

Marta Alexandra Macedo Moreira

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2021

Marta Alexandra Macedo Moreira

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2021

Marta Alexandra Macedo Moreira

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Marta Alexandra Macedo Moreira

Trabalho apresentado à Universidade

Fernando Pessoa como parte dos requisitos

para obtenção de grau de Mestre em

Ciências Farmacêuticas

Porto, 2021

Resumo

Nos últimos anos verificou-se um aumento das infecções fúngicas invasivas, devido ao aumento da esperança de vida e do número de doentes imunodeprimidos e ao aparecimento de resistência aos antifúngicos.

Durante muito tempo a terapêutica era limitada, utilizando-se na maior parte das vezes a anfotericina B. Apesar de ser bastante eficaz contra a maioria das infecções este fármaco apresenta efeitos colaterais consideráveis, em particular a nefrotoxicidade, o que limita o seu uso. Depois de algumas décadas surgiram novas classes terapêuticas: os azóis e posteriormente as equinocandinas, que demonstraram exercer menor toxicidade em humanos.

De facto, a evolução científica tem permitindo o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos. As diretrizes na pesquisa destas novas moléculas são que estas possam ter maior eficiência, exercer menor toxicidade, tenham novos mecanismos de ação, menos interações medicamentosas e que possam ter atividade em novos agentes patogénicos emergentes.

Esta dissertação destaca novas terapias em desenvolvimento clínico. Os fármacos em causa têm novos mecanismos de ação, de forma a superar as resistências, novas formulações com vantagens em relação às terapias atuais para melhorar os perfis de segurança e reduzir as interações.

Os agentes referidos nesta revisão têm como alvo a parede celular (a rezafungina e ibrexafungerp) ou a membrana celular (a CAmB e o isavuconazol) havendo também um fármaco (olorofim) que apresenta um novo mecanismo de ação.

Palavras-chave: “fungos”, “infecção fúngica invasiva”, “antifúngicos”, “anfotericina B”, “azóis”, “tratamento”, “resistência”, “libertação modificada”, “encapsulação”

Abstract

Over the past few years there has been an increase in invasive fungal infections, due to longer average lifespan, the number of immunocompromised patients and the appearance of resistance to antifungals.

For a long time, therapy was limited, most of the time only using amphotericin B. Despite being quite effective against most infections, this drug has considerable side effects, in particular nephrotoxicity, which limits its use. After a few decades, have emerged new therapeutic classes : azois and later echinocandins, which have been shown to have less toxicity for humans.

In fact, scientific progress allowed the development of new antifungal drugs. The guidelines for the research of these new molecules are that they can be more efficient, result in less toxicity, have new mechanisms of action, less drug interactions and have activity agaisnt new emerging pathogens.

This dissertation emphasise new therapies in clinical development. The drugs in question have new mechanisms of action, in order to overcome resistance, new formulations with advantages over current therapies, to improve safety profiles and reduce interactions.

The agents referred in this review target the cell wall (rezafungin and ibrexafungerp) or the cell membrane (CAmB and isavuconazole) and there is also a drug (olorophin) that has a new mechanism of action.

Keywords: “fungal”, “invasive fungal infections”, “antifungal”, “amphotericin B”, “azoles”, “treatment”, “resistance”, “modified release”, “encapsulated”

Dedicatórias

Aos meus Pais, por todo o esforço que fizeram por mim ao longo deste percurso, por sempre acreditarem e por me terem dando a oportunidade de adquirir formação acadêmica, mas sobretudo pelo amor eterno, afeto e educação que sempre me inculcaram, vocês são tudo para mim.

Dedico ao meu irmão Jorge, pelo cuidado, amor e pela paciência que tem comigo. Eu sei que posso contar com ele e ele comigo para sempre.

Aos meus avós, que graças a Deus ainda estão cá presentes, para que com orgulho possam ver a primeira neta a se formar.

Agradecimentos

Com a realização desta tese de Mestrado chega ao fim um ciclo de 5 anos de muito trabalho, dedicação, aprendizagem e muitas alegrias. Este trabalho só foi possível realizá-lo através da contribuição de algumas pessoas, sendo que, é a estas que aqui deixo o meu agradecimento

Agradeço aos meus Pais pela oportunidade que me foi dada, sem vocês não seria possível, obrigado pelo vosso carinho em todos os momentos.

Ao meu namorado, pela força transmitida, pela paciência e pelo amor demonstrado em todo o caminho que já percorremos juntos.

Um agradecimento em especial à Joana que iniciou esta etapa comigo, e a finalizou também ao meu lado. Juntas passamos por este ciclo, juntas ficamos e juntas para sempre havemos de ficar, obrigada por me ajudares tanto e estares sempre ao meu lado. Sem ti FARMÁCIA não seria tão fenomenal!

Agradeço à minha Orientadora, a Professora Doutora Rita Catarino, por toda a orientação científica, por todos os conhecimentos transmitidos, disponibilidade, conselhos e sugestões.

E por último agradeço a toda a equipa docente da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, ao longo da formação académica do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Agradeço pelo ótimo acolhimento e por todos os ensinamentos que levo para a minha futura vida profissional.

Índice

I.	Introdução	1
II.	Classificação das infecções fúngicas	5
1.	Micose Superficial.....	6
2.	Micose Subcutânea	8
3.	Micose Sistêmica.....	8
i.	Micose Sistêmica Dimórfica.....	9
ii.	Micose Sistêmica Oportunista	11
III.	Terapêutica	13
1.	Antifúngicos Poliênicos (Anfotericina B)	13
i.	Novos Estudos	15
a)	MAT2203/CAmB.....	15
2.	Derivados Azólicos.....	20
i.	Novos Estudos	23
a)	Isavuconazol (BAL 4815)	23
3.	Antimetabolitos (Flucitosina; 5-FC).....	26
4.	Equinocandinas.....	29
i.	Novos Estudos	34

a) Rezafungina (CD101)	34
IV. Novas classes de antifúngicos	39
1. Triterpenóides.....	39
i. Ibrexafungerp (SCY-078)	39
2. Orotomidas	42
i. Olorofim (F901318).....	42
V. Conclusão	46
VI. Bibliografia	47

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura química da molécula de AmB (adaptado de Seyedmousavi et al., 2017).....	13
Figura 2: Mecanismo de ação da Anfotericina B. (adaptado de https://drfungus.org/)..	14
Figura 3: Libertação do fármaco a partir da formulação LNC (adaptado de https://www.matinasbiopharma.com/lnc-technology/lnc-platform)	16
Figura 4: Mecanismo de ação de MAT 2203 (adaptado de Skipper <i>et al.</i> , 2020).....	17
Figura 5: Concentração de AmB no fígado e pulmão (adaptado de Mannino e Perlin, 2015	18
Figura 6: A sobrevivência de camundongos após inoculação por via IV de <i>C. neoformans</i> tratados com CAmB PO 25 mg/kg/dia e CAmB PO 25 mg/kg/dia + 5FC (adaptado de Lu et al,2019)	19
Figura 7: Estrutura química da molécula de cetoconazol (retirado de Seyedmousavi et al., 2017).....	20
Figura 8: Estrutura química da molécula de itraconazol (retirado de Seyedmousavi et al., 2017).....	21
Figura 9: Mecanismo de ação dos azóis (adaptado de https://drfungus.org/)	22

Figura 10: Estrutura química da molécula do pró-fármaco (BAL8557), produto inativo (BAL8728) e produto ativo (BAL4815) (adaptado de Perea e Rada, 2018).....	24
Figura 11: Estrutura química da molécula 5-FC (adaptado de Vandeputte et al., 2012)	27
Figura 12: Mecanismo de ação de 5-FC (adaptado de https://drfungus.org/)	28
Figura 13: Estrutura química da molécula de caspofungina (A), anidulafungina (B) e micafungina (C) (adaptado de Chen et al, 2011).....	31
Figura 14: Mecanismo de ação das equinocandinas (adaptado de https://drfungus.org/)	31
Figura 15: Estrutura química da molécula rezafungina (adaptado de Krishnan et al., 2017).....	34
Figura 16: Comparação da acumulação do fármaco em doses múltiplas de micafungina (5 mg / kg) e uma dose única de rezafungina (CD101) (20 mg / kg) (adaptado de Zhao et al., 2017).....	37
Figura 17: Estrutura química da molécula ibrexafungerp (adaptado de Ghannoum <i>et al.</i> , 2020).....	39
Figura 18: Mecanismo de ação do ibrexafungerp (SCY-078) (adaptado de Ghannoum et al., 2020).....	40
Figura 19: Estrutura química da molécula olorofim (adaptado de Wiederhold, 2020)..	43

Lista de Abreviaturas

ALT - Alanina aminotransferase;

AST - Aspartato aminotransferase;

AmB – Anfotericina B;

AUC - Área média sob a curva de concentração-tempo, do inglês *Area Under the Curve*;

CMI - Concentração Mínima Inibitória;

Cl – *Clearance*;

C_{max} – Concentração máxima;

CYP – Citocromo P450;

DHODH - Diidroorotato desidrogenase;

EMA - Agência europeia do medicamento, do inglês *European Medicines Agency*;

FDA – Administração Federal de Alimentos e Medicamentos, do inglês *Food and Drug Administration*;

gpP - Glicoproteína P;

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*;

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde;

IFI's – Infecções Fúngicas Invasivas;

IL – Interleucina;

IV – Intravenosa;

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

LNC - Nanocristais Lipídicos, do inglês *Lipid Nanocrystals*;

PC- Parede Celular;

QIDP – Produto Qualificado para Doenças Infeciosas, do inglês *Qualified Infectious Disease Product*;

SIDA - Síndrome da Imuno Deficiência Adquirida;

SRE - Sistema Reticuloendotelial;

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa, do inglês *Tumor Necrosis Factor Alpha*;

T_{1/2} – Tempo de semi-vida;

UGT – Glucuronosiltransferase;

5-FC – Flucitosina;

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

I. Introdução

As infeções fúngicas invasivas (IFI's) não são comuns no ser humano a não ser em situações em que o seu sistema imune se encontra comprometido. No entanto, o aumento da esperança de vida, o crescente número de transplantados (submetidos a terapêutica imunossupressora para impedir a rejeição do órgão transplantado), o acréscimo de doentes oncológicos, o crescente número de portadores de HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*), etc., têm contribuído para um aumento da incidência e da gravidade das infeções fúngicas nas últimas décadas. As IFI's constituem um dos principais motivos de mortalidade e morbidade em todos os doentes com o sistema imunitário deprimido (Spitzer *et al.*, 2017; Magina, 2014).

Estima-se que as IFI's sejam responsáveis por 1,5 milhões de mortes por ano em todo mundo. De entre as IFI's destacam-se a candidíase invasiva (taxa de letalidade de cerca de 30-40%), a criptococose (taxa de letalidade de 20-30%) e a aspergilose (taxa de letalidade de 20-30%). No entanto, novas espécies emergentes de fungos patogénicos como os *Zygomycetes*, *Fusarium* e *Scedosporium*, têm-se tornado mais importantes como agentes etiológicos de micoses invasivas (Campoy e Adrio, 2017; Castelli *et al.*, 2014).

Os fungos são seres vivos eucariotas unicelulares ou pluricelulares. Existem mais de 250 mil espécies de fungos, das quais cerca de 150 podem causar infeções no ser humano. O desenvolvimento de fármacos com ação antifúngica torna-se mais complicado pelo facto de haver muitas semelhanças entre as células fúngicas e as células do hospedeiro. Estas semelhanças dificultam, a obtenção de toxicidade seletiva, ou seja, dificultam a identificação/desenvolvimento de fármacos eficientes para eliminar ou inibir a multiplicação dos fungos, sem originar toxicidade para o hospedeiro (Edwards, 2017b).

Apesar do aumento das IFI's existem, ainda, poucas classes de agentes antifúngicos destacando-se os polienos (primeiros agentes a serem desenvolvidos), os azóis, as equinocandinas e os análogos de nucleótidos (Seyedmousavi *et al.*, 2017; Klepser, 2011).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Estes agentes têm o seu efeito farmacológico limitado devido à existência de toxicidade e ao aparecimento de mecanismos de resistência (caso das bombas de efluxo, modificação dos locais alvo de ação e alterações na composição da membrana fúngica). A ação de alguns antifúngicos também pode estar condicionada pelas propriedades físico-químicas das moléculas (por exemplo alguns antifúngicos apresentam uma eficácia menor devido à sua baixa solubilidade aquosa) (Klepser, 2011; Nosanchuk, 2006; Solimana, 2017).

Em 1903 foi utilizado o iodeto de potássio como primeiro agente antifúngico para o tratamento de esporotricose, mas só foram descobertas as primeiras classes de antifúngicos orgânicos 4 décadas depois. Em 1939 foi isolada a griseofulvina a partir de *Penicillium griseo-fulvum*, passando esta molécula a ser utilizada especificamente para o tratamento de doenças provocadas por fungos em 1958 (Oxford *et al.*, 1939; Gentles, 1958).

Em 1956 Gold isolou a Anfotericina B (AmB) a partir de culturas de *Streptomyces nodosus* e em 1965 foi aprovada pela Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA, do inglês *Food and Drug Administration*) a sua utilização terapêutica. A AmB veio revolucionar o tratamento das infeções fúngicas, pois antes do seu aparecimento as IFI's eram na maioria das vezes fatais (por exemplo, a histoplasmose antes da introdução da AmB na terapêutica apresentava uma mortalidade de cerca de 85%, e com a introdução deste fármaco a taxa de mortalidade diminuiu para cerca de 23%). A AmB foi utilizada durante 30 anos para o tratamento de infeções fúngicas invasivas, porém o seu uso é limitado devido aos seus efeitos colaterais tóxicos, em particular a nefrotoxicidade (Edwards, 2017b; Freitas e Vaz, 2014; Magina, 2014; Wu, 1994; Espinel-Ingroff, 1996).

Na década de 1960 foi acrescentado ao arsenal terapêutico antifúngico, um derivado pirimidínico, a flucitosina (pertencente ao grupo dos antimetabolitos). Inicialmente desenvolvida como antineoplásico, esta molécula veio a demonstrar possuir atividade antifúngica. Porém devido ao rápido desenvolvimento de resistências que surgiram em

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

resultado do uso da flucitosina em monoterapia, a sua aplicação terapêutica passou a ser limitada à terapia combinada com a AmB (Lewis e Fothergill, 2015).

Só na década de 1970 são introduzidos os azóis, como alternativa para o tratamento das IFI's. Contudo devido à fraca absorção oral, o seu uso inicialmente era limitado. Perto da década de 1990 foram incluídos no tratamento antifúngico os triazóis, sendo estes melhor tolerados que os anteriores. Nesta época foram também introduzidas as formulações lipídicas de AmB, que reduziram a toxicidade exercida pela AmB convencional (Freitas, 2010).

As equinocandinas constituem o grupo mais recente de antifúngicos. Atuam inibindo a síntese do glucano presente na parede celular (PC) dos fungos. Como a PC tem um papel fundamental na sobrevivência dos fungos e como esta estrutura não está presente nas células do hospedeiro (Homem) antecipava-se que as equinocandinas fossem antifúngicos ideais, exercendo pouca toxicidade em humanos. Contudo a cilofungina (primeira equinocandina conhecida desde a década de 80 do século passado) não chegou a concluir os ensaios clínicos devido à sua toxicidade. Só em 2001 a FDA aprovou o uso da caspofungina, sendo esta a primeira equinocandina aprovada pela referida agência para o tratamento das IFI's (Lewis e Fothergill, 2015).

Face ao exposto, continua a ser atual e pertinente a investigação de novas moléculas com ação antifúngica, bem como a reformulação das moléculas já existentes, de modo a se alcançar uma maior eficácia terapêutica (mesmo em relação aos novos agentes patogénicos emergentes), com o mínimo de toxicidade.

O objetivo desta monografia consistiu em efetuar uma revisão bibliográfica alusiva ao tratamento farmacológico das infeções fúngicas sistémicas avaliando-se todos os aspetos relevantes acerca dos fármacos atualmente utilizados dando especial ênfase às novas moléculas em estudo e às novas formas de veiculação destes fármacos. Pretendeu-se realçar as diferentes estratégias utilizadas para alcançar toxicidade seletiva e debater as perspetivas futuras.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

A pesquisa bibliográfica para a concretização desta monografia foi efetuada num período compreendido entre os meses de outubro 2019 e de outubro de 2020, através das bases de dados *PubMed*, *Science Direct*, *Springer* e também entidades reguladoras do medicamento como a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (.INFARMED), FDA e a Agência Europeia do Medicamento (EMA, do inglês *European Medicines Agency*). As palavras-chave utilizadas foram: “fungos”, “infecção fúngica invasiva”, “antifúngicos”, “anfotericina B”, “azóis”, “tratamento”, “resistência”, “libertação modificada”, “encapsulação” Foram considerados os livros e artigos científicos dos últimos 15 anos.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

II. Classificação das infecções fúngicas

Os fungos têm um papel fundamental na vida do Homem. Com efeito, alguns destes organismos são usados desde tempos remotos na alimentação (cogumelos) e no fabrico de produtos alimentares, tais como pão, cerveja, vinho e queijo. São também usados para a produção de alguns medicamentos e exercem uma importante função na degradação da matéria orgânica. Porém alguns fungos podem provocar infecções nos seres humanos, que podem assumir particular gravidade em doentes imunocomprometidos (Walker e White, 2011).

