrocinou um projeto de colonização em massa na região da Bacia Amazônica. Este movimento rápido e descontrolado de indivíduos não imunes juntamente com o surgimento e expansão de cepas cloroquina resistentes (CQR) de *P. falciparum* para outros estados como Acre, Roraima, Amapá, Mato Grosso e Pará ([FERRARONI *et al.*, 1981](#)) conduziu a um aumento de 10 vezes na incidência de malária entre 1970 e meados de 1980.

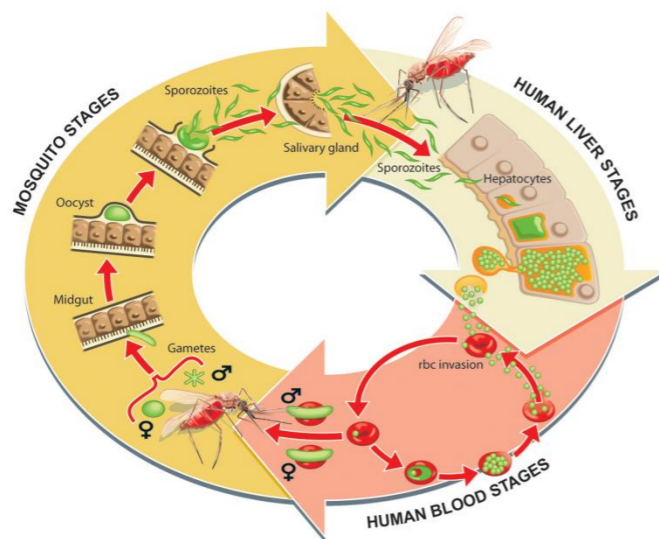
Nos últimos anos a doença tem se concentrado na região da Amazônia Legal, que inclui os seguintes estados: Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins. Existem vários fatores nessa região que fazem dela um local altamente propício para a transmissão da malária, tais como: a presença abundante do mosquito vetor *Anopheles darlingi*, o principal vetor transmissor da malária, temperaturas acima de 16°C, alta umidade, desmatamento, ocupação desordenada de grupos populacionais em habitações inadequadas e a urbanização do mosquito vetor ([TAUIL, 2011](#)).

O quadro epidemiológico atual da malária no Brasil continua preocupante. Segundo dados do Ministério da Saúde, no ano de 2011, registraram 333.424 casos. Desse total, 332.310 ou 99,7% foram oriundos da região amazônica ([TAUIL, 2011](#)). O *P. vivax* é a principal espécie causadora das infecções, com 83,7% dos casos registrados; enquanto que o *P. falciparum* é responsável por 16,3% e *P. malariae* raramente é observado ([OLIVEIRA-FERREIRA *et al.*, 2010](#)). Adicionalmente a transmissão por *P. falciparum*, forma mais virulenta tem declinado nos últimos anos, bem como o número de internações por malária que era 2,6% em 2006 e em 2008 foi 1,3% ([TAUIL, 2011](#)).

CICLO BIOLÓGICO

Os parasitos transmissores de malária pertencem ao gênero *Plasmodium* (AGUIAR et al., 2012). O ciclo da malária possui dois hospedeiros, um vertebrado que é o homem, e o invertebrado que é a fêmea de um mosquito anofelino. A transmissão natural da malária ao homem se dá quando fêmeas de mosquitos anofelinos (gênero *Anopheles*), parasitadas com esporozoítos em suas glândulas salivares inoculam as formas infectantes durante o repasto sanguíneo. As fontes de infecção para os mosquitos são pessoas portadoras de formas sexuadas do parasito (Fig. 1) (MILLER, L. H. et al., 2013).

Figura 1 Ciclo biológico do *Plasmodium* sp. (DERBYSHIRE; MOTA; CARDY, 2011).



O *P. falciparum* é o agente causal de doenças mais comum no mundo conforme relata a OMS. No entanto, a parasitose provocada pelo *P. vivax*, o qual foi previamente considerada benigna, atualmente tem sido associada a casos fatais (HAY et al., 2004; PRICE et al., 2007; WELLS; BURROWS; BAIRD, 2010).

Os parasitos *P. malariae* e *P. ovale* são menos prevalentes e provocam um menor número de casos graves em humanos; enquanto o *P. knowlesi*, parasito de macacos foi identificado como causador da doença humana no Sudeste da Ásia (COX-SINGH et al., 2008).

O ciclo biológico dos plasmódios humanos compreende duas fases: uma fase assexuada ou esquizogônica, que se passa no ser humano e outra sexuada ou esporogônica, que se passa nas fêmeas do mosquito vetor do gênero *Anopheles* (GREENWOOD, B. M. et al., 2008). Durante a fase assexuada do ciclo biológico, a glicose é direcionada por proteínas transportadoras em decorrência do alto metabolismo do parasito (NAULA et al., 2010).

A infecção no hospedeiro se inicia quando esporozoítos de *Plasmodium* são injetados na pele durante o repasto sanguíneo do vetor infectado, juntamente com substâncias anticoagulantes e vasodilatadoras. Cerca de 15 a 200 esporozoítos são injetados por um único mosquito infectado (AMINO et al., 2006; GUEIRARD et al., 2010; SILVIE et al., 2007). No sistema circulatório, após cerca de 60 minutos os esporozoítos invadem os hepatócitos, iniciando assim o ciclo exoeritrocítico. O processo de invasão do fígado é complexo e depende da interação entre o parasito e célula hospedeira (COPPI et al., 2007).

Inicialmente os hepatócitos são inacessíveis aos parasitos, por estarem separados do lúmen por uma camada de células sinusoidais, células de Kupfer e células estelares hepáticas. O mecanismo exato envolvido no tráfego dos esporozoítos até alcançarem finalmente os hepatócitos encontra-se em debate, mas sabe-se que a passagem dos parasitos por várias destas células antes da invasão parece ser fundamental para o ciclo de vida dos plasmódios (COPPI et al., 2007; FREVERT et al., 2006; LINDNER; MILLER; KAPPE, 2012). Isso induz a secreção de uma substância chamada fator de crescimento dos hepatócitos, a qual torna tais células mais susceptíveis à infecção (CARROLO et al., 2003; MOTA et al., 2001). O

processo de reconhecimento e invasão da célula hospedeira envolve uma série de interações do tipo ligante-receptor. A principal proteína de superfície dos esporozoítos, a proteína circunsporozoíta (CSP), liga-se aos proteoglicanos dos hepatócitos e esta interação determina o rápido sequestro do parasito. Auxiliam também as proteínas transmembrânicas, que mediam sua locomoção, denominadas proteína anônima relacionada à trombospondina ([LINDNER et al., 2012](#)).

Todas as fases do desenvolvimento do parasito acontecem no vacúolo parasitóforo (VP), sendo que sua formação nos hepatócitos é de fundamental importância. Esta se inicia a partir da junção entre parasito-célula hospedeira, através da qual o parasito se projeta para o interior de alguma invaginação da membrana plasmática celular. Assim, a membrana do VP constitui uma importante interface entre o parasito e o hospedeiro ([BANO et al., 2007](#)).

A membrana do VP deriva-se primariamente da membrana plasmática da célula do hospedeiro, mas é rapidamente remodelada pela inserção de proteínas do parasito. A formação do VP é fundamental para proteger o parasito das defesas do indivíduo, permitindo também a aquisição de nutrientes que são fundamentais para seu desenvolvimento. Esta fase pode durar de 8 a 15 dias, dependendo da espécie de plasmódio e da premunição do paciente. Uma vez dentro do vacúolo, o parasito se reproduz por esquizogonia, culminando na liberação de milhares de merozoítos dentro de vesículas denominadas merossomas. Após o rompimento da membrana, os merozoítos hepáticos podem invadir os eritrócitos e iniciar o estágio sanguíneo, responsável pelas manifestações clínicas da doença ([BANO et al., 2007](#)).

O desenvolvimento nas células hepáticas requer aproximadamente uma semana para o *P. falciparum* e *P. vivax* e cerca de duas semanas para o *P. malariae*. Nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, o mosquito vetor inocula distintas populações de esporozoítos, algumas se desenvolvem

rapidamente enquanto outras ficam em estado de latência no fígado, sendo denominadas hipnozoítos ([TARUN et al., 2006](#)). Estes hipnozoítos são os responsáveis pelas recaídas da doença após períodos variáveis de incubação.

Os merozoítos liberados das vesículas interagem com os eritrócitos e os invadem dando início ao ciclo intraeritrocítico. Durante essa fase, os merozoítos desenvolvem a esquizogonia sanguínea, primeiramente como trofozoíto evoluindo para esquizonte ou merócitos. Após o rompimento das hemácias há liberação dos merozoítos na corrente sanguínea que por sua vez irão invadir novas hemácias reiniciando o ciclo. Geralmente nessa fase são observados os “acessos febris”, considerado um dos principais sintomas da doença ([TARUN et al., 2006](#)).

Após diversos ciclos de replicação, os merozoítos eritrocíticos se desenvolvem em formas sexuadas, que são os gametócitos femininos e masculinos. Em infecções por *P. falciparum*, eles são formados mais tardiamente se comparado ao *P. vivax* ([BRUCE-CHWATT, 1985](#); [PHIMPRAPHI et al., 2008](#)).

