

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Desenvolvimento de novas entidades químicas e formulações para o  
tratamento de dermatomicoses

**DAIANE FLORES DALLA LANA**

PORTO ALEGRE  
2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Desenvolvimento de novas entidades químicas e formulações para o  
tratamento de dermatomicoses

Tese apresentada por **Daiane Flores**  
**Dalla Lana** para obtenção do TÍTULO DE  
DOUTOR(A) em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria  
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo José Alves

Porto Alegre  
2019

Tese apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado acadêmico, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 17 de Janeiro de 2019, pela banca Examinadora constituída por:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bruna Pippi

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Valente da Silva

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Régis Adriel Zanette

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

#### CIP - Catalogação na Publicação

Dalla Lana, Daiane Flores

Desenvolvimento de novas entidades químicas e formulações para o tratamento de dermatomicoses / Daiane Flores Dalla Lana. -- 2019.

330 f.

Orientador: Alexandre Meneghello Fuentefria.

Coorientador: Ricardo José Alves.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Dermatomicoses. 2. Dermatófitos. 3. Candida spp.. 4. Novas alternativas de tratamento. 5. Compostos sintéticos e formulações. I. Fuentefria, Alexandre Meneghello, orient. II. Alves, Ricardo José, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Micologia Aplicada, sob orientação do Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria e na Central Analítica da Faculdade de Farmácia, ambos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); no Laboratório de experimentação em *Drosophila* (DROSOLAB) da UFRGS, em colaboração com o Prof. Dr. Régis Adriel Zanette; no Laboratório de Farmacocinética e modelagem PK/PD da UFRGS, em colaboração com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bibiana Verlindo de Araújo; no Laboratório de Toxicologia da UFRGS, em parceria com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aline Rigon Zimmer; no Laboratório de Farmacognosia da UFRGS, em parceria com o Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Miriam Apel; no Centro de Biotecnologia da UFRGS, em parceria com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilene Henning Vainstein; no Instituto de Química da UFRGS, em parceria com o Prof. Dr. Gustavo Silveira; no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal de Santa Maria, em parceria com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia Cruz; no Laboratório de Bioquímica e Toxicologia do Instituto Federal de Santa Catarina, em colaboração com o Prof. Dr. Mário Lettieri Teixeira; e no Laboratório de Pesquisa em Toxicologia Celular (TOxCEL), da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), em parceria com os Profs. Drs. Luís Flávio Oliveira e Michel Mansur Machado. Além disso, teve-se a importante colaboração e auxílio de infraestrutura dos Profs. Drs. Ricardo Alves, Saulo de Andrade, Marcus Sá e Enrique Pandolfi.

**Agradecemos muito aos professores mencionados e Instituições parceiras pela importante colaboração e à CAPES pelo suporte financeiro recebido durante o desenvolvimento deste trabalho.**



## **DEDICATÓRIA**

*Ao meu pai Wilson Dalla Lana por ser meu maior exemplo de força e dedicação.*

*A pessoas muito especiais que fizeram parte da minha vida: minha tia-avó Adélia Comaretto (in memoriam), meus avós Luiza Dalla Lana (in memoriam), Zezefredo Dalla Lana (in memoriam), Luiz Agostinho Flores (in memoriam) e minha amiga Michele Rambo (in memoriam). Vocês serão sempre lembrados com muito carinho!*





## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir concluir mais esta etapa importante da minha vida e por me dar forças nos momentos de dificuldade. Sem dúvida, a minha fé é a minha maior fortaleza.

À minha família, minha base, por sempre incentivar os meus estudos. Em especial aos meus pais Wilson e Sandra, por me mostrarem a importância da dedicação em tudo o que se faz; o meu eterno muito obrigada por tudo que me ensinaram, fizeram e fazem por mim; e a minha irmã Raquel obrigada pelo apoio, compreensão e carinho.

Ao meu namorado Vinícius, por sempre se fazer presente com palavras de motivação e carinho, por todo amor, compreensão pelos momentos de ausência e por trazer pessoas maravilhosas para a minha vida: Rosa, Gilnei, Bruna e Marcelo, que eu considero como uma segunda família.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentesfria, minha admiração, e respeito pelo excelente profissional e sincero agradecimento pela confiança e oportunidade. Muito obrigada por todos os ensinamentos e pela tua generosidade de me ajudar a crescer profissionalmente. Eu fui muito feliz na minha escolha de orientador.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Ricardo José Alves, pelo comprometimento e interesse no meu trabalho. Pelos promissores compostos fornecidos e pelos e-mails gentis e alegres que me trazem otimismo.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Stefânia Neiva Lavorato e ao Murillo de Araújo Freitas, pela síntese da maioria dos compostos avaliados neste estudo e por toda ajuda na parte química.

Ao importante colaborador deste trabalho, Prof. Dr. Saulo de Andrade, pelas suas ideias para a tese, pelas conversas, ajuda com os compostos e pelo exemplo de excelente pesquisador.

Aos químicos, Profs. Drs. Gustavo Silveira, Marcus Sá e Enrique Pandolfi, muito obrigada pela parceria com as moléculas sintetizadas e que compõem grande parte deste estudo.

Aos Profs. Drs. Bibiana Verlindo de Araújo e Régis Zanette pela valiosa colaboração, por toda ajuda e contribuições.

Agradeço ao William pelas importantes colaborações e contribuições. Obrigada por ser essa pessoa sempre disposta e prestativa.

À CAPES, pelo essencial apoio financeiro fornecido através da bolsa de estudos, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) e a todos os professores e colegas do PPGCF, muito obrigada pela essencial ajuda, por todo aprendizado e convívio.

Aos Profs. Drs. membros da banca, Régis Zanette, Bruna Pippi, Bibiana Verlindo de Araújo e Luis Flávio de Oliveria, pela disponibilidade e atenção em avaliar o meu trabalho; já de antemão o meu sincero agradecimento pelas correções, sugestões e ideias.

A todos os amigos/colegas de laboratório do Grupo de Pesquisa em Micologia Aplicada (GPMA), pelos momentos de intenso trabalho, colaboração e descontração. Em especial à Aline, Vanessa, Bruna e Gabi que estiveram comigo desde a minha chegada no laboratório em 2013 e aos demais que entraram posteriormente, mas que me ajudaram muito também: Taís, Paula, Pri, Luana, Vivi, Bárbara, Anderson, Leti, Fernanda, Magda e Bruna Batista. Eu vejo o nosso grupo como uma grande equipe, que se ajuda, se compromete e que torce um pelo outro. As minhas colegas/amigas de outros laboratórios parceiros: Krissie, Simone e Laura. Muito obrigada pela parceria e ajuda.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, obrigada. **MUITO OBRIGADA** por tornarem mais leve e possível a concretização deste sonho, por que é isso que a finalização desta etapa representa para mim.

*“Lembraí do tempo que levastes para chegar aqui,  
de todas as **vitórias** e lágrimas,  
de todos os **sorrisos** e fracassos.  
Lembraí dos **sonhos realizados**,  
das frustrações, das decepções colhidas.  
Lembraí de tudo o que passou.  
Ganhastes **mais força, mais sabedoria**  
e finalmente podes olhar para o que há diante de ti  
e perceber que apenas chegastes ao começo.  
- **Que seja um lindo começo!**”*

(Augusto Branco)



## RESUMO

### Desenvolvimento de novas entidades químicas e formulações para o tratamento de dermatomicoses

As dermatomicoses são infecções fúngicas da pele, ocasionadas principalmente por dermatófitos e *Candida* spp. As dermatofitoses, denominação específica para dermatomicoses de origem dermatofítica, são as doenças cutâneas mais prevalentes da atualidade, possuindo como agentes etiológicos fungos filamentosos dermatofíticos de três gêneros anamórficos: *Microsporium*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. A resistência dos dermatófitos à terapêutica convencional vem sendo cada vez mais relatada, contribuindo para as comuns recidivas da micose. Infecções (muco) cutâneas e também sistêmicas podem ser causadas por leveduras oportunistas do gênero *Candida* - *C. albicans* e espécies de *C. não-albicans* (CNA; tais como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* e *C. krusei*). As espécies emergentes de CNA apresentam resistência mais pronunciada aos fármacos de escolha para o tratamento de candidíases, o que implica em falhas na terapia clínica e aumento considerável das taxas de morbimortalidade. Neste contexto, faz-se necessária a pesquisa por novos agentes antifúngicos com amplo espectro de ação e toxicidade seletiva para o patógeno, que superem as limitações da terapêutica atual. Assim, este trabalho teve como objetivo principal investigar, em uma ampla triagem, a atividade antifúngica de cento e oitenta e nove compostos sintéticos (de variadas classes químicas). Além disso, determinar as relações de estrutura-atividade, caracterizar o mecanismo de ação e perfil toxicológico das moléculas, a fim de prospectarem-se novas alternativas eficazes e seguras para o tratamento de infecções, primordialmente associadas a dermatófitos e *Candida* spp..

Em relação aos tiocianatos alílicos (TAs), 1ª classe investigada, o composto cloro-derivado apresentou um amplo espectro de atividade antifúngica e também atividade antiqumiotáxica, com 100% de redução da migração de leucócitos. A faixa de concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos foi de 25 a 50 µg/mL, com mecanismo de ação relacionado à complexação com ergosterol fúngico. A nanoemulsão desenvolvida com o composto mais eficaz melhorou a atividade antifúngica *in vitro*, diminuindo os valores de CIM em até 64 vezes para dermatófitos e 4 vezes para *Candida* spp.. O composto cloro-derivado mais promissor não foi mutagênico, nem ocasionou inviabilidade celular em leucócitos humanos, embora tenha apresentado dano ao DNA dose-dependente. Além disso, não foi irritante (ensaio da membrana cório-alantoide - HET-CAM) e inibiu totalmente o crescimento fúngico em um modelo alternativo de dermatofitose.

Para as δ-lactonas (δ-Ls), 2ª classe, nenhum dos compostos foi mutagênico, genotóxico ou irritante, quando avaliados em concentrações mais elevadas que a CIM. Dois dos compostos da série apresentaram os menores valores de CIM (25-50 µg/mL) e um espectro mais amplo de atividade antifúnc

contra fungos filamentosos e leveduras. O mecanismo de ação foi relacionado ao dano na parede e membrana celular, com ação alvo específica dependente do tipo de halogênio presente na estrutura. O dano às células fúngicas foi corroborado por imagens de microscopia eletrônica de varredura, que destacaram células lisadas e completamente alteradas em sua morfologia, após tratamento *in vitro* com  $\delta$ -Ls.

Para os 1,4-benzenodióis 2-substituídos (1,4-BZs), 3ª classe – com síntese inédita, seis moléculas (**2**, **5**, **6**, **8**, **11** e **12**) apresentaram ação antimicrobiana de amplo espectro, incluindo efeito contra espécies resistentes e multirresistentes de dermatófitos (*T. mentagrophytes*), CNA e bactérias. As faixas de CIMs destes compostos para fungos e bactérias foram 25 a 50  $\mu\text{g/mL}$  e 8 a 128  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, sendo o mecanismo de ação antifúngico relacionado à parede e membrana celular. O composto **8**, mais promissor em relação ao efeito antifúngico, não ocasionou genotoxicidade e mutagenicidade em células leucocitárias humanas e nem hemólise. Complementarmente, os compostos não foram irritantes (HET-CAM).