Os fungos são organismos eucariotas, estão inseridos no reino *Eumycota* e as suas células diferenciam-se das restantes por possuírem ergosterol na membrana citoplasmática e apresentarem uma PC rígida que contém uma rede de glucanos e quitina. O ergosterol tem um papel fundamental na estrutura, permeabilidade e na fluidez da membrana citoplasmática dos fungos e a sua ausência pode levar à inibição do crescimento. A PC dos fungos patogénicos é o grande alvo para o desenvolvimento da terapia antifúngica, pois tem um papel importante na interação com o hospedeiro e também os torna impermeáveis a muitas substâncias antifúngicas (Chakrabarti e Sethuraman, 2017; Gonçalves, 2014; Leite *et al.*, 2006).

Os fungos são químio-heterotróficos e têm formas e dimensões variadas conforme o estado nutricional e temperatura. Podem ser unicelulares, ou seja, constituídos por uma única célula, ou pluricelulares - filamentosos, muitos deles podem ainda apresentar as duas formas, denominando-se dimórficos. Os fungos podem ser saprófitos, simbiontes, comensais ou parasitas, reproduzindo-se de forma assexuada ou sexuada, no qual ocorre a produção de esporos (Bergold e Georgiadis, 2004; Gonçalves, 2014; Murray *et al.*, 2016).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

As infecções fúngicas podem ser classificadas de várias maneiras. Assim, designa-se de infecção fúngica primária toda a infecção que ocorre num hospedeiro saudável e de infecção fúngica oportunista toda a infecção que se verifica num hospedeiro com o sistema imune comprometido. Estes grupos podem ainda ser divididos, conforme a localização da infecção: micoses superficiais (se a infecção está limitada à superfície); micoses subcutâneas (caso os agentes patogénicos afetam o tecido subcutâneo); e micoses sistémicas (quando o fungo atravessa a corrente sanguínea e se dissemina pelos sistemas internos) (Sullivan *et al.*, 2011).

1. Micoze Superficial

A exposição diária da pele, cabelos e unhas leva a que as micoses superficiais sejam as mais comuns, sendo as mais frequentes as dermatofitoses, a candidíase e a pitiríase versicolor. Geralmente a pele concebe uma barreira eficiente que impede que os microrganismos patogénicos entrem nos tecidos mais profundos. Contudo algumas espécies de fungos desenvolveram mecanismos de forma a poderem colonizar a superfície da pele (Sullivan *et al.*, 2011).

Os dermatófitos são os fungos que causam a dermatofitose, são parasitas da pele, pêlos, cabelo e unhas pois utilizam queratina como nutriente, infetando áreas onde esta está presente em abundância (Freitas e Vaz, 2014).

Podem ser classificados de acordo com a morfologia e a formação de conídios, podendo ser ainda divididos em antropofílicos (contágio entre humanos), zoofílicos (entre animais e humanos) e geofílicos (do solo ao homem), podendo haver ainda contaminação por objetos que estejam contaminados por esporos. Consoante a localização da infecção é possível distinguir as dermatofitoses: nos pés (pé de atleta), nas virilhas (esta está associada à tinea dos pés), nas unhas (onicomicoses), no couro cabeludo e na barba (Freitas e Vaz, 2014; Sullivan *et al.*, 2011).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Habitualmente estas infeções são autolimitadas e os fármacos utilizados são a griseofulvina (utilizado apenas na tinha do couro cabeludo), o itraconazol, o fluconazol e a terbinafina, geralmente por via tópica, utilizando-se a terapêutica sistémica quando a infeção é extensa, recorrente ou crónica e quando a terapêutica tópica é ineficaz. Além da terapêutica farmacológica é importante haver uma intervenção não farmacológica. Assim é necessário alertar o doente dos fatores de risco, de forma a que adote medidas preventivas, diminuindo o número de casos de dermatofitoses (Freitas e Vaz, 2014).

A candidíase é provocada pela espécie *Candida*, no qual *Candida albicans* tem maior predomínio. Esta pertence à flora normal do trato gastrointestinal e da vagina, mas fatores como a diabetes, estados de carência nutricional, doentes imunossuprimidos, recém-nascidos e utilização de antibióticos que podem modificar a flora bacteriana, beneficiam o crescimento destes fungos, que podem assim passar de comensais a parasitas (Freitas e Vaz, 2014).

A candidíase pode ser classificada de acordo com a sua localização como candidíase oral, pequenas e grandes pregas, genital masculina e feminina. A infeção define-se com exsudado branco pastoso e com prurido intenso. O tratamento destina-se a diminuir o número de colónias de *Candida* e também amenizar os sintomas, realizando-se um tratamento tópico (nistatina e derivado imidazólicos) ou por via oral (itraconazol ou fluconazol) (Freitas e Vaz, 2014).

A pitiríase versicolor tem como agente causador a *Malassezia*, um fungo lipófilo, comensal da pele. É a infeção fúngica superficial mais frequente, benigna e recorrente. É mais frequente no jovem adulto com pele seborreica. As lesões geralmente são caracterizadas por manchas rosadas, hipopigmentadas, redondas e com descamação ligeira. Em casos graves podem-se formar manchas grandes e assimétricas. A infeção ocorre principalmente na face, pescoço, braços e tronco. Fatores como imunodeficiência, pele oleosa, desnutrição, hiperidrose, exposição solar ou a altas temperaturas e humidade predispõem para o aparecimento da pitiríase versicolor. Para o tratamento da pitiríase versicolor dá-se preferência à via tópica, devido aos reduzidos efeitos adversos,

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

utilizando-se derivados imidazólicos, a piritiona de zinco e o sulfureto de selênio (Freitas e Vaz, 2014; Gupta e Lyons, 2014).

2. Micose Subcutânea

Geralmente os fungos responsáveis pela micose subcutânea são saprófitos do solo, podendo ser isolados da madeira, solo e em matéria orgânica em decomposição. Na maior parte das vezes são inseridos traumáticamente, atravessando a pele, até ao tecido subcutâneo e osso. A exposição está frequentemente relacionada com atividades ao ar livre. As principais doenças originadas por introdução dos fungos são a esporotricose, cromoblastomicose, feohifomicose, micetoma e zigomicose. Estas doenças geralmente não se difundem pelos restantes órgãos, porque estes agentes fúngicos tem baixo potencial patogénico. No entanto pode haver disseminação através da corrente sanguínea ou pelos vasos linfáticos evoluído de acordo com o agente etiológico e o estado imunológico da pessoa (Freitas e Vaz, 2014; Murray *et al.*, 2016).

Estas doenças normalmente não respondem bem ao tratamento, sendo usualmente utilizado o itraconazol, a terbinafina e o iodeto de potássio em tratamentos de longa duração. Em situações mais graves pode ser necessário tratamento cirúrgico (Freitas e Vaz, 2014).

3. Micose Sistémica

Estas infeções são normalmente contraídas pela inalação de esporos patogénicos, originando uma infeção primária nos pulmões que se pode espalhar aos pelos restantes órgãos. Os fungos que causam infeções sistémicas podem ser divididos em dois grupos: os dimórficos e os oportunistas.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

i. Micose Sistémica Dimórfica

Existem fungos com capacidade de invadirem e se desenvolverem nos tecidos de um hospedeiro saudável mas também em doentes imunodeprimidos originando uma infeção sistémica, como blastomicose, coccidiomicose, histoplasmose e paracoccidiomicose. A virulência destes fungos deve-se ao facto de apresentarem duas formas: forma filamentosa (em momentos de escassez) e forma de levedura (em meios ricos). São fungos endémicos, estando limitados a zonas geográficas específicas, onde são libertados na forma de esporos na natureza. Os indivíduos que recuperam da infeção adquirem imunidade prevenindo uma nova reinfeção, embora pacientes com doenças crónicas geralmente apresentem uma doença subjacente grave. O diagnóstico destas micoses pode ser difícil pelo facto destas terem um período longo de incubação e só se manifestarem após o paciente deixar a área endémica. Muitas vezes, a infeção mesmo estando inativa, pode ser reativada quando o sistema imune está comprometido. Para o tratamento utiliza-se AmB ou triazóis (Freitas e Vaz, 2014; Richardson e Warnock, 2003).

A blastomicose ocorre na região sudoeste dos EUA, é uma infeção sistémica que resulta da inalação de esporos de *Blastomyces dermatitidis*, surgindo a germinação nos pulmões. Geralmente a infeção é assintomática pois o sistema imunológico inativa o agente patogénico, mas alguns doentes desenvolvem pneumonia aguda ou crónica. Em dois terços dos casos há disseminação hematogénea para pele e tecido ósseo, podendo ainda manifestar-se no sistema nervoso central (SNC), hepático, renal, prostático e esplénico. A blastomicose não é comum em indivíduos imunocomprometidos, mas quando ocorre abrange o SNC. O tratamento varia com a gravidade do quadro clínico e o estado imunológico do doente. Assim, em casos mais graves utiliza-se a AmB e em casos de menor relevância utiliza-se o itraconazol ou o fluconazol (Freitas e Vaz, 2014; Sullivan e Nolan, 2017).

A coccidiomicose é provocada por duas espécies de fungos dimórficos *C. immitis* e *C. posadasii*, sendo diferente o genótipo e a sua distribuição geográfica. A *C. immitis* está localizado na Califórnia e *C. posadasii* é responsável pela maior parte das infeções fora

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

desta região. A infecção ocorre pela inalação de artroconídios e pode variar de infecção assintomática a progressiva e morte. A coccidiomicose causa uma variedade de lesões assemelhando-se à sífilis e à tuberculose. A inalação dos esporos causa uma infecção pulmonar primária ou um estado gripal que normalmente é autolimitado conferindo imunidade à reinfeção. Cerca de 10% dos doentes que contraíram a infecção primária desenvolvem doenças alérgicas devido à formação de complexos imunes. Os doentes em que os sintomas se mantêm após 6 semanas, evoluem para uma infecção secundária com formação de nódulos, doença cavitária ou doença pulmonar progressiva. A disseminação sistémica estende-se para a pele, ossos, articulações e meninges. Nestes casos é necessário realizar tratamento iniciando com a AmB e de seguida um azol com duração de 12 meses para evitar recidivas. Eventualmente, pode haver necessidade de intervenção cirúrgica para tratar alguma complicação. A coccidiomicose, se não tratada, pode apresentar uma taxa de mortalidade de 90% (Ampel, 2017; Freitas e Vaz, 2014).

A histoplasmose é provocada por duas variedades *H. capsulatum* var. *capsulatum* e *H. capsulatum* var. *duboisii*. A primeira origina infecções pulmonares estando disseminada nos EUA, mais especificamente entre Ohio e Mississípi. A última causa lesões na pele e nos ossos e a sua origem está limitada ao continente africano, nas áreas tropicais. Na Europa os casos de histoplasmose são provenientes de imigrantes ou viajantes que regressaram de áreas endémicas. A contaminação está associada a atividades com alto nível de exposição ao fungo como escavações, limpeza de gaiolas de aves, demolições e corte de árvores mortas, pois o seu habitat são solos húmidos e com elevado teor de azoto, contaminados com dejetos de aves e morcegos (Freitas e Vaz, 2014; Hage e Wheat, 2017; Murray *et al.*, 2016).

A paracoccidiomicose é originada por *P. brasiliensis*, fungo endémico da América latina. Esta infecção é iniciada pela inalação de conídios, alojando-se nos pulmões, podendo depois disseminar pela via hematogénica ou linfática para o restante corpo, manifestando-se com mais frequência na boca, nariz e no trato gastrointestinal. Os macrófagos são capazes de controlar a infecção por *P. brasiliensis*, mas por norma não conseguem eliminar as leveduras que podem reativar até 50 anos depois, provocando doença pulmonar

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

progressiva crónica. A maioria dos casos ocorre no sexo masculino, em fumadores e alcoólicos. A infeção está geralmente associada a condições socioeconómicas, nutricionais e de higiene precárias. O tratamento é realizado durante 6 meses sendo o itraconazol o medicamento de primeira escolha. Em caso de recidiva utiliza-se primeiro a AmB e depois o itraconazol (Freitas e Vaz, 2014; Murray *et al.*, 2016).

ii. Micose Sistémica Oportunista

Devido ao aumento da população de risco este tipo de infeções, bem como morbilidade e mortalidade dos hospedeiros, tem aumentando durante as 2 últimas décadas. Os agentes patogénicos podem ser fungos comensais ou saprófitas sendo os mais comuns: *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus*. No entanto, novas espécies emergentes de fungos patogénicos como os *Zygomycetes*, *Fusarium* e *Scedosporium* têm-se tornado importantes agentes etiológicos de micoses invasivas. A resolução da infeção não confere proteção e pode ocorrer reinfeção se o sistema imune do hospedeiro estiver debilitado. Estes fungos estão distribuídos por todo mundo em oposição com a distribuição geográfica restrita da maioria dos fungos patogénicos dimórficos. Normalmente provocam doença severa associada a alta mortalidade (Freitas e Vaz, 2014; Richardson e Warnock, 2003).

A candidíase é a infeção oportunista mais frequente e é provocada pelo género *Candida*. Está presente nas mucosas, em todo o trato gastrointestinal e na pele. São descritos desde a antiguidade casos de candidíase em doentes debilitados, no entanto, desde que foram introduzidos agentes antifúngicos, a *C. albicans* deixou de ser a principal causa de candidíase, sendo agora responsáveis pela candidíase disseminada as espécies de *Candida* não *albicans*. Os fatores de risco mais comuns são a idade, o estado de imunossupressão, doença neoplásica ou transplantação de órgãos, presença de cateteres e utilização de antibióticos de largo espetro. A infeção fúngica provocada pela *Candida* pode-se expressar de 2 maneiras: através de um quadro clínico agudo de sépsis severa que não é possível distinguir da bacteriemia, ou através de um quadro menos grave caracterizado por febre constante apesar da utilização de antibióticos de largo espetro. O tratamento de primeira linha utilizado na candidíase são o fluconazol e as equinocandinas. No entanto

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

em alternativa podem também ser utilizados os novos triazóis e a AmB convencional ou com formulação lipídica. Para complementar a terapia podem ser retirados os cateteres e ocasionais abscessos, removendo assim eventuais nichos de infecção (Edwards, 2017a; Freitas e Vaz, 2014).

A criptococose é provocada por *Cryptococcus neoformans*, sendo mais comum a variante *C. neoformans* var. *neofarmans* a provocar infecção nos imunocomprometidos. A infecção é adquirida pela inalação dos esporos ou leveduras (presente nos solos contaminados com fezes de pombos), que se alojam nos pulmões, disseminando-se depois para o SNC, onde tem maior tropismo, originando meningite fúngica, a doença cutânea é mais rara. Esta infecção é mais comum nos doentes com SIDA (Síndrome da Imuno Deficiência Adquirida), sendo descrito como indicador de progressão para esta doença, porque quando os níveis de CD4⁺ atingem valores inferiores a 200/μL há uma grande probabilidade de adquirirem criptococose do SNC. A terapêutica realizada inclui um esquema de 2 semanas com AmB e flucitosina, continuando durante mais 8 semanas com fluconazol (Casadevall, 2017; Freitas e Vaz, 2014).

A aspergilose, provocada pelo fungo do género *Aspergillus* sp. pode apresentar-se de várias formas clínicas. Existem cerca de 19 espécies, no entanto, a maioria das infeções é provocada pela *A. fumigatus* e menos frequente pelas *A. flavus* e *A. niger*. Estes microrganismos crescem no solo, plantas e matéria orgânica em decomposição, estando presentes no ar, água e alimentos. A aspergilose pode ser do tipo pulmonar, onde a taxa de mortalidade pode exceder os 50%, podendo evoluir para infecção disseminada do SNC sendo a taxa de mortalidade alta se não for tratada. Para prevenir a infecção, os doentes de maior risco podem ser internados em quartos com ar filtrado. A terapêutica inclui a utilização de AmB. No entanto a introdução de voriconazol tem apresentado vantagens a nível de atividade e efeitos adversos (Cadena *et al.*, 2016; Freitas e Vaz, 2014; Murray *et al.*, 2016).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

III. Terapêutica

Os agentes antifúngicos disponíveis estão divididos em quatro classes, de acordo com o seu mecanismo de ação: os modificadores da integridade da membrana como os polienos (AmB) que interagem com os esteróis da membrana; os azóis que inibem a biossíntese do ergosterol; as equinocandinas que inibem a síntese da PC e os antimetabolitos que inibem a síntese dos ácidos nucleicos (Lewis, 2011).

