



O desafio de novas vias de administração para Anfotericina B

The challenge of new administration routes for Amphotericin B

PATRICIO, B.F.C.¹; PRADO, L.D.¹; ROCHA, H.V.A.^{1*}

¹Laboratório de Micro e Nanotecnologia, Farmanguinhos / Fiocruz

Autor correspondente: Helvécio Rocha

Av. Brasil, 4036, sala 107, Maré, Rio de Janeiro-RJ, CEP: 21040-361 | helvecio.rocha@far.fiocruz.br

DOL: <https://doi.org/10.29327/226760.1.1-7>

Recebido em 14/12/2018; Aceito em 17/12/2018

RESUMO:

As leishmanioses representam um conjunto de doenças com uma grande diversidade clínica e epidemiológica, sendo classificadas em duas formas principais: tegumentar e visceral. Estima-se uma prevalência de doze milhões de casos em todo o mundo e esse número continua a aumentar, com 1,5 a 2 milhões de novos casos por ano, principalmente em áreas tropicais e subtropicais. A anfotericina B (AmB) é um fármaco pouco solúvel em água e pouco absorvido no trato gastrointestinal. É utilizado no tratamento de primeira linha para infecções fúngicas invasivas e é o fármaco contra a leishmaniose mais potente disponível comercialmente. As formulações com esse fármaco disponíveis são administradas por via parenteral, o que dificulta sua viabilidade em locais remotos. A formulação convencional da AmB apresenta alta nefrotoxicidade e, por conta disso, foram desenvolvidas formulações injetáveis lipídicas que melhoraram o efeito adverso. Entretanto, elas apresentam a mesma eficácia. Por conta disso, há uma crescente busca por novas formulações de AmB, com destaque para as formulações lipossomais catiônicas por via intravenosa e as nanoformulações lipídicas, como os sistemas autoemulsificantes, para via oral. Algumas dessas formulações orais já estão em testes clínicos, sendo uma esperança no tratamento de doenças fúngicas e leishmanioses.

Palavras – chave: anfotericina B, leishmaniose, nanotecnologia, sistemas de liberação de fármacos.

ABSTRACT:

Leishmaniasis represents a group of diseases with a great clinical and epidemiological diversity, it is classified in two main forms: cutaneous and visceral. A prevalence of 12 million cases is estimated worldwide and this number continues to increase, with 1.5 to 2 million new cases per year, especially in tropical and subtropical areas. Amphotericin B (AmB) is a poorly water-soluble drug and poorly absorbed in the gastrointestinal tract. It is used in first-line treatment for invasive fungal infections and is the most potent commercially available leishmaniasis drug. All drug formulations available are administered parenterally, which hampers their viability at remote sites. In addition, the conventional formulation of AmB shows high nephrotoxicity. The lipid formulation have less side effect, but have the same efficacy. Because of this, there is a growing search for new formulations of AmB, with emphasis on intravenous cationic liposomal formulations and lipid nanoformulations, such as oral self-emulsifying delivery systems. Some of these oral formulations are already in clinical trials, being a hope in the treatment of fungal diseases and leishmaniasis.

Keywords: amphotericin B, leishmaniasis, nanotechnology, drug delivery systems

INTRODUÇÃO

A descoberta de novas entidades químicas é de extrema importância para a inovação farmacêutica (MACRAE et al., 2015). Entretanto, nos últimos anos, a inovação tem surgido em novos sistemas de liberação de fármacos com a finalidade de modelar a cinética de liberação, incrementar a absorção, aumentar a estabilidade do fármaco ou vetorizá-lo para uma determinada população celular, órgão ou tecido (THORLEY et al., 2013; ZHAO et al., 2014). Os novos sistemas terapêuticos surgiram da necessidade de minimizar problemas existentes com a administração das formas farmacêuticas tradicionais.

No desenvolvimento de um medicamento, aspectos biofarmacêuticos e patofisiológicos devem ser considerados, os quais, dentre outros fatores, determinam sua via de administração. Por exemplo, a anfotericina B (AmB) é muito pouco solúvel em água e dificilmente absorvida pelo trato gastrointestinal, devendo ser administrada por via parenteral (SERRANO et al., 2015).