Por fim, para os derivados substituídos de 1,3-bisariloxipropano (1,3-BXPs), representando o último grupo de moléculas investigadas, encontrou-se o melhor perfil de atividade antifúngica/toxicidade, dentre todas as classes químicas analisadas neste estudo, com ênfase para o composto **2j** (1,3-bis(3,4-diclorofenoxy)propan-2-amino-cloreto). **2j** foi o fungicida mais ativo contra dermatófitos e *Candida* spp., em concentrações fungicidas mínimas (CFMs) muito baixas (0,39 - 3,12  $\mu\text{g/mL}$ ), incluindo ação contra isolados clínicos resistentes e multirresistentes. O perfil de toxicidade de **2j** foi promissor, apresentando índice de seletividade  $> 10$ , em relação a linfócitos humanos. O composto foi classificado como não irritante pelo teste HET-CAM e não causou alterações histopatológicas na pele da orelha de porco, apresentando uma excelente perspectiva para aplicação tópica. **2j** tem como alvo a parede celular fúngica, o que foi confirmado por imagens de microscopia eletrônica de varredura. O composto foi incorporado em um hidrogel com potencial bioadesivo. Os resultados da permeação cutânea humana mostraram que **2j** permaneceu significativamente na epiderme, o que é o ideal para o tratamento de dermatomicoses. Adicionalmente, em relação à candidíase sistêmica em *Drosophila melanogaster* Toll-deficientes, **2j** apresentou eficácia estatisticamente comparável ao fluconazol no controle do processo infeccioso. Portanto, o composto **2j** demonstrou potencial para o desenvolvimento de fármacos antifúngicos, com um mecanismo de ação elucidado e já aplicado em uma formulação semissólida, visando uma nova opção terapêutica para infecções fúngicas da pele não responsivas ao tratamento convencional.

**Palavras-chave:** dermatomicoses; dermatófitos; *Candida* spp.; tiocianatos alílicos;  $\delta$ -lactonas; 1,4-benzenodióis 2-substituídos; derivados substituídos de 1,3-bisariloxipropano; atividade antifúngica; mecanismo de ação; toxicidade.

## ABSTRACT

### Development of new chemical entities and formulations for the treatment of dermatomycoses

Dermatomycoses are fungal infections of the skin, mainly caused by dermatophytes and *Candida* spp. Dermatophytoses, a specific name for dermatomycoses of dermatophytic origin, are the most prevalent skin diseases today, with dermatophytic filamentous fungi of three anamorphic genera as the etiological agents: *Microsporum*, *Trichophyton* and *Epidermophyton*. The resistance of dermatophytes to conventional therapy has been increasingly reported, contributing to the common recurrence of mycosis. (Mucus) cutaneous and also systemic infections may be caused by opportunistic yeasts of the genus *Candida* - *C. albicans* and species of non-*albicans Candida* (NAC; such as *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* and *C. krusei*). Emerging NAC species show more pronounced resistance to the drugs of choice for the treatment of candidiasis, which implies failures in clinical therapy and a considerable increase in morbimortality rates. In this context, it is necessary to search for new antifungal agents with a broad spectrum of action and selective toxicity for the pathogen, which overcome the limitations of current therapy. Thus, the main objective of this work was to investigate, in a wide screening, the antifungal activity of one hundred and eighty-nine synthetic compounds (of various chemical classes). In addition, to determine the structure-activity relationships, characterize the mechanism of action and toxicological profile of the molecules, in order to prospect new effective and safe alternatives for the treatment of infections primarily associated with dermatophytes and *Candida* spp.

In relation to allylic thiocyanates (ATs), 1st class investigated, the chloro-derivative presented a broad spectrum of antifungal activity and also antichemotactic activity, with a 100% reduction in leukocyte migration. The minimum inhibitory concentration (MIC) range of the compounds was 25 to 50  $\mu\text{g/mL}$ , with a mechanism of action related to complexation with fungal ergosterol. The nanoemulsion developed with the most effective compound improved the *in vitro* antifungal activity, reducing MIC values by up to 64-fold for dermatophytes and 4-fold for *Candida* spp. The most promising chloro derivative was not mutagenic, nor did it cause cellular inviability of human leukocytes, although it did present dose-dependent damage to the DNA. In addition, it was not irritant (chorioallantoic membrane assay - HET-CAM) and totally inhibited fungal growth in an alternative model of dermatophytosis.

For  $\delta$ -lactones ( $\delta$ -Ls), 2nd class, none of the compounds were mutagenic, genotoxic or irritant when evaluated at higher concentrations than MIC. Two of the compounds in the series had the lowest MIC values (25-50  $\mu\text{g/mL}$ ) and a broader spectrum of antifungal activity against filamentous fungi and yeasts. The mechanism of action was related to the damage in the cell wall and membrane, with specific target action dependent on the type of halogen present in the

structure. Damage to fungal cells was corroborated by scanning electron microscopy images, which highlighted lysed cells and completely altered their morphology after *in vitro* treatment with  $\delta$ -Ls.

For the 2-substituted 1,4-benzenediols (1,4-BZs), six molecules (**2**, **5**, **6**, **8**, **11** and **12**) presented broad spectrum of antimicrobial action, including effect against resistant and multidrug-resistant species of dermatophytes (*T. mentagrophytes*), NAC and bacteria. The MIC ranges of these compounds for fungi and bacteria were 25 to 50  $\mu\text{g/mL}$  and 8 to 128  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, and the mechanism of antifungal action was related to cell wall and membrane. Compound **8**, which is more promising regarding the antifungal effect, did not cause genotoxicity and mutagenicity in human leukocyte cells nor hemolysis. In addition, the compounds were non-irritating (HET-CAM).

Finally, for the substituted 1,3-bisaryloxypropane derivatives (1,3-BXPs), representing the last group of molecules investigated, the best profile of antifungal activity/toxicity was found among all the chemical classes analyzed in this study, with emphasis for the compound **2j** (1,3-bis(3,4-dichlorophenoxy)propan-2-aminium chloride). **2j** was the most active fungicide against dermatophytes and *Candida* spp., in very low minimal fungicidal concentrations (MFCs) (0.39 - 3.12  $\mu\text{g/mL}$ ), including action against resistant and multidrug-resistant clinical isolates. The toxicity profile of **2j** was promising, with a selectivity index  $> 10$ , in relation to human lymphocytes. The compound was classified as non-irritant by the HET-CAM test and did not cause histopathological changes in pig ear skin, presenting an excellent perspective for topical application. **2j** targets the fungal cell wall, which was confirmed by scanning electron microscopy images. The compound was incorporated into a hydrogel with bioadhesive potential. The results of human skin permeation showed that **2j** remained significantly in the epidermis, ideally for the treatment of dermatomycosis. In addition, in relation to systemic candidiasis in Toll-deficient *Drosophila melanogaster*, **2j** presented a statistically comparable efficacy to fluconazole in the control of the infectious process. Therefore, compound **2j** has demonstrated potential for the development of antifungal drugs with a mechanism of action elucidated and already applied in a semi-solid formulation aimed at a new therapeutic option for fungal skin infections not responsive to conventional treatment.

**Keywords:** dermatomycosis; dermatophytes; *Candida* spp.; allylic thiocyanates;  $\delta$ -lactones; 2-substituted 1,4-benzenediols; substituted 1,3-bisaryloxypropane derivatives; antifungal activity; mechanism of action; toxicity.



## **APRESENTAÇÃO**

De acordo com as normas vigentes no Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), a tese segue a seguinte sequência:

- 1) Introdução e relevância do tema
- 2) Objetivos
- 3) Mapa conceitual do trabalho
- 4) Revisão bibliográfica
- 5) Manuscritos - Capítulos I ao VII
- 6) Discussão geral
- 7) Conclusões e perspectivas
- 8) Referências Bibliográficas

Os tópicos **1, 2, 3, 4, 6, 7 e 8** foram formatados conforme os padrões técnicos estabelecidos pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), através das NBR 6023/2002; NBR 10520/2002 e NBR 14724/2011. Os capítulos referentes aos manuscritos (artigos publicados, submetidos e a serem submetidos) foram formatados especificamente conforme as regras dos periódicos selecionados e mencionados na apresentação de cada capítulo.



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA DO TEMA .....</b>	<b>23</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>31</b>
<b>MAPA CONCEITUAL DO TRABALHO.....</b>	<b>35</b>
<b>REVISÃO TEÓRICA GERAL .....</b>	<b>39</b>
<b>CAPÍTULO I (Manuscrito I) – Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento (artigo de revisão) .....</b>	<b>73</b>
<b>CAPÍTULO II (Manuscrito II) – Nanoemulsion improves the antifungal activity of allylic thiocyanates against yeasts and filamentous pathogenic fungi (Nanoemulsão melhora a atividade antifúngica de tiocianatos alílicos contra fungos patogênicos filamentosos e leveduriformes).....</b>	<b>109</b>
<b>CAPÍTULO III (Manuscrito III) – Structure-based design of <math>\delta</math>-lactones for new antifungal drugs development: susceptibility, mechanism of action, and toxicity (Design com base na estrutura de <math>\delta</math>-lactonas para o desenvolvimento de novos antifúngicos: suscetibilidade, mecanismo de ação e toxicidade.....</b>	<b>133</b>
<b>CAPÍTULO IV (Manuscrito IV) – Design, synthesis, and evaluation of novel 2-substituted 1,4-benzenediol library as antimicrobial agents against clinically relevant pathogens (Design, síntese e avaliação de novas bibliotecas de 1,4-benzenedióis 2-substituídos como agentes antimicrobianos contra patógenos clinicamente relevantes) .....</b>	<b>159</b>
<b>CAPÍTULO V (Manuscrito V) – Invasion of human nails by <i>Microsporum canis</i> with biofilm formation (Invasão de unhas humanas por <i>Microsporum canis</i> com formação de biofilme).....</b>	<b>215</b>
<b>CAPÍTULO VI (Manuscrito VI) – Structural-functional elucidation of a novel selective fungicide applied in a topical formulation for dermatomycoses treatment (Elucidação estrutural-funcional de um novo fungicida seletivo aplicado em formulação tópica para tratamento de dermatomicoses).....</b>	<b>221</b>
<b>CAPÍTULO VII (Manuscrito VII) – Bisaryloxypropanamines derivative exhibiting protective effect against fungal infection in <i>Drosophila melanogaster</i> minihost model (Derivado das bisariloxipropanaminas exibindo efeito protetor contra infecção fúngica em modelo de mini-hospedeiro de <i>Drosophila melanogaster</i>).....</b>	<b>263</b>
<b>DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>283</b>
<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>297</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>303</b>



## **INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA DO TEMA**

---



As doenças ocasionadas por fungos têm levado a óbito mais pessoas, por ano, do que a malária, e na agricultura, representam uma ameaça à produtividade dos cultivos e à segurança alimentar (PARKER et al., 2014; GAFFI, 2018; WHO, 2018). As micoses, pela elevada frequência com que acometem a população, são consideradas um problema de saúde pública (PEREIRA et al., 2014; CHEN et al., 2018a). As lesões decorrentes das infecções fúngicas manifestam-se, do ponto de vista clínico, nas mais diversas formas, podendo ser classificadas de acordo com as suas localizações no organismo. Quando se restringem às camadas mais superficiais e queratinizadas da pele e anexos (cabelos e unhas) são denominadas de dermatomicoses e onicomioses (envolvimento ungueal), sendo ocasionadas primordialmente por dermatófitos e leveduras (CORRALO; HERAS-ALONSO; ACEBES, 2014; INDIRA et al., 2014; PEREIRA et al., 2014). Essas infecções micóticas mais superficiais são consideradas uma importante causa de morbidade e de consultas dermatológicas, afetando aproximadamente 20 – 25% da população em geral (HAVLICHOVA; CZAICA; FRIEDRICH, 2008; CALADO et al., 2011; MAULINGKAR; PINTO; RODRIGUES, 2014).