1. Antifúngicos Poliênicos (Anfotericina B)

A AmB (Figura 1) pertence ao grupo dos antifúngicos poliênicos, que têm carácter anfotérico. Possui uma estrutura de 37 átomos de carbono formando um anel macrocíclico fechado por lactonização. Como todos os antifúngicos poliênicos, a AmB possui carácter anfipático, dado apresentar uma cadeia carbonada de duplas ligações conjugadas não substituídas e uma cadeia poli-hidroxilada com vários grupos hidroxilo livres (Filippin e Souza, 2006; Magina, 2014).

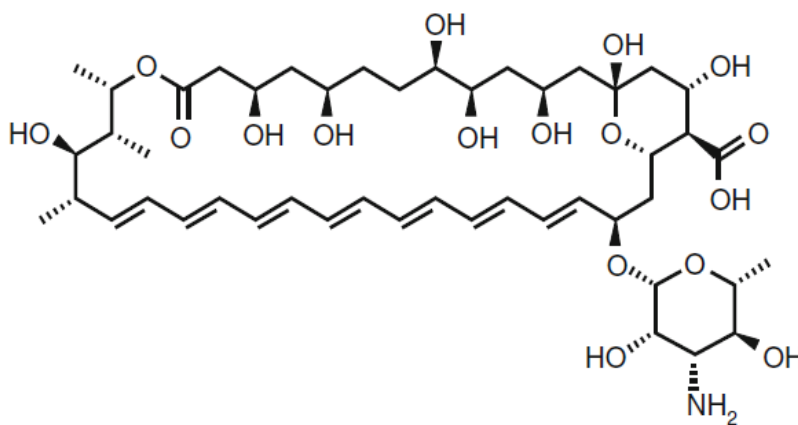


Figura 1: Estrutura química da molécula de AmB (adaptado de Seyedmousavi et al., 2017)

A AmB foi isolada a partir da estirpe de *Streptomyces nodulosus* e exerce atividade antifúngica devido à sua estrutura anfotérica, que lhe confere afinidade para a bicamada

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

lipídica da membrana celular fúngica. A AmB liga-se ao ergosterol (principal esteroide da membrana celular fúngica) formando poros na membrana. A formação de poros leva à alteração da permeabilidade, provocando desequilíbrio iônico e originando a perda do conteúdo intracelular (nomeadamente cationes, em especial, o potássio), que resulta na morte das células fúngicas (Figura 2). A AmB tem atividade fungicida e o seu espectro de ação é bastante amplo sendo ativa contra a maioria das leveduras e fungos filamentosos como por exemplo, *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* e *Cryptococcus* entre outros (Campoy e Adrio, 2017; Rang *et al.*, 2016).

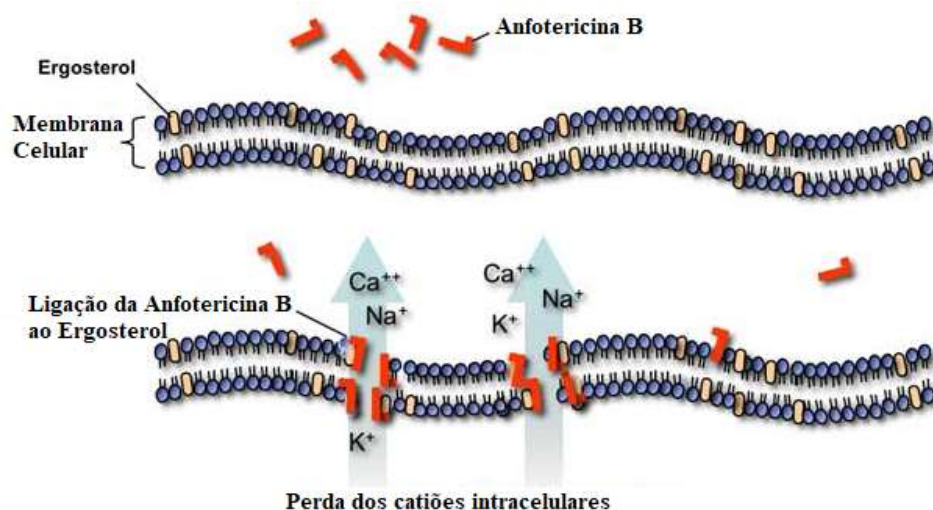


Figura 2: Mecanismo de ação da Anfotericina B. (adaptado de <https://drfungus.org/>)

A AmB tem uma ligeira afinidade para o colesterol da membrana celular do hospedeiro, o que explica a toxicidade associada ao seu uso, sendo responsável por vários efeitos adversos significativos como febre, arritmia, hipotensão, dificuldade respiratória, lesão tubular renal, insuficiência renal e anemia. É praticamente insolúvel na água sendo mal absorvida no trato gastrointestinal, o que justifica a necessidade de a administrar por via intravenosa (IV) (Campoy e Adrio, 2017; Nosanchuk, 2006).

Na década de 90 houve a introdução de 3 medicamentos nos quais a AmB é veiculada num complexo lipídico, apresentando em relação à AmB convencional menos efeitos

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

adversos: Abelcet[®] ABLC, Amphotec[®] ABCD e Ambisome[®] L-AMB (Campoy e Adrio, 2017; Nosanchuk, 2006).

De um modo geral, estas formulações diferem na estrutura e composição lipídica, forma, tamanho e conteúdo de AmB. Todas as formulações, tal como a AmB convencional, são metabolizadas pelos órgãos do sistema reticuloendotelial (SRE). No entanto, as formas lipídicas são acumuladas preferencialmente no fígado e nos pulmões, o que pode explicar a diminuição da incidência da nefrotoxicidade e cardiotoxicidade, e pelo contrário em algumas ocasiões, um aumento da hepatotoxicidade após repetidas administrações (Filippin e Souza, 2006).

i. Novos Estudos

a) MAT2203/CAmB

A Matinas BioPharma, uma companhia biofarmacêutica norte-americana desenvolveu uma nova forma de veicular fármacos que designou de nanocristais lipídicos (LNC, do inglês *Lipid Nanocrystals*). Os LNC apresentam uma estrutura em espiral e são preparados a partir de fosfolípidos, tais como a fosfatidilserina e de catiões cálcio. Da interação da fosfatidilserina (um fosfolípido carregado negativamente) com o cálcio, ocorre a formação de estruturas cristalinas altamente estáveis, não tóxicas e que apresentam múltiplas camadas e pouca ou nenhuma fase aquosa interna. Os LNC podem posteriormente encapsular fármacos, que ficam aprisionados entre as camadas, onde se encontram protegidos da água e de outros elementos externos. Esta forma inovadora de veicular fármacos tem vindo a ser testada para a administração de AmB – MAT2203/CAmB. As CAmB (Figura 3) permitem a administração oral da AmB, protegendo-a da degradação no trato gastrointestinal. Desta forma aumenta a entrega intracelular direcionada para os macrófagos, originando altas concentrações intracelulares e baixa concentração plasmática diminuindo a interação celular o que

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

resulta numa menor toxicidade sistémica (Aigner e Lass-Florl, 2020; Biopharma, 2020a; Skipper *et al.*, 2020).

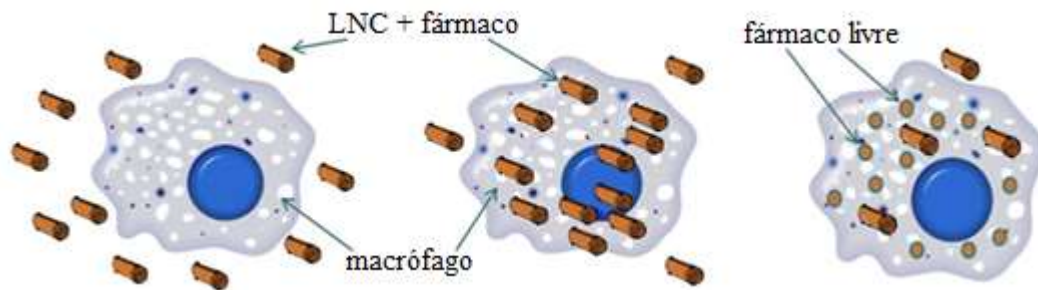


Figura 3: Libertação do fármaco a partir da formulação LNC (adaptado de <https://www.matinasbiopharma.com/lnc-technology/lnc-platform>)

A camada lipídica da CAmB funde-se com a superfície dos macrófagos, através da interação com os iões de cálcio. Como a concentração de cálcio é baixa dentro do citoplasma, ocorre a destabilização da estrutura do cocleado, libertando a AmB no interior dos macrófagos (Figura 4). Estes pela resposta humoral vão atuar no local de infeção, sendo assim necessários níveis plasmáticos mais baixos para atingir concentrações intracelulares eficazes do fármaco. Através da captação da CAmB pelos macrófagos, o fígado e o baço tornam-se reservatórios da AmB, libertando-a lentamente (Aigner e Lass-Florl, 2020; Faustino e Pinheiro, 2020; Segarra *et al.*, 2002).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

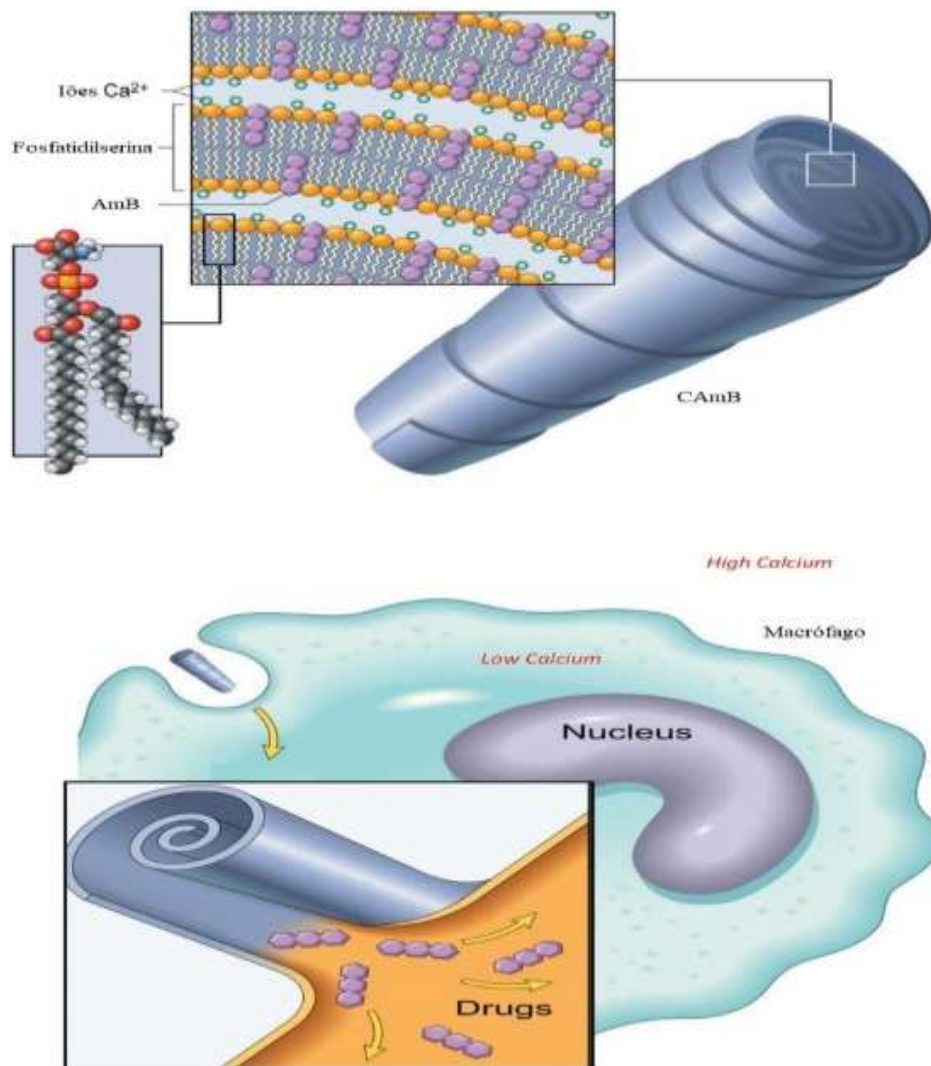


Figura 4: Mecanismo de ação de MAT 2203 (adaptado de Skipper *et al.*, 2020)

As desvantagens da utilização de cocleados são a instabilidade a temperaturas acima de 4°C, precipitação durante o armazenamento e elevado custo de fabricação (Shende *et al.*, 2019).

Em comparação com a AmB convencional foi demonstrado *in vitro* que a CAmB em concentrações até 500 µg AmB/mL não provoca hemólise, em oposição, à AmB convencional, que em concentrações inferiores é extremamente hemolítica, devido à

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

presença do desoxicolato de sódio que apresenta propriedades surfactantes (Zarif *et al.*, 2000).

Estudos *in vivo* comprovaram que após a administração por via oral de 10mg/kg de CAmB em ratos com candidíase disseminada, a concentração máxima de AmB foi alcançada após 3 dias (Figura 5) ao contrário da AmB convencional, que atingiu a concentração máxima de AmB mais tarde. Os referidos estudos permitiram ainda verificar que para atingir concentrações intracelulares eficazes de AmB são necessários níveis plasmáticos mais baixos, originado menor toxicidade.

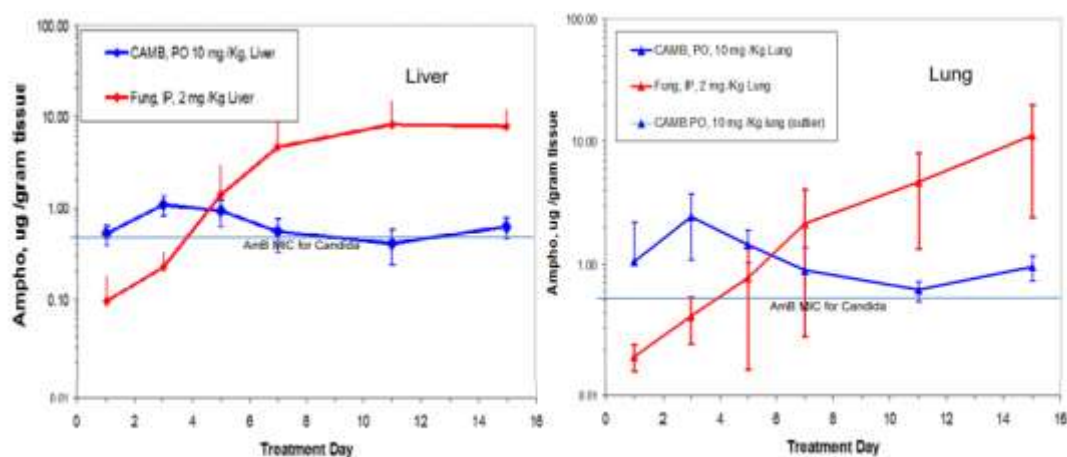


Figura 5: Concentração de AmB no fígado e pulmão (adaptado de Mannino e Perlin, 2015)

A administração de CAmB (25 mg/kg/dia) em associação com a flucitosina (5-FC) no tratamento de meningite criptocócica traduziu-se numa sinergia (Figura 6). Foi também comprovado que a administração de CAmB em ratos machos ou fêmeas não originou diferença significativa na eficácia e segurança. Utilizou-se CAmB marcada com fluorescência para indicar a entrega AmB no SNC tendo-se constatado que para haver a entrega tem de existir como pré-requisito uma infeção prévia. A utilização de CAmB não originou alterações relevantes de TNF- α e de IL-1 β . Ao contrário do que acontece com as formas lipossômicas de AmB, estas reações inflamatórias devem-se as impurezas dos

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

lipossomas, originando efeitos adversos como febre e toxicidade renal o que justifica a ausência de toxicidade quando é utilizada a CAmB (Aigner e Lass-Florl, 2020; Lu *et al.*, 2019; Manino e Perlin, 2015; Santangelo *et al.*, 2000).