Os gametócitos são captados pela fêmea do mosquito vetor durante o repasto sanguíneo. Já dentro de seu estômago os gametócitos masculinos sofrem exflagelação e se fundem com o gameta feminino formando o zigoto que dará origem ao oocineto, que se aloja na parede intestinal do mosquito formando o oocisto. Inicia-se, então, o processo de multiplicação esporogônica e em aproximadamente duas semanas o oocisto maduro se rompe liberando esporozoítos que, ao invadir a hemolinfa, migram até atingir as glândulas salivares do vetor, completando o ciclo evolutivo dos plasmódios no hospedeiro invertebrado ([HAFALLA; SILVIE; MATUSCHEWSKI, 2011](#); [WELLS; ALONSO; GUTTERIDGE, 2009](#)).

Os sintomas clínicos da malária aparecem durante o desenvolvimento da fase intraeritrocítica do ciclo assexuado do parasito, que ocorre de 10 a 15 dias após a picada do mosquito ([MBENGUE; YAM; BRAUN-BRETON, 2012](#);

[SCHUMANN, 2007](#)). Nessa etapa do ciclo assexuado, além da febre, surge o paroxismo clássico caracterizado por calafrios intensos, sudorese, cefaléia, fadiga, desconforto abdominal, dores musculares e náusea. Entretanto, os primeiros sintomas da malária são inespecíficos e semelhantes aos de uma doença viral sistêmica ([GREENWOOD, B. M. et al., 2008](#); [WEINBERG; MOON, 2009](#)).

Portanto, devido a essa inespecificidade dos sintomas, o diagnóstico da malária é frequentemente mal elaborado, principalmente em áreas não endêmicas. Nessa fase inicial, sem evidências de disfunções em órgãos vitais, o paciente pode ser tratado com recuperação rápida. No entanto, se houver falha da medicação ou atraso da mesma, a parasitemia pode aumentar e a malária grave pode acontecer principalmente nas infecções por *P. falciparum*. Menos frequentemente, o *P. vivax* também provoca a forma clínica grave, assim como *P. ovale* e *P. malariae* ([GREENWOOD, B. et al., 1987](#); [MARSH et al., 1995](#); [SCHOFIELD; MUELLER, 2006](#); [WEINBERG; MOON, 2009](#)). Por outro lado, indivíduos com grau leve da infecção ou sem complicações, tipicamente apresentam febre e sintomas como: arrepios, suores, dor de cabeça, vômito, diarreia, anemia, icterícia e inchaço do baço (esplenomegalia) ([BAUMEISTER et al., 2006](#); [CHAKRAVORTY; CRAIG, 2005](#); [DEPLAINE et al., 2011](#); [GROBUSCH; KREMSNER, 2005](#); [KIRK et al., 2005](#); [KIRK; SALIBA, 2007](#); [KRAEMER; SMITH, 2006](#); [LAISHRAM et al., 2012](#); [LAUER et al., 1997](#); [MARTIN; KIRK, 2007](#); [ROWE et al., 2009](#)). Quando diagnosticada corretamente e tratada as chances de cura são elevadas ([BAUMEISTER et al., 2006](#); [CHAKRAVORTY; CRAIG, 2005](#); [DEPLAINE et al., 2011](#); [GROBUSCH; KREMSNER, 2005](#); [KIRK et al., 2005](#); [KIRK; SALIBA, 2007](#); [KRAEMER; SMITH, 2006](#); [LAISHRAM et al., 2012](#); [LAUER et al., 1997](#); [MARTIN; KIRK, 2007](#); [ROWE et al., 2009](#)), mas o acúmulo de eritrócitos infectados em microvasos causa considerável obstrução do fluxo sanguíneo, diminuição da perfusão e remoção de resíduos dos tecidos com

consequentes danos aos órgãos vitais como cérebro, pulmão, fígado, intestino e pele ([MILLER, LOUIS H. et al., 2002](#)).

A síndrome cerebral parece ser responsável pela maioria das mortes e é caracterizada por coma e muitas vezes com convulsões, mas qualquer grau de comprometimento da consciência pode indicar o envolvimento cerebral ([BEESON; BROWN, 2002](#); [MENENDEZ; FLEMING; ALONSO, 2000](#); [PONSFORD et al., 2012](#); [RÉNIA et al., 2012](#)).

QUIMIOTERAPIA ANTIMALÁRICA E MECANISMO DE AÇÃO

O tratamento da malária é complexo, longo e muitas vezes ineficaz devido à reinfeção do paciente, fenômeno muito comum em regiões endêmicas. Em vários países, incluindo o Brasil, a quimioterapia da malária é feita empregando-se uma combinação de derivados quinolínicos e artemisinínicos como tratamento padrão em casos não complicados partindo da evidência de resistência aos fármacos quinolínicos atuais em monoterapia ([BALINT, 2001](#); [MILLER, L. H. et al., 2013](#)).

Durante anos a cloroquina, derivada da quinina, foi utilizada como monoterapia e profilaxia em diversos países, fato que contribuiu para o surgimento da resistência. Devido ao aumento de cepas *P. falciparum* cloroquina-resistentes (CQR), foram sintetizados novos antimaláricos derivados da cloroquina como, por exemplo, a amodiaquina e a mefloquina, as quais possuem a mesma ação esquizonticida da cloroquina ([KROGSTAD et al., 1992](#)). No entanto, a cloroquina ainda é a substância de escolha para tratamento em alguns países, principalmente para tratar infecções por *P. vivax* em áreas nas quais esse fármaco ainda é eficaz ([AGUIAR et al., 2012](#); [FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008](#); [KITCHENER; NASVELD; EDSTEIN, 2007](#); [WELLS et al., 2009](#)). No entanto, em áreas com *P. vivax* CQR, terapias baseadas em artemisinina precisam ser adotadas ([AGUIAR et al., 2012](#); [BUTCHER, 1997](#)). Neste contexto, várias

estratégias têm sido utilizadas para descobrir novos fármacos contra parasitoses, tais como pesquisas baseadas em plantas medicinais, como exemplo quinina e artemisinina (LEITE *et al.*, 2012; MILLER, L. H. *et al.*, 2013); desenvolvimento de compostos híbridos ou conjugação de fármacos, como a associação de mefloquina e artesunato, (DE PILLA VAROTTI *et al.*, 2008); compostos ativos contra outras doenças, como antagonistas do folato (SIBLEY *et al.*, 2001) e atavaquona (AGUIAR *et al.*, 2012; ARAUJO *et al.*, 2008; LUZHKOV *et al.*, 2007; MUGNAINI *et al.*, 2007; ROSENTHAL, 2003). Novos antifolatos, com base na estrutura e atividade da pirimidina e triazina estão sendo desenvolvidas como potenciais antimaláricos (SAHU; SAHU; KOHLI, 2008).

Adicionalmente, o controle da malária é dificultado devido à disseminação de cepas resistentes de *P. falciparum*. Desta forma, fármacos que bloqueiam a transmissão da malária são indicados pela OMS, tais os com ação gametocítica como as 8-aminoquinolinas em áreas que apresentam alto índice de *P. falciparum* (HAY *et al.*, 2004; WELLS *et al.*, 2010).

Atualmente, na tentativa de evitar a resistência e melhorar os resultados do tratamento, a OMS preconiza como terapia de primeira escolha para malária não complicada por *P. falciparum* a *Artemisinin based Combination Therapy* (ACT). São exemplos de ACT atualmente empregadas: i) artesunato-mefloquina, ii) artemeter-lumefantrina, iii) artesunato-amodiaquina, iv) artesunato-sulfadoxina-pirimetamina e v) diidroartemisinina-piperaquina (DONDORP *et al.*, 2009). Nos casos de malária grave por *P. falciparum* deve ser usado de preferência artesunatos intravenosos, ACT, clindamicina ou doxiciclina e quinina (SÁ, 2011).

A utilização de combinações entre os antimaláricos existentes com conhecidas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas tem como objetivo aperfeiçoar a eficácia terapêutica e diminuir ou retardar a seleção de parasitos resistentes. Com isso, alguns fármacos são utilizados em

combinação, como lumefantrina, amodiaquina, mefloquina (MQ) e sulfadoxina-pirimetamina. Adicionalmente, houve um aumento recente de cepas com sensibilidade reduzida para a artemisinina (AGUIAR *et al.*, 2012). Desta forma, a artemisinina vem sendo utilizada amplamente como fármaco de primeira escolha. No entanto, recentemente a OMS declarou a resistência a este fármaco na região do “Grande Mekong”, o que ressalta a necessidade do desenvolvimento de novos antimaláricos (CUI *et al.*, 2012; MITA; TANABE, 2012).

No Brasil, o Ministério da Saúde, por meio de uma política nacional de tratamento da malária, orienta a terapêutica e disponibiliza gratuitamente os medicamentos antimaláricos utilizados em todo o território nacional em unidades do Sistema Único de Saúde (SUS). O objetivo do tratamento é atingir o parasito em pontos-chave do seu ciclo biológico, os quais foram resumidos em:

- a) interrupção da esquizogonia sanguínea, responsável pela patogenia e manifestações clínicas da infecção;
- b) destruição das formas latentes do parasito no ciclo tecidual (hipnozoítos) das espécies de *P. vivax* e *P. ovale*, evitando assim as recaídas tardias;
- c) interrupção da transmissão do parasito, pelo uso de fármacos que impedem o desenvolvimento de formas sexuadas (gametócitos).

O esquema com artemeter e lumefantrina (Coartem® Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland) é adotado no Brasil para tratamento das infecções por *P. falciparum*. Essa combinação proporciona um aumento na eficácia antimalárica quando comparada com a monoterapia (SÁ, 2011).