As dermatofitoses, denominação dada às dermatomicoses de origem dermatofítica, são consideradas uma das primeiras micoses da humanidade e que comumente ocorrem no mundo todo (CLARK; FELDMAN; GERTLER, 2000; INDIRA et al., 2014; MAHALE et al., 2014; MAHALE et al., 2014). Estudos epidemiológicos indicam que as dermatofitoses figuram entre as doenças micóticas de maior ocorrência (WATANABE et al., 2001; VANDER; HOSSAIN; GHANNOUM, 2003; MARUYAMA et al., 2002; CORTEZ et al., 2012;). BRILHANTE et al. (2000) evidenciaram os dermatófitos como o grupo de fungos mais frequentemente isolados em laboratórios de micologia clínica. Porém por não figurarem entre as doenças de notificação obrigatória no Brasil, estima-se que mais casos de dermatofitose ocorram na realidade (BRILHANTE et al., 2000; MADRID; MATTEI, 2011). Além disso, essa infecção fúngica configura-se em um grave problema veterinário, por ser uma zoonose ou antropozoonose bem comum, cuja ocorrência é influenciada por fatores ambientais e de manejo (COPETTI et al., 2006; PEREIRA et al., 2006; CHERMETTE; FERREIRO; GUILLOT, 2008; MADRID; MATTEI, 2011).

As dermatofitoses compreendem uma extensa variedade de sintomas distintos. O quadro clínico mais comum inclui despigmentação, placas anulares, coceira e perda de cabelo, ou seja, lesões tipicamente cutâneas conhecidas pelo nome genérico de tinhas (do latim *tinea*) (MORAES et al., 2001; TEIXEIRA; GRIPP, 2014; DALLA LANA et al., 2016). Essas lesões impactantes na qualidade de vida dos pacientes, são ocasionadas por fungos filamentosos dermatofíticos de três gêneros anamórficos: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (MORAES et al., 2001).

O tratamento das dermatofitoses faz-se, de modo geral, com o uso de antifúngicos tópicos e/ou sistêmicos, por vezes associados a substâncias queratolíticas (RESENDE, 2008). O tratamento é longo, logo a partir de observações clínicas, percebe-se que os antifúngicos disponíveis comercialmente são, por vezes, muito dispendiosos e, em alguns casos, desencadeiam sérias reações adversas (MARTINEZ, 2006; ROBINSON, 2014). Além disso, como agravante, as espécies dermatofíticas vêm desenvolvendo cada vez mais resistência e até multirresistência a terapêutica antifúngica convencional, o que ocasiona uma suscetibilidade muito variável *in vitro* e *in vivo*, aumento progressivo do número de recidivas e não responsividade aos fármacos antimicóticos usuais (MUKHERJEE et al., 2003; LAKSHMIPATHY; KANNABIRAN, 2010; ACHTERMAN; WHITE, 2013; TOUKABRI et al., 2018).

O desenvolvimento de novos agentes antifúngicos é contínuo, porém ainda não se encontrou um medicamento completamente ideal em relação à eficácia, segurança e curtos períodos de tratamento (KATHIRAVAN et al., 2012; PARKER et al., 2014). O avanço na terapêutica das dermatofitoses em termos clínicos reais está longe de ser totalmente satisfatório e continua sendo problemático o manejo farmacológico em pacientes transplantados, com alguma doença de base (hipertensão, diabetes, nefrite, entre outras) e/ou que apresentam algum tipo de imunodeficiência (SEYMOR, 2000; CHANG et al., 2007). A casuística das dermatofitoses em conjunto com os dados epidemiológicos, que ressaltam a importância dessa micose na clínica, e os problemas no tratamento das mesmas motivam novas pesquisas que forneçam alternativas terapêuticas potenciais (KATHIRAVAN et al., 2012; PARKER et al., 2014).



Além das dermatofitoses, as micoses causadas por leveduras do gênero *Candida* são de extrema importância clínica e estão entre aquelas que apresentam maior incidência, principalmente em relação a infecções nosocomiais (SILVA et al., 2012). Esse gênero é estudado em vários países, incluindo o Brasil (PONGSIRIWET et al., 2004; PASSOS et al., 2007; WANG et al., 2009; COSTA et al., 2010; NUCCI 2010; FRAISSE et al., 2011; ATAIDES et al., 2012; SARDI et al., 2013; CANELA et al., 2018).

Espécies do gênero *Candida* são microrganismos comensais, que fazem parte da microbiota de pessoas hígdas. Essas leveduras colonizam com alta frequência o hospedeiro humano, sendo que cerca de 20 a 80% da população adulta saudável apresenta colonização do trato gastrointestinal. A colonização da mucosa bucal ocorre entre 20 a 40% das pessoas e entre as mulheres, a colonização por *Candida* na região vaginal ocorre entre 20 a 30% (SOLL, 2002; BARBEDO; SGARBI, 2010). Digno de nota, existem alguns fatores que podem interferir na relação entre o microrganismo e o hospedeiro determinando a transição de leveduras comensais para patogênicas (COLOMBO et al., 2013; GULATI; NOBILE, 2016).

As infecções causadas por *Candida* spp. são denominadas candidíases ou candidoses, sendo consideradas doenças oportunistas com características clínicas que variam desde superficiais até invasivas e podem ocorrer com evolução aguda ou crônica (BARBEDO; SGARBI, 2010; SARDI et al., 2013). As manifestações clínicas que acometem as mucosas e pele tendem a ser mais brandas, porém acontecem com alta frequência, prejudicando a qualidade de vida dos pacientes, ao passo que as manifestações da candidíase vulvovaginal aparecem em aproximadamente 75% das mulheres em idade reprodutiva (HOFS et al., 2016). A forma mais severa da doença é denominada candidemia - estabelecida devido a capacidade de disseminação da levedura através da corrente sanguínea para diferentes sítios anatômicos como fígado, coração, pulmão e rins, caracterizando uma infecção sistêmica, ocorrendo principalmente em pacientes imunodebilitados (LIM et al., 2012; GULATI; NOBILE, 2016; MCCARTY; PAPPAS, 2016). *Candida* spp. estão entre os principais agentes etiológicos de infecções fúngicas invasivas, as quais são responsáveis por elevados índices de morbi-mortalidade em todo o mundo (PFALLER; DIEKEMA,

2007; LASS-FLORL, 2009; KHAN et al., 2010; ARENDRUP, 2013; BITAR et al., 2014; MOHD et al., 2018).

*C. albicans* é a espécie predominantemente relacionada aos quadros clínicos de candidíase, tanto cutâneos quanto invasivos (KUMAR et al. 2009). A frequência de isolamento dessa espécie nos casos de infecções hematogênicas é de aproximadamente 40% em países da América Latina e aproximadamente 70% em alguns países da Europa (PFALLER; DIEKEMA, 2007; SILVA et al., 2012). Embora *C. albicans* seja a mais comum, espécies não-*albicans* como: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. auris* têm emergido como patógenos clinicamente relevantes (SPOLIDORIO et al., 2009; BARBEDO; SGARBI, 2010; SILVA et al., 2012; COLOMBO et al., 2013; ISHIDA et al., 2013; QUINDOS, 2014; SARIGUZEL et al., 2015; ANEJA et al., 2016; MOHD et al., 2018).

Três classes principais de antifúngicos são utilizados no tratamento das candidíases, os quais atuam em componentes vitais para as células fúngicas. Duas dessas classes são os azólicos e os poliênicos, que possuem a membrana celular fúngica como alvo, especificamente interferindo no ergosterol (BAILLY et al., 2015). O ergosterol é o principal constituinte da membrana celular dos fungos, possuindo estrutura semelhante ao colesterol presente nas células humanas, fato que desfavorece o tratamento das candidíases por ocasionar recorrente prejuízo ao hospedeiro. Além disso, espécies de *Candida* podem desenvolver diferentes mecanismos de resistência aos principais antifúngicos disponíveis para uso clínico; essa resistência pode ser classificada em natural (intrínseca) ou secundária (adquirida) (SANGLARD et al., 2009; KHANDELWAL et al., 2018). O considerável aumento da resistência é uma das maiores preocupações entre médicos e cientistas (FUENTEFRÍA et al., 2018), pois o arsenal de fármacos antifúngicos disponíveis para o tratamento apresenta limitações, sendo necessário o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas que apresentem eficácia, toxicidade seletiva especificamente contra o patógeno e baixo custo (ORHAN et al., 2010; BOSTROM et al., 2012; ANEJA et al., 2016).

Diante do cenário apresentado, das dificuldades impostas pelo surgimento da resistência microbiana e os efeitos adversos relativos à toxicidade dos fármacos, pesquisas vêm sendo conduzidas buscando terapias alternativas para o tratamento de dermatofitoses e candidíases (FUENTEFRÍA et al., 2018).

Os estudos de novas classes de substâncias vêm sendo impulsionados pela necessidade de novos fármacos para tratar infecções fúngicas (ROLLAS; KUÇUKGUZEL, 2007; FUENTEFRIA, 2018). Dessa forma, os compostos sintetizados laboratorialmente têm emergido como fator de interesse para a biotecnologia médica. Entre esses, as classes dos tiocianatos alílicos (TAs),  $\delta$ -lactonas ( $\delta$ -Ls), 1,4-benzenodióis 2-substituídos (1,4-BZs) e os derivados substituídos de 1,3-bisariloxipropano (1,3-BXPs) são promissores devido as suas propriedades biológicas (WANI et al., 1980; UMEZAWA et al., 1984; XU; LING, 1985; OHKUMA et al., 1992; HARBONE; BAXTER; MOSS, 1999; WHITTING, 2001; CAPON et al., 2004; KISHIMOTO et al., 2005; TANAKA et al., 2007; ROLDOS et al., 2008; DAI; MUMPER, 2010; ANDERSON; LONG 2010; YANG et al., 2011; SILVEIRA et al., 2012; OKSANA; MARIAN; MAHENDRA, 2012; DE ARIAS et al., 2012; CALEMAN et al., 2012; MODRANKA et al., 2012; SÁ et al., 2014; BERGAMO et al., 2014; BERGAMO et al., 2015; SERNA et al., 2015; DALLA LANA et al., 2015; FORTES et al., 2016; SOTO-HERNANDEZ; PALMA-TENANGO; GARCIA-MATEOS, 2017; VALENCIA-GALICIA et al., 2017; LAVORATO et al., 2015; LAVORATO, 2016; LAVORATO et al., 2017; LAVORATO; DUARTE; DE ANDRADE, 2017).

Propõe-se, portanto, nesse estudo, a investigação do potencial antifúngico, em uma ampla triagem, de 189 compostos pertencentes as classes acima mencionadas. Para os compostos mais promissores de cada classe, o perfil de toxicidade e o mecanismo de ação antifúngica foram determinados, além de outras análises complementares para uma prospecção mais efetiva dessas moléculas como candidatos a antifúngicos. Para o composto mais ativo do total dos 189 compostos avaliados, que apresentou os menores valores de CIM e com as melhores perspectivas em relação à citotoxicidade, desenvolveu-se e caracterizou-se uma formulação semissólida para tratamento tópico de dermatomicoses. Realizou-se também um estudo inicial do potencial da molécula **2j** para uso sistêmico, a partir de modelagem farmacocinética/farmacodinâmica com os dados de *time kill* e seu efeito protetor em modelo de infecção fúngica em mosca-das-frutas. Todas essas estratégias experimentais foram estabelecidas a fim de auxiliar na pesquisa e descoberta de novas opções terapêuticas para micoses reconhecidamente de difícil tratamento, como as associadas a *Candida* spp.e dermatófitos.