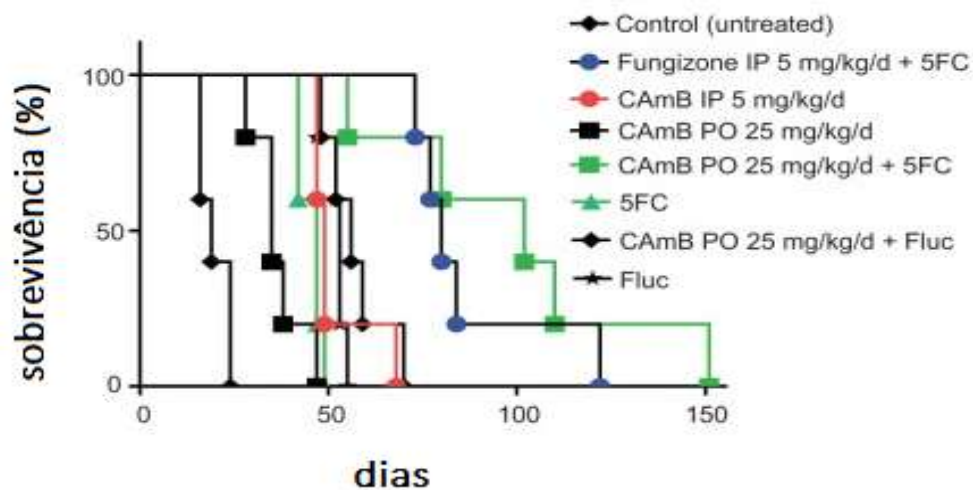


Figura 6: A sobrevivência de camundongos após inoculação por via IV de *C. neoformans* tratados com CAmB PO 25 mg/kg/dia e CAmB PO 25 mg/kg/dia + 5FC (adaptado de Lu et al,2019)

Foram também realizados testes de fase I e II em voluntários saudáveis. Nos testes de fase I foram administradas doses de 200, 400 e 800 mg por via oral. Verificou-se que a incidência de efeitos secundários relatados se encontrava dependente da dose (6%, 38% e 56%, respetivamente), sendo essencialmente de natureza gastrointestinal. Foram também calculadas as concentrações máximas (C_{max} : 28,11; 37,09; 40,76 ng/ml para as respetivas doses) e a área média sob a curva de concentração-tempo (AUC_{0-24} : 407,4; 522,9; 624,5 ng.h/ml) (Biederdorf *et al.*, 2016).

Atualmente encontram-se a decorrer vários estudos de fase I e II. Está planeado um estudo para avaliar a eficácia, tolerabilidade e segurança em pacientes infetados pelo HIV com

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

meningite criptocócica. Será comparado o tratamento com AmB administrada por via IV padrão com a administração de MAT2203/CAmB (Biopharma, 2020b).

Em 2015, a FDA qualificou a MAT2033/CAmB num *Qualified Infectious Disease Product* (QIDP) e *status fast track*, para o tratamento de *Aspergillus*, candidíase invasiva e prevenção de IFI's, facilitando o seu desenvolvimento e agilizando a sua revisão, para desta forma permitir o acesso a medicamentos novos de uma forma mais célere aos doentes no caso de patologias graves (BioSpace, 2015; FDA, 2018).

2. Derivados Azólicos

Esta classe terapêutica divide-se em 2 grandes grupos, os imidazóis e os triazóis. Do grupo dos imidazóis, só o cetoconazol (Figura 7), pode ser utilizado por via sistémica. No entanto, o seu uso é desaconselhado pela EMA, pois concluiu-se que o risco de lesão hepática é superior aos benefícios. Os triazóis são moléculas mais recentes e neste grupo inclui-se o itraconazol (Figura 8), o fluconazol, o voriconazol e o posaconazol. Estes diferem dos imidazóis por apresentarem 3 átomos de azoto no anel azólico (INFARMED, 2013; Magina, 2014).

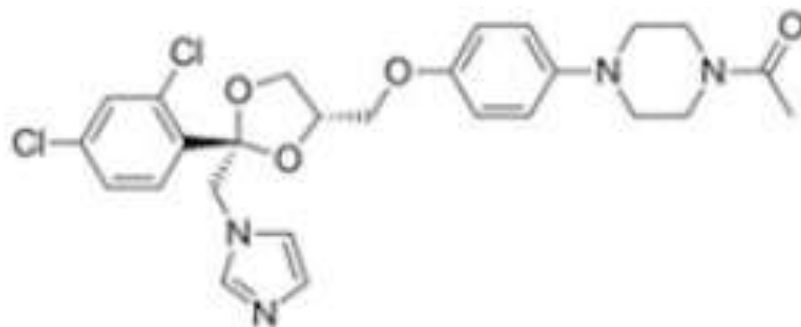


Figura 7: Estrutura química da molécula de cetoconazol (retirado de Seyedmousavi et al., 2017)

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

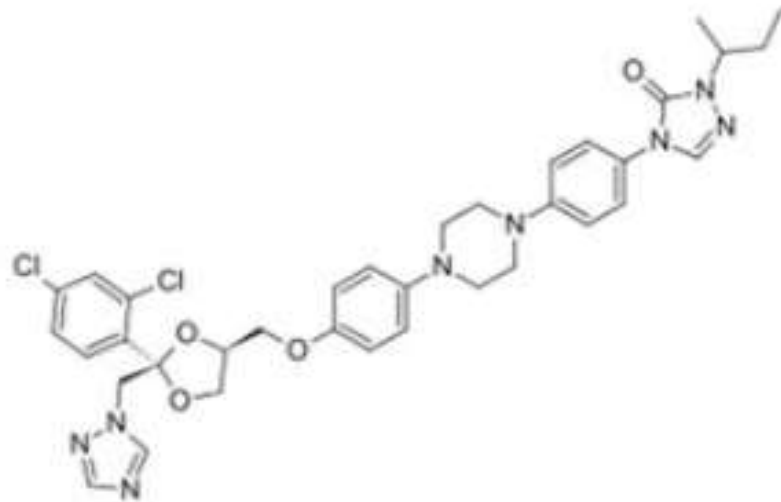


Figura 8: Estrutura química da molécula de itraconazol (retirado de Seyedmousavi et al., 2017)

Os derivados azólicos atuam inibindo a enzima esterol 14- α -desmetilase, dependente do citocromo P450 (CYP51) codificada pelo gene ERG11, que converte lanosterol em ergosterol. Esta enzima contém uma unidade de porfirina no seu local ativo. Os azóis ligam-se a este local e desta forma inibem a síntese do ergosterol (componente da membrana celular das células fúngicas), acumulando 14- α -metilesteróis (Figura 9). Esta ação é específica pois este grupo terapêutico tem maior afinidade para as enzimas da célula fúngica do que para as enzimas do citocromo P450 humanas. Este facto explica a atividade antifúngica mais potente e o espectro mais amplo, menos efeitos laterais e interações farmacológicas e melhor biodisponibilidade e distribuição nos tecidos (Bustamante *et al.*, 2017; Campoy e Adrio, 2017; Magina, 2014; Seyedmousavi *et al.*, 2017).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

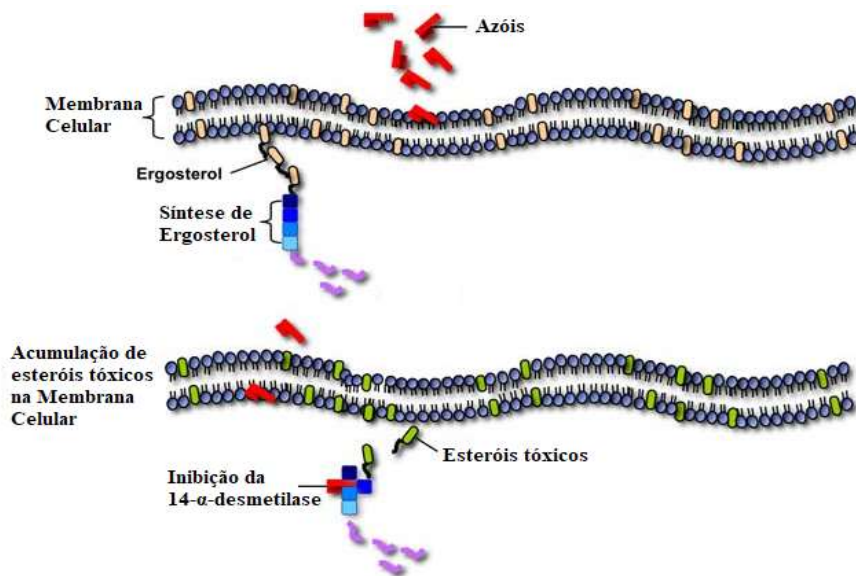


Figura 9: Mecanismo de ação dos azóis (adaptado de <https://drfungus.org/>)

Os azóis apresentam atividade sobre *Candida*, *Cryptococcus*, *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Histoplasma* e *Paracoccidioides*. O itraconazol apresenta um espectro mais amplo, conseguindo atuar no *Sporothrix schenckii* e *Aspergillus* spp. O uso prolongado destes antifúngicos conduz ao aparecimento de resistências. Estas podem envolver a redução da permeabilidade aos azóis e possíveis alterações na membrana celular. Os mecanismos de resistência incluem a ativação de bombas de efluxo, que promove a diminuição da concentração intracelular do fármaco, mutações no gene ERG11 (que conduzem à alteração ou aumento da CYP51) e mutações no gene ERG3 que se traduzem em alterações da via de síntese do ergosterol. Os efeitos laterais são geralmente bem tolerados, sendo os mais frequentes relacionados com o trato gastrointestinal (como náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal) e com o tecido hepático (subida das enzimas hepáticas) (Vieira e Nascimento, 2017; Magina, 2014).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

i. Novos Estudos

a) Isavuconazol (BAL 4815)

O isavuconazol é um triazol de segunda geração que, em 2015, foi aprovado pela FDA e pela EMA para o tratamento de aspergilose e mucormicose invasiva em doentes com 18 anos ou mais. Este fármaco é uma opção quando o uso da AmB é inadequado (Denis *et al.*, 2018).

Como possui baixa solubilidade em água, o isavuconazol é administrado sobre a forma de pró-fármaco (BAL8557), o sulfato de isavuconazônio. Após administração, este sal, solúvel em água, sofre uma reação catalisada por esterases dando origem ao composto ativo, o isavuconazol, e a um produto inativo (o BAL8728) (Figura 10). Tal como os restantes azóis, atua inibindo a enzima esterol 14- α -desmetilase, alterando a estrutura e função da membrana fúngica. No entanto, apresenta maior afinidade para a unidade de porfirina da enzima, apresentando por isso atividade contra alguns patógenos resistentes a outros azóis, nomeadamente o itraconazol, voriconazol e posaconazol (Jenks *et al.*, 2018; Perea e Rada, 2018; Shirley e Scott, 2016).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

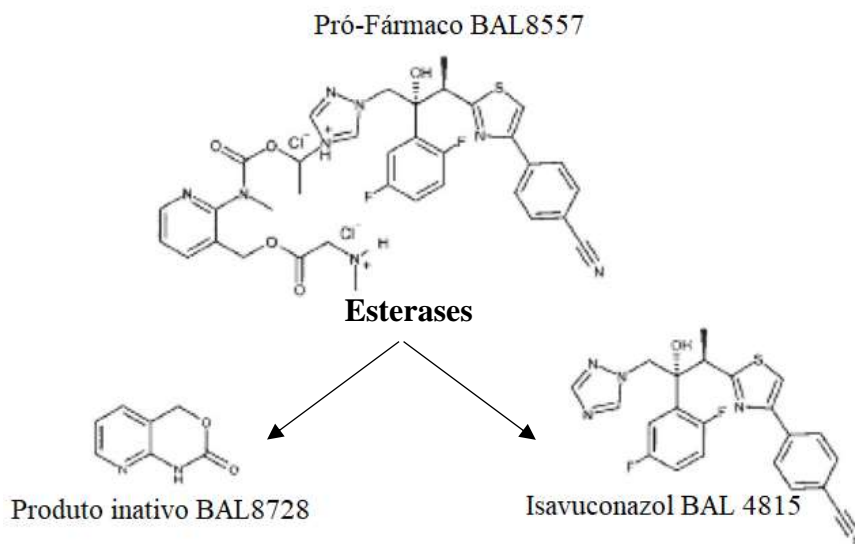


Figura 10: Estrutura química da molécula do pró-fármaco (BAL8557), produto inativo (BAL8728) e produto ativo (BAL4815) (adaptado de Perea e Rada, 2018)

Para facilitar a solubilidade, a formulação IV de isavuconazol não inclui a adição de uma ciclodextrina, eliminando desta forma a possibilidade de nefrotoxicidade provocada pelo veículo da ciclodextrina. O isavuconazol pode ser administrado por via oral ou IV, sendo as tomas de 372 mg de sulfato de isavuconazônio, ou seja, 200 mg de isavuconazol. Durante os primeiros 2 dias as tomas são realizadas de 8/8 h, passando depois para uma administração por dia (Astellas, 2015; Jenks *et al.*, 2018).

Após a administração oral do isavuconazol, a C_{max} é alcançada ao fim de 2-3h. Apresenta um volume de distribuição (Vd) de aproximadamente 450L e tem um $T_{1/2}$ longo, 56-77 horas após a administração oral e 76-104 horas após a administração IV. As concentrações do fármaco são, assim, mantidas por um período prolongado no organismo, permitindo um tratamento mais eficaz. A biodisponibilidade absoluta é de 98%. A ingestão de alimentos e o pH não influencia a absorção e as concentrações de isavuconazol, pelo que este fármaco, pode ser tomado concomitantemente com inibidores da bomba de prótons ou outros medicamentos que afetam a secreção de ácido gástrico. A

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

excreção do produto inativo e dos seus metabólitos ocorre pela urina (45,5%) e fezes (46,1%). O isavuconazol inalterado é eliminado predominantemente nas fezes e menos de 1% na urina, pelo que em doentes com comprometimento renal, a dosagem de isavuconazol não precisa ser reduzida. O metabolismo deste ocorre no fígado, mediado pelas enzimas do citocromo P450, nomeadamente pela CYP3A4 e CYP3A5 (Astellas, 2015; Daele *et al.*, 2019; Jenks *et al.*, 2018; Schmitt-Hoffmann *et al.*, 2006; Townsend *et al.*, 2018).

O isavuconazol demonstra atividade contra leveduras, fungos dimórficos e bolores, nomeadamente *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* e *Mucormycetes*. Em comparação com outros azóis tem algumas vantagens, pois possui atividade contra *Zygomycetes*, *Rhizopus* e espécies de *Cunninghamella* (Campoy e Adrio, 2017; Wilson *et al.*, 2016).

Num estudo *in vitro*, verificou-se que o isavuconazol pode ser utilizado em algumas espécies de *Candida*, resistentes a fluconazol. Com efeito, os principais mecanismos de resistência aos azóis estão relacionados com uma elevada atividade das bombas de efluxo, tendo-se verificado que o gene MDR1 que codifica as bombas de efluxo é seletivo para o fluconazol. O mecanismo mais comum para resistência ao isavuconazol em *Aspergillus* é a alteração do alvo, CYP51 por mutações no gene ERG11 (Wilson *et al.*, 2016).

Em geral, o isavuconazol é bem tolerado. Os efeitos secundários mais frequentemente são distúrbios gastrointestinais (náuseas, vômitos, diarreia, prisão de ventre), enzimas hepáticas elevadas, dor de cabeça, hipocalcemia, dispneia, tosse, edema periférico e dor nas costas. Os doentes tratados com isavuconazol tiveram menos doenças hepatobiliares, do tecido subcutâneo, da pele e oculares em comparação com doentes tratados com voriconazol. Foi realizado um estudo comparando indivíduos saudáveis com doentes com insuficiência hepática. Nestes o $T_{1/2}$ aumentou de 123 h para 224-302 h e a clearance (Cl) diminuiu de 2,73 l/h para 1,43 l/h. Isto acontece porque o isavuconazol tem metabolização hepática, podendo resultar em toxicidade e interações medicamentosas. Desta forma é necessário fazer um ajuste nas dosagens, mantendo a mesma dose nas primeiras 48 h, e

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

reduzindo para metade as doses subsequentes (Falci e Pasqualotto, 2013; Wilson *et al.*, 2016).

Tal como acontece com os restantes antifúngicos triazólicos, o isavuconazol está associado a várias interações medicamentosas. Estas interações ocorrem com outros medicamentos que são inibidores, indutores ou substratos da CYP3A4 e da CYP3A5, pois o metabolismo deste ocorre no fígado, mediado pelas enzimas do citocromo P450 (CYP3A4 e CYP3A5). A administração conjunta de isavuconazol com inibidores do CYP3A4 e do CYP3A5 pode conduzir ao aumento das concentrações plasmáticas de isavuconazol (por exemplo a administração de isavuconazol com cetoconazol aumenta em 5 vezes a exposição ao isavuconazol e a administração de isavuconazol com ritonavir aumenta a AUC do isavuconazol em 96%, enquanto as AUC médias de ritonavir diminuiram 31%). Já a administração de isavuconazol com indutores fortes do CYP3A4 e do CYP3A5, nomeadamente a rifampicina, carbamazepina, barbitúricos de longa ação e hipericão, é contraindicada pois pode levar à diminuição das concentrações plasmáticas de isavuconazol. O isavuconazol também é um indutor moderado do CYP2B6 e a administração conjunta de ciclofosfamida e bupropiom pode diminuir as concentrações destes últimos. O isavuconazol é um inibidor leve da glucuronosiltransferase (UGT) e glicoproteína P (gpP) pelo que as concentrações plasmáticas dos substratos dessas proteínas podem aumentar durante a administração com isavuconazol. Medicamentos como metformina, atorvastatina, midazolam, varfarina, metadona, dextrometorfano, omeprazol e contraceptivos orais quando administrados simultaneamente com o isavuconazol não necessitam de ajuste nas suas doses. Medicamentos que alteram o pH gástrico não afetam a concentração do isavuconazol ao contrário do que se verifica para o itraconazol e o posaconazol (Chitasombat e Kontoyiannis, 2015; Wilson *et al.*, 2016).