Apesar de inúmeros fármacos utilizados na terapêutica antimalárica, a resistência a eles tem sido documentada para *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. vivax*. Em *P. falciparum*, a resistência tem sido observada em todos os antimaláricos atualmente utilizados (amodiaquina, a cloroquina, a mefloquina, a quinina, sulfadoxina-pirimetamina e derivados de artemisinina). Em *P. vivax* tem se demonstrado o aparecimento de

resistência à sulfadoxina-pirimetamina rapidamente em muitas áreas, enquanto a resistência à cloroquina está em grande parte da Indonésia, Papua Nova Guiné, Timor-Leste e outras partes da Oceania. Isso representa uma grande ameaça ao controle da malária (AGUIAR et al., 2012; CROFT, 2001; CUI et al., 2012); (WEINBERG; MOON, 2009). Não há relatos de introdução de novas classes químicas de antimaláricos introduzidos à prática clínica desde 1980, quando do emprego da artemisinina e seus derivados (AGUIAR et al., 2012).

A expansão global da malária tem sido atribuída, principalmente, ao fracasso dos programas de controle de vetores e propagação da resistência à cloroquina (CQ) e outros antimaláricos (HYDE, 2007). Como resultado, atualmente a descoberta e desenvolvimento de novos antimaláricos é um dos maiores desafios para o controle da malária (SAHU et al., 2008).

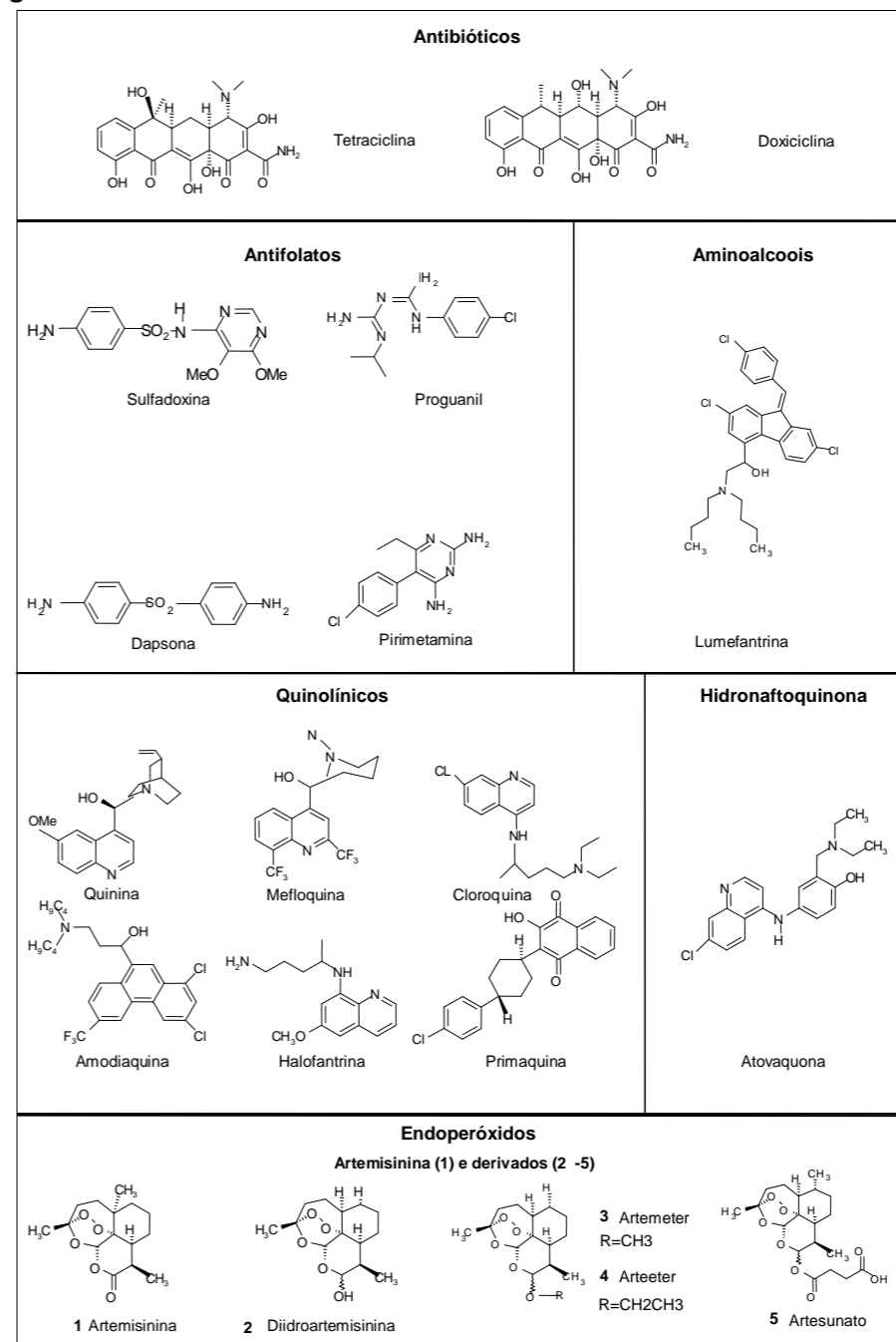
As principais classes de substâncias utilizadas no tratamento da malária estão exemplificadas na figura 2.

Os fármacos utilizados atualmente contra a malária não permitem cura, muitas vezes há recidivas da doença, além de serem muito tóxicos, de difícil aplicação e eficácia insatisfatória, fazendo com que vários pacientes desistam do tratamento (ARAÚJO et al., 2008; DONDORP et al., 2009; FRANÇA et al., 2008). Portanto, é necessário encontrar novas alternativas terapêuticas para melhorar a quimioterapia existente contra a malária, devido ao grande número de pessoas acometidas.

ALVOS MOLECULARES

Devido à resistência adquirida aos antimaláricos e à dependência de um número limitado de fármacos, é necessária a compreensão dos mecanismos de ação dos compostos ativos que atuam inviabilizando o ciclo de vida e desenvolvimento do parasito (GUIGUEMDE et al., 2010).

Figura 2 Estrutura de antimaláricos.



Na tentativa de combater a infecção vários alvos são descritos na literatura, desde organelas subcelulares a vias metabólicas diferentes ([GREENWOOD, B. M. et al., 2008](#)). Apesar dos numerosos potenciais alvos de ação farmacológica, os compostos mais amplamente utilizados remontam de tempos antigos. Como a quinina isolada da casca *Cinchona sp.* em 1820 e a artemisinina, purificada a partir da *Artemisia annua* em 1972, ambos extraídos de ervas terapêuticas ([CROFT, 2001](#)) são exemplos de alvos utilizados.

Com o surgimento de cepas de *Plasmodium* resistentes à artemisinina, o desenvolvimento de novos alvos a partir de ferramentas computacionais para combater a malária deve ser priorizado. A descrição e identificação de características realizada pelo sequenciamento do genoma de diversas espécies, proporciona a busca por novos alvos farmacológicos. Neste contexto, diversas proteínas transportadoras podem atuar como alvos antimaláricos ([GUIGUEMDE et al., 2010](#); [STAINES et al., 2010](#)).

Os fármacos atuais de maneira geral foram desenvolvidos, com base na estrutura do ligante, ou seja, foi aplicado mesmo que de forma empírica a abordagem denominada desenvolvimento de fármacos com base na estrutura do ligante (*ligand based drug design*). No entanto, outra abordagem pode ser utilizada para o desenvolvimento de novos compostos ativos. Estudos teóricos a partir de bancos de dados são realizados com objetivo de buscar um novo composto protótipo (composto com razoável atividade biológica). Os recursos computacionais auxiliam no desenho de novos fármacos, pois podem ser projetados com base na estrutura do receptor (*structure based drug design*) ([JUNIOR et al., 2013](#)). Uma grande variedade de novos candidatos a antimaláricos são identificados por meio da modelagem molecular ([AGUIAR et al., 2012](#); [LEITE et al., 2012](#)).

A modelagem molecular é uma das ferramentas no processo de desenvolvimento racional de fármacos ([JUNIOR et al., 2013](#)). Após a escolha da doença, segue-se para a etapa da escolha do alvo molecular.

Neste processo, a aplicação de ferramentas de bioinformática, como o Banco de Dados *Protein Data Bank* (PDB) ([BERMAN et al., 2013](#)), tem sido utilizada por apresentar grande eficiência em fornecer informações a respeito do receptor, das interações intermoleculares e consequentemente do respectivo mecanismo de ação ([LEMUCHI et al., 2013](#)). Até o presente momento, não se tem relatos na literatura de um fármaco antimalárico no mercado desenvolvido por esta abordagem. Portanto, esta abordagem é uma alternativa que pode levar a geração de uma nova classe de compostos.

Os alvos moleculares proteicos são obtidos por meio do projeto genoma do *Plasmodium*, cujas sequências primárias estão depositadas no Banco de dados do *P. falciparum* (PlasmoDB) ([AURRECOECHEA et al., 2009](#)). Estes atuam em interações reguladoras no ciclo de vida do parasito ([GARDNER et al., 2002](#); [PLATA et al., 2010](#)), fornecendo uma melhor compreensão sobre as características biológicas das espécies de plasmódios ([OBERHARDT; PALSSON; PAPIN, 2009](#)).