**OBJETIVOS**

---



Diante da necessidade e importância da identificação de novas substâncias com atividade antifúngica, este estudo propõe a avaliação do potencial antifúngico de variadas classes de moléculas sintéticas (tiocianatos alílicos,  $\delta$ -lactonas, 1,4-benzenodióis 2-substituídos e derivados substituídos de 1,3-bisariloxipropano), frente a fungos patogênicos filamentosos e leveduriformes (sensíveis e resistentes); bem como a caracterização da toxicidade e mecanismo de ação dos compostos mais promissores. Inseridos nesta proposta geral, os objetivos específicos incluem:

1. Revisar a literatura sobre os agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica convencional e novas perspectivas de tratamento das dermatofitoses (Capítulo I);
2. Para a classe dos TAs: determinar a suscetibilidade *in vitro* de dermatófitos e *Candida* spp., para moléculas da classe e nanoemulsão. Verificar a eficácia do composto mais promissor em um modelo alternativo de infecção fúngica *in vivo* e avaliar a atividade antiquimiotóxica, mecanismo de ação antifúngico e toxicidade (Capítulo II);
3. Para a classe das  $\delta$ -Ls: avaliar a suscetibilidade de dermatófitos e leveduras a uma série de compostos, definir as relações de estrutura atividade por análise exploratória multivariada, e por fim, indicar o principal mecanismo de ação antifúngico envolvido e a toxicidade (Capítulo III).
4. Para a classe dos 1,4-BZs: analisar a atividade antimicrobiana, incluindo cepas bacterianas e fungos filamentosos não-dermatofíticos no estudo, bem como sugerir o mecanismo de ação antifúngico e analisar a toxicidade dos compostos da série, alguns de síntese inédita (Capítulo IV);
5. Investigar, por microscopia eletrônica de varredura, o processo de invasão ungueal (unhas humanas) por *Microsporum canis* (Capítulo V);
6. Para 1,3-BXPs: determinar as relações de estrutura-atividade de cento e vinte e uma moléculas, bem como o perfil de toxicidade para os compostos mais eficazes como antifúngicos. Selecionar o composto mais promissor (atividade antifúngica/citotoxicidade) para elucidar o mecanismo de ação, bem como desenvolver e caracterizar um hidrogel,

como forma farmacêutica de aplicação tópica contendo o composto de interesse, para tratamento de dermatomicoses (Capítulo VI). Adicionalmente, dar início aos estudos para um provável uso sistêmico desse composto, com modelagem farmacocinética/farmacodinâmica a partir dos dados de *time kill*, bem como avaliar o respectivo efeito protetor em modelo de candidíase sistêmica em mosca-das-frutas (Capítulo VII).



**MAPA CONCEITUAL DO ESTUDO**

---



Descoberta e desenvolvimento de novas entidades químicas e formulações com **POTENCIAL ANTIFÚNGICO**

35



FONTE imagem: PORVIR.ORG (2018).

Ampla triagem da atividade antifúngica de 189 compostos pertencentes às classes químicas descritas a seguir, frente a dermatófitos e *Candida* spp.

Suscetibilidade  
Relação estrutura-atividade

Toxicidade

Mecanismo de ação

+ Revisão bibliográfica sobre dermatofitoses  
+ Microscopia eletrônica de varredura sobre a invasão da lâmina ungueal humana por *Microsporum canis*

Tiocianatos alílicos (15 compostos)

+ Nanoformulação

1,4-Benzenodióis 2-substituídos (42 compostos)

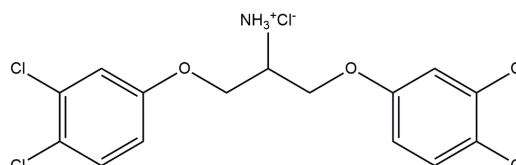
Atividade antimicrobiana +

$\delta$ -lactonas (11 compostos)

+ Análise multivariada

Derivados substituídos de 1,3-bisariloxipropano (121 compostos)

+ Hidrogel  
Time kill  
Modelagem farmacocinética/farmacodinâmica  
Efeito protetor em modelo de infecção fúngica sistêmica em mosca-das-frutas



FONTE imagem: SANTANA (2017).







## 1. Dermatomicoses

Dermatomicoses são compreendidas como infecções superficiais e cutâneas de tecidos queratinosos e membranas mucosas causadas por uma variedade de agentes fúngicos, sendo os mais comuns dermatófitos e leveduras. No geral, o processo gradual da infecção do hospedeiro é semelhante entre as principais espécies fúngicas dermatomicóticas. Leveduras como *Candida* spp. provocam um nível relativamente mais ameno de danos e inflamação no tecido do hospedeiro durante a patogênese, enquanto os dermatófitos podem induzir um nível mais intenso de dano tecidual e reação inflamatória. Ambos os patógenos podem, no entanto, manipular a resposta imune do hospedeiro, garantindo a sobrevivência e tornando a infecção fúngica em um processo crônico. Sinais e sintomas comuns da maioria dos casos incluem eritema, ardor, prurido, dentre outros, que afetam a qualidade de vida e a socialização dos pacientes. A seguir, apresenta-se uma revisão mais detalhada dos principais agentes etiológicos de dermatomicose, o tratamento e a problemática associada a esse tipo de micose, altamente prevalente (HUBE et al., 2015; CHEON et al., 2018).

## 2. Dermatófitos

Os dermatófitos são um grupo de fungos filamentosos septados e hialinos com características morfológicas e fisiológicas especializadas, tidos como os agentes etiológicos de dermatofitose. Esses fungos possuem a capacidade de digerir a queratina da pele, cabelo e unhas, tanto em humanos quanto em animais, e utilizá-la como nutriente durante o progresso da infecção (ACHTERMAN; WHITE, 2013; SEGAL, 2015; PIHET; GOVIC, 2017). Por esse forte biotropismo por estruturas queratinizadas como pele, pelo e unha, que a habilidade dermatofítica de ocasionar a doença é estabelecida (ANDOH; TAKAYAMA; KURAISHI, 2014). Atualmente já se sabe que fungos dermatofíticos são capazes de formar biofilme, sendo esse um fator agravante para a virulência e patogenicidade (COSTA-ORLANDI et al., 2014; DANIELLI et al., 2017; TOUKABRI et al., 2018).

Em relação à ecologia, os dermatófitos podem ser antropofílicos, zoofílicos ou geofílicos, segundo seu habitat natural e preferência por hospedeiro (KECHIA et al., 2014). Os fungos antropofílicos encontram-se restritos aos

humanos e raramente infectam os animais (TAYLOR; GURR, 2014). Os zoofílicos são, primariamente, isolados de animais, mas podem causar a doença em humanos em contato com animais como gato, cão, cavalo, entre outros (SPIEWAK; SZOSTAK, 2000; TAYLOR; GURR, 2014). Os geofílicos têm como reservatório o solo e apenas ocasionalmente infectam o homem (GALLO et al., 2005). O estágio inicial de todos os dermatófitos consistia no estágio geofílico. Posteriormente, ocorreu a evolução de algumas espécies para o estágio zoofílico, atacando roedores e, posteriormente, animais domésticos. Finalmente, algumas espécies avançaram para o estágio antropofílico, ocasionando infecções fúngicas no ser humano (SPIEWAK; SZOSTAK, 2000). Evidencia-se que todos os três grupos incluem espécies que causam doenças em animais e seres humanos, sendo que transmissões de animais para outros animais, animais para humanos, de humanos para outros e do solo para animais e humanos são possíveis (TAYLOR; GURR, 2014).

Quanto à distribuição, os dermatófitos são cosmopolitas, embora a real ocorrência seja influenciada por condições sociais e geoclimáticas. Os perfis epidemiológicos tornam-se assim variados, segundo fatores regionais, estacionais, de faixa etária, frequência de contato com animais, condições higiênico-sanitárias e exposição a locais públicos (AQUINO; CONSTANTE; BAKOS, 2007). Clinicamente, os dermatófitos ocorrem em várias espécies animais e no homem, determinando de modo geral, lesões secas, arredondadas e, comumente, não pruriginosas, com áreas de alopecia, bordos eritematosos e vesiculares, que circunscvem uma parte central descamativa, a qual se distribui focalmente na superfície cutânea (INDIRA et al., 2014). Os dermatófitos desenvolvem-se crescendo do centro da lesão para as bordas, ocasionando intensa descamação associada ou não à resposta inflamatória, resultante da atividade queratinolítica (SIDRIM; ROCHA, 2004).

Em cultura, os dermatófitos patogênicos produzem hifas septadas que se ramificam e formam o micélio com estruturas de reprodução assexuada, os conídios. Microscopicamente, esses conídios diferem entre as espécies dermatofíticas quanto à forma, ao tamanho, ao número e à disposição ao longo das hifas, sendo critérios essenciais para a identificação (SIDRIM; ROCHA, 2004; LEMSADDEK, 2008). A maioria das espécies de dermatófitos produz dois tipos de conídios: os grandes - macroconídios pluricelulares e os pequenos -

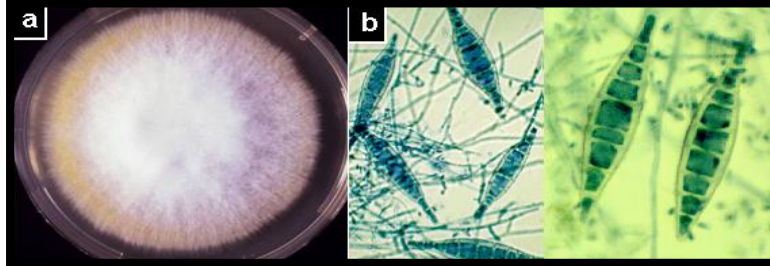


microconídios unicelulares. A presença/ausência desses tipos de estruturas reprodutivas e o aspecto da parede das mesmas (rugosa ou lisa, espessa ou fina) são importantes para o correto reconhecimento das espécies, sempre se correlacionando com a macromorfologia e com o caso específico de cada paciente (WOREK et al., 2014). Os dermatófitos crescem em temperatura ótima que varia entre 25 a 35 °C, mas a maioria apresenta uma termotolerância que lhes permite um bom crescimento à 37 °C (LEMSADDEK, 2008).

As espécies dermatofíticas são classificadas em três gêneros anamórficos (assexuados ou imperfeitos): *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, que juntos compreendem mais de quarenta espécies (CAFARCHIA et al., 2013; REFAI; EL-YAZID; EL-HARIRI, 2013), das quais vinte e sete são patogênicas, quinze ocorrem no Brasil e sete são comuns no Rio Grande do Sul (HAVLICHOVA; CZAICA; FRIEDRICH, 2008). Esses gêneros anamórficos são os de grande relevância clínica, porém, a saber, os dermatófitos também apresentam estágio de reprodução sexuada (teleomórfico ou perfeito), nesse caso sendo agrupados no gênero *Arthroderma*. Data-se o início da ocorrência dos dermatófitos em meados do século XIX, quando foi isolado o *Achorion schoenleinii* (atualmente *Trichophyton schoenleinii*) de uma lesão no couro cabeludo de um paciente (CHABASSE, 2008). Dentre os dermatófitos de maior relevância clínica, ou seja, mais frequentemente relatados como causadores de infecção em humanos e animais citam-se *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum* (INDIRA et al., 2014), os quais apresentam distribuição geográfica bastante variável, dependendo das condições socioeconômicas, ambientais e higiênicas da população (SANTOS et al., 1997; FALAHATI et al., 2003; REZENDE et al., 2008, MAGAGNIN et al., 2011).