A AmB permanece como tratamento de primeira linha para infecções fúngicas invasivas. Nas últimas décadas, a incidência dessas infecções apresentou um aumento significativo (PETRIKKOS et al., 2007), sendo causa de morbidade e mortalidade, principalmente em pacientes imunodeprimidos (SHAO et al., 2007). Além disso, é o fármaco contra a leishmaniose mais potente disponível comercialmente (LEMKE et al., 2005). O difícil acesso da população aos serviços de saúde foi um dos fatores que contribuíram para o aumento do número de casos de leishmaniose no Brasil e no mundo (WHO et al., 2018). Por ser administrada por via parenteral, existem muitas limitações ao uso da AmB, como a segurança associada com a administração e a viabilidade da administração do produto em locais remotos (LEMKE et al., 2005).

LEISHMANIOSES

As leishmanioses representam um conjunto de doenças com uma grande diversidade clínica e epidemiológica, sendo classificadas em duas formas principais, leishmaniose tegumentar (LT) e leishmaniose visceral (LV) ou calazar (DESJEUX, 2004). São prevalentes em áreas tropicais e subtropicais e são endêmicas em mais de oitenta países da África, Ásia, sul da Europa e América Latina (WHO et al., 2018). Estima-se uma prevalência de doze milhões de casos em todo o mundo e esse número continua a aumentar, com 1,5 a 2 milhões de novos casos por ano. A doença também ocorre em focos não endêmicos em decorrência das mudanças ecológicas e de habitat do inseto vetor, da urbanização e do aumento do trânsito de pessoas (AMEEN, 2010).

As leishmanioses são doenças causadas pela infecção de protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes à ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania*. A LT é prevalente em 82 países e sua incidência é estimada em 1,5 milhões de casos por ano (GOTO et al., 2010).

O tratamento da LT pode ser local ou sistêmico. O último é empregado como terapia para LV e nos casos de LT não responsivos ou não indicados ao tratamento tópico. Nesse contexto, a terapia convencional das leishmanioses é a administração parenteral de antimoniais pentavalentes: estibogluconato de sódio (Pentostam) e antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime) (GOTO et al., 2010). O Pentostam é usado principalmente em países de língua inglesa e Glucantime é usado no Brasil e em outros países da América Latina (SANTOS et al., 2008). Ambos são tratamentos longos de 20 a 30 dias que requerem a internação do paciente e administração intravenosa (GOTO et al., 2010).

A eficácia dos antimoniais é variável, dependendo da região geográfica, espécie de *Leishmania* e apresentação clínica. Infelizmente, o aumento de casos de falha terapêutica tem sido reportado

em várias regiões do mundo. O aparecimento de resistência de espécies de *Leishmania* aos antimoniais é relatado, principalmente onde seu uso foi indiscriminado, como na Índia (PISCOPO et al., 2006; AMEEN, 2010). Por fim, os antimoniais não são efetivos no tratamento de alguns tipos da LT, especialmente na manifestação severa (PISCOPO et al., 2006).

Nos casos em que o tratamento preconizado com antimoniais pentavalentes não é efetivo ou não pode ser empregado, agentes de segunda escolha podem ser utilizados, tais como anfotericina B, pentamidina e paramomicina (SANTOS et al., 2008). Sendo a AmB o tratamento mais potente comercialmente (LEMKE et al., 2005).

ANFOTERICINA B

A AmB é indicada para o tratamento de infecções fúngicas potencialmente graves e leishmaniose, sendo administrada por via intravenosa. Em uma das extremidades da molécula de ativo, encontra-se um resíduo micosamina (lactona) com um grupamento amina livre, de pK_a igual a 9,5, e um grupo carboxil, de pK_a igual a 3,5 (MAZERSKI et al., 1990). Estes dois grupos, em pH fisiológico, conferem características zwitteriônicas à molécula e constituem a cabeça polar (GOLENER et al., 2006). Devido à essas características, a AmB tende a formar agregado em meio aquoso, podendo apresentar diferentes estados de agregação (TORRADO et al., 2008). É instável em faixas de pH abaixo de 6 e acima de 9 e em presença de luz, calor e oxigênio (ARAÚJO, 2005).