3. Antimetabolitos (Flucitosina; 5-FC)

Em 1957 foi desenvolvido um análogo da pirimidina, a flucitosina, também conhecida por 5-fluorocitosina (Figura 11). Inicialmente utilizada como antineoplásico, esta molécula veio a demonstrar atividade antifúngica tendo sido aprovada em 1971 pela FDA

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

para o tratamento de infecções fúngicas graves. Quando administrada em monoterapia, rapidamente conduz ao aparecimento de resistências, o que limita o seu uso à terapia combinada com AmB (Lewis e Fothergill, 2015; Padda e Parmar, 2020).

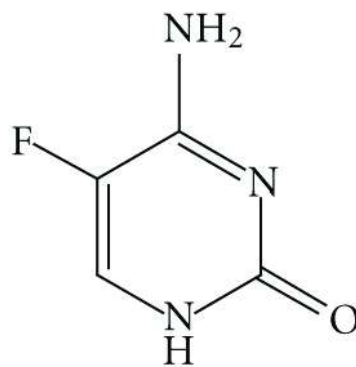


Figura 11: Estrutura química da molécula 5-FC (adaptado de Vandeputte et al., 2012)

A 5-FC é captada pelas células fúngicas através da citosina permease e de seguida é convertida, intracelularmente, por ação da enzima citosina desaminase em 5-fluoruracilo (5-FU). Posteriormente e por ação da UMP pirofosforilase, o 5-FU é transformado em 5-fluorouridina monofosfato (5-FUMP), a qual é fosforilada e incorporada nas cadeias de RNA, resultando na inibição da síntese proteica. O 5-FU também pode ser convertido em 5-fluorodeoxiuridina monofosfato, um potente inibidor da timidilato sintase. Esta enzima é fundamental na síntese de 2'-desoxitimidina-5'-monofosfato, um precursor crucial para a biossíntese de DNA (Figura 12) (Bustamante *et al.*, 2017; Campoy e Adrio, 2017; Seyedmousavi *et al.*, 2017).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

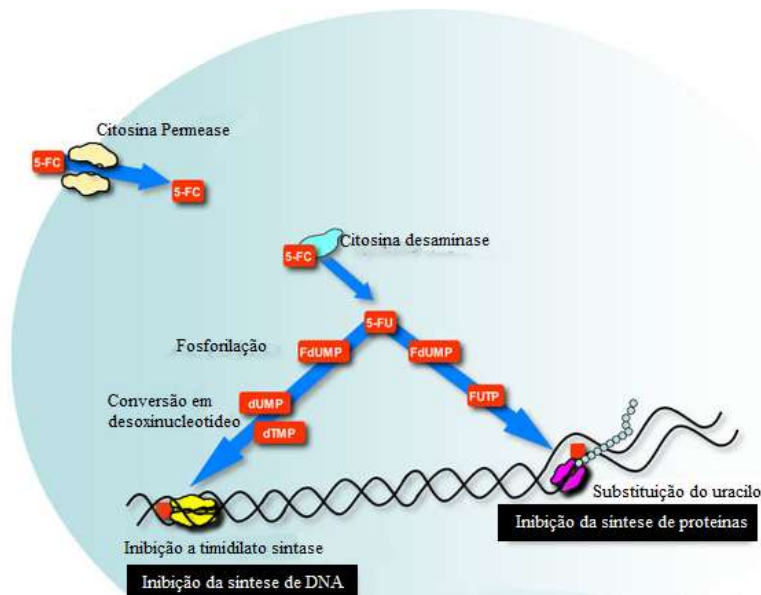


Figura 12: Mecanismo de ação de 5-FC (adaptado de <https://drfungus.org/>)

Os fungos que não contêm a enzima citosina desaminase, como é o caso dos fungos dimórficos, não são suscetíveis à 5-FC. Este composto é apresentada toxicidade seletiva para os fungos, pois há pouca ou nenhuma atividade da citosina desaminase nas células de mamíferos (Campoy e Adrio, 2017; Seyedmousavi *et al.*, 2017).

O espectro de atividade da flucitosina inclui *C. neoformans* e algumas espécies de *Candida*. A utilização de 5-FC com a AmB resulta numa sinergia, pois a AmB modifica a permeabilidade da membrana celular fúngica permitindo maior permeabilidade de 5-FC. O uso combinado é recomendado para o tratamento de infecções criptocócicas do SNC. Esta conjugação tem um papel importante no tratamento de infecções disseminadas por *Candida* que não respondem ao tratamento com agentes antifúngicos de primeira linha (Bustamante *et al.*, 2017; Seyedmousavi *et al.*, 2017; Vandeputte *et al.*, 2012).

Na administração de 5-FC verificou-se vários mecanismos de resistência como a diminuição da absorção do fármaco, através da mutação no gene FCY2, que codifica a citosina permease, resultando na diminuição da concentração do fármaco na célula.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

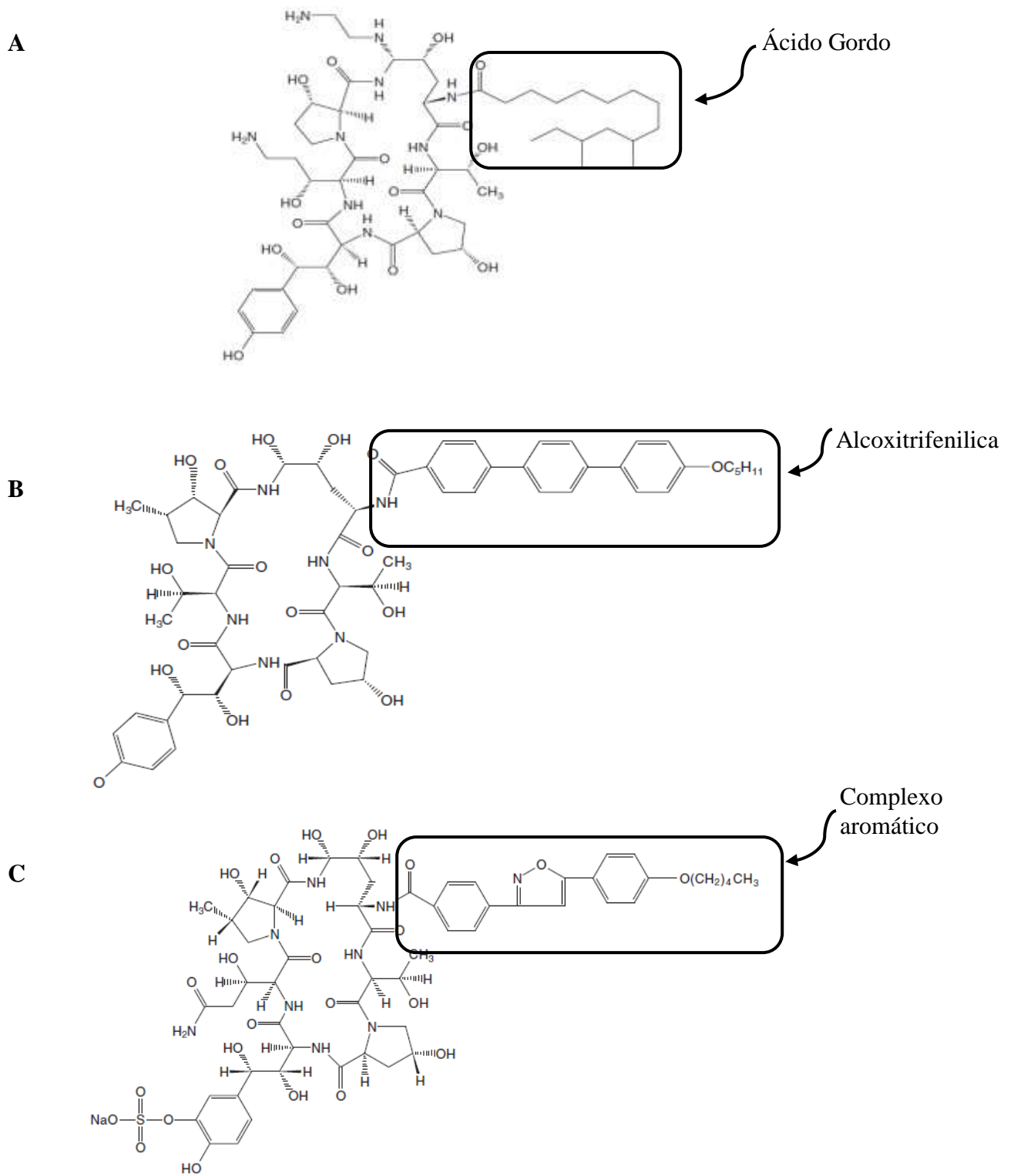
Quando este é utilizado em monoterapia, origina mutações no gene FCY1 que codificam a citosina desaminase, ou então mutações no gene FUR1 que interfere na conversão de 5-FdUMP (Bustamante *et al.*, 2017).

A 5-FC pode ser administrada por via oral ou IV. Por via oral a absorção é rápida e quase completa, tendo uma biodisponibilidade de 76–89% e distribuindo-se amplamente em quase todos os fluidos corporais, nomeadamente no fluido lacrimal, urina e líquido cefalorraquidiano (LCR). Apesar de por norma a 5-FC ser bem tolerada, pode provocar toxicidade hepática, toxicidade ao nível da medula óssea e originar insuficiência renal se utilizada em altas concentrações (ou seja, acima de 100 mg/L). O $T_{1/2}$ em pacientes com função renal normal é de 3–5 horas. Somente 2–4% do fármaco se liga às proteínas plasmáticas e entre 80 e 90% do mesmo é eliminado inalterado na urina (Bustamante *et al.*, 2017; Seyedmousavi *et al.*, 2017).

4. Equinocandinas

As equinocandinas são a classe de agentes antifúngicos mais recente, tendo o primeiro representante desta classe - a caspofungina - recebido aprovação pela FDA e pela EMA em 2001. Atualmente encontram-se comercializadas mais duas equinocandinas: a micafungina (aprovada em 2002) e a anidulafungina (aprovada em 2006). Quimicamente as equinocandinas são lipopéptidos semisintéticos, obtidos da fermentação de vários fungos. Todas são formadas por uma estrutura química central comum - ciclolipohexapeptido - ligada a uma cadeia lateral lipofílica de alto peso molecular que é diferente entre moléculas. A caspofungina (Figura 13) apresenta na cadeia lateral um ácido gordo, a anidulafungina (Figura 14) apresenta uma cadeia lateral de natureza alcoxitrifénica e a cadeia lateral da micafungina (Figura 15) é formada por um complexo aromático (Campoy e Adrio, 2017; Rang *et al.*, 2016; Vandeputte *et al.*, 2012).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva



Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Figura 13: Estrutura química da molécula de caspofungina (A), anidulafungina (B) e micafungina (C) (adaptado de Chen et al, 2011)

As equinocandinas apresentam um mecanismo de ação semelhante atuando sobre o complexo enzimático, β -(1,3)-D-glucano sintase, que está presente na PC fúngica (Figura 16). As equinocandinas vão bloquear a síntese de β -(1,3)-D-glucano, que é o principal polissacarídeo estrutural da PC das células fúngicas, constituindo mais de 50% da mesma. A PC é formada por outros componentes, como a quitina e glicoproteínas, que estão ligados ao β -(1,3)-D-glucano, fornecendo integridade à PC. As equinocandinas agem como inibidores não competitivos, atuando particularmente na subunidade Fsk1 que leva à rutura da estrutura das PC's em crescimento, resultando em instabilidade osmótica e morte celular (Campoy e Adrio, 2017; Cappelletty e Eiselstein-McKittrick, 2007).

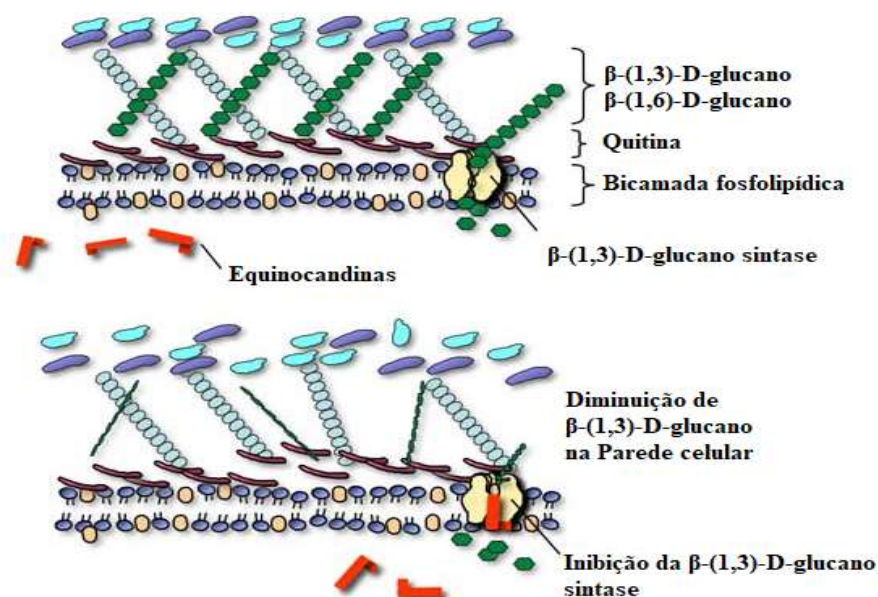


Figura 14: Mecanismo de ação das equinocandinas (adaptado de <https://drfungus.org/>)

As equinocandinas apresentam baixa biodisponibilidade oral e alta ligação às proteínas, limitando a administração por via IV. Distribuem-se bem nos tecidos, nomeadamente nos pulmões, fígado e baço, porém devido à elevada afinidade para às proteínas plasmáticas

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

e ao elevado peso molecular a distribuição das equinocandinas para o LCR e para o olho é bastante limitada, o que impossibilita o tratamento nesses locais. As concentrações de equinocandinas excretadas na urina são baixas, não sendo necessário um ajuste da dose em doentes com insuficiência renal. As equinocandinas sofrem diferentes metabolizações: a caspofungina sofre uma degradação espontânea, convertendo-se num composto de anel aberto; a micafungina é metabolizada em múltiplos metabolitos, ao contrário das restantes equinocandinas, o metabolismo da anidulafungina não é a nível hepático, sofrendo uma lenta degradação química à temperatura e pH fisiológicos (semivida de degradação é aproximadamente 24 h) para um péptido de anel aberto sem atividade antifúngica (Chen *et al.*, 2011; INFOMED, 2018; INFOMED, 2011; INFOMED, 2017).

Todas as equinocandinas são substratos pobres, ou não inibem, as enzimas do citocromo P450, nem são substratos para os sistemas de transporte da glicoproteína P, originando menos interações medicamentosas em comparação com outros agentes antifúngicos. A anidulafungina destaca-se por não ter contraindicações particulares e tem como principal vantagem a lenta degradação, sem envolvimento do fígado ou dos rins, podendo, por isso, ser usada em pacientes com insuficiência hepática e renal. A caspofungina reduz a AUC do tacrolimus em 26%, enquanto a ciclosporina e rifampicina reduzem a AUC do antifúngico, sendo necessário ajustar a dose. Na utilização da micafungina com a ciclosporina foi relatado um aumento de 11% na AUC da ciclosporina, um aumento na AUC do tacrolimus em 2% e do sirolimus em 21%, já com a utilização da AmB aumentou em 30% AUC da AmB (Perea, 2016; Vandeputte *et al.*, 2012).

As equinocandinas são ativas contra a maioria das espécies de fungos, tendo ação fungicida contra *Candida*, nomeadamente *C. glabrata* e *C. krusei* e fungistática em *Aspergillus*. No entanto para o tratamento de IFI's provocadas pelas espécies *Cryptococcus neoformans* ou espécies do género *Trichophyton* e *Fusarium* as equinocandinas são ineficazes. A caspofungina é indicada para o tratamento de candidíase invasiva e para o tratamento de aspergilose invasiva (sempre que a terapêutica com itraconazol, voriconazol ou AmB se revele ineficaz). A micafungina é usada para o

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

tratamento da candidíase e é indicada para profilaxia de infecções fúngicas em pacientes com transplante de medula óssea (Vandeputte *et al.*, 2012).