*M. canis*, quando cultivado, apresenta um crescimento com cerca de 6 a 10 dias. Macroscopicamente, a colônia apresenta textura cotonosa, discreto relevo umbilicado, radiado e brancacento (Fig. 1a). Já o reverso possui tonalidade amarelo-limão, que com o passar do tempo tende a tornar-se castanho por difusão do pigmento no meio (MARTINÉZ et al., 2014). O pleomorfismo é evidenciado com rapidez, apresentando-se como colônias cotonosas. Micromorfológicamente, há grande quantidade de macroconídios fusiformes (20 a 80 x 40 a 120 µm), de paredes grossas, rugosas, com um pico

terminal pontiagudo característico e numerosas septações (até 15 septos) (Fig. 1b) (QUINN et al., 2002). Quando presentes, os microconídios são sésseis e sem muito preditivo diagnóstico. Podem ainda ser observados clamidoconídios, órgãos nodulares e hifas pectinadas (MARTINÉZ et al., 2014).



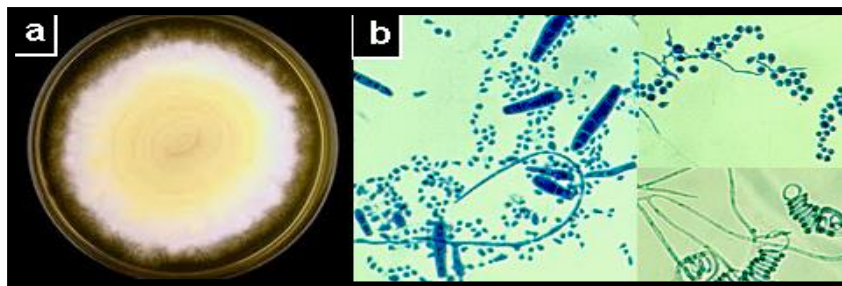
**Figura 1.** Imagens da macro (a) e micromorfologia (b) de *M. canis* (FONTE: MYCOLOGY ONLINE – National Mycology Reference Centre, 2018).

*M. gypseum* cresce bem em Agar Sabouraud com cloranfenicol e cicloheximida, incubado à temperatura ambiente ou a 37 °C. Essa espécie tem um crescimento e maturação das colônias entre 3 a 7 dias. Macroscopicamente, as colônias caracterizam-se por serem planas, com bordas irregulares e extremamente pulverulentas, com pigmentação que varia a diversos tons de amarelo a acastanhado (Fig. 2a). Tem uma forte tendência ao pleomorfismo e nessas situações, observam-se colônias cotonosas e brancacentas, constituídas apenas por hifas estéreis (LACAZ et al., 2002; OLIVEIRA, 2014a). O reverso apresenta cores que variam do alaranjado ao marrom. Microscopicamente, observam-se para essa espécie, hifas hialinas septadas e macroconídios abundantes (7 a 15 x 25 a 60 µm), “em forma de canoa” e simétricos (Fig. 2b), de parede celular fina, com até seis septos e extremidades mais arredondadas e menos afiladas que as do *M. canis* (QUINN et al., 2002). Algumas linhagens ainda apresentam numerosos microconídios piriformes (OLIVEIRA, 2014a).



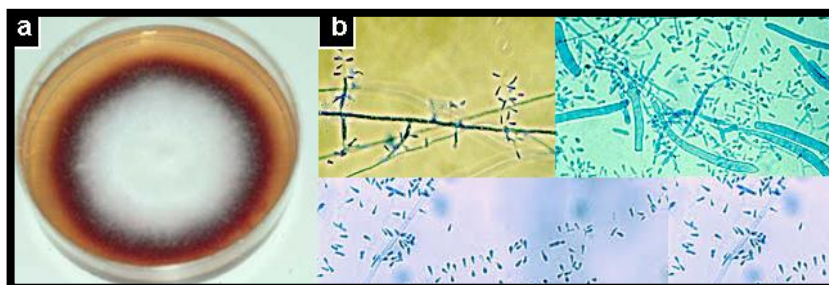
**Figura 2.** Imagens da macro (a) e micromorfologia (b) de *M. gypseum* (FONTE: MYCOLOGY ONLINE – National Mycology Reference Centre, 2018).

*T. mentagrophytes* apresenta rápido crescimento, com amadurecimento entre 3-6 dias. Numerosas variações na morfologia da colônia decorrem em virtude das diferenças que compõem o complexo *T. mentagrophytes*. As variações da espécie, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* e *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* podem apresentarem-se nas formas antropofílicas e zoofílicas, respectivamente, acometendo o homem principalmente nas regiões do couro cabeludo, pés, mãos, unhas e regiões interdigitais, sendo diferenciadas por biologia molecular (SYMOENS et al., 2011). Quando essas lesões são provocadas por variações zoofílicas, apresentam maior intensidade inflamatória (OYECA, 2000). Em Agar Sabouraud Dextrose (ASD), a forma antropofílica mais comum, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, cresce com colônias sobre-elevadas que se estendem rapidamente, de coloração branca a creme e superfície aveludada-algodonosa, mas também podem haver zonas mais lisas e granulares, sendo que o reverso é pigmentado de amarelo a marrom, escurecendo com o tempo (Fig. 3a) (KAUFMAN et al., 2005; OLIVEIRA, 2014a). Em Agar Batata Dextrose (ABD), o micélio aéreo é esparsos com numerosos conídios. Para isolados clínicos zoofílicos (*T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*), no ASD, observam-se colônias geralmente planas, de coloração branca a creme e superfície mais granular; o reverso apresenta pigmento marrom-acastanhado (OLIVEIRA, 2014a). Microscopicamente, o fungo possui hifas hialinas septadas, raros macroconídios, que são longos (com dimensões em torno de 20-50 µm), chaturoides e de parede fina e lisa. A principal característica micromorfológica de *T. mentagrophytes* é a presença de microconídios globosos e agrupados nas ramificações das hifas, formando os denominados “acladium”, cujo arranjo lembra um “cachos de uvas” (Fig. 3b) (KONEMAN, 2006). Tipicamente esses microconídios possuem a forma de “lágrima”, por vezes são mais alargados e as hifas, de modo frequente, podem ficar em espiral (“zarcilos”) (Fig. 3) (KAUFMAN et al., 2005; COSTA 2008; OLIVEIRA, 2014a). Para diferenciação das variações do complexo faz-se uso de técnicas moleculares (SYMOENS et al., 2011).



**Figura 3.** Imagens da macro (a) e micromorfologia (b) de *T. mentagrophytes* (FONTE: MYCOLOGY ONLINE – National Mycology Reference Centre, 2018).

*T. rubrum* possui uma taxa de crescimento relativamente lenta em Agar Sabouraud. As colônias, em seu crescimento primário, são geralmente cotonosas e brancas, tornando-se aveludadas posteriormente (Fig. 4a). O reverso apresenta pigmentação de coloração avermelhada ou vermelho-púrpura, que se difunde no meio de cultivo; melhor evidenciado em ABD (OLIVEIRA, 2014). Em certas ocasiões, a coloração é inicialmente amarelada, escurecendo gradativamente até tornar-se vermelha. As colônias possuem pregas radiais, formando uma pequena saliência central. Na micromorfologia, observam-se hifas hialinas, septadas, com microconídios em forma de lágrima ou gota, dispostos ao longo das mesmas ou em cachos (Fig. 4b) (OLIVEIRA, 2014a). Os macroconídios são raros, produzidos geralmente por amostras mais granuladas, esporulantes, formados no final das hifas e dispostos isoladamente ou em grupo. Eles são longos, estreitos, com bordas laterais bem paralelas e paredes finas (HARVEY; CHAMPE; FISHER, 2008). Muitas vezes a identificação é difícil de ser feita apenas com esses dados, mesmo para micologistas experientes, por isso em alguns casos faz-se o diagnóstico diferencial, como a capacidade que *T. rubrum* tem de produzir pigmento em Agar fubá a 1%, teste de perfuração do pelo e urease negativos (SAENZ, 2001; OLIVEIRA, 2014a).



**Figura 4.** Imagens da macro (a) e micromorfologia (b) de *T. rubrum* (FONTE: MYCOLOGY ONLINE – National Mycology Reference Centre, 2018).

Os mecanismos de infecção por dermatófitos envolvem primordialmente três etapas (ESQUENAZI et al., 2004):

- 1) ruptura da camada intacta de queratina e a superação do mecanismo de defesa do hospedeiro;
- 2) adesão decorrente da expressão de glicoproteínas adesinas que se ligam a resíduos de manose e galactose na superfície das células;
- 3) início da germinação dos artroconídios favorecendo a penetração das hifas na pele.

Após a instalação do fungo no estrato córneo da epiderme, esse passa a utilizar as macromoléculas do hospedeiro como fonte de carbono, enxofre, nitrogênio e fósforo, através da secreção de enzimas hidrolíticas como, nucleases, lipases, proteases e queratinases. Esse processo enzimático é o maior fator de virulência e a atividade queratinolítica está intimamente ligada a patogenicidade dos dermatófitos (GIDDEY et al., 2007; ROUZAUD et al., 2018). Devido ao favorável pH ácido da pele, o agente patogênico expressa a síntese de queratinases e proteases não específicas. Entretanto, na sequência do processo, com a utilização do substrato e conseguinte produção de aminoácidos, ocorre a alcalinização do meio, favorecendo a atividade de queratinases com atividade ótima em pH alcalino, permitindo a manutenção da infecção (CERVELATTI et al., 2004).

A infecção é geralmente cutânea, restrita à camada córnea e epidérmica, devido à incapacidade do fungo de penetrar em tecidos profundos ou órgãos de indivíduos imunocompetentes. Porém, em indivíduos imunocomprometidos, existem inúmeros relatos de infecções invasivas e profundas (SATO; TAGAMI, 2003; LANTERNIER et al., 2013; ACHTERMAN; WHITE, 2013; ROUZAUD et al., 2015; SU, et al., 2017). A instalação de um processo patogênico em pele glabra inicia-se sempre pela inoculação de um artroconídio ou fragmento de hifa depositado sobre a pele, favorecido por uma lesão cutânea ou escoriação preexistente, mesmo que mínima (SIDRIM; ROCHA, 2004). O fungo se adere às células, mediado por adesinas que interagem com receptores do hospedeiro. A penetração no estrato córneo inicia-se com o desenvolvimento de tubos germinativos a partir dos artroconídios. Após sete dias de incubação, as hifas começam a formar artroconídios, completando assim, o ciclo vegetativo de

crescimento do fungo. O fungo secreta proteases que degradam a queratina, auxiliando na invasão (BALDO et al., 2012).

Os pelos são atacados secundariamente à evolução de uma lesão na pele, que apresenta em sua superfície uma grande quantidade de folículos pilosos. O dermatófito remove a cutícula e tem acesso aos pelos, e só cessa a sua progressão quando não encontra mais queratina no colete do bulbo pilar (SIDRIM; ROCHA, 2004). Por último, tem-se o comprometimento das unhas, que ocorre após a penetração do dermatófito no estrato córneo (BRISTOW, 2004).

Para o estabelecimento da infecção, o contato do artroconídio ou fragmento de hifa com a pele do hospedeiro é essencial. O fungo expressa adesinas carboidrato específicas na superfície dos microconídios que reconhecem a manose e a galactose. Espécies como *T. mentagrophytes* desenvolvem projeções fibrilares longas e curtas que ancoram e conectam os artroconídios aos queratinócitos e a outros artroconídios (MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2008), além de proteases como as subtilisinas, dipeptidil peptidases e metaloproteinases, que estão diretamente envolvidas na adesão aos queratinócitos e na invasão ao estrato córneo. Essa adesão é tempo dependente e pode variar conforme a espécie de dermatófito (VERMOUT et al., 2008; BALDO et al., 2012).