A AmB é um fármaco da Classe IV, segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), apresentando baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AMIDON et al., 1995). Dessa forma, só existem formulações endovenosas desse fármaco. O primeiro medicamento comercialmente disponível foi o Fungizon (1960), disponibilizado como uma suspensão coloidal. Nesta formulação, o sal biliar,

desoxicolato de sódio, é utilizado como agente solubilizante, formando um complexo micelar com a AmB (VYAS et al., 2006). Essa associação é a chamada formulação convencional e é por infusão intravenosa lenta em uma solução contendo 5% de dextrose (SHADKHAN et al., 1997). Atualmente, no Brasil, encontra-se disponível o medicamento Anforicin B como formulação convencional.

Após a administração endovenosa, o Fungizon é diluído no sangue, o que leva à completa dissociação da dispersão coloidal composta de AmB e desoxicolato de sódio. A AmB convencional causa hemólise e associa-se extensamente a lipoproteínas de baixa densidade (LDL), sendo captada pelas células que exibem receptores para essas lipoproteínas, por exemplo, as células renais, sendo altamente nefrotóxica (ROMERO et al., 2008). Outra questão para a toxicidade dessa formulação está no fato do fármaco dissociar-se rapidamente e formar agregados (forma solúvel em água), que é a forma mais tóxica (TORRADO et al., 2008).

A redução desta nefrotoxicidade é o principal objetivo das formulações lipídicas que surgiram na década de 1990 (VYAS et al., 2006; TORRADO et al., 2008). Além da formulação convencional, três preparações lipídicas estão disponíveis comercialmente: AmB lipossomal (AmBisome), complexo lipídico de AmB (Abelcet) e dispersão coloidal de AmB (Amphocil) (VYAS et al., 2006). Estas formulações apresentam eficácia semelhante (GOTO et al., 2010) e diferem quanto à estrutura, forma, tamanho, composição e conteúdo (Tabela 1).

Sistemas lipídicos são capazes de interagir fortemente com as moléculas de AmB, formando uma entidade molecular nova, que apresentam propriedades físico-químicas distintas do fármaco isolado. As formulações lipídicas comercialmente disponíveis têm indicação regulamentada apenas para LV (VYAS et al., 2006). A AmB lipossomal não tem sido extensamente usada na LT, mas relatos isolados de seu uso *off-label* em casos

Tabela 1 - Preparações comerciais de anfotericina B (Adaptado de IMAN *et al.*, 2011).

Nome Comercial	Tecnologia	Composição	Tamanho	Carga superficial
Fungizon	Dispersão coloidal (micelas)	Desoxicolato, AmB	≈ 1 µm (diâmetro)	Negativa
AmBisome	Lipossomas SUV	HSPC-Chol-DSPGAmB (2:1:0,8:0,4)	< 100 nm (diâmetro)	Negativa
Abelcet	Complexo lipídico (forma de fita)	DPMC- DMPGAmB (7:3:3)	1 a 6 µm (diâmetro)	Negativa
Amphotec Amphocil	Dispersão coloidal (forma de disco)	Colesterilsulfato de sódio- AmB (1:1)	≈ 100 nm (diâmetro) x < 10 nm (espessura)	Negativa

HSPC: fosfatidilcolina hidrogenada de soja. Chol: colesterol. DSPG: diestearoilfosfatidilglicerol. DPMC: dimiristoilfosfatidilcolina. DMPG: dimiristoilfosfatidilglicerol. SUV: Vesículas Unilamelares Pequenas.

de resistência têm mostrado efetividade (PISCOPO *et al.*, 2006).

Dentre as formulações comerciais, a AmBisome é menos tóxica do que as outras. Nela, a AmB ancora-se fortemente na bicamada lipídica devido às interações favoráveis com os lipídios ao redor. A forte associação faz com que a AmB não seja liberada prontamente quando entra na circulação sanguínea e não se agregue, o que modifica a biodistribuição do fármaco, diminuindo sua captação por células renais e reduzindo a toxicidade (VYAS *et al.*, 2006; ROMERO *et al.*, 2008).