Estes alvos moleculares de grande interesse podem estar relacionados às funções de diferentes estruturas em organelas celulares, tais como vacúolo alimentar lisossomal, o apicoplasto, a mitocôndria (cujo sistema de transporte de elétrons é limitado) e as proteínas com atividade de transporte ([KRISHNA, SANJEEV et al., 2002](#); [SAHU et al., 2008](#)). Dentre os alvos moleculares mais estudados atualmente estão as proteases, como plasmepsinas, falcipainas e falcilisinases; as proteína-quinases e enzimas glicolíticas, as quais estão envolvidas em metabolismo lipídico e replicação de DNA. Adicionalmente, as proteínas como a glutatona redutase, tiorredoxina redutase e glutatona-S-transferase ([SAHU et al., 2008](#); [SIJWALI et al., 2006](#); [WADOOD; ULHAQ, 2013](#)); ([CAMERON et al., 2004](#); [RALPH; D'OMBRAIN; MCFADDEN, 2001](#); [ROBERT, ANNE; COPPEL; MEUNIER, 2002](#); [ROSS et al., 2002](#); [SAHU et al., 2008](#)). A enzima ATPase

cálcio-dependente (PfATP6) também vem sendo destacada como importante alvo ([ECKSTEIN-LUDWIG et al., 2003](#)).

Adicionalmente, a via do chiquimato fornece várias opções de intervenção. Dentre estas, destaca-se a inibição da proteína farnesiltransferase do *Plasmodium* (PfPFT) ([GOODMAN; MCFADDEN, 2013](#); [MACRAE et al., 2012](#); [SAHU et al., 2008](#)). No entanto, até o presente, este alvo molecular ainda não se encontra depositado no PDB. Consequentemente, o seu estudo pode ser por métodos teóricos ([YU et al., 2013](#)).

Novos alvos moleculares foram caracterizados como promissores para o desenvolvimento de novos fármacos contra a malária dentre estes destaca-se o transportador de hexose do *Plasmodium falciparum* (PfHT) ([JOET et al., 2003](#)).

Neste cenário, a enzima ATPase cálcio-dependente (PfATP6) ([ECKSTEIN-LUDWIG et al., 2003](#)) e o transportador de hexoses (PfHT) ([JOET et al., 2003](#)) são identificados como alvos potenciais para o desenvolvimento de antimaláricos e, devido à relevância destes receptores, o presente trabalho os descreve detalhadamente.

Receptor PfATP6:

Os transportadores, Ca⁺²-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA) são proteínas de membrana envolvidos na homeostase do Ca⁺², controlando uma variedade de funções celulares. O gene da SERCA em *P. falciparum* codifica uma sequência de 3684 nucleotídeos e representa uma proteína com massa molecular de 139,4 kDa apresentando todos os “motifs” sequenciais para a função e estrutura das SERCA, a saber: dois sítios de ligação do Ca⁺², um sítio de ligação de nucleotídeo e um sítio de fosforilação, dividindo uma identidade sequencial de 39% com a SERCA humana ([PULCINI et al., 2013](#)).

Em estudo realizado por Eckstein-Ludwig e colaboradores (2003) observou-se que além da formação de radicais livres que alquilam várias proteínas, a artemisinina poderia atuar inibindo irreversivelmente a enzima ATPase (PfATP6) com alta especificidade, apesar de determinantes de seletividade não terem sido identificados. Posteriormente, Krishna e colaboradores (2008) apontaram a PfATP6 como um novo alvo molecular para a artemisinina ([KRISHNA, S. et al., 2008](#)). Nesse mesmo estudo, uma interação antagonista foi relatada entre artemisinina e a tapsigargina, um inibidor específico da SERCA.

A tapsigargina é uma lactona sesquiterpênica similar à artemisinina, que potencialmente inibe tanto as SERCA de mamíferos quanto do parasito *Plasmodium* spp. Essa molécula aumenta os níveis de concentração citosólica de cálcio, bloqueando a habilidade da célula para bombear cálcio para o retículo sarco/endoplasmático, acarretando em depleção de cálcio nessas zonas de estoque ([DE PILLA VAROTTI et al., 2008](#); [OLESEN et al., 2007](#); [TOYOSHIMA; NOMURA, 2002](#)), o que pode, secundariamente, ativar canais de cálcio na membrana plasmática, permitindo um influxo de cálcio para o citosol. Desse modo, foi sugerido que a artemisinina interage com uma região do PfATP6 que é semelhante ao sítio de ligação da tapsigargina. Nesse sentido, foi evidenciado que existe uma inibição competitiva entre essas estruturas químicas no sítio ortostético da PfATP6 ([KRISHNA, SANJEEV et al., 2010](#)).

Estudos iniciais identificaram o padrão de ligação entre a artemisinina e seus derivados com o receptor PfATP6 utilizando estudos de acoplamento molecular. Nesse estudo, uma análise de correlação foi realizada entre parâmetros energéticos e geométricos com atividade biológica, sendo que o principal o parâmetro foi a contribuição hidrofóbica, indicando que a ligação da artemisinina e seus derivados ocorre preferencialmente através de interações hidrofóbicas. Sendo que, todos os 150 análogos da

artemisinina apresentaram interação hidrofóbica com PfATP6 ([NAIK et al., 2011](#); [TEIXEIRA et al., 2012](#)).

Estudos recentes ([ARNOU et al., 2011](#)) com a enzima purificada mostrou que a atividade da PfATP6 não foi inibida pelos derivados da artemisinina. Dessa forma, novamente o mecanismo de ação da artemisinina entrou em debate, completando mais de 30 anos ([NAIK et al., 2011](#); [TEIXEIRA et al., 2012](#)).

Transportador de hexose: PfHT

A fase assexuada de estágio do parasito requer um fornecimento contínuo de glicose para sobreviver e multiplicar-se, sugerindo que o transportador de hexoses (PfHT) de *P. falciparum* possa ser um alvo molecular ([JOET et al., 2003](#)). Sendo a glicose uma fonte de energia e um substrato essencial para a maioria das células. A inibição da absorção de glicose celular tem sido utilizada como uma estratégia terapêutica potencial, para o desenvolvimento de moléculas que atuem no tratamento de várias doenças não relacionadas, incluindo malária e câncer. Para a malária, as fases sanguíneas do parasito dependem de glicólise para produção de energia sendo, portanto, dependentes da absorção constante. Com isso, a PfHT pode ser considerada um interessante alvo para fármacos ([KRISHNA, SANJEEV et al., 2002](#)).

Inicialmente a glicose é transportada a partir do plasma sanguíneo para o eritrócito presente no citosol, pelo transportador de glicose de mamíferos (GLUT1) presente na membrana. Posteriormente, a glicose do sangue é enviada para fases do ciclo intraeritrocítico no parasito da malária por transportadores de glicose presentes no hospedeiro e nas membranas plasmáticas do parasito ([KRISHNA, SANJEEV et al., 2002](#)).

A seguir, a absorção de glicose pelo parasito é mediada por uma proteína que facilita seu transporte ([KIRK; HORNER; KIRK, 1996](#)). No caso de *P. falciparum*, a PfHT (PlasmoDB número de acesso: PFB0210c) é a principal

proteína transportadora de hexose, a qual é expressa na membrana plasmática do parasito ([WOODROW; PENNY; KRISHNA, 1999](#)). A PfHT foi identificada pela primeira vez no genoma de *P. falciparum* como um gene transportador que possui homologia com a transportador de glicose de mamíferos, a GLUT1. Assim como a GLUT1, de acordo com as características topológicas é previsto que a PfHT possui 12 α -hélices transmembrânicas com o amino e carboxiterminais localizados ao lado da membrana citoplasmática. A expressão da PfHT em oócitos de *Xenopus laevis*, auxiliou em sua caracterização ([WOODROW; BURCHMORE; KRISHNA, 2000](#)). A PfHT possui características semelhantes a GLUT1, por realizarem o transporte de carboidratos e apresentar estrutura transmembrânica. No entanto, existem algumas diferenças em relação à interação com substratos entre a PfHT e a GLUT1. Por exemplo, a GLUT1 é seletiva para D-glicose enquanto que PfHT pode transportar tanto a D-glicose quanto a D-frutose. Dessa forma, por possuir afinidade seletiva para diferentes substratos, esta pode funcionar como alvo farmacológico ([IONITA et al., 2007](#)).

A PfHT é uma proteína transmembrânica e, portanto, a sua estrutura é de difícil obtenção por métodos experimentais ([MANNING et al., 2002](#)). Assim, a modelagem comparativa é a metodologia sugerida para descrição estrutural deste receptor, que foi depositado no PDB sob o código 1LVI ([BORDOLI et al., 2009](#); [MANNING et al., 2002](#)). No entanto, este modelo inicial não se encontra complexado com um ligante no sítio ativo, limitando assim o seu uso nos estudos de ancoragem molecular. Este achado nos incentivou a construir a estrutura tridimensional do receptor PfHT e estudar as interações de ligantes derivados de carboidratos com este por metodologias *in silico* ([FONSECA et al., 2013](#); [NUNES et al., 2013](#)). Assim, estudos de ancoragem seguido de dinâmica molecular mostraram que derivados de (O-(undec-10-en)-l-D-glicose) se complexam com a PfHT através de ligação de hidrogênio e interações de van der Waals com os

resíduos Asn17, Asn21, Tyr80, Ile110, Thr114, Lys198, e Val13, Ser14, Thr18, Arg73, Leu77, Val113, Val117, His137, Gln138, Leu205, Ile141, Thr201 ([NUNES et al., 2013](#)). Estes achados podem direcionar a síntese de derivados de glicose mais ativos seletivos capazes de inibir a PfHT.

Em resumo, a PfHT mostrou que não há polimorfismo em sua sequência de aminoácidos, sendo um potencial alvo ([JOET et al., 2003](#)). A PfHT pode funcionar em intervenções terapêuticas, atuando na fase exoeritrocítica. Esta é uma característica desejável para novos antimaláricos, pois impede a infecção causada por esporozoítos e sua replicação, inviabilizando as fases sanguíneas da parasitose ([CHEN et al., 2006](#)).