Durante a degradação da queratina, os dermatófitos secretam sulfito (utilizando uma bomba de efluxo de sulfito, codificada pelo gene SSU1). O sulfito é um agente redutor que cliva as pontes dissulfito da queratina em cisteína e S-sulfocisteína, deixando as proteínas capazes de serem digeridas por muitas endo e exoproteases secretadas pelos fungos. A expressão elevada do gene SSU1 é característica dos dermatófitos e auxilia na degradação eficiente dos tecidos queratinizados pelos dermatófitos (BALDO et al., 2012). A maior atividade queratinolítica está diretamente relacionada à produção de infecções mais sintomáticas e à ativação da resposta imune. A infecção dermatofítica induz a hipersensibilidade do tipo tardia, que é caracterizada pela ação dos macrófagos como células efectoras e também pela ação de algumas citocinas, como interferon- $\gamma$  (INF-  $\gamma$ ) (VERMOUT et al., 2008). O padrão de secreção das proteases desempenha um papel importante nas respostas imune e inflamatória (ACHTERMAN; WHITE, 2012).

A intensidade da inflamação depende da profundidade da lesão na pele e o dano é dependente da maior ou menor secreção de proteases (VERMOUT et al., 2008). Em um estudo conduzido por YOUNGCHIM et al. (2011), relatou-se a produção de melanina por várias espécies de dermatófitos. Sabe-se que a melanina é considerada um fator de virulência em várias espécies de fungos, uma vez que protege os microrganismos dos mecanismos de defesa do hospedeiro e do meio ambiente. Contudo, ainda não há evidências suficientes para sugerir que a melanina exerça um papel crucial na patogênese desses fungos (YOUNGCHIM et al., 2011).

Os dermatófitos ocasionam infecções cutâneas bem características e definidas, sendo que uma espécie pode estar envolvida em diferentes formas clínicas, dependendo do sítio anatômico envolvido. Sendo assim, as infecções dermatofíticas podem ser classificadas clinicamente de acordo com as localizações anatômicas das lesões, utilizando-se a denominação *tinea* (do latim *tinea* = verme ou traça) para todas as dermatofitoses, seguida do sítio anatômico onde se localiza a infecção, também em latim (REFAI; EL-YAZID; EL-HARIRI, 2013). As modalidades dermatofíticas mais relevantes são: *tinea capitis* (couro cabeludo), *tinea corporis* (corpo), *tinea cruris* (grandes pregas), *tinea unguium* (unha), *tinea barbae* (barba), *tinea manuum* (mãos) e *tinea pedis* (pés) (Fig. 5; WEITZMAN; SUMMERBELL, 1995; SEEBACHER; BOUCHARA; MIGNON, 2008; DIEGO, 2011; REFAI; EL-YAZID; EL-HARIRI, 2013; ALTER et al., 2018).

Maiores detalhes das formas clínicas acima mencionadas e epidemiologia são apresentados no Capítulo 1 (artigo de revisão específico sobre o tema – dermatófitos e dermatofitoses, publicado na Clinical & Biomedical Research). Por fim, o diagnóstico é realizado pela observação de três parâmetros em conjunto: 1) exame direto, 2) aspectos macro e micromorfológicos da cultura e 3) epidemiologia correlacionada (BRASCH, 2014).





**Figura 5.** Imagens de lesões características das distintas formas clínicas de dermatofitose: (a) *tinea capitis* (couro cabeludo), (b) *tinea corporis* (corpo), (c) *tinea cruris* (grandes pregas), (d) *tinea unguium* (unha), (e) *tinea barbae* (barba), (f) *tinea manuum* (mãos) e (g) *tinea pedis* (pés) (FONTE: MYCOLOGY ONLINE – National Mycology Reference Centre; DOCTOR FUNGUS, 2018).

### 3. *Candida* spp.

O primeiro relato de *Candida* no ser humano ocorreu em 1839 após isolamento de *C. albicans* da cavidade oral de um paciente com afta, que posteriormente se tornaria a mais importante levedura de interesse médico. A espécie foi classificada somente anos depois, em 1923, por Berkhout (BARNETT; PAYNE; YARROW, 200; SIDRIM; ROCHA, 2004). *Candida* spp. apresentam células em brotamento, que podem formar pseudohifas. A coloração de suas colônias pode variar de branca à creme, ligeiramente acinzentadas. Sua



textura é cremosa ou membranosa com superfície rugosa, lisa ou sulcada e brilhante. Geralmente são circulares e as bordas podem ser regulares ou irregulares. Leveduras desse gênero possuem importante capacidade adaptativa e podem se desenvolver tanto em aerobiose, quanto em anaerobiose. Podem ser encontradas na maioria dos ecossistemas, estando presentes no solo, na água, em alimentos e colonizando animais e homens (comensais, fazem parte da microbiota normal do trato digestório, geniturinário, respiratório e pele de indivíduos sadios). A ocorrência da candidíase depende da predisposição do hospedeiro (imunodepressão), carga microbiana e virulência da espécie, logo, quando estes três fatores estão presentes, as leveduras tornam-se oportunistas e, portanto, patogênicas (BARBEDO; SGARBI, 2010; TRAGIANNIDIS et al., 2012; PEIXOTO et al., 2014; NAGLIK; RICHARDSSON; MOYES, 2014).

Sabe-se que mais de 200 espécies de *Candida* estão presentes na microbiota normal do corpo humano e de animais (SARDI et al., 2013; NAGLIK; RICHARDSSON; MOYES, 2014). Dentre essas, somente quinze espécies são comumente isoladas e identificadas como agentes infecciosos. São elas: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. pelliculosa*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. rugosa*, e *C. norvegensis*. Embora a frequência com que são isoladas varie bastante, diferentes estudos nos últimos 20 anos têm mostrado que em 95% dos casos de candidíases, os patógenos envolvidos são *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (LEWIS, 2009; DIEKEMA et al., 2012). Apesar de *C. albicans* ser a espécie mais isolada nos casos de candidíases, espécies de CNA estão emergindo como a segunda ou terceira maior causa de candidemia principalmente em crianças (OLIVEIRA et al., 2014b). Manifestações clínicas relevantes associadas a algumas dessas espécies são apresentadas na Tabela 1. Há ainda a possibilidade de infecções mistas envolvendo a associação de mais de uma espécie de *Candida*, isoladas de um mesmo paciente e/ou sítio anatômico (LIMA et al., 2008; BOUZA et al., 2013).

**Tabela 1.** Manifestações clínicas relevantes associadas a espécies de *Candida* não-*albicans*.

<b>Espécie</b>	<b>Manifestações clínicas</b>
<b><i>C. krusei</i></b>	Candidemia, endoftalmite, endocardite, osteomielite
<b><i>C. glabrata</i></b>	Candidemia, candidúria, vulvovaginite, esofagite, candidíase orofaríngea
<b><i>C. tropicalis</i></b>	Candidemia, candidíase disseminada, candidúria associada à cateter, candidíase orofaríngea, vulvovaginite
<b><i>C. parapsilosis</i></b>	Candidemia, endoftalmite, endocardite, artrite séptica, peritonite e outras infecções disseminadas associadas a dispositivos protéticos, candidíase orofaríngea
<b><i>C. dubliniensis</i></b>	Candidíase orofaríngea em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). Raramente desencadeia candidíase invasiva.
<b><i>C. guilliermondii</i></b>	Candidemia em doentes previamente sujeitos a cirurgias cardiovasculares ou gastrointestinais, endocardite em indivíduos toxicodependentes
<b><i>C. lusitaniae</i></b>	Candidemia e outras formas de candidíase sistêmica

FORTE: Adaptado de PEIXOTO et al. (2014); DEORUKHKAR; SAINI (2015); KOLACZKOWSKA; KOLACZKOWSKI (2016).

As espécies de *Candida* têm a capacidade de colonizar diversas regiões anatômicas, causando infecções superficiais da pele e mucosas – candidíases cutâneas e mucocutâneas (Quadro 1) – ou infecções disseminadas e potencialmente fatais – candidemia e candidíases invasivas (CI) (Quadro 1) (SARDI et al., 2013). O tipo e dimensão da infecção são determinados pelo estado imunológico do hospedeiro (PEIXOTO et al., 2014). Durante as últimas décadas, as infecções por *Candida* têm aumentado não somente em ocorrência, mas também na gravidade da doença (ZAUGG et al., 2001; PAPPAS et al., 2004). O aumento das infecções, com lesões graves, tem levado a um alto índice de mortalidade, principalmente em pacientes imunocomprometidos (GARNACHO-MONTERO et al., 2018).

Conforme Williams e Lewis (2011), as candidíases mucocutâneas ocorrem com maior regularidade. Nesse sentido, os locais os quais são mais frequentes o isolamento de *Candida* correspondem ao trato geniturinário e cavidade oral, sendo diagnosticadas infecções em cerca de 31-35% de indivíduos saudáveis (SILVA et al., 2012). *Candida* spp. são consideradas a segunda causa de infecções vaginais, sendo que aproximadamente 75% das

mulheres sofrem um episódio durante a idade fértil, e 40-50% poderão ter recidivas. Apesar de 80-90% dos casos serem causados por *C. albicans*, assiste-se à emergência de espécies de CNA, sendo 10-20% dos casos atribuídos a *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* (PAPON et al., 2013; HOSPENTHAL; RINALDI, 2015; BHAWNA; SANGEETA; UDAYAN, 2015).

No estudo de Sadeghi et al. (2018), 79 casos de infecção por CNA foram confirmados em infecções cutâneas e sistêmicas, sendo que *C. parapsilosis* (36,8%) foi a espécie mais prevalente, seguida por *C. glabrata* (32,9%), *C. orthopsilosis* (11,4%), *C. tropicalis* (8,9%), *C. krusei* (5%) e *C. guilliermondii* (5%). Esses isolados foram identificados por técnicas morfológicas, bioquímicas e moleculares (sequenciamento ITS). Os isolados clínicos de *C. glabrata* e *C. krusei* não foram suscetíveis ao fluconazol, avaliados pela metodologia de microdiluição em caldo.

Em pacientes com a imunidade debilitada, poderão desenvolver-se infecções sistêmicas, as quais se revestem de grande importância clínica dado as elevadas taxas de mortalidade associadas – 71 a 79% (PATIL et al., 2015). A incidência anual de CI é de 2.53-11/100.000 indivíduos nos países Europeus e 6-23/100.000 indivíduos nos EUA. Num relatório global, verificou-se um incremento de 10-11% nos casos de candidemia, num período de aproximadamente 7 anos (PATIL et al., 2015).

*Candida* spp. são indicadas como responsáveis pela crescente incidência de casos de septicemia nas unidades hospitalares (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010; OREN; PAUL, 2014; SANTANA et al., 2018), estando classificadas nos EUA entre a terceira ou quarta causa de infecções nosocomiais (DEORUKHKAR; SAINI, 2016). Essas infecções são mais comuns nas unidades de cuidados intensivos (UCI), visto ser onde se encontram pacientes mais vulneráveis e sujeitos a um maior número de processos terapêuticos invasivos (VIRIATO, 2014). Na UCI, a taxa de mortalidade associada a CI é cerca de 30-50% (ZARRIN; MAHMOUDABADI, 2009; VAZQUEZ, 2010). Segundo Hospenthal e Rinaldi (2015), 10-12% de todas as infecções nosocomiais são provocadas por *Candida*, e 8-15% das infecções nosocomiais que afetam a corrente sanguínea são provocadas por espécies desse gênero.