Como o local de ação das equinocandinas é exclusivo da parede celular dos fungos, os seus efeitos adversos são reduzidos e geralmente não são graves. Os efeitos adversos mais comuns são sintomas gastrointestinais como diarreia, náuseas, vômitos, dor abdominal, distensão abdominal e obstipação. O uso prolongado da caspofungina pode provocar hepatotoxicidade e reações provocadas pela infusão, como rubor, urticária, broncospasmo, edema facial e prurido. No entanto estes podem ser evitados diminuindo a velocidade da infusão. A micafungina está associada a uma insuficiência significativa da função hepática. A sua utilização pode originar uma subida das transaminases (ALT e AST) e da bilirrubina total, sendo necessário monitorizar a função hepática durante o tratamento com a micafungina (Abu-Elteen e Hamad, 2011; Bustamante *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2011; INFOMED, 2018).

Uma das vantagens das equinocandinas é que, ao contrário do que acontece com a AmB e os triazóis, a atividade das equinocandinas não é afetada pela presença de biofilmes, permitindo a sua utilização no tratamento de infecções associadas a dispositivos protéticos e à utilização de cateteres. A resistência às equinocandinas nas espécies *Candida* spp. resulta maioritariamente de mutações no gene FK1 ou na substituição de um ou mais aminoácidos da enzima β -(1,3)-D-glucano sintase. Na *C. albicans* as alterações mais comuns nesta enzima verificam-se nos codões 641 e 645, o que resulta na resistência à caspofungina. Encontram-se também reportadas alterações ao nível da β -(1,3)-D-glucano sintase em estirpes de *C. glabrata*, nomeadamente substituições em P665C e mutações no gene FKS2 (estas últimas implicadas na resistência às equinocandinas). Em estirpes de *A. fumigatus* foram identificadas alterações do aminoácido S678P na estrutura da enzima β -(1,3)-D-glucano sintase originando resistências às equinocandinas. Além disso, a resistência primária a esta classe de antifúngicos nas espécies de *Fusarium*, são originadas por uma substituição na enzima β -(1,3)-D-glucano sintase (F639Y) (Araujo e Espinel-Ingroff, 2010; Larkin *et al.*, 2018).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

i. Novos Estudos

a) Rezafungina (CD101)

Rezafungina (Figura 17) é uma equinocandina de última geração, que está na terceira fase de desenvolvimento para o tratamento de candidíase invasiva. É um análogo da anidulafungina, no qual é adicionada uma porção de colina, originado um composto com melhor perfil de segurança e com propriedades farmacocinéticas superiores. Apresenta o mesmo mecanismo de ação das restantes equinocandinas, ou seja, inibe a síntese de β -(1,3)-D-glucano. A rezafungina está a ser desenvolvida como uma formulação IV de administração semanal, em vez da administração diária que normalmente ocorre na terapêutica com as restantes equinocandinas. Vários estudos também demonstraram eficácia para o tratamento de infeções provocadas por *Aspergillus* e *Pneumocystis* spp em pacientes submetidos a transplante de medula óssea. A FDA classificou a rezafungina, como QIDP com *status de fast track* para o tratamento das doenças anteriormente mencionadas (Rauseo *et al.*, 2020).

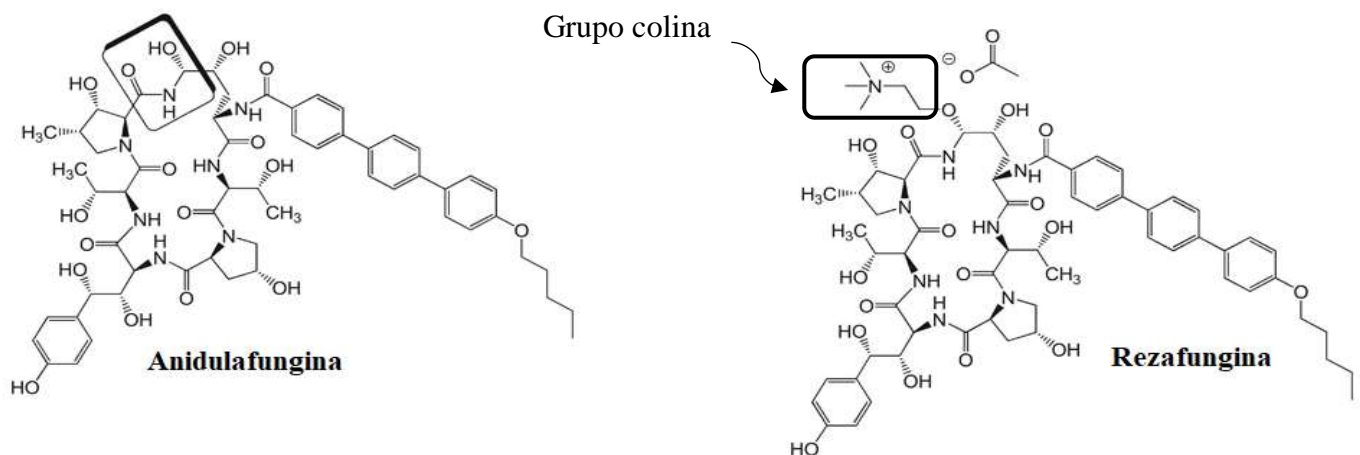


Figura 15: Estrutura química da molécula rezafungina (adaptado de Krishnan *et al.*, 2017)

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

A rezafungina é estável no plasma e em solução aquosa, mesmo a temperaturas elevadas. Apresenta um $T_{1/2}$ longo, 80 h após a primeira dose e aproximadamente 150 h após a segunda ou terceira dose, favorecendo a administração IV e necessitando de uma só administração por semana. O tratamento consiste em uma dose inicial de 400 mg na primeira semana e de 200 mg na segunda e terceira semanas. Num estudo de fase I conduzido em 2018 por Lakota e colaboradores determinou-se que a Cl média de rezafungina é de 0,188 l/h, podendo variar entre 0,126-0,279 l/h, sendo possível verificar que estes valores são menores dos que os estimados para a anidulafungina, a caspofungina e a micafungina (que variam entre 0,411-1,22 l/h). Num outro estudo, conduzido em 2017 por Sandison e colaboradores, foram administradas doses de 50, 100, 200 e 400 mg, sendo possível determinar valores médios da C_{max} que variaram entre 2,76 e 22,7 $\mu\text{g/ml}$ e os valores correspondentes para AUC_{0-168} que variaram de 145 a 1160 $\mu\text{gh/ml}$. Estes dois valores aumentaram de forma proporcional à dose. A rezafungina liga-se fortemente às proteínas plasmáticas ($\geq 98\%$) e apenas uma pequena percentagem do fármaco (cerca de 0,26%) é excretada na urina (Chang *et al.*, 2017; Daele *et al.*, 2019; Lakota *et al.*, 2018; Sandison *et al.*, 2017).

Estudos *in vivo* de farmacodinâmica demonstraram a eficácia da rezafungina contra *Candida*, incluindo isolados multirresistentes, nomeadamente *C. auris* e também contra *A. fumigatus*. Nestes estudos foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas (CIM) para a utilização da rezafungina, no tratamento de infeções provocadas por *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida dubliniensis*, e *Candida krusei*, que variaram entre 0,008-2 mg/l. No que respeita ao tratamento de infeções de *Candida parapsilosis* as concentrações variam entre 0,5 e 2 mg/l. Os referidos estudos conduzidos em 2020 por Rauseo e colaboradores também permitiram determinar as CIM's para o tratamento de infeções provocadas por *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*, que variaram entre 0,015–2 mg/l. Num outro estudo foram administradas diferentes doses de rezafungina (0,2, 1 e 5 mg/kg) a ratos infetados com *A. fumigatus*, tendo-se verificado uma percentagem de sobrevivência de 80, 90 e 100%, respetivamente (Ong *et al.*, 2016; Rauseo *et al.*, 2020).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Num estudo de fase I envolvendo 42 adultos saudáveis, foi possível demonstrar que a administração de uma dose única de rezafungina apresenta uma maior eficácia em comparação com a administração da mesma quantidade de fármaco fracionada em várias doses, sendo segura e bem tolerada. Além do mais esta administração maximiza o efeito do fármaco no início da terapêutica, reduzindo potencialmente o risco da ocorrência de resistências e aumenta a adesão do paciente à terapêutica (Lakota *et al.*, 2017).

A rezafungina pode ser utilizada em infecções, em que os antifúngicos convencionais são ineficazes, devido à sua ampla distribuição tecidual e rápida penetração nos abscessos. Um estudo conduzido em 2017 por Zhao e colaboradores demonstrou que a rezafungina (CD101), à semelhança das outras equinocandinas, apresenta uma ampla distribuição nos tecidos. Observou-se níveis de fármaco nas partes não lesadas do fígado de 80,1 µg/g após 6 horas de um tratamento com dose única de 20 mg/kg de rezafungina. Foi também possível observar que ao fim de 6 h, cerca de 31,6 µg/g de rezafungina está presente nas lesões provocadas pelos fungos. Mesmo após 72 horas, os níveis do fármaco dentro das lesões situa-se perto de 30 µg/g, uma concentração cerca de 6 vezes mais elevada do que a verificada para a micafungina (Figura 18). Também neste estudo é possível verificar que a penetração da rezafungina nos abscessos é dependente da dose. Assim, se a dose administrada for baixa (5 mg/kg), os níveis do fármaco nas lesões diminui proporcionalmente em comparação com o tratamento com uma dose mais alta (20 mg/kg). Ainda assim, após 24 h a concentração de rezafungina dentro das lesões é de 12,7 µg/g, cerca de 4 vezes superior à concentração alcançada com a administração de uma dose igual de micafungina (3,4 µg/g) (Zhao *et al.*, 2017).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

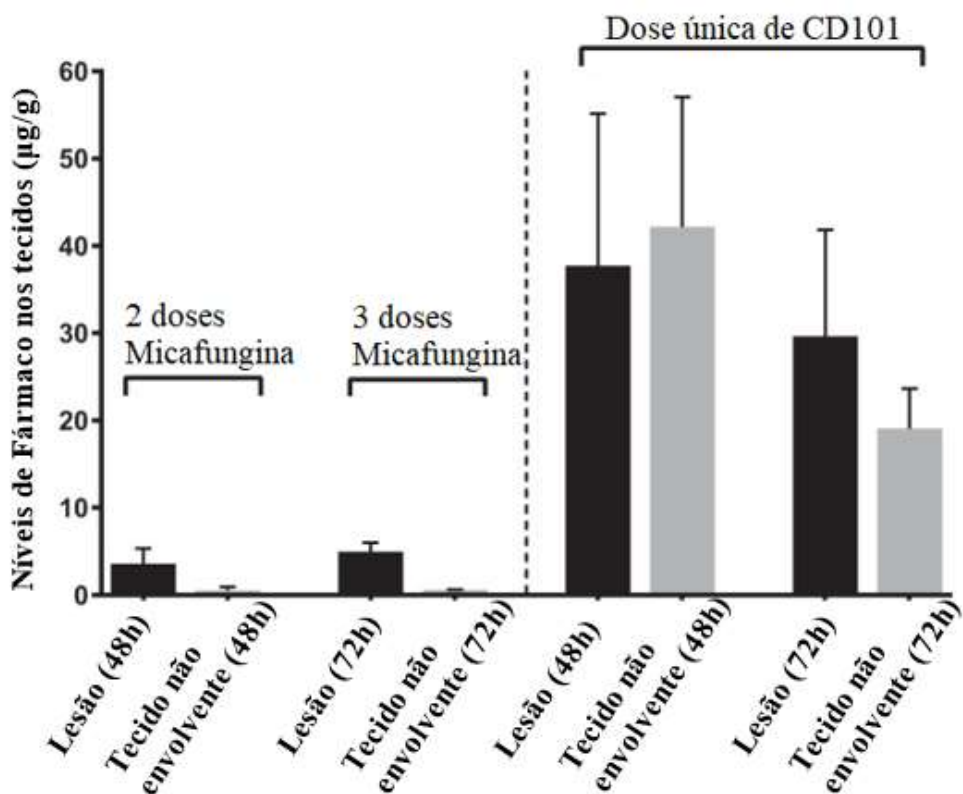


Figura 16: Comparação da acumulação do fármaco em doses múltiplas de micafungina (5 mg / kg) e uma dose única de rezafungina (CD101) (20 mg / kg) (adaptado de Zhao et al., 2017)

Devido à sua estabilidade química, não há biotransformação em metabolitos tóxicos nos ratos, macacos, cães e humanos, ao contrário do que acontece com as restantes equinocandinas que podem provocar hepatotoxicidade. Quando comparada com a anidulafungina, a rezafungina demonstrou menor toxicidade em ratos. Um estudo de fase I realizado em adultos saudáveis, comprovou a inexistência de eventos adversos graves. Os efeitos secundários mais comuns foram a obstipação moderada, náuseas e desconforto torácico, mialgia e rubor. Ocorreram reações ligeiras provocadas pela infusão do fármaco caracterizadas pelo aparecimento de rubor, náuseas e desconforto no peito e são mais acentuadas com a administração da terceira dose de 400 mg de CD101, que desaparecem

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

minutos após a infusão, sem a necessidade de interromper ou descontinuar o tratamento (Daele *et al.*, 2019; Sandison *et al.*, 2017).

Foi verificado um baixo potencial de desenvolvimento de resistência em espécies de *Candida*, semelhante ao que acontece com a anidulafungina e caspofungina. As estirpes possuidoras de mutações no gene FKS apresentam um valor elevado de CIM para rezafungina. Contudo este fármaco tem a vantagem de atingir uma concentração plasmática muito maior (C_{max}/AUC) que as restantes equinocandinas, devido a dosagem de ataque inicial, que pode diminuir ainda mais o desenvolvimento de resistência (Daele *et al.*, 2019).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

IV. Novas classes de antifúngicos

1. Triterpenóides

i. Ibrexafungerp (SCY-078)

O ibrexafungerp (Figura 19), obtido a partir de um derivado semissintético da enfumafungina, representa o primeiro composto dos antifúngicos triterpenóides e possui uma boa biodisponibilidade oral. Esta molécula foi designada como um QIDP pelo FDA em maio de 2018, para utilização em candidíase e aspergilose invasiva. O ibrexafungerp (SCY-078) apresenta na posição 15 um substituinte triazol piridina, e um grupo éter 2 amino 2,3,3-trimetil-butílico na posição 14, o que aumenta a sua potência antifúngica e melhora as suas propriedades farmacocinéticas (Rauseo *et al.*, 2020; Wring *et al.*, 2017; SCYNEXIS, 2018).

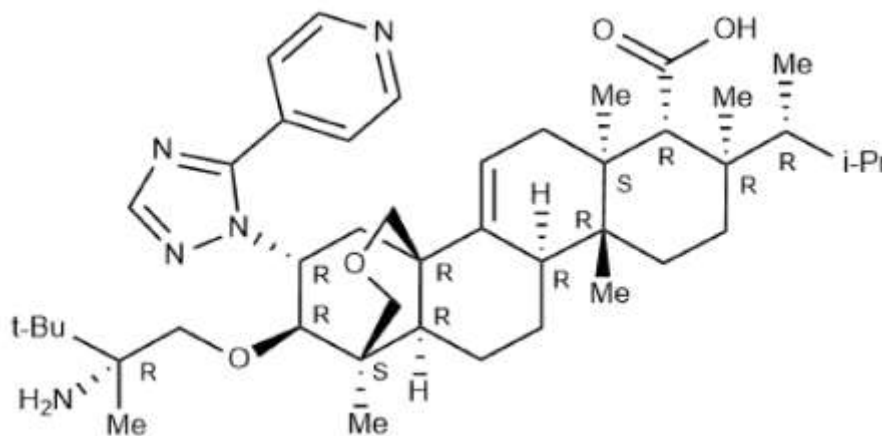


Figura 17: Estrutura química da molécula ibrexafungerp (adaptado de Ghannoum *et al.*, 2020)

Embora estruturalmente diferente das equinocandinas, apresenta o mesmo alvo de ação, ou seja, inibe a enzima responsável pela síntese de β -(1,3)-glucano. Como referido, este polímero é essencial para a integridade da PC das células fúngicas e a sua diminuição

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

resulta em alterações citológicas e estruturais nos fungos, comprometendo sua sobrevivência (Figura 20). Apesar de atuar no mesmo alvo de ação, esta molécula interage de forma diferente. Assim, o ibrexafungerp demonstra atividade contra estirpes de *Candida* com mutações no gene Fks 1 e 2, que são resistentes às equinocandinas. Ao contrário das equinocandinas o SCY-078 está disponível para administração IV e oral (Azie *et al.*, 2020).