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS: PERSPECTIVAS E DIFICULDADES

Tradicionalmente, os produtos naturais têm sido fontes valiosas para novos fármacos. Mesmo nos dias atuais, os produtos encontrados no ecossistema representam um papel essencial no processo de descoberta e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Entretanto, a necessidade de compostos e as dificuldades da produção em escala dos insumos naturais fazem com que muitas empresas farmacêuticas diminuam seus esforços em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), o que acarreta em sérios problemas de saúde pública. Tendo em vista a resistência dos parasitos aos antimaláricos tradicionais é necessária a identificação de compostos bioativos sintéticos e/ou naturais, que inviabilizem o desenvolvimento do parasito ([MARINHO; SEIDL; LONGO, 2008](#)).

O desenvolvimento de novos antimaláricos é de grande importância, devido à resistência adquirida pelo parasito frente aos fármacos quinolínicos tradicionais, o que leva a altas taxas de mortalidade, sobretudo em crianças ([HEPPNER; BALLOU, 1998](#)). A resistência à

quimioterapia é um dos maiores problemas no controle da atual epidemia de malária. Ela se deve ao princípio da evolução das espécies, onde a presença de fármacos (ou “pressão” dos fármacos) serve como força de seleção natural dos parasitos resistentes dentro do hospedeiro ([ROBERT, A.; MEUNIER, 1997](#)). Muitos compostos são promissores agentes antimaláricos. No entanto, poucos apresentam eficácia suficiente e baixa toxicidade para que sejam utilizados na terapêutica. Além disso, a alarmante resistência aos fármacos atualmente empregados na quimioterapia da malária levou a Organização Mundial de Saúde a prever que, na ausência de novas estratégias para o combate à malária, o número de pessoas infectadas duplique em todo o globo até o ano 2015 ([NEWMAN, 2010](#)).

Adicionalmente, o desenvolvimento de vacinas para a malária tem sido alvo de estudos em muitos grupos de pesquisa, sendo este um objetivo também de saúde pública ([RILEY; STEWART, 2013](#); [WYKES, 2013](#)). Desde 1987, quando as primeiras vacinas a partir CSP foram testadas em seres humanos, pelo menos, 50 novos candidatos entraram em ensaios clínicos. No entanto, apenas um candidato (RTS, S, que é baseada na proteína CSP) progrediu significativamente e entrou em ensaios clínicos de fase III. ([AGNANDJI et al., 2012](#)).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, à FAPEMIG (Editais Universal CDS-APQ-02337-12, 190APQ-00727-13/2013-1 e 005/2011/PROPE-PIBIC), ao CNPq (Edital Universal CNPq 471909/2013-0), a UFSJ e a UEFS/PPGBiotec pelas bolsas de estudos e auxílios concedidos.

REFERÊNCIAS

AGNANDJI, S. T.; LELL, B.; FERNANDES, J. F.; ABOSSOLO, B. P.; METHOGO, B. G.; KABWENDE, A. L.; ADEGNIKA, A. A.; MORDMULLER, B.; ISSIFOU, S.; KREMSNER, P. G.; SACARLAL, J.; AIDE, P.;

LANASPA, M.; APONTE, J. J.; MACHEVO, S.; ACACIO, S.; BULO, H.; SIGAUQUE, B.; MACETE, E.; ALONSO, P.; ABDULLA, S.; SALIM, N.; MINJA, R.; MPINA, M.; AHMED, S.; ALI, A. M.; MTOURO, A. T.; HAMAD, A. S.; MUTANI, P.; TANNER, M.; TINTO, H.; D'ALESSANDRO, U.; SORGHO, H.; VALEA, I.; BIHOUN, B.; GUIRAUD, I.; KABORE, B.; SOMBIE, O.; GUIGUEMDE, R. T.; OUEDRAOGO, J. B.; HAMEL, M. J.; KARIUKI, S.; ONEKO, M.; ODERO, C.; OTIENO, K.; AWINO, N.; MCMORROW, M.; MUTURI-KIOI, V.; LASERSON, K. F.; SLUTSKER, L.; OTIENO, W.; OTIENO, L.; OTSYULA, N.; GONDI, S.; OTIENO, A.; OWIRA, V.; OGUK, E.; ODONGO, G.; WOODS, J. B.; OGUTU, B.; NJUGUNA, P.; CHILENGI, R.; AKOO, P.; KERUBO, C.; MAINGI, C.; LANG, T.; OLOTU, A.; BEJON, P.; MARSH, K.; MWAMBINGU, G.; OWUSU-AGYEI, S.; ASANTE, K. P.; OSEI-KWAKYE, K.; BOAHEN, O.; DOSOO, D.; ASANTE, I.; ADJEI, G.; KWARA, E.; CHANDRAMOHAN, D.; GREENWOOD, B.; LUSINGU, J.; GESASE, S.; MALABEJA, A.; ABDUL, O.; MAHENDE, C.; LIHELUKA, E.; MALLE, L.; LEMNGE, M.; THEANDER, T. G.; DRAKELEY, C.; ANSONG, D.; AGBENYEGA, T.; ADJEI, S.; BOATENG, H. O.; RETTIG, T.; BAWA, J.; SYLVERKEN, J.; SAMBIAN, D.; SARFO, A.; AGYEKUM, A.; MARTINSON, F.; HOFFMAN, I.; MVALO, T.; KAMTHUNZI, P.; NKOMO, R.; TEMBO, T.; TEGHA, G.; TSIDYA, M.; KILEMBE, J.; CHAWINGA, C.; BALLOU, W. R.; COHEN, J.; GUERRA, Y.; JONGERT, E.; LAPIERRE, D.; LEACH, A.; LIEVENS, M.; OFORI-ANYINAM, O.; OLIVIER, A.; VEKEMANS, J.; CARTER, T.; KASLOW, D.; LÉBOULLEUX, D.; LOUCQ, C.; RADFORD, A.; SAVARESE, B.; SCHELLENBERG, D.; SILLMAN, M.; VANSADIA, P. A phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African infants. **N Engl J Med**, v. 367, n. 24, p. 2284-95, 2012.

AGUIAR, A. C. C.; ROCHA, E. M. D.; SOUZA, N. B. D.; FRANÇA, T. C.; KRETTLI, A. U. New approaches in antimalarial drug discovery and development: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 831-845, 2012.

AMINO, R.; THIBERGE, S.; MARTIN, B.; CELLI, S.; SHORTE, S.; FRISCHKNECHT, F.; MENARD, R. Quantitative imaging of Plasmodium transmission from mosquito to mammal. **Nat Med**, v. 12, n. 2, p. 220-224, 2006.

ARAUJO, J. Q.; CARNEIRO, J. W. D.; DE ARAUJO, M. T.; LEITE, F. H. A.; TARANTO, A. G. Interaction between artemisinin and heme. A Density Functional Theory study of structures and interaction energies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 5021-5029, 2008.

ARAUJO, J. Q.; CARNEIRO, J. W. D. M.; ARAUJO, M. T. D.; LEITE, F. H. A.; TARANTO, A. G. Interaction between artemisinin and heme. A Density Functional Theory study of structures and interaction energies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 5021-5029, 2008.

ARNOU, B.; MONTIGNY, C.; MORTH, J. P.; NISSEN, P.; JAXEL, C.; MOLLER, J. V.; MAIR, M. L. The Plasmodium falciparum Ca²⁺-ATPase PfATP6: insensitive to artemisinin, but a potential drug target. **Biochemical Society Annual Symposium**, v. 39, n. 3, p. 823-831, 2011.

AURRECOECHEA, C.; BRESTELLI, J.; BRUNK, B. P.; DOMMER, J.; FISCHER, S.; GAJRIA, B.; GAO, X.; GINGLE, A.; GRANT, G.; HARB, O. S.; HEIGES, M.; INNAMORATO, F.; IODICE, J.; KISSINGER, J. C.; KRAEMER, E.; LI, W.; MILLER, J. A.; NAYAK, V.; PENNINGTON, C.; PINNEY, D. F.; ROOS, D. S.; ROSS, C.; STOECKERT, C. J., JR.; TREATMAN, C.; WANG, H. PlasmoDB: a functional genomic database for malaria parasites. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. Database issue, p. D539-43, 2009.

BALINT, G. A. Artemisinin and its derivatives - An important new class of antimalarial agents. **Pharmacol Ther**, v. 90, n. 2-3, p. 261-265, 2001.

BANO, N.; ROMANO, J. D.; JAYABALASINGHAM, B.; COPPENS, I. Cellular interactions of Plasmodium liver stage with its host mammalian cell. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 12, p. 1329-1341, 2007.

BAUMEISTER, S.; WINTERBERG, M.; DURANTON, C.; HUBER, S. M.; LANG, F.; KIRK, K.; LINGELBACH, K. Evidence for the involvement of Plasmodium falciparum proteins in the formation of new permeability pathways in the erythrocyte membrane. **Molecular Microbiology**, v. 60, n. 2, p. 493-504, 2006.

BEESON, J. G.; BROWN, G. V. Pathogenesis of Plasmodium falciparum malaria: the roles of parasite adhesion and antigenic variation. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 59, n. 2, p. 258-271, 2002.

BERMAN, H. M.; KLEYWEGT, G. J.; NAKAMURA, H.; MARKLEY, J. L. The Future of the Protein Data Bank. **Biopolymers**, v. 99, n. 3, p. 218-222, 2013.