**Quadro 1.** Caracterização das candidíases cutâneas/mucocutâneas e invasivas.

<b>Candidíases cutâneas e mucocutâneas</b>	<b>Características</b>
<b>Candidíase orofaríngea</b> Mucosa bucal, palato, língua, cantos da boca (queilite angular), amígdalas ou faringe	<u>Candidíase pseudomembranosa aguda</u> ("sapinhos): nódulos brancos, aderentes e aspecto cremoso. Facilmente removíveis. <u>Candidíase atrófica crônica</u> ("estomatite pelo uso de dentaduras"): eritema doloroso, com ausência de placas
<b>Esofagite</b> Esôfago	Geralmente assintomática, associada a náuseas e vômitos; Placas brancas eritematosas, disfagia e odinofagia, hememetese e dor epigástrica
<b>Balanite</b> Glande do pênis, podendo estender-se a virilhas e zona perianal	Eritema pruriginoso pustular e placas pseudomembranosas
<b>Vulvovaginite</b> Mucosa vaginal	Eritema vulvar, prurido intenso, corrimento vaginal, disúria e dispareunia
<b>Mastite</b> Sulco inframamário	Lesão eritematosa e pruriginosa
<b>Candidíases anais</b> Ânus	Lesões pruriginosas bem delimitadas, sensação de queimadura e maceração da pele
<b>Candidíases das unhas</b> Unha ou pele na sua periferia	<u>Paroníquia</u> (pele na periferia da unha): lesão inflamatória, eritematosa e dolorosa <u>Oníquia</u> (unha): unhas espessas, opacas e friáveis
<b>Candidíases mucocutâneas crônicas (CMC)</b> Mucosa oral, pele, unhas, couro cabeludo, tronco, mãos e dedos	Lesões vermelhas com hiperqueratinização, geralmente indolores
<b>Intertrigo</b> Zonas quentes e úmidas da pele (espaços interdigitais das mãos e pés, pregas submamárias ou supra púbica, virilhas e axilas)	Lesão eritematosa, descamativa, exsudativa e pruriginosa, geralmente com bordas bem definidas, rodeadas por pequenas vesículas ou pústulas
<b>Candidíases invasivas</b>	<b>Características</b>
<b>Infecções disseminadas</b>	
<b>Candidemia</b> Sangue	-Manifestação mais comum de candidíase disseminada -Poderá originar choque séptico ou candidíase disseminada, apesar da ausência de positividade nas hemoculturas -Histopatologicamente: microabscessos em diversos órgãos -Aparecimento de lesões cutâneas e retinianas
<b>Endocardite</b>	-Complicação da candidemia -Normalmente fatal
<b>Candidíase disseminada crônica</b> (Candidíase hepatoesplênica)	Após contagem normalizada de neutrófilos: -Febre alta -Dor e sensibilidade no hipocôndrio direito -Lesões no fígado e baço
<b>Infecções focais invasivas</b>	
<b>Infecções do trato urinário</b> (Candidúria)	-Possibilidade de febre -Dor na região lombar -Náuseas e vômitos
<b>Infecções osteoarticulares</b>	Febre e dores nas costas poderão ocorrer semanas após episódio de fungemia
<b>Endoftalmite</b> Normalmente por <i>C. parapsilosis</i>	Lesões brancas na retina que podem atingir humor vítreo e conduzir a cegueira
<b>Peritonite</b>	-Dor abdominal -Febre
<b>Meningite</b>	-Febre, rigidez no pescoço, dores de cabeça, alteração do estado mental

As espécies distribuem-se de acordo com a população em estudo (idade) e respectiva região geográfica, bem como doenças subjacentes ao hospedeiro e terapêuticas instituídas, podendo ainda ocorrer variações entre hospitais de uma mesma região e entre as diversas unidades hospitalares (DEORUKHKAR; SAINI, 2013; GUINEA, 2014; DEORUKHKAR; SAINI, 2015). Esse fato foi demonstrado em um estudo de prevalência de *C. albicans* e das espécies de CNA em amostras sanguíneas, de pacientes em internamento, que foi variada de acordo com as regiões geográficas. Enquanto *C. albicans* foi predominantemente isolada do Centro e Norte dos EUA, as espécies de CNA foram principalmente isoladas na Ásia, no Sul da Europa e na América do Sul (FALAGAS; ROUSSOS; VARDAKAS (2010).

Em relação à patogênese, a capacidade que o microrganismo tem de aderir à superfície das células do hospedeiro, representa o primeiro estágio deste processo. Os mecanismos usados por espécies de *Candida* para aderir são múltiplos e não têm sido definidos precisamente (VIDOTTO et al., 2003). A hidrofobicidade da superfície da mucosa, a presença de açúcar no meio e formação de tubo germinativo parecem interferir no processo de adesão (MANFREDI et al., 2007). Doenças infecciosas, como a candidíase são conhecidas por começar com a fixação do patógeno a um alvo particular no hospedeiro (CALDERONE; FRONZI, 2001).

As espécies de *Candida* podem também aderir a superfícies de dispositivos médicos e formar biofilmes. A adesão de *Candida* em dispositivos como o cateter facilita a ocorrência de candidemia e a formação de uma massa de microrganismos - denominada de biofilme, que torna a levedura mais resistente aos antifúngicos (AULER et al., 2009). Espécies como *C. parapsilosis* e *C. albicans* têm sido constantemente descobertas como causadoras de candidemia, acreditando-se que essa elevada frequência, principalmente quando se refere a *C. parapsilosis* pode ser explicada pela alta capacidade desta espécie de aderir a superfícies plásticas tais como o cateter (DAGDEVIREN; CERIKCIOGLU; KARAVUS, 2005).

Por fim, o diagnóstico das candidíases cutâneas/mucocutâneas baseia-se na realização de exame direto de esfregaços de pele, unhas, mucosa oral e vaginal, com o auxílio de hidróxido de potássio (KOH) ou de corantes como o azul de metileno ou coloração de Gram, que permitem a observação ao

microscópio das diferentes estruturas: leveduras, hifas e pseudohifas (HOSPENTHAL; RINALDI, 2015). A observação e estudo macro e microscópico das amostras clínicas, a sua inoculação em meios que permitem o isolamento do agente causal e a avaliação da resposta imunitária do hospedeiro destacam-se como métodos convencionais de diagnóstico geral de uma infecção por *Candida* (QUINDÓS et al., 2012; OREN; PAUL, 2014). Nos casos de infecção invasiva, o diagnóstico é bastante complexo e apresenta algumas limitações, entre elas a baixa sensibilidade e morosidade dos métodos convencionais (GÓMEZ et al., 2010; QUINDÓS et al., 2012).

#### **4. Tratamento das infecções fúngicas (dermatofitoses e candidíases) e problemática associada**

O tratamento das dermatofitoses e candidíases faz-se, de modo geral, com o uso de antifúngicos tópicos e/ou sistêmicos (PIRES et al., 2014; BASSETTI; PEGHIN, M; TIMSIT, 2016). Na terapêutica das candidíases cutâneas é comum o uso de pomadas e cremes de nistatina, de clotrimazol, de terbinafina e de cetoconazol (BARBEDO; SGARBI, 2010; BASSETTI; PEGHIN; M; TIMSIT, 2016). Para infecções na pele mais severas associadas a essas leveduras, ou ainda se houver o agravamento para um caso mais disseminado, opta-se pela terapia oral, com a utilização de antifúngicos de três principais classes: azólicos (ex.: fluconazol, itraconazol, voriconazol), poliênicos (ex.: anfotericina B) e equinocandinas (ex.: micafungina) (BARBEDO; SGARBI, 2010; ROTTA et al., 2013; DATTA et al., 2018). Em relação a dermatofitose, nos quadros mais simples da infecção, usa-se geralmente creme de ciclopirox olamina, de terbinafina, de butenafina e de naftifina (GINTER-HANSELMAYER, 2012; KAUL; YADAV; DOGRA, 2017; KHURANA, 2018).

Adicionalmente, o esmalte de ciclopirox olamina é muito utilizado para os casos de onicomicoses, tanto as de origem dermatofítica como as também ocasionadas por *Candida* spp., apesar de que nas infecções das unhas indica-se normalmente a associação da terapia tópica e sistêmica, pois apenas com a monoterapia as chances de recidivas são bem maiores (SHEMER, et al., 2010; KHANNA; MANCHANDA; AGARWAL, 2014). Além desse caso, a terapia sistêmica das dermatofitoses é indicada quando as lesões são generalizadas, recorrentes, de caráter crônico, ou quando não há resposta à terapia tópica. O

tratamento sistêmico oral é realizado principalmente pelo uso de derivados azólicos como o cetoconazol, terbinafina e griseofulvina, os quais possuem importante atividade antidermatofítica (LAKSHMIPATHY; KANNABIRAN, 2010; PIRES et al., 2014; KAUL; YADAV; DOGRA, 2017).

A escolha do tratamento mais apropriado para cada caso é determinada pela extensão da infecção, pelo sítio afetado e pela espécie envolvida, tão bem quanto pela eficácia, perfil de segurança e biodisponibilidade dos antifúngicos disponíveis (PIRES et al., 2014). A terapêutica pode ser conduzida topicamente, sistematicamente ou associando-se ambas as formas, combinadas ou não a antibacterianos e substâncias queratolíticas (PIRES et al., 2014; LAWTON, 2017).

#### **4.1. Derivados azólicos**

Os antifúngicos azólicos, de administração oral ou intravenosa, são comumente utilizados no tratamento das micoses inibindo a produção do ergosterol (KLEPSEK et al., 2000; SILVA, 2005; BROWN, 2007). Os compostos dessa classe são classificados como imidazólicos ou triazólicos, diferindo-se nas suas constituições químicas, com base no número de nitrogênios (N) presentes no anel azólico - composto de cinco membros, sendo que os imidazólicos possuem dois "N" e os triazólicos três "N" no heterociclo, respectivamente (LACAZ et al., 2002; ODSS; BROWN; GOW, 2003). Os parâmetros essenciais para a ação antifúngica são a presença de, pelo menos, um anel imidazólico e a união desse anel ao restante da molécula por ligações "C-N" (LACAZ et al., 2002).

Apesar das diversidades químico-estruturais entre as classes de azólicos, que de algum modo interferem no espectro de ação e toxicidade, o mecanismo é o mesmo (HAMDAN; HAHN, 2006). Cetoconazol (imidazólico) e fluconazol, itraconazol e voriconazol (triazólicos) atuam bloqueando a enzima 14- $\alpha$ -desmetilase, presente no citocromo P-450 da célula fúngica, impedindo a desmetilação do precursor lanosterol em ergosterol (VANDEN-BOSSCHE, 1997).

Cetoconazol (CTZ) foi o primeiro imidazólico oral biodisponível, com amplo espectro de ação, e a primeira alternativa sistêmica à griseofulvina no tratamento das dermatofitoses, também se apresentando na opção tópica

(MOOSSAVI; BAGHERI; SCHER, 2001). CTZ é eficaz no tratamento da blastomicose, histoplasmose, coccidioidomicose, paracoccidioidomicose, *tinea versicolor*, candidíase mucocutânea crônica, oral e esofagiana, vulvovaginite por *Candida* e infecções dermatofíticas cutâneas, não sendo muito recomendado na terapêutica de aspergilose e mucormicose (PEI-LAN; LI-MIN; PO-REN, 2007).

Especificamente em relação às dermatofitoses, estudos demonstram que o creme de cetoconazol 2% tem sido eficaz e seguro no tratamento de *tinea pedis*, *tinea cruris* e *tinea corporis*, atuando em infecções ocasionadas pelas espécies dos três gêneros – *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (LESTER, 1995). As taxas de cura com CTZ referentes ao tratamento das tinhas da pele glabra muito se assemelham com as taxas de resposta a terapêutica com a griseofulvina (REFAI; EL-YAZID; EL-HARIRI, 2013). Em 2003, em um estudo para avaliação *in vitro* do CTZ e outros agentes antifúngicos contra *Trichophyton* spp. e *Microsporum* spp., constatou-se valores de concentração inibitória mínima (CIM) baixos para a maioria dos isolados clínicos, ou seja, as espécies mostraram-se bastante sensíveis (GUPTA; KOHLI, 2003). Em 2013, relatou-se o uso tópico do xampu de CTZ em combinação com terbinafina oral, durante três meses, em uma criança com *tinea capitis*, com melhora progressiva da paciente (ANAHORY; SANTOS; BORGES, 2013).