Devido à natureza coloidal das formulações lipídicas, em especial AmBisome, elas são removidas da circulação pelas células do sistema fagocítico mononuclear (SFM), levando a alterações no perfil farmacocinético. Esse direcionamento passivo ao alvo é útil para diminuir a toxicidade renal da AmB e, além disso, pode servir como estratégia de tratamento de infecções de células fagocíticas do SFM causadas por parasitas, como ocorre, por exemplo, na LV (TORRADO *et al.*, 2008).

Diversos sistemas de liberação são descritos na literatura para incorporação da AmB. A maioria dos estudos envolve nanossistemas, empregados para o aumento da biodisponibilidade da AmB e para a redução da toxicidade. Além disso, algumas abordagens utilizadas são direcionadas para a veiculação da AmB por via oral, visando também a

proteção das moléculas contra degradação no trato gastrointestinal.

Pela via parenteral, diferentes sistemas podem ser citados: lipossomas (ETTEN *et al.*, 1995), micelas poliméricas (LAVASANIFAR *et al.*, 2001), emulsões submicrônicas (BOUCHEMAL *et al.*, 2004; FILIPPIN *et al.*, 2008), microemulsões (DAROLE *et al.*, 2008) e nanopartículas lipídicas (MORIBE *et al.*, 2010). Para veiculação da AmB é interessante pensar em lipossomas positivamente carregados pois isso confere um maior reconhecimento pelo sistema imune do hospedeiro. Dessa forma, maior quantidade dessa formulação ficará retida em baço e fígado, ajudando no tratamento da enfermidade (OWENS *et al.*, 2006).

Diversos outros sistemas foram utilizados para veicular AmB, como emulsomas (GUPTA *et al.*, 2007; GILL *et al.*, 2011), micro e nanoemulsões (MORENO *et al.*, 2001) e microesferas de albumina (BRUNETE *et al.*, 2004).

Apesar de efetivas, existem muitas limitações do uso parenteral, como a segurança associada com a administração, viabilidade da administração de produtos parenterais em locais remotos, adesão do paciente ao tratamento (TORRADO *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2017). O desenvolvimento de uma formulação oral efetiva, estável e segura de AmB, resultaria em aplicações significativas no tratamento de infecções fúngicas disseminadas e expandiria o acesso ao

tratamento da LV. Entretanto, a biodisponibilidade da AmB é muito baixa (0,2-0,9%) devido à sua baixa solubilidade em água, a sua instabilidade em pH baixo do fluido gástrico e baixa permeabilidade (SERRANO et al., 2017).

Alguns estudos administraram 2-10 g de AmB por dia a pacientes. Entretanto, foi observado que a concentração plasmática no sangue não altera. Outro estudo administrou AmB por via oral através de múltiplas doses e observou um aumento da concentração plasmática, apesar de ainda baixa (HALDE et al., 1957; LOURIA, 1958; KRAVETZ et al., 1961). Isso sugere que a absorção da molécula do fármaco ocorre por processo saturável (SERRANO et al., 2017).

Além da baixa biodisponibilidade oral, a AmB apresenta efeitos adversos devido a uma toxicidade no trato gastrointestinal como náusea, vômito, diarreia e perda de apetite. Esses efeitos acabam sendo ainda mais críticos devido à alta dose necessária para uma melhor biodisponibilidade oral (SERRANO et al., 2017).

Da mesma forma, diversos estudos estão descritos na literatura com a busca de sua veiculação e administração por via oral. Já foram desenvolvidas nanopartículas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (ITALIA et al., 2009), nanopartículas de quitosana, formulações lipídicas (SERRANO et al., 2015) e nanossuspensão (KAYSER et al., 2003).

Os cocleatos assumem certo destaque, como nos trabalhos de Mannino (2010) e Sesana (2011). A tecnologia Bioral (*Biodelivery Sciences*), baseada em cocleatos, encapsula e protege fármacos sem formar ligações químicas, facilitando a veiculação oral especialmente de fármacos utilizados por via parenteral. Uma formulação de AmB com cocleatos foi desenvolvida pela *Biodelivery Sciences* e estudos pré-clínicos demonstraram o potencial deste sistema de liberação (DELMAS et al., 2002). Em 2016 deu-se

início um estudo de fase II desse sistema (CLINICAL TRIALS, 2018). O maior problema dessa formulação é o escalonamento e custo final do produto (ZARIF et al., 2002).