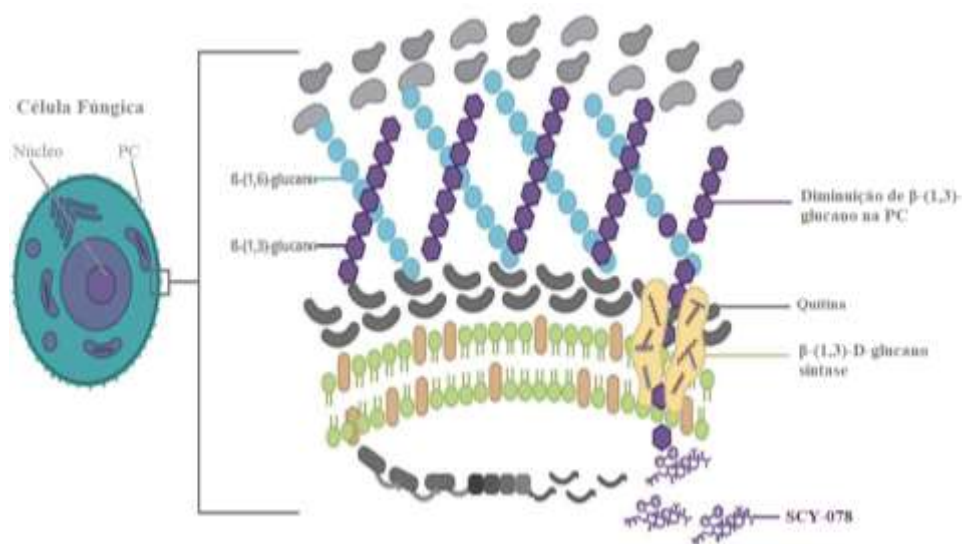


Figura 18: Mecanismo de ação do ibrexafungerp (SCY-078) (adaptado de Ghannoum *et al.*, 2020)

Após administração, o ibrexafungerp é absorvido rapidamente no trato gastrointestinal, apresentando uma biodisponibilidade oral de aproximadamente 35–50%, sendo que se o fármaco for administrado com uma refeição rica em gordura, a biodisponibilidade aumenta. Apresenta um alto volume de distribuição (5 l/kg), 8 vezes superior ao do fluconazol e 7 vezes maior que o das equinocandinas. Apresenta uma extensa penetração nos tecidos, mas não atinge o SNC. A solubilidade é dependente do pH e maior em meios ácidos, o que justifica as concentrações elevadas do fármaco no centro necrótico de abscessos hepáticos. O ibrexafungerp é metabolizado no fígado pelas enzimas 3A4 do citocromo P450 e menos de 2% da dose é recuperada inalterada na urina. Após a

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

administração de doses orais de 10-1600 mg em indivíduos saudáveis, as $C_{\text{máx}}$ são alcançadas em quatro a seis horas e o $T_{1/2}$ é de aproximadamente 20-30 h (Ghannoum *et al.*, 2020; Rauseo *et al.*, 2020; Daele *et al.*, 2019).

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram atividade contra patógenos fúngicos como *Candida* spp., bem como isolados multirresistentes e produtores de biofilme. O ibrexafungerp demonstrou, igualmente, atividade contra *Aspergillus* spp. resistentes a azóis, *Lomentospora prolificans* e *Paecilomyces variotii*. No entanto, o fármaco tem pouca atividade contra *Mucor* spp., *Fusarium* spp. e *Purpureocillium lilacinum*. Isolados de *Candida* resistentes às equinocandinas, com mutações no gene Fks podem ser suscetíveis ao ibrexafungerp. A combinação de ibrexafungerp com voriconazol ou anfotericina B demonstrou sinergia contra cepas de *A. fumigatus*. As concentrações mínimas inibitórias (CMI's) determinados para o tratamento de *C. albicans* e *C. tropicalis* variaram entre 0,06-2mg/L, 0,25-1mg/L, para *C. parapsilosis* e 0,5–2 mg/L, contra *C. glabrata* e *C. krusei*. Contra *Aspergillus* spp, os valores de CMI's relatados foram 0,03–1mg/L e 0,015–0,25mg/L. Ficou também demonstrado que o ibrexafungerp poderá ser uma opção no tratamento de infecções de *Pneumocystis* em pacientes imunocomprometidos (Rauseo *et al.*, 2020; Daele *et al.*, 2019; Lima *et al.*, 2019).

Em estudos *in vitro* o ibrexafungerp revelou ser um substrato da CYP3A4 e um potencial inibidor do citocromo CYP2C8 com pouca atividade para outras enzimas CYP. No entanto, estudos *in vivo* de fase 1 em indivíduos saudáveis não detetaram impacto significativo após administração de cetoconazol e diltiazem (inibidores do CYP3A4), rosiglitazona (substrato do CYP2C8) e tacrolimus (substrato do CYP3A4) com a administração de ibrexafungerp em doses únicas e múltiplas. Foi igualmente observado um perfil favorável de segurança e tolerabilidade. Os efeitos adversos mais comuns foram gastrointestinais como, desconforto abdominal, diarreia, náuseas e vômitos e dor de cabeça, cuja magnitude era proporcional à dose administrada (Davis *et al.*, 2020; Daele *et al.*, 2019).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

2. Orotomidas

i. Olorofim (F901318)

O olorofim (Figura 21) é o primeiro membro de uma nova classe de antifúngicos: as orotomidas. Possui um mecanismo de ação inovador que tem como alvo o ergosterol ou a biossíntese β -(1,3)-glucano. As orotomidas são a primeira nova classe de agentes antifúngicos a ser descoberta em 3 décadas. Esta classe foi descoberta pela triagem de uma grande biblioteca de compostos contra *Aspergillus fumigatus*. O mecanismo de ação foi determinado por uma combinação de abordagens (microbiológica, genética e bioquímica). Em novembro de 2019, a FDA atribuiu ao olorofim a denominação de *Breakthrough Therapy* para o tratamento de IFI's, ou seja, ocorreu uma agilização do processo de desenvolvimento do medicamento de forma a atender às necessidades clínicas que atualmente não encontram solução. Posteriormente, em março de 2020 a EMA atribuiu a este fármaco o *status* de medicamento órfão para o tratamento de aspergilose invasiva e infecções raras por fungos causadas por *Lomentospora* spp. e *Scedosporium*. Em junho de 2020 o *status* foi alargado para casos de infecções causadas por *Coccidioides* e mais recente o olorofim foi classificado como QIDP (Hope *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2020; Rauseo *et al.*, 2020; Wiederhold, 2020).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

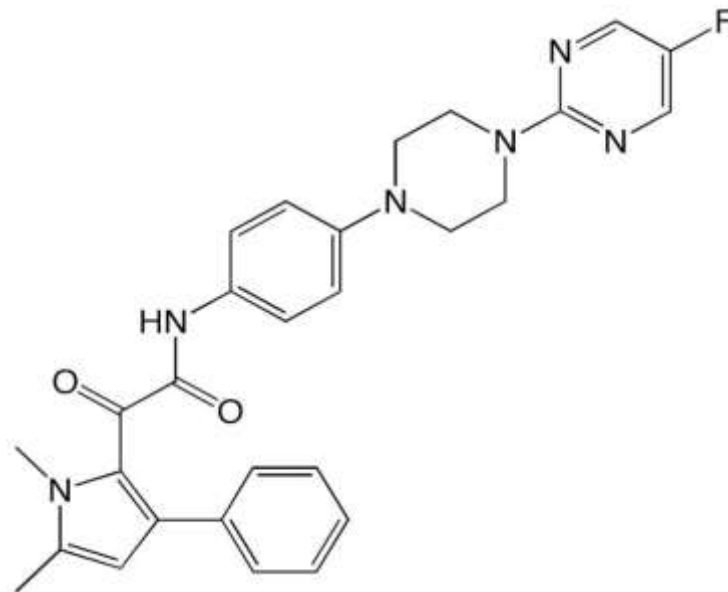


Figura 19: Estrutura química da molécula orlofim (adaptado de Wiederhold, 2020)

O orlofim (F901318) inibe a enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH) que tem um papel fundamental na biossíntese da pirimidina. A inibição da biossíntese da pirimidina resulta na inibição da formação de uridina-5-monofosfato (UMP) e uridina-5-trifosfato (UTP) que participam em diversos processos celulares. Por exemplo a UTP é necessária para a formação determinados açúcares que são substratos da β -(1,3)-glucano sintase e da quitina sintase. Assim, a inibição da síntese de pirimidina pode afetar a integridade da PC da célula fúngica e resultar na sua lise. Outros processos celulares, tais como a síntese de DNA e RNA também são afetados por ação do orlofim (Wiederhold, 2020; Daele *et al.*, 2019)

Esta molécula apresenta boa biodisponibilidade, podendo ser administrada por via IV e oral. Num estudo realizado com indivíduos saudáveis foi administrado por via IV orlofim, num veículo de β -hidroxipropil-ciclodextrina (devido à fraca solubilidade do fármaco em água), em doses crescentes de 0,25-4 mg/kg. Verificou-se um aumento do $T_{1/2}$ com o aumento das doses (30 h com a dose de 4 mg/kg). No mesmo estudo, a molécula demonstrou ser amplamente distribuída nos tecidos (V_{ds} 2,89-3.49 L/kg)

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

incluindo rim, fígado, pulmão e cérebro, tendo-se recuperado menos de 0,2% do fármaco inalterado na urina. Embora seja possível atingir concentrações com níveis terapêuticos de olorofim no cérebro (após a administração de doses repetidas), essas concentrações são menores do que as observadas no plasma, pulmões, rins e fígado. Também foi demonstrado que o olorofim se encontra fortemente ligado às proteínas plasmáticas (99%) e, num outro trabalho com administrações múltiplas em que se observou picos secundários na fase de eliminação, foi possível constatar que sofre uma recirculação entero-hepática. O olorofim demonstrou possuir uma farmacocinética linear na faixa de dose estudada, pelo que foi ajustado a um modelo de farmacocinética de 2 compartimentos padrão. Num outro estudo foi descrita uma biodisponibilidade oral compreendida entre 45-82%, após a administração de múltiplas doses orais. O olorofim é metabolizado por várias enzimas do citocromo P450, não induz as enzimas do CYP450, mas é um inibidor fraco da CYP3A4 (Daele *et al.*, 2019; Wiederhold, 2020).

Em estudos farmacocinéticos de fase I, o olorofim foi bem tolerado quando administrado por via IV ou oral, não tendo sido relatadas alterações significativas nos sinais vitais, nem observadas alterações cardiovasculares. Os efeitos adversos mais comuns estão relacionados com a perfusão do fármaco (como dor no local da perfusão, flebite e tonturas). No entanto a duração da perfusão não afetou a gravidade ou frequência dos referidos efeitos. O olorofim também foi bem tolerado no estudo de fase I em voluntários saudáveis a quem foi administrado, por via oral, uma vez ao dia durante 10 dias. Não foi relatado qualquer efeito adverso grave, apenas dois indivíduos apresentaram um ligeiro aumento nos níveis de alanina aminotransferase, um voluntário teve náuseas e diarreia e outro teve tonturas (Wiederhold, 2020).

Estudos *in vitro* mostraram um amplo espectro de atividade contra fungos filamentosos e dimórficos, nomeadamente, *Aspergillus* spp, *Histoplasma capsulatum*, *B dermatitidis*, *C immitis*, *Talaromyces marneffe* e *Fusarium* spp, *Scedosporium apiospermum*, *L prolificans* e *Scopulariopsis* spp. É também ativo face a *Aspergillus* incluindo aqueles que são menos suscetíveis ou resistentes a outros antifúngicos. Apresenta CIM inferiores a 0,1 mg/L (mais baixos do que AmB, voriconazol e posaconazol) para espécies como

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Aspergillus fumigatus, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus*, mas também demonstrou eficácia contra outras espécies difíceis de tratar, como *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus tubingensis* e *Aspergillus calidoustus*. Contra *A. fumigatus* de tipo selvagem suscetível a azóis, com mutações nos genes CYP51A, as CIM's variaram entre 0,03-0,125 µg/mL. No início do tratamento, o efeito em *Aspergillus* spp. é fungistático, mas com a exposição prolongada ao agente antifúngico, o efeito passa a ser fungicida (Daele *et al.*, 2019; Rauseo *et al.*, 2020).

Num estudo *in vivo* efetuado em ratos com aspergilose invasiva provocada por isolados resistentes a azóis, foi possível comprovar que o olorofim foi eficaz no prolongamento da sobrevivência. A eficácia foi de 88% de sobrevivência com a administração de 15 mg/kg, 3 vezes ao dia. Em outro estudo realizado em ratos com coccidioidomicose do SNC, o tratamento com olorofim melhorou significativamente a sobrevivência e reduziu as unidades formadoras de colónias no cérebro. O aumento da sobrevivência e a diminuição da carga fúngica no cérebro foi tanto maior quanto a frequência da dosagem de olorofim (Wiederhold, 2020; Rauseo *et al.*, 2020).

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

V. Conclusão

Com o aumento das IFI's, houve um aumento do número de casos a nível hospitalar. O aumento da ocorrência de IFI's deve-se não só ao aumento da população de risco, mas também à adaptação dos fungos originando resistências aos fármacos utilizados.

A AmB foi dos primeiros fármacos a ser utilizado no tratamento das IFI's. No entanto, a sua formulação convencional apresenta vários efeitos adversos graves. As subsequentes formulações lipídicas de AmB, com melhor farmacocinética e melhores perfis de segurança, contornaram algumas das limitações mas as formulações comercializadas são dispendiosas e necessitam de administração IV. Esta é uma de muitas razões que levou ao desenvolvimento de novos mecanismos de entrega para AmB, que permitisse uma entrega mais eficaz e não invasiva.

Ao longo do tempo, tornou-se necessário desenvolver novos fármacos, que não originassem tantos efeitos adversos e toxicidade, possuíssem menos interações medicamentosas e com amplo espectro de ação. Assim o antifúngico ideal deve ter um mecanismo de ação mais seletivo, ser seguro (ou seja, não pode provocar toxicidade nas células humanas), poucas interações medicamentosas e um amplo espectro de ação, principalmente frente a fungos patogênicos multirresistentes.

Apesar de não ser fácil de conseguir, existem vários antifúngicos que estão atualmente em fases avançadas de desenvolvimento. Os azóis são a classe de fármacos mais utilizados e com tal mais estudados. Demonstraram ter um espectro de atividade mais alargado e menos efeitos adversos. Também as equinocandinas sofreram uma evolução, surgindo um novo composto com maior eficácia e maior estabilidade. Além disso vários agentes estão a ser desenvolvidos com novos mecanismos de ação, como o olorofim, de forma a evitar as toxicidades e interações medicamentosas associadas aos antifúngicos disponíveis, bem como manter a atividade contra fungos resistentes a esses medicamentos. Alguns deles são favoráveis por causa de seu perfil de resistência melhorado, outros têm uma grande vantagem na formulação e administração.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

VI. Bibliografia

- Abu-Elteen, K. H. e Hamad, M. (2011). Antifungal Agents for Use in Human Therapy. *In: Kavanagh, K. (Ed.) Fungi: Biology and Applications*. West Sussex, Wiley-BlackWell, pp. 279-312.
- Aigner, M. e Lass-Flörl, C. (2020). Encochleated Amphotericin B: Is the Oral Availability of Amphotericin B Finally Reached? *J Fungi (Basel)*, 6 (2), pp. 1-7.
- Ampel, N. M. (2017). Coccidioidomycose. *In: EDUCATION, M. H. (Ed.) Medicina Interna de Harrison*. Porto Alegre, AMGH, pp. 5449-5457.
- Araujo, R. e Espinel-Ingroff, A. (2010). Antifungal Resistance: Cellular and Molecular Mechanisms. *In: Ahmad, I., Mohammed, O., Mohammed, S., et al. (Eds.) Combating Fungal Infections: Problems and Remedy*. Heidelberg, Springer, pp. 125-146.
- Astellas. (2015). *Astellas Receives FDA Approval for CRESEMBA® (isavuconazonium sulfate) for the Treatment of Invasive Aspergillosis and Invasive Mucormycosis* [Online]. Disponível em <https://astellas.us/docs/cresemba.pdf> [Consultado em 28 de Setembro de 2020].
- Azie, N., Angulo, D., Dehn, B., et al. (2020). Oral Ibrexafungerp: an investigational agent for the treatment of vulvovaginal candidiasis. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 29 (9), pp. 893-900.
- Bergold, A. M. e Georgiadis, S. (2004). Novidades em Fármacos Antifúngicos: Uma Revisão. *Visão Acadêmica*, 5, pp. 159-172.
- Biederdorf, F., Breithaupt, I., Mannino, R., et al. (Year) Published. Oral Administration of Amphotericin B (CAmB) in Humans: a Phase I Study of Tolerability and Pharmacokinetics. Scientific Presentations and Publications Matinas Biopharma, 2016.
- Biopharma, M. (2020a). *A disruptive platform for the safe and targeted delivery of therapeutics* [Online]. Disponível em <https://www.matinasbiopharma.com/lnc-technology/lnc-platform> [Consultado em 24 de Agosto de 2020].
- Biopharma, M. (2020b). *Enabling a safe delivery of the top antifungal treatment* [Online]. Disponível em <https://www.matinasbiopharma.com/lnc-technology/mat2203> [Consultado em 21 de Setembro de 2020].