BORDOLI, L.; KIEFER, F.; ARNOLD, K.; BENKERT, P.; BATTEY, J.; SCHWEDE, T. Protein structure homology modeling using SWISS-MODEL workspace. **Nature Protocols**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2009.

BRUCE-CHWATT, L. **Essential malariology**. 2nd. John Wiley and Sons New York, 1985. 452pp Disponível em: <
<http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736%2888%2991012-4/fulltext>>.

BUTCHER, G. Antimalarial drugs and the mosquito transmission of Plasmodium. **International Journal for Parasitology**, v. 27, p. 975 - 987, 1997.

CAMARGO, E. P. Malária, Maleita, Paludismo. **Endemias**, p. 26-30, 2003.

CAMERON, A.; READ, J.; TRANTER, R.; WINTER, V. J.; SESSIONS, R. B.; BRADY, R. L.; VIVAS, L.; EASTON, A.; KENDRICK, H.; CROFT, S. L.; BARROS, D.; LAVANDERA, J. L.; MARTIN, J. J.; RISCO, F.;

GARCÍA-OCHOA, S.; GAMO, F. J.; SANZ, L.; LEON, L.; RUIZ, J. R.; GABARRÓ, R.; MALLO, A.; DE LAS HERAS, F. G. Identification and Activity of a Series of Azole-based Compounds with Lactate Dehydrogenase-directed Anti-malarial Activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 30, p. 31429-31439, 2004.

CARROLO, M.; GIORDANO, S.; CABRITA-SANTOS, L.; CORSO, S.; VIGARIO, A. M.; SILVA, S.; LEIRIAO, P.; CARAPAU, D.; ARMAS-PORTELA, R.; COMOGLIO, P. M.; RODRIGUEZ, A.; MOTA, M. M. Hepatocyte growth factor and its receptor are required for malaria infection. **Nat Med**, v. 9, n. 11, p. 1363-1369, 2003.

CHAKRAVORTY, S. J.; CRAIG, A. The role of ICAM-1 in Plasmodium falciparum cytoadherence. **European Journal of Cell Biology**, v. 84, n. 1, p. 15-27, 2005.

CHEN, X.; CHONG, C. R.; SHI, L.; YOSHIMOTO, T.; SULLIVAN, D. J., JR.; LIU, J. O. Inhibitors of Plasmodium falciparum methionine aminopeptidase 1b possess antimalarial activity. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 39, p. 14548-53, 2006.

COPPI, A.; TEWARI, R.; BISHOP, J. R.; BENNETT, B. L.; LAWRENCE, R.; ESKO, J. D.; BILLKER, O.; SINNIS, P. Heparan Sulfate Proteoglycans Provide a Signal to Plasmodium Sporozoites to Stop Migrating and Productively Invade Host Cells. **Cell host & microbe**, v. 2, n. 5, p. 316-327, 2007.

COSTA, K. M. D. M.; DE ALMEIDA, W. A. F.; MAGALHÃES, I. B.; MONTOYA, R.; MOURA, M. S.; DE LACERDA, M. V. G. Malária em Cruzeiro do Sul (Amazônia Ocidental brasileira): análise da série histórica de 1998 a 2008. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 28, n. 5, p. 81-82, 2010.

COX-SINGH, J.; DAVIS, T. M. E.; LEE, K.-S.; SHAMSUL, S. S. G.; MATUSOP, A.; RATNAM, S.; RAHMAN, H. A.; CONWAY, D. J.; SINGH, B. Plasmodium knowlesi Malaria in Humans Is Widely Distributed and Potentially Life Threatening. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 2, p. 165-171, 2008.

CROFT, S. Antimalarial Chemotherapy: Mechanisms of Action, Resistance and New Directions in Drug Discovery. **Drug Discovery Today**, v. 6, n. 22, p. 1151, 2001.

CUI, L.; YAN, G.; SATTABONGKOT, J.; CAO, Y.; CHEN, B.; CHEN, X.; FAN, Q.; FANG, Q.; JONGWUTIWES, S.; PARKER, D.; SIRICHASINTHOP, J.; KYAW, M. P.; SU, X.-Z.; YANG, H.; YANG, Z.; WANG, B.; XU, J.; ZHENG, B.; ZHONG, D.; ZHOU, G. Malaria in the Greater Mekong Subregion: Heterogeneity and complexity. **Acta Tropica**, v. 121, n. 3, p. 227-239, 2012.

DE PILLA VAROTTI, F.; BOTELHO, A. C. C.; ANDRADE, A. A.; DE PAULA, R. C.; FAGUNDES, E. M. S.; VALVERDE, A.; MAYER, L. M. U.; MENDONÇA, J. S.; DE SOUZA, M. V. N.; BOECHAT, N.; KRETTLI, A.

U. Synthesis, Antimalarial Activity, and Intracellular Targets of MEFAS, a New Hybrid Compound Derived from Mefloquine and Artesunate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 11, p. 3868-3874, 2008.

DEPLAINE, G.; SAFEUKUI, I.; JEDDI, F.; LACOSTE, F.; BROUSSE, V.; PERROT, S.; BILIGUI, S.; GUILLOTTE, M.; GUITTON, C.; DOKMAK, S.; AUSSILHOU, B.; SAUVANET, A.; CAZALS HATEM, D.; PAYE, F.; THELLIER, M.; MAZIER, D.; MILON, G.; MOHANDAS, N.; MERCEREAU-PUIJALON, O.; DAVID, P. H.; BUFFET, P. A. The sensing of poorly deformable red blood cells by the human spleen can be mimicked in vitro. **Blood**, v. 117, n. 8, p. e88-e95, 2011.

DERBYSHIRE, E. R.; MOTA, M. M.; CARDY, J. The next opportunity in anti-malaria drug discovery: the liver stage. **PLoS pathogens**, v. 7, n. 9, 2011.

DONDORP, A. M.; NOSTEN, F.; YI, P.; DAS, D.; PHYO, A. P.; TARNING, J.; LWIN, K. M.; ARIEY, F.; HANPITHAKPONG, W.; LEE, S. J.; RINGWALD, P.; SILAMUT, K.; IMWONG, M.; CHOTIVANICH, K.; LIM, P.; HERDMAN, T.; AN, S. S.; YEUNG, S.; SINGHASIVANON, P.; DAY, N. P. J.; LINDEGARDH, N.; SOCHEAT, D.; WHITE, N. J. Artemisinin Resistance in Plasmodium falciparum Malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 5, p. 455-467, 2009.

ECKSTEIN-LUDWIG, U.; WEBB, R. J.; VAN GOETHEM, I. D. A.; EAST, J. M.; LEE, A. G.; KIMURA, M.; O'NEILL, P. M.; BRAY, P. G.; WARD, S. A.; KRISHNA, S. Artemisinins target the SERCA of Plasmodium falciparum. **Nature**, v. 424, n. 6951, p. 957-961, 2003.

FERRARONI, J. J.; SPEER, C. A.; HAYES, J.; SUZUKI, M. Prevalence of Chloroquine-Resistant Falciparum Malaria in the Brazilian Amazon. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n. 3, p. 526-530, 1981.

FONSECA, A. L.; NUNES, R. R.; COMAR JR, M.; ALVES, R. J.; VAROTTI, F. P.; TARANTO, A. G. Estudos de dinâmica molecular das interações proteína-ligantes da pfht. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2, p. 111-113, 2013.

FRANCA, T. C. C.; DOS SANTOS, M. G.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malaria: Historical aspects and chemotherapy. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1271-1278, 2008.

FRANÇA, T. C. C.; SANTOS, M. G. D.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v. 31, p. 1271-1278, 2008.

FREVERT, U.; USYNIN, I.; BAER, K.; KLOTZ, C. Nomadic or sessile: can Kupffer cells function as portals for malaria sporozoites to the liver? **Cellular Microbiology**, v. 8, n. 10, p. 1537-1546, 2006.

GARCIA, L. S. Malaria. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 30, n. 1, p. 93-129, 2010.

GARDNER, M. J.; HALL, N.; FUNG, E.; WHITE, O.; BERRIMAN, M.; HYMAN, R. W.; CARLTON, J. M.; PAIN, A.; NELSON, K. E.; BOWMAN, S.; PAULSEN, I. T.; JAMES, K.; EISEN, J. A.; RUTHERFORD, K.; SALZBERG, S. L.; CRAIG, A.; KYES, S.; CHAN, M.-S.; NENE, V.; SHALLOM, S. J.; SUH, B.; PETERSON, J.; ANGIUOLI, S.; PERTEA, M.; ALLEN, J.; SELENGUT, J.; HAFT, D.; MATHER, M. W.; VAIDYA, A. B.; MARTIN, D. M. A.; FAIRLAMB, A. H.; FRAUNHOLZ, M. J.; ROOS, D. S.; RALPH, S. A.; MCFADDEN, G. I.; CUMMINGS, L. M.; SUBRAMANIAN, G. M.; MUNGALL, C.; VENTER, J. C.; CARUCCI, D. J.; HOFFMAN, S. L.; NEWBOLD, C.; DAVIS, R. W.; FRASER, C. M.; BARRELL, B. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **Nature**, v. 419, n. 6906, p. 498-511, 2002.

GOODMAN, C. D.; MCFADDEN, G. I. Targeting apicoplasts in malaria parasites. **Expert Opin Ther Targets**, v. 17, n. 2, p. 167-77, 2013.

GREENWOOD, B.; BRADLEY, A.; GREENWOOD, A.; BYASS, P.; JAMMEH, K.; MARSH, K.; TULLOCH, S.; OLDFIELD, F.; HAYES, R. Mortality and morbidity from malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 81, p. 478 - 486, 1987.