Fluconazol (FLZ) é eficaz na maioria das infecções por *Candida*, sendo capaz inclusive de penetrar no sistema nervoso central (NUCCI; COLOMBO, 2002). FLZ é usado como profilático em pacientes neutropênicos com risco de desenvolverem infecção fúngica (BURGESS et al., 2000). A introdução deste antifúngico como profilaxia possibilitou a redução de candidíase invasiva de 10-25% para pacientes transplantados alogênicos de células estaminais hematopoiéticas (STABER et al., 2007). Embora a profilaxia com FLZ em transplantados alogênicos tenha resultado na redução de infecções por *Candida*, essencialmente por *C. albicans*, este procedimento estimulou uma mudança de etiologia. Espécies de *Candida* não-*albicans*, como *C. krusei* e *C. glabrata* resistentes ao FLZ, tornaram-se emergentes, dificultando o tratamento para estas infecções (RICHARDSON; LASS-FLÖRL, 2008).

O itraconazol (ITZ) é um antifúngico de amplo espectro, disponível em duas formulações: oral e intravenosa, sendo que esta última é a mais utilizada. Este fármaco, entretanto, deve ser administrado com cuidado, pois pode produzir



efeitos tóxicos ao organismo do hospedeiro, como hipocalcemia e edema (KONTOYIANNIS et al., 2000). A absorção de ITZ em solução apresenta-se com maior eficácia do que quando formulado em cápsulas. Bons resultados desta formulação líquida em pacientes neutropênicos e submetidos a transplantes de medula foram verificados (PRENTICE et al., 2000).

O voriconazol (VRZ) é um triazólico que está estruturalmente relacionado ao FLZ, porém possui atividade tanto para *Candida* quanto para *Aspergillus*. Efeitos adversos como rash cutâneo, toxicidade hepática, e distúrbios visuais podem ser vistos com o uso de VRZ. Maior eficácia de VRZ sobre o FLZ tem sido observada, sendo que em casos de candidíase esôfágica, observou-se uma cura em 94,8% dos pacientes tratados com VCZ sobre 90,1% dos tratados com FLZ (MARTINEZ, 2006). Corroborando para estes dados, Hegener et al. (1998) verificaram a eficácia de VRZ em 12 pacientes com SIDA refratários ao FLZ. Testes de suscetibilidade *in vitro* mostraram que este antifúngico apresenta valores muito baixos de CIM, sendo que *in vitro*, VRZ é efetivo para várias espécies de *Candida* inclusive *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis* (GERZENSHTEIN et al., 2005).

Isolados clínicos de *Candida* resistentes aos azólicos e dificuldades no tratamento têm emergido em pacientes com infecções fúngicas oportunistas (FLECK; HOF, 2008; KHANDELWAL et al., 2018). *C. glabrata* e *C. krusei* têm se mostrado comumente resistentes ao FLZ devido ao uso prolongado deste agente antifúngico (COLOMBO et al. 2002). Segundo Barchiesi et al. (2002), pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que fazem uso de terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), frequentemente apresentam leveduras na cavidade bucal resistentes ao FLZ. Além disso, a prevalência de resistência em cepas isoladas de infecção da corrente sanguínea está cada vez maior. Outra observação interessante com relação à resistência aos azólicos, refere-se a aderência e colonização de dispositivos médico-hospitalares, como o cateter, que devido ao favorecimento da formação de biofilmes, induz a uma menor suscetibilidade ao FLZ (KHANDELWAL et al., 2018).

São conhecidos três mecanismos de resistência aos azólicos: 1- Redução do acúmulo intracelular do fármaco resultante da utilização reduzida deste agente antifúngico ou do aumento da excreção do fármaco devido à ação de produtos de genes de resistência aos antifúngicos, 2- Alteração estrutural da

enzima 14- $\alpha$ -desmetilase, resultando em uma diminuição na sua ligação aos azólicos, 3- Síntese aumentada de 14-  $\alpha$ -desmetilase, devido à amplificação do gene ERG11 (transformação de lanosterol em ergosterol não é totalmente impedida quando sob a ação do derivado azólico) (HEILMANN et al., 2010).

#### 4.2. Poliênicos

A anfotericina B (AFB) pertencente à ampla família dos macrolídeos poliênicos, atua ligando-se ao ergosterol da membrana celular fúngica, alterando sua permeabilidade, o que acarreta desequilíbrio osmótico pela perda de íons intracelulares e consequentemente lise e morte das células (VANDEN-BOSSCHE, 1997). AFB pode ser usada para o tratamento de doenças endêmicas causadas por diferentes agentes como *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, que são causadores de lesões sistêmicas graves, e também tem sido amplamente utilizada no tratamento de CI (CARRILLO-MUÑOZ et al., 2001). Os efeitos adversos mais comuns de AFB são instabilidade cardiovascular, febre, hipoxemia e nefrotoxicidade. Os riscos de nefrotoxicidade aumentam com a administração concomitante de outros agentes nefrotóxicos. Formulações com AFB, podem diminuir a toxicidade desta substância como as preparações associadas a lípidios, ou seja, AFB lipossomal (AmBisome®), dispersão coloidal de AFB (Amphotec®) e complexo lipídico de AFB (Abelcet®). Embora AFB e suas formulações não sejam muito toleradas pelos pacientes, este fármaco tem sido usado em casos de transplantados que não respondem a demais tratamentos (BROWN, 2007).

Poucos relatos sobre resistência aos poliênicos têm sido verificados. Isolados de *Candida*, tais como, *C. lusitaniae* e *C. tropicalis* já foram detectados demonstrando resistência a poliênicos (BOFF et al., 2008). O mecanismo de resistência a AFB pode ocorrer devido a uma alteração dos lipídios na membrana celular do fungo, onde o ergosterol dá lugar à formação de outros lipídios, não reconhecidos pelo fármaco (SANGLARD, 2002).

#### 4.3. Equinocandinas

É uma classe de fármacos, cujo mecanismo de ação consiste na capacidade que estas substâncias têm de interferir na síntese da parede celular

do microrganismo, inibindo a  $\beta$ -(1,3)-glucana-sintase, por consequência impedindo a síntese de glucanas. O bloqueio da produção de glucanas resulta em desequilíbrio osmótico, o que interfere na viabilidade da célula fúngica (MARTINEZ, 2006). A inibição da síntese de glucanas também apresenta efeitos secundários sobre outros componentes da célula, como redução de lanosterol e ergosterol e o aumento das concentrações de quitina (DOUGLAS et al., 1997). Entre as equinocandinas são conhecidas: micafungina (MCF), caspofungina (CSF) e anidulafungina (ANF).

A MCF possui uma atividade fungicida natural para espécies de *Candida* e é a única equinocandina aceita para tratamento de candidíase de neonatos (THEURETZBACHER, 2004). MCF é também indicada nos casos de candidíase esofágica, candidemia, peritonites e abscessos e como profilático nas infecções por *Candida* em pacientes submetidos a transplante de células progenitoras hematopoiéticas (THEURETZBACHER, 2004). A CSF assim como o VRZ tem demonstrado uma atividade antifúngica *in vitro* contra *Aspergillus* spp. e espécies de *Candida*, incluindo isolados resistentes ao FLZ (KARTSONIS et al., 2002; HOLLENBACH, 2008).

A classe das equinocandinas é a menos tóxica, comparando-se com as demais já citadas, e o desenvolvimento de resistência é raro (PARK et al., 2005; PERLIN, 2015). O mecanismo de resistência de microrganismos a estes agentes antifúngicos pode ser decorrente de um aumento na síntese da proteína Sbe<sub>p</sub> do complexo de Golgi, controlada pelo gene GAL1, que regula os mecanismos de transporte de componentes celulares para a parede da célula fúngica. Moudgal et al. (2005) relataram o desenvolvimento de resistência de *Candida* a múltiplas equinocandinas durante a exposição a esses agentes antifúngicos. Dados preliminares de um estudo *in vitro* utilizando equinocandinas sugerem CIMs desses fármacos maiores para isolados de *C. parapsilosis* do que para outras espécies de *Candida* (PFALLER et al., 2002).

Em consequência da similaridade bioquímica e fisiológica existente entre as células fúngicas e células humanas, o arsenal terapêutico antifúngico disponível para tratamento da candidíase torna-se bastante limitado. A maioria dos agentes antifúngicos disponíveis, como os derivados azólicos e AFB acima mencionados, tem como alvo o ergosterol que é um esterol da membrana celular fúngica, que possui estrutura semelhante ao colesterol presente na célula

humana (ODDS et al., 2003). Medicamentos como as equinocandinas, representam hoje em dia uma das poucas alternativas para o tratamento de candidíase não responsiva as demais classes de antifúngicos. Equinocandinas atuam sobre a parede celular fúngica, que apresenta constituição diferenciada das células dos mamíferos (LARKIN et al., 2018). Desse modo, com as tendências atuais de aumento da resistência aos azólicos e a emergência das CNAs, diretrizes recomendam as equinocandinas como tratamento de primeira linha para candidemia (LARKIN et al., 2018).

#### **4.4. Ciclopirox olamina**

Ciclopirox olamina (CPO) é um antimicótico empregado muito comumente por via tópica, pertencente à classe das hidroxipiridonas, com atividade antifúngica e antibacteriana, através de múltiplos mecanismos de ação. De modo geral, CPO liga-se a cátions trivalentes (por exemplo,  $Fe^{3+}$ ) e tem capacidade de inibir várias enzimas fúngicas citocromais metalo-dependentes (BOHN; KRAEMER, 2000; SUBISSI et al., 2010; LECERF; ANDRÉ; RICHERT, 2014). Relata-se ainda que o CPO afeta a produção energética mitocondrial, reduz a ação de peroxidases e catalases, as quais degradam peróxidos prejudiciais e tóxicos; e ainda afeta a síntese proteica e de ácidos nucleicos da célula fúngica. Agindo por tantas vias, CPO tem, na maioria dos casos efeito fungicida, dependendo sempre da concentração utilizada e do tempo correto de tratamento (SUBISSI et al., 2010). Recomenda-se uma aplicação diária do esmalte de ciclopirox 8% por 24 a 48 semanas, para as unhas das mãos e pés, respectivamente (BOHN; KRAEMER, 2000; SUBISSI et al., 2010; LECERF; ANDRÉ; RICHERT, 2014). Existem formulações do esmalte a base de quitosana hidroxipropil, que facilitam mais a permeabilidade através da lâmina ungueal. Considera-se o uso do CPO nas onicomicoses subungueais (distal e lateral) mínimas, quando não houver mais de 50% da área total da unha comprometida e/ou quando o paciente não é um bom candidato para a terapêutica antifúngica por via oral (BOHN; KRAEMER, 2000; SUBISSI et al., 2010; LECERF; ANDRÉ; RICHERT, 2014).

A partir de 1976, numerosos estudos foram conduzidos com o CPO em pacientes com infecções fúngicas da pele, sendo que uma série de trabalhos foi publicada desde então (SUBISSI et al., 2010). Em um levantamento de 20

estudos, com 991 casos de doenças de pele, principalmente dermatofitoses (71%), realizado com creme de CPO 1% e solução de CPO 1%, observou-se que após um período de tratamento de três semanas, a taxa de