A incorporação da AmB em micelas compostas por mono- e diglicerídes e fosfolípidios apresentou um aumento da concentração plasmática e diminuiu a parasitemia (WASAN, 2009 e 2010). Uma delas já está em estudo clínico iCo-10 (ICO THERAPEUTICS, 2017). Essas formulações podem ser consideradas sistemas auto-emulsificantes (SEDDS, do Inglês *Self-Emulsifying Drug Delivery System*) e soluções e suspensões com excipientes líquidos. As formulações SEDDS foram obtidas utilizando triglicerídeos de cadeia média, ácidos graxos e surfactantes não-iônicos e formam microemulsões apenas com os movimentos peristálticos do trato gastrointestinal (SACHS-BARRABLE et al., 2008). Um dos problemas dessas formulações é a baixa solubilidade da AmB nos componentes lipídicos (IBRAHIM et al., 2012).

No caso de nanopartículas para veiculação oral de AmB para o tratamento LV é interessante a captação pelo sistema linfático. Nesse caso, dois pontos são importantes, o tamanho (100 – 500 nm) e a composição de superfície que deve adsorver a maior quantidade de sais biliares possível (GHOSH et al., 2014; TREVASKIS et al., 2015).

CONCLUSÃO

A leishmaniose é uma doença prevalente em áreas tropicais e subtropicais e o número de novos pacientes infectados cresce a cada ano nessas regiões. O tratamento dessa doença é complexo, com uso de medicamentos por via intravenosa com muitos efeitos adversos. A anfotericina B é o medicamento de segunda escolha no tratamento dessa doença, mas o mais potente. Esse fármaco também é utilizado com maior frequência no tratamento de doenças fúngicas. Existem diferentes formulações de AmB no mercado,



sendo a convencional a que apresenta maior incidência de nefrotoxicidade. As outras formulações lipídicas apresentam a mesma eficácia com uma diminuição dos efeitos adversos. Por conta disso, muitos trabalhos na literatura vêm buscando novas formulações de AmB. Para a administração parenteral, destaca-se o uso de lipossomas catiônicos como forma de administração do fármaco para aumentar a sua captação por macrófagos e, por conseguinte, a eficácia do tratamento.

Entretanto, a via parenteral apresenta problemas, como a dificuldade de adesão do paciente ao tratamento e necessidade de internação do mesmo para a administração. Assim, existe um esforço dos pesquisadores da área em desenvolver uma formulação via oral. As formulações utilizando nanotecnologia destacam-se na área, especialmente as nanopartículas lipídicas e poliméricas, chegando a estudos clínicos. Um ponto importante nesse processo é o escalonamento da formulação e o custo final do produto, uma vez que é focado no tratamento de uma doença negligenciada.