GREENWOOD, B. M.; FIDOCK, D. A.; KYLE, D. E.; KAPPE, S. H. I.; ALONSO, P. L.; COLLINS, F. H.; DUFFY, P. E. Malaria: progress, perils, and prospects for eradication. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 4, p. 1266-1276, 2008.

GROBUSCH, M.; KREMSNER, P. Uncomplicated malaria. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 295, p. 83 - 104, 2005.

GUEIRARD, P.; TAVARES, J.; THIBERGE, S.; BERNEX, F.; ISHINO, T.; MILON, G.; FRANKE-FAYARD, B.; JANSE, C. J.; MÉNARD, R.; AMINO, R. Development of the malaria parasite in the skin of the mammalian host. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 43, p. 18640-18645, 2010.

GUIGUEMDE, W. A.; SHELAT, A. A.; BOUCK, D.; DUFFY, S.; CROWTHER, G. J.; DAVIS, P. H.; SMITHSON, D. C.; CONNELLY, M.; CLARK, J.; ZHU, F.; JIMÉNEZ-DÍAZ, M. B.; MARTINEZ, M. S.; WILSON, E. B.; TRIPATHI, A. K.; GUT, J.; SHARLOW, E. R.; BATHURST, I.; MAZOUNI, F. E.; FOWBLE, J. W.; FORQUER, I.; MCGINLEY, P. L.; CASTRO, S.; ANGULO-BARTUREN, I.; FERRER, S.; ROSENTHAL, P. J.; DERISI, J. L.; SULLIVAN, D. J.; LAZO, J. S.; ROOS, D. S.; RISCOE, M. K.; PHILLIPS, M. A.; RATHOD, P. K.; VAN VOORHIS, W. C.; AVERY, V. M.; GUY, R. K. Chemical genetics of *Plasmodium falciparum*. **Nature**, v. 465, n. 7296, p. 311-315, 2010.

HAFALLA, J. C.; SILVIE, O.; MATUSCHEWSKI, K. Cell biology and immunology of malaria. **Immunological Reviews**, v. 240, n. 1, p. 297-316, 2011.

HAY, S. I.; GUERRA, C. A.; TATEM, A. J.; NOOR, A. M.; SNOW, R. W. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 6, p. 327-336, 2004.

HEPPNER, D. G.; BALLOU, V. R. Malaria in 1998: advances in diagnosis, drugs and vaccine development. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 11, n. 5, p. 519-530, 1998.

HYDE, J. E. Drug-resistant malaria – an insight. **FEBS Journal**, v. 274, n. 18, p. 4688-4698, 2007.

IONITA, M.; KRISHNA, S.; LEO, P. M.; MORIN, C.; PATEL, A. P. Interaction of O-(undec-10-en)-yl-D-glucose derivatives with the *Plasmodium falciparum* hexose transporter (PfHT). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 17, p. 4934-4937, 2007.

JOET, T.; ECKSTEIN-LUDWIG, U.; MORIN, C.; KRISHNA, S. Validation of the hexose transporter of *Plasmodium falciparum* as a novel drug target. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 13, p. 7476-9, 2003.

JUNIOR, M. C.; DE ASSIS, S. A.; GOES-NETO, A.; DUARTE, A. A.; ALVES, R. J.; TARANTO, A. G. Structure-based drug design studies of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase, a key enzyme for the control of witches' broom disease. **Chem Cent J**, v. 7, n. 1, p. 48, 2013.

KAGER, P. A. Malaria control: constraints and opportunities. **Tropical Medicine & International Health**, v. 7, n. 12, p. 1042-1046, 2002.

KIRK, K.; HORNER, H. A.; KIRK, J. Glucose uptake in *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes is an equilibrative not an active process. **Mol Biochem Parasitol**, v. 82, n. 2, p. 195-205, 1996.

KIRK, K.; MARTIN, R. E.; BRÖER, S.; HOWITT, S. M.; SALIBA, K. J. Plasmodium Permeomics: Membrane Transport Proteins in the Malaria Parasite. In: COMPANS, R. W.; COOPER, M. D.; HONJO, T.; KOPROWSKI, H.; MELCHERS, F.; OLDSTONE, M. B. A.; OLSNES, S.; POTTER, M.; VOGT, P. K.; WAGNER, H.; SULLIVAN, D. e KRISHNA, S. (Ed.). **Malaria: Drugs, Disease and Post-genomic Biology**: Springer Berlin Heidelberg, v.295, 2005. cap. 13, p.325-356. (Current Topics in Microbiology and Immunology). ISBN 978-3-540-25363-1.

KIRK, K.; SALIBA, K. J. Targeting nutrient uptake mechanisms in *Plasmodium*. **Current drug targets**, v. 8, n. 1, p. 75-88, 2007.

KITCHENER, S.; NASVELD, P.; EDSTEIN, M. D. Tafenoquine for the treatment of recurrent Plasmodium vivax malaria. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 3, p. 494-496, 2007.

KRAEMER, S. M.; SMITH, J. D. A family affair: var genes, PfEMP1 binding, and malaria disease. **Current Opinion in Microbiology**, v. 9, n. 4, p. 374-380, 2006.

KRISHNA, S.; BUSTAMANTE, L.; HAYNES, R. K.; STAINES, H. M. Artemisinins: their growing importance in medicine. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, n. 10, p. 520-527, 2008.

KRISHNA, S.; ECKSTEIN-LUDWIG, U.; JOËT, T.; UHLEMANN, A.-C.; MORIN, C.; WEBB, R.; WOODROW, C.; KUN, J. F. J.; KREMSNER, P. G. Transport processes in Plasmodium falciparum-infected erythrocytes: potential as new drug targets. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 13, p. 1567-1573, 2002.

KRISHNA, S.; PULCINI, S.; FATIH, F.; STAINES, H. Artemisinins and the biological basis for the PfATP6/SERCA hypothesis. **Trends in Parasitology**, v. 26, n. 11, p. 517-523, 2010.

KROGSTAD, D. J.; GLUZMAN, I. Y.; HERWALDT, B. L.; SCHLESINGER, P. H.; WELLEMS, T. E. Energy dependence of chloroquine accumulation and chloroquine efflux in Plasmodium falciparum. **Biochemical Pharmacology**, v. 43, n. 1, p. 57-62, 1992.

LAISHRAM, D.; SUTTON, P.; NANDA, N.; SHARMA, V.; SOBTI, R.; CARLTON, J.; JOSHI, H. The complexities of malaria disease manifestations with a focus on asymptomatic malaria. **Malaria Journal**, v. 11, n. 1, p. 29, 2012.

LAUER, S. A.; RATHOD, P. K.; GHORI, N.; HALDAR, K. A Membrane Network for Nutrient Import in Red Cells Infected with the Malaria Parasite. **Science**, v. 276, n. 5315, p. 1122-1125, 1997.

LEITE, F. H. A.; CARNEIRO, J. W. D.; DE ARAUJO, M. T.; COMAR, M.; TARANTO, A. G. Docking between natural peroxides and heme group by parametric method 6. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 112, n. 20, p. 3390-3397, 2012.

LEMUCHI, M. O.; VIEIRA, M. S.; GRANJEIRO, P. A.; SILVA, J. A. D.; LIMA, W. J. N.; GONÇALVES, D. B.; GALDINO, A. S.; COMAR JR, M.; TARANTO, A. G. Uso de modelagem comparativa na determinação estrutural de fitase de Yersinia. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 1, 2013.

LINDNER, S. E.; MILLER, J. L.; KAPPE, S. H. I. Malaria parasite pre-erythrocytic infection: preparation meets opportunity. **Cellular Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 316-324, 2012.

LUZHKOV, V. B.; SELISKO, B.; NORDQVIST, A.; PEYRANE, F.; DECROLY, E.; ALVAREZ, K.; KARLEN, A.; CANARD, B.; ÅQVIST, J. Virtual screening and bioassay study of novel inhibitors for dengue virus mRNA cap (nucleoside-2'O)-methyltransferase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 24, p. 7795-7802, 2007.

MACRAE, J. I.; MARECHAL, E.; BIOT, C.; BOTTE, C. Y. The apicoplast: a key target to cure malaria. **Curr Pharm Des**, v. 18, n. 24, p. 3490-504, 2012.

MANNING, S. K.; WOODROW, C.; ZUNIGA, F. A.; ISEROVICH, P.; FISCHBARG, J.; LOUW, A. I.; KRISHNA, S. Mutational analysis of the hexose transporter of Plasmodium falciparum and development of a three-dimensional model. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 34, p. 30942-9, 2002.

MARINHO, V. M. C.; SEIDL, P. R.; LONGO, W. P. E. The Government's Role as a Main Actor in Pharmaceuticals R&D-a Case Study. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1912-1917, 2008.

MARSH, K.; FORSTER, D.; WARUIRU, C.; MWANGI, I.; WINSTANLEY, M.; MARSH, V.; NEWTON, C.; WINSTANLEY, P.; WARN, P.; PESHU, N.; PASVOL, G.; SNOW, R. Indicators of Life-Threatening Malaria in African Children. **New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 21, p. 1399-1404, 1995.

MARTIN, R. E.; KIRK, K. Transport of the essential nutrient isoleucine in human erythrocytes infected with the malaria parasite Plasmodium falciparum. **Blood**, v. 109, n. 5, p. 2217-2224, 2007.

MBENGUE, A.; YAM, X. Y.; BRAUN-BRETON, C. Human erythrocyte remodelling during Plasmodium falciparum malaria parasite growth and egress. **British Journal of Haematology**, v. 157, n. 2, p. 171-179, 2012.