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

- BioSpace. (2015). *Matinas BioPharma's Lead Antifungal Product Candidate MAT2203 Granted QIDP And Fast Track Designations By FDA* [Online]. Disponível em <https://www.biospace.com/article/releases/matinas-biopharma-s-lead-antifungal-product-candidate-mat2203-granted-qidp-and-fast-track-designations-by-fda/> [Consultado em 21 de Setembro de 2020].
- Bustamante, B., Hidalgo, J. A. e Campos, P. E. (2017). Antifungal Drugs. In: Montes, H. M. M. e Bezerra, L. M. L. (Eds.) *Current Progress in Medical Mycology*. Cham, Springer, pp. 29-89.
- Cadena, J., Thompson, G. R., 3rd e Patterson, T. F. (2016). Invasive Aspergillosis: Current Strategies for Diagnosis and Management. *Infect Dis Clin North Am*, 30 (1), pp. 125-142.
- Campoy, S. e Adrio, J. L. (2017). Antifungals. *Biochem Pharmacol*, 133, pp. 86-96.
- Cappelletty, D. e Eiselstein-McKitrick, K. (2007). The echinocandins. *Pharmacotherapy*, 27 (3), pp. 369-388.
- Casadevall, A. (2017). Criptococose. In: EDUCATION, M. H. (Ed.) *Medicina Interna de Harrison*. Porto Alegre, AMGH, pp. 5465-5474.
- Castelli, M. V., Butassi, E., Monteiro, M. C., et al. (2014). Novel antifungal agents: a patent review (2011 - present). *Expert Opin Ther Pat*, 24 (3), pp. 323-338.
- Chakrabarti, A. e Sethuraman, N. (2017). Introduction to Medical Mycology. In: Montes, H. M. M. e Bezerra, L. M. L. (Eds.) *Current Progress in Medical Mycology*. Gewerbestrasse, Springer, pp. 1-28.
- Chang, C. C., Slavin, M. A. e Chen, S. C. (2017). New developments and directions in the clinical application of the echinocandins. *Arch Toxicol*, 91 (4), pp. 1613-1621.
- Chen, S. C., Slavin, M. A. e Sorrell, T. C. (2011). Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison. *Drugs*, 71 (1), pp. 11-41.
- Chitasombat, M. N. e Kontoyiannis, D. P. (2015). The 'cephalosporin era' of triazole therapy: isavuconazole, a welcomed newcomer for the treatment of invasive fungal infections. *Expert Opin Pharmacother*, 16 (10), pp. 1543-1558.
- Daele, R. V., Spriet, I., Wauters, J., et al. (2019). Antifungal drugs: What brings the future? *Medical Mycology*, 57 (Supplement_3), pp. S328-S343.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

- Davis, M. R., Donnelley, M. A. e Thompson, G. R. (2020). Ibrexafungerp: A novel oral glucan synthase inhibitor. *Med Mycol*, 58 (5), pp. 579-592.
- Denis, J., Ledoux, M. P., Nivoix, Y., *et al.* (2018). Isavuconazole: A new broad-spectrum azole. Part 1: In vitro activity. *J Mycol Med*, 28 (1), pp. 8-14.
- Edwards, J. E. (2017a). Candidíase. *In: EDUCATION, M. H. (Ed.) Medicina Interna de Harrison*. Porto Alegre, AMGH, pp. 5475-5485.
- Edwards, J. E. (2017b). Infecções causadas por fungos. *In: EDUCATION, M. H. (Ed.) Medicina Interna de Harrison*. Porto Alegre, AMGH pp. 5430-5438.
- Espinel-Ingroff, A. (1996). History of medical mycology in the united states. *Clin Microbiol Rev*, 9 (2), pp. 235-272.
- Falci, D. R. e Pasqualotto, A. C. (2013). Profile of isavuconazole and its potential in the treatment of severe invasive fungal infections. *Infect Drug Resist*, 6, pp. 163-174.
- Faustino, C. e Pinheiro, L. (2020). Lipid Systems for the Delivery of Amphotericin B in Antifungal Therapy. *Pharmaceutics*, 12 (1), pp. 1-47.
- FDA. (2018). *Fast Track* [Online]. Disponível em <https://www.fda.gov/patients/fast-track-breakthrough-therapy-accelerated-approval-priority-review/fast-track> [Consultado em 22 de Outubro de 2020].
- Filippin, F. B. e Souza, C. L. (2006). Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2 (2), pp. 167-194.
- Freitas, G. (2010). Fungos. *In: LIDEL (Ed.) Microbiologia*. Lisboa, LIDEL, pp. 145-165.
- Freitas, G. e Vaz, C. P. (2014). Micologia Médica. *In: LIDEL (Ed.) Microbiologia Médica*. Lisboa, LIDEL, pp. 283-400.
- Gentles, J. C. (1958). Experimental ringworm in guinea pigs: oral treatment with griseofulvin. *Nature*, 182 (4633), pp. 476-7.
- Ghannoum, M., Arendrup, M. C., Chaturvedi, V. P., *et al.* (2020). Ibrexafungerp: A Novel Oral Triterpenoid Antifungal in Development for the Treatment of Candida auris Infections. *Antibiotics (Basel)*, 9 (9), pp. 1-13.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

- Gonçalves, T. (2014). Principios Gerais da Micologia: estrutura e multiplicação de fungos. *In: Lidel (Ed.) Microbiologia Médica*. Lisboa, Lidel, pp. 47-51.
- Gupta, A. K. e Lyons, D. C. (2014). Pityriasis versicolor: an update on pharmacological treatment options. *Expert Opin Pharmacother*, 15 (12), pp. 1707-1713.
- Hage, C. A. e Wheat, L. J. (2017). Histoplasmose. *In: EDUCATION, M. H. (Ed.) Medicina Interna de Harrison*. Porto Alegre, AMGH, pp. 5439-5448.
- Hope, W. W., McEntee, L., Livermore, J., *et al.* (2017). Pharmacodynamics of the Orotomides against *Aspergillus fumigatus*: New Opportunities for Treatment of Multidrug-Resistant Fungal Disease. *mBio*, 8 (4), pp. 1-17.
- INFARMED. (2013). *Cetoconazol oral – Recomendação para a suspensão da autorização* [Online]. Disponível em <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1096079/9046293.PDF/fd986893-b278-408c-a60e-0a6aff9a0e24?version=1.0> [Consultado em 22 de Setembro de 2020].
- INFOMED. (2011). *Resumo das características do medicamento Cancidas* [Online]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cancidas-epar-product-information_pt.pdf [Consultado em 8 de Outubro de 2020].
- INFOMED. (2017). *Resumo das características do medicamento Ecalta* [Online]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ecalta-epar-product-information_pt.pdf [Consultado em 8 de Outubro de 2020].
- INFOMED. (2018). *Resumo das características do medicamento Mycamine* [Online]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mycamine-epar-product-information_pt.pdf [Consultado em 8 de Outubro de 2020].
- Jenks, J. D., Salzer, H. J., Prattes, J., *et al.* (2018). Spotlight on isavuconazole in the treatment of invasive aspergillosis and mucormycosis: design, development, and place in therapy. *Drug design, development and therapy*, 12, pp. 1033-1044.
- Klepser, M. (2011). The value of amphotericin B in the treatment of invasive fungal infections. *J Crit Care*, 26 (2), pp. 225 e1-225 e10.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

- Lakota, E. A., Bader, J. C., Ong, V., *et al.* (2017). Pharmacological Basis of CD101 Efficacy: Exposure Shape Matters. *Antimicrob Agents Chemother*, 61 (11), pp. 1-7.
- Lakota, E. A., Ong, V., Flanagan, S., *et al.* (2018). Population Pharmacokinetic Analyses for Rezafungin (CD101) Efficacy Using Phase 1 Data. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62 (6), pp. 1-8.
- Larkin, E. L., Dharmiah, S. e Ghannoum, M. A. (2018). Biofilms and beyond: expanding echinocandin utility. *J Antimicrob Chemother*, 73 (suppl_1), pp. i73-i81.
- Leite, C. L., Groposo, C., Santos, E. R. D., *et al.* (2006). A particularidade de ser um fungo – I. Constituintes celulares. *Biotemas*, 19 (2), pp. 17-27.
- Lewis, R. E. (2011). Current concepts in antifungal pharmacology. *Mayo Clin Proc*, 86 (8), pp. 805-817.
- Lewis, R. E. e Fothergill, A. W. (2015). Antifungal Agents. *In: Hospenthal, D. R. e Rinaldi, M. G. (Eds.) Diagnosis and Treatment of Fungal Infections*. 2 ed. Switzerland, Springer, pp. 79-97.
- Lima, S. L., Colombo, A. L. e de Almeida Junior, J. N. (2019). Fungal Cell Wall: Emerging Antifungals and Drug Resistance. *Front Microbiol*, 10, pp. 1-9.
- Lu, R., Hollingsworth, C., Qiu, J., *et al.* (2019). Efficacy of Oral Encocchleated Amphotericin B in a Mouse Model of Cryptococcal Meningoencephalitis. *mBio*, 10 (3), pp. 1-12.
- Magina, S. (2014). Antifúngicos. *In: Guimarães, S., Moura, D. and Silva, P. S. (Ed.) Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas*. Porto, Porto Editora, pp. 694-702.
- Manino, R. e Perlin, D. (2015). Oral dosing of encocchleated amphotericin B (CAmB): Rapid drug targeting to infected tissue in mice with invasive candidiasis. *American Society of Microbiology's Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy and International Society of Chemotherapy's International Congress of Chemotherapy and infection*.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. e A., P. M. (2016). Micology. *In: Elsevier (Ed.) Medical Microbiology*. 8 ed. Philadelphia, Elsevier, pp. 567-683.

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

- Nosanchuk, J. D. (2006). Current status and future of antifungal therapy for systemic mycoses. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 1 (1), pp. 75-84.
- Ong, V., Hough, G., Schlosser, M., *et al.* (2016). Preclinical Evaluation of the Stability, Safety, and Efficacy of CD101, a Novel Echinocandin. *Antimicrob Agents Chemother*, 60 (11), pp. 6872-6879.
- Oxford, A. E., Raistrick, H. e Simonart, P. (1939). Studies in the biochemistry of microorganisms: Griseofulvin, C(17)H(17)O(6)Cl, a metabolic product of *Penicillium griseo-fulvum* Dierckx. *Biochem J*, 33 (2), pp. 240-248.
- Padda, I. S. e Parmar, M. (2020). Flucytosine. *StatPearls*. Treasure Island (FL), pp. 1-2.
- Perea, J. R. A. (2016). Echinocandins: Applied pharmacology. *Rev Iberoam Micol*, 33 (3), pp. 140-144.
- Perea, J. R. A. e Rada, B. S. D. (2018). Perfil farmacológico del isavuconazol. *Revista Iberoamericana de Micología*, 35 (4), pp. 186-191.
- Rang, H. P., Ritter, J. M., Flower, R. J., *et al.* (2016). Fármacos usados no tratamento das infecções e do câncer. *In: Elsevier (Ed.) Farmacologia*. Rio de Janeiro, Elsevier, pp. 653-657.
- Rauseo, A. M., Coler-Reilly, A., Larson, L., *et al.* (2020). Hope on the Horizon: Novel Fungal Treatments in Development. 7 (2), pp. 1-19.
- Richardson, M. D. e Warnock, D. W. (2003). Introduction. *In: Ltd, J. W. S. (Ed.) Fungal Infection: Diagnosis and Management*. Massachusetts, Blackwell, pp. 1-13.
- Sandison, T., Ong, V., Lee, J., *et al.* (2017). Safety and Pharmacokinetics of CD101 IV, a Novel Echinocandin, in Healthy Adults. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61 (2), pp. e01627-16.
- Santangelo, R., Paderu, P., Delmas, G., *et al.* (2000). Efficacy of oral cochleate-amphotericin B in a mouse model of systemic candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother*, 44 (9), pp. 2356-2360.
- Schmitt-Hoffmann, A., Roos, B., Heep, M., *et al.* (2006). Single-ascending-dose pharmacokinetics and safety of the novel broad-spectrum antifungal triazole BAL4815 after intravenous infusions (50, 100, and 200 milligrams) and oral

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

administrations (100, 200, and 400 milligrams) of its prodrug, BAL8557, in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, 50 (1), pp. 279-285.

SCYNEXIS. (2018). *SCYNEXIS's Oral SCY-078 Receives FDA QIDP and Fast Track Designations for the Treatment of VVC and Prevention of Recurrent VVC* [Online]. [Consultado em 14 de Dezembro de 2020].

Segarra, I., Movshin, D. A. e Zarif, L. (2002). Pharmacokinetics and tissue distribution after intravenous administration of a single dose of amphotericin B cochleates, a new lipid-based delivery system. *J Pharm Sci*, 91 (8), pp. 1827-1837.

Seyedmousavi, S., Rafati, H., Ilkit, M., *et al.* (2017). Systemic Antifungal Agents: Current Status and Projected Future Developments. *Methods Mol Biol*, 1508, pp. 107-139.

Shende, P., Khair, R. e Gaud, R. S. (2019). Nanostructured cochleates: a multi-layered platform for cellular transportation of therapeutics. *Drug Dev Ind Pharm*, 45 (6), pp. 869-881.

Shirley, M. e Scott, L. J. (2016). Isavuconazole: A Review in Invasive Aspergillosis and Mucormycosis. *Drugs*, 76 (17), pp. 1647-1657.

Skipper, C. P., Atukunda, M., Stadelman, A., *et al.* (2020). Phase I EnACT Trial of the Safety and Tolerability of a Novel Oral Formulation of Amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother*, 64 (10).

Solimana, G. M. (2017). Nanoparticles as safe and effective delivery systems of antifungal agents: Achievements and challenges. *International Journal of Pharmaceutics*, 523, pp. 15-32.

Spitzer, M., Robbins, N. e Wright, G. D. (2017). Combinatorial strategies for combating invasive fungal infections. *Virulence*, 8 (2), pp. 169-185.

Sullivan, D. C. e Nolan, R. L. (2017). Blastomicose. *In: EDUCATION, M. H. (Ed.) Medicina Interna de Harrison*. Porto Alegre, AMGH pp. 5458-5464.

Sullivan, D. J., Moran, G. P. e Coleman, D. C. (2011). Fungal Infections of Humans. *In: Kavanagh, K. (Ed.) Fungi: Biology and Applications*. 2 ed. West Sussex, Wiley-Blackwell, pp. 257-278.

Townsend, R., Kato, K., Hale, C., *et al.* (2018). Two Phase 1, Open-Label, Mass Balance Studies to Determine the Pharmacokinetics of (14) C-Labeled

Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva

Isavuconazonium Sulfate in Healthy Male Volunteers. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 7 (2), pp. 207-216.

- Vandeputte, P., Ferrari, S. e Coste, A. T. (2012). Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *Int J Microbiol*, 2012, pp. 713687.
- Vieira, F. e Nascimento, T. (2017). Resistência a Fármacos Antifúngicos por Candida e Abordagem Terapêutica. *Revista Portuguesa de Farmacoterapia*, pp. 29-36.
- Walker, G. M. e White, N. A. (2011). Introductions to Fungal Physiology. In: Kavanagh, K. (Ed.) *Fungi: Biology and Applications*. 2 ed. West Sussex, Wiley, pp. 1-34.
- Wiederhold, N. P. (2020). Review of the Novel Investigational Antifungal Olorofim. *J Fungi (Basel)*, 6 (3), pp. 1-12.
- Wilson, D. T., Dimondi, V. P., Johnson, S. W., *et al.* (2016). Role of isavuconazole in the treatment of invasive fungal infections. *Therapeutics and clinical risk management*, 12, pp. 1197-1206.
- Wring, S. A., Randolph, R., Park, S., *et al.* (2017). Preclinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Target of SCY-078, a First-in-Class Orally Active Antifungal Glucan Synthesis Inhibitor, in Murine Models of Disseminated Candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother*, 61 (4), pp. 1-50.
- Wu, T. C. (1994). On the development of antifungal agents: perspective of the U.S. Food and Drug Administration. *Clin Infect Dis*, 19 Suppl 1, pp. S54-8.
- Yu, Y., Albrecht, K., Groll, J., *et al.* (2020). Innovative therapies for invasive fungal infections in preclinical and clinical development. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 29 (9), pp. 961-971.
- Zarif, L., Graybill, J. R., Perlin, D., *et al.* (2000). Antifungal activity of amphotericin B cochleates against *Candida albicans* infection in a mouse model. *Antimicrob Agents Chemother*, 44 (6), pp. 1463-1469.
- Zhao, Y., Prideaux, B., Nagasaki, Y., *et al.* (2017). Unraveling Drug Penetration of Echinocandin Antifungals at the Site of Infection in an Intra-abdominal Abscess Model. *Antimicrob Agents Chemother*, 61 (10).