REFERÊNCIA

- AMEEN, M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. *Clin. Exp. Dermatol.*, 35:699-705, 2010. doi.org/10.1111/j.1365-2230.2010.03851.x.
- AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R.A. theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.*, 12(3):413-20, 1995. doi.org/10.1023/A:1016212804288
- ARAÚJO, I.B.; BRITO, C.R.; URBANO, I.A.; DOMINICI, V.A.; SILVA FILHO, M.A.; SILVEIRA, W.L.; DAMASCENO, B.P.; MEDEIROS, A.C.; EGITO E.S. Similarity between the in vitro activity and toxicity of two different Fungizone/Lipofundin. *Acta Cir. Bras.*, 1:257-260, 2005. doi.org/10.1590/S0102-86502005000700022
- BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. *Int. J. Pharm.*, 280:241-251, 2004. doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.05.016.
- SÁNCHEZ-BRUNETE, J.A.; DEA, M.A.; RAMA, S.; BOIÁS, S.; ALUNDA, J.M.; RAPOSO, R.; MÉNDEZ, M.T.; TORRADO-SANTIADO, S.; TORRADO, J.J. Treatment of Experimental Visceral Leishmaniasis with Amphotericin B in Stable Albumin Microspheres. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 48:3246-3252, 2004. doi.org/10.1128/AAC.48.9.3246-3252.2004.
- CLINICAL TRIALS. CAMB/MAT2203 in patients with mucocutaneous candidiasis (camb). Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02629419?term=1/4cochleates&rank=1/41>. (Acessado em 6 de dezembro de 2018).
- DAROLE, P.S.; HEGDE, D.D.; NAIR, H.A. Formulation and evaluation of microemulsion based delivery system for amphotericin B. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 9(1): 122-128, 2008. doi.org/10.1208/s12249-007-9022-8.
- DELMAS, G.; PARK, S.; CHEN, Z.W.; TAN, F.; KASHIWAZAKI, R.; ZARIF, L.; PERLIN, D.S. Efficacy of orally delivered cochleates containing amphotericin B in a murine model of aspergillosis. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 46(8):2704-2707, 2002. doi.org/10.1128/AAC.46.8.2704-2707.2002.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 27(5):305-318, 2004. doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004.
- VAN ETEN, E.W.; TEN KATE, M. T.; STEARNE, L.E.; BAKKER-WOUDENBERG, I. A. Amphotericin B liposomes with prolonged circulation in blood: in vitro antifungal activity, toxicity and efficacy in systemic candidiasis in leukopenic mice. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 39(9):1954-1958, 1995. doi.org/10.1128/AAC.39.9.1954.
- FILIPPIN F. B.; SOUZA L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Rev. Bras. Cien. Farm.*, 42 (2): 167-194, 2006.
- GALLIS, H. A. Amphotericin B: a commentary on its role as an antifungal agent and as a comparative agent in clinical trials. *Clin. Infect. Dis.*, 22:S145-147, 1996. doi.org/10.1093/clinids/22.Supplement_2.S145.
- GOLENSER, J.; DOMB, A. New formulations and derivatives of amphotericin B for treatment of leishmaniasis. *Mini Rev. Med. Chem.*, 6(2):153-162, 2006. doi.org/10.2174/138955706775476037.
- GHOSH, S.; ROY, T. Nanoparticulate drug-delivery systems:

- lymphatic uptake and its gastrointestinal applications, *J. Appl. Pharm. Sci.*,4(6):132-130,2014.doi.org/10.7324/JAPS.2014.40619.
- GOTO, H.; LINDOSO, J.A. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 8(4):419- 433, 2010.doi.org/10.1586/eri.10.19.
- GUPTA, S.; DUBE, A.; VYAS, S. P. Antileishmanial efficacy of amphotericin B bearing emulsomes against experimental visceral leishmaniasis. *J. Drug Target.*, 15(6):437-444, 2007. doi.org/10.1080/10611860701453836.
- HALDE, C.; NEWCOMER, V.D.; WRIGHT, E.T.; STERNBERG, T.H. An evaluation of amphotericin B in vitro and in vivo in mice against *Coccidioides immitis* and *Candida albicans*, and preliminary observations concerning the administration of amphotericin B to man. *J. Invest. Dermatol.*,28(3):217-231, 1957.doi.org/10.1038/jid.1957.26.
- LOURIA, D.B. Some aspects of the absorption, distribution, and excretion of amphotericin B in man, *Antibiotic. Med. Clin. Ther.*, 5(5):295-301, 1958.
- IBRAHIM, F.; GERSHKOVICH, P.; SIVAK, O.; WASAN, E.K.; WASAN K. M. Assessment of novel oral lipid-based formulations of amphotericin B using an in vitro lipolysis model, *Eur. J. Pharm. Sci.*,46(5):323-328, 2012.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.02.008.
- ICo THERAPEUTICS. Amphotericin B oral formulation. Available from: [http:// www.icotherapeutics.com/pipeline/](http://www.icotherapeutics.com/pipeline/). (Accessed 06 december 2018).
- IMAN, M.; HUANG, Z.; SZOKA JUNIOR, F.C.; JAAFARI, M. R. Characterization of the colloidal properties, in vitro antifungal activity, antileishmanial activity and toxicity in mice of a distigmasterylhemisuccinoyl-glycerophosphocholine liposome-intercalated amphotericin B. *Int. J. of Pharm.*,408(1-2):163-172, 2011.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.01.044.
- ITALIA, J.L.; YAHYA, M.M.; SINGH, D.; RAVI KUMAR, M.N. Biodegradable nanoparticles improve oral bioavailability of amphotericin B and show reduced nephrotoxicity compared to intravenous Fungizone®. *Pharm. Res.*,26(6):1324-1331, 2009.doi.org/10.1007/s11095-009-9841-2.
- KAYSER, O.; OLBRICH, C.; YARDLEY, V.; KIDERLEN, A.F.; CROFT, S.L. Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration. *Int. J. Pharm.*,254(1):73–75, 2003.doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00686-5.
- KRAVETZ, H.M. Oral administration of solubilized amphotericin B, *N. Engl. J. Med.*, 265:183-184, 1961.doi.org/10.1056/NEJM196107272650409
- LAVASANIFAR A.; SAMUEL J.; KWON G.S. Micelles self-assembled from poly(ethylene oxide)-block- poly (N-hexyl stearate l-aspartamide) by a solvent evaporation method: effect on the solubilization and haemolytic activity of amphotericin B. *J. Control Release*, 77(1-2):155-160, 2001. doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00477-1.
- LEMKE, A.KINDERLEN, A.F.; KAYSER, O. Amphotericin B. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*,68(2):151-162, 2005.doi.org/10.1007/s00253-005-1955-9.
- LIU, D.; LIU, F.; LIU, Z.; WANG, L.; ZHANG, N. Tumor specific delivery and therapy by double-targeted nanostructured lipid carriers with anti-VEGFR-2 antibody. *Mol. Pharm.*, 8(6):2291-2301, 2011.doi.org/10.1021/mp200402e.
- MACRAE, C.A.; PETERSON, R.T. Zebrafish as tools for drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 14(10):721-731, 2015. doi.org/10.1038/nrd4627.
- MANNINO, R.J. Cochleate compositions and methods of use. WO 2010091090, 2010.
- MAZERSKI, J.; GRZYBOWSKA, J.; BOROWSKI, E. Influence of net charge on the aggregation and solubility behaviour of amphotericin B and its derivatives in aqueous media. *Eur. Biophys. J.*, 18(3):159–164, 1990. doi.org/10.1007/BF02427375.
- MORENO, M.A.; FRUTOS, P.; BALLESTEROS, M.P. Lyophilized lecithin based oil-water microemulsions as a new and low toxic delivery system for amphotericin B. *Pharm. Res.* 18(3):344-351, 2001.doi.org/10.1023/A:1011011215418.
- MORIBE, K.; MARUYAMA, S.; INOUE, Y.; SUZUKI, T.; FUKAMI, T.; TOMONO, K.; HIGASHI, K.; TOZUKA, Y.; YAMAMOTO, K. Ascorbyldimalmitate/PEG-lipid nanoparticles as a novel carrier for hydrophobic drugs. *Int. J. Pharm.* 387(1-2):236-243, 2010.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.12.007.
- OWENS, D.E.; PEPPAS, N.A. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 307(1):93-102, 2006. doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.010
- PETRIKKOS, G.; SKIABA, A. Recent advances in antifungal chemotherapy. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 30(2):108-117, 2007. doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.03.009
- PISCOPO, T.V.; AZZOPARDI, C.M. Leishmaniasis. *Postgrad. Med. J.* 82(976):649-657, 2006.doi.org/10.1136/pgmj.2006.047340corr1

- ROMERO, E.L.; MORILLA, M.J. Drug delivery systems against leishmaniasis? Still an open question. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 5(7):805-823, 2008.doi.org/10.1517/17425247.5.7.805
- SACHS-BARRABLE,K.; LEE, S.D.; WASAN, E.K.; THORNTON, S.J.; WASAN, K.M. Enhancing drug absorption using lipids: A case study presenting the development and pharmacological evaluation of a novel lipid-based oral amphotericin B formulation for the treatment of systemic fungal infections. *Adv.DrugDeliv. Rev.*, 60(6):692–701, 2008. doi.org/10.1016/j.addr.2007.08.042
- SANTOS, D.O.; COUTINHO, C.E.; MADEIRA, M.F.; BOTTINO, C.G.; VIEIRA, R.T.; NASCIMENTO, S.B.; BERNARDINO, A.; BOURGUIGNON, S.C.;CORTE-REAL, S.;PINHO, R.T.;RODRIGUES, C.R.;CASTRO, H.C.Leishmaniasis treatment – a challenge that remains: a review. *Parasitol. Res.*, 103(1):1-10, 2008.doi.org/10.1007/s00436-008-0943-2.
- SERRANO, D.R.; LALATSA, A.; DEA-AYUELA, M.A.; BILBAO-RAMOS, P.E.; GARRETT, N.L.; MOGER, J.; GUARRO, J.; CAPILLA, J.; BALLESTEROS, M.P.; SCHÄTZLEIN, A.G.; BOLÁS, F.; TORRADO, J.J.; UCHEGBU, I.F. Oral particle uptake and organ targeting drives the activity of amphotericin B nanoparticles. *Mol. Pharm.*, 12(2):420-431 2015. doi.org/10.1021/mp500527x.
- SERRANO, D.R.; LALATSA, A. Oral amphotericin B: The journey from bench to market. *J. DrugDeliv. Scien. Techn.*,42:75-83, 2017 doi.org/10.1016/j.jddst.2017.04.017.
- SESANA, A. M.; MONTI-ROCHA, R.;VINHAS, S.A.;MORAIS, C.G.;DIETZE, R.;LEMOS, E.M.In vitro activity of amphotericin B cochleates against Leishmaniachagasi. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 106(2):251-253, 2011.doi.org/10.1590/S0074-02762011000200022.
- SHADKHAN Y.;SHADKHAN Y.;SEGAL E.;BOR A.;GOV Y.;RUBIN M.;LICHTENBERG D. The use of commercially available lipid emulsions for the preparation of amphotericin B-lipid admixtures. *J.Antimicrob.Chemother.*, 39(5):655-658, 1997. doi.org/10.1093/jac/39.5.655.
- SHAO, P.L.; HUANG, L. M.; HSUEH, P.R. Recent advances and challenges in the treatment of invasive fungal infections. *Int. J. Antimicrob.Agents*, 30(6): 487-495, 2007.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.07.019.
- THORLEY, A.J.; TETLEY, T.D. New perspectives in nanomedicine. *Pharmacol.Ther.*, 140(2):176-185, 2013.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.06.008.
- TORRADO, J.J.; ESPADA, R.; BALLESTEROS, M.P.; TORRADO-SANTIAGO, S.; Amphotericin B formulations and drug targeting. *J. Pharm. Sci.*, 97(7):2405-2425, 2008.doi.org/10.1002/jps.21179.
- TREVASKIS,N.L.;KAMINSKAS, L.M.;PORTER, C.J. From sewer to saviour - targeting the lymphatic system to promote drug exposure and activity. *Nat. Rev. Drug Discov.*14(11):781-803, 2015.doi.org/10.1038/nrd4608.
- VYAS, S.P.; GUPTA, S. Optimizing efficacy of amphotericin B through nanomodification. *Int. J. Nanomed.*, 1(4):417-432, 2006.doi.org/10.2147/nano.2006.1.4.417.
- WASANE,K.;GERSHKOVICH,P.;ZHAO,J.;ZHU,X.;WERBOVETZ, K.;TIDWELL, R.R.;CLEMENT, J.G.;THORNTON, S.J.;WASAN, K.M. A novel tropically stable oral amphotericin B formulation (iCo-010) exhibits efficacy against visceral Leishmaniasis in a murine model, *PLoSNegl. Trop. Dis.*, 4(12):e913,2010.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000913.
- WORLD HEALT ORGANIZATION. Leshimaniose: Epidemiology. Avaiable at: <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/> (Accessed 06 december 2018).
- ZARIF,L.;GRAYBILL,J.R.;PERLIN,D.;MANNINO,R.J.Cochleates: New Lipid-Based Drug Delivery System,*J. Lip. Res.*, 10(4):523-539, 2002.doi.org/10.3109/08982100009031116
- ZHAO, L.; SETH, A.; WIBOWO, N.; ZHAO, C. X.; MITTER, N.; YU, C.; MIDDELBERG, A.P. Nanoparticles Vaccine. *Vaccine*, 32(2):327-337, 2014. doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.069.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO INSTITUCIONAL

Esse trabalho foi realizado com o apoio do Banco Nacional do Desenvolvimento (BNDES).