MENENDEZ, C.; FLEMING, A. F.; ALONSO, P. L. Malaria-related Anaemia. **Parasitology Today**, v. 16, n. 11, p. 469-476, 2000.

MILLER, L. H.; ACKERMAN, H. C.; SU, X. Z.; WELLEMS, T. E. Malaria biology and disease pathogenesis: insights for new treatments. **Nat Med**, v. 19, n. 2, p. 156-67, 2013.

MILLER, L. H.; BARUCH, D. I.; MARSH, K.; DOUMBO, O. K. The pathogenic basis of malaria. **Nature**, v. 415, n. 6872, p. 673-679, 2002.

MITA, T.; TANABE, K. Evolution of Plasmodium falciparum drug resistance: implications for the development and containment of artemisinin resistance. **Japanese journal of infectious diseases**, v. 65, n. 6, p. 465-475, 2012.

MOTA, M. M.; PRADEL, G.; VANDERBERG, J. P.; HAFALLA, J. C. R.; FREVERT, U.; NUSSENZWEIG, R. S.; NUSSENZWEIG, V.; RODRÍGUEZ, A. Migration of Plasmodium Sporozoites Through Cells Before Infection. **Science**, v. 291, n. 5501, p. 141-144, 2001.

MUGNAINI, C.; RAJAMAKI, S.; TINTORI, C.; CORELLI, F.; MASSA, S.; WITVROUW, M.; DEBYSER, Z.; VELJKOVIC, V.; BOTTA, M. Toward novel HIV-1 integrase binding inhibitors: Molecular modeling, synthesis, and biological studies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 19, p. 5370-5373, 2007.

NAIK, P. K.; SRIVASTAVA, M.; BAJAJ, P.; JAIN, S.; DUBEY, A.; RANJAN, P.; KUMAR, R.; SINGH, H. The binding modes and binding affinities of artemisinin derivatives with Plasmodium falciparum Ca²⁺-ATPase (PfATP6). **Journal of Molecular Modeling**, v. 17, n. 2, p. 333-357, 2011.

NAULA, C. M.; LOGAN, F. M.; WONG, P. E.; BARRETT, M. P.; BURCHMORE, R. J. A Glucose Transporter Can Mediate Ribose Uptake: DEFINITION OF RESIDUES THAT CONFER SUBSTRATE SPECIFICITY IN A SUGAR TRANSPORTER. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 39, p. 29721-29728, 2010.

NEWMAN, R. D. Malaria control beyond 2010. **British Medical Journal**, v. 340, 2010.

NUNES, R. R.; FONSECA, A. L.; ALVES, R. J.; COMAR JR, M.; TARANTO, A. G. Validação In silico do transportador de hexose do *Plasmodium falciparum* (Pfht). **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2, p. 108-110, 2013.

OBERHARDT, M. A.; PALSSON, B. O.; PAPIN, J. A. Applications of genome-scale metabolic reconstructions. **Mol Syst Biol**, v. 5, 2009.

OLESEN, C.; PICARD, M.; WINTHER, A. M.; GYRUP, C.; MORTH, J. P.; OXVIG, C.; MOLLER, J. V.; NISSEN, P. The structural basis of calcium transport by the calcium pump. **Nature**, v. 450, n. 7172, p. 1036-42, 2007.

OLIVEIRA-FERREIRA, J.; LACERDA, M.; BRASIL, P.; LADISLAU, J.; TAUIL, P.; DANIEL-RIBEIRO, C. Malaria in Brazil: an overview. **Malaria Journal**, v. 9, n. 1, p. 115, 2010.

PHIMPRAPHI, W.; PAUL, R.; YIMSAMRAN, S.; PUANGSA-ART, S.; THANYAVANICH, N.; MANEEBOONYANG, W.; PROMMONGKOL, S.; SORNKLOM, S.; CHAIMUNGKUN, W.; CHAVEZ, I.; BLANC, H.; LOOAREESUWAN, S.; SAKUNTABHAI, A.; SINGHASIVANON, P. Longitudinal study of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax in a Karen population in Thailand. **Malaria Journal**, v. 7, n. 1, p. 99, 2008.

PLATA, G.; HSIAO, T.-L.; OLSZEWSKI, K. L.; LLINASMANUEL; VITKUP, D. Reconstruction and flux-balance analysis of the Plasmodium falciparum metabolic network. **Mol Syst Biol**, v. 6, 2010.

PONSFORD, M. J.; MEDANA, I. M.; PRAPANSILP, P.; HIEN, T. T.; LEE, S. J.; DONDORP, A. M.; ESIRI, M. M.; DAY, N. P. J.; WHITE, N. J.; TURNER, G. D. H. Sequestration and Microvascular Congestion Are Associated With Coma in Human Cerebral Malaria. **Journal of Infectious Diseases**, v. 205, n. 4, p. 663-671, 2012.

PRICE, R. N.; TJITRA, E.; GUERRA, C. A.; YEUNG, S.; WHITE, N. J.; ANSTEY, N. M. Vivax Malaria: Neglected and Not Benign. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 6 Suppl, p. 79-87, 2007.

PULCINI, S.; STAINES, H. M.; PITTMAN, J. K.; SLAVIC, K.; DOERIG, C.; HALBERT, J.; TEWARI, R.; SHAH, F.; AVERY, M. A.; HAYNES, R. K.; KRISHNA, S. Expression in Yeast Links Field Polymorphisms in PfATP6 to in Vitro Artemisinin Resistance and Identifies New Inhibitor Classes. **Journal of Infectious Diseases**, v. 208, n. 3, p. 468-478, 2013.

RALPH, S. A.; D'OMBRAIN, M. C.; MCFADDEN, G. I. The apicoplast as an antimalarial drug target. **Drug Resistance Updates**, v. 4, n. 3, p. 145-151, 2001.

RÉNIA, L.; HOWLAND, S. W.; CLASER, C.; GRUNER, A. C.; SUWANARUSK, R.; TEO, T.-H.; RUSSELL, B.; NG, L. F. P. Cerebral malaria: Mysteries at the blood-brain barrier. **Virulence**, v. 3, n. 2, p. 193-201, 2012.

RILEY, E. M.; STEWART, V. A. Immune mechanisms in malaria: new insights in vaccine development. **Nat Med**, v. 19, n. 2, p. 168-78, 2013.

ROBERT, A.; COPPEL, Y.; MEUNIER, B. Alkylation of heme by the antimalarial drug artemisinin. **Chemical Communications**, n. 5, p. 414-415, 2002.

ROBERT, A.; MEUNIER, B. Characterization of the first covalent adduct between artemisinin and a heme model. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, n. 25, p. 5968-5969, 1997.

ROGIER, C.; HENRY, M. C.; TRAPE, J. F. [Epidemiologic evaluation of malaria in endemic areas]. **Med Trop (Mars)**, v. 69, n. 2, p. 123-42, 2009.

ROSENTHAL, P. J. Antimalarial drug discovery: old and new approaches. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 21, p. 3735-3744, 2003.

ROSS, D. S.; CRAWFORD, M. J.; DONALD, R. G. K.; FRAUNHOLZ, M.; HARB, O. S.; HE, C. Y.; KISSINGER, J. C.; SHAW, M. K.; STRIEPEN, B. Mining the Plasmodium genome database to define organellar function: what does the apicoplast do? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 357, n. 1417, p. 35-46, 2002.

ROWE, J. A.; CLAESSENS, A.; CORRIGAN, R. A.; ARMAN, M. Adhesion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes to human cells: molecular mechanisms and therapeutic implications. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 11, p. null-null, 2009.

SÁ, I. M. D. A resistência à cloroquina e a busca de antimalaríais entre as décadas de 1960 e 1980. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 18, p. 407-430, 2011.

SAHU, N. K.; SAHU, S.; KOHLI, D. V. Novel Molecular Targets for Antimalarial Drug Development. **Chem Biol Drug Des**, v. 71, n. 4, p. 287-297, 2008.

SCHOFIELD, L.; MUELLER, I. Clinical immunity to malaria. **Curr Mol Med**, v. 6, p. 205 - 221, 2006.

SCHUMANN, R. R. Malarial fever: Hemozoin is involved but Toll-free. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 6, p. 1743-1744, 2007.

SIBLEY, C. H.; HYDE, J. E.; SIMS, P. F. G.; PLOWE, C. V.; KUBLIN, J. G.; MBERU, E. K.; COWMAN, A. F.; WINSTANLEY, P. A.; WATKINS, W. M.; NZILA, A. M. Pyrimethamine-sulfadoxine resistance in Plasmodium falciparum: what next? **Trends in Parasitology**, v. 17, n. 12, p. 570-571, 2001.

SIJWALI, P. S.; KOO, J.; SINGH, N.; ROSENTHAL, P. J. Gene disruptions demonstrate independent roles for the four falcipain cysteine proteases of Plasmodium falciparum. **Mol Biochem Parasitol**, v. 150, n. 1, p. 96-106, 2006.

SILVA, R. D.; HOCHMAN, G. Um método chamado Pinotti: sal medicamentoso, malária e saúde internacional (1952-1960). **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 18, p. 519-544, 2011.

SILVIE, O.; FRANETICH, J.-F.; BOUCHEIX, C.; RUBINSTEIN, E.; MAZIER, D. Alternative invasion pathways for plasmodium berghei sporozoites. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 2, p. 173-182, 2007.

RECEIVED 30 Nov 2013

ACCEPTED 25 MAR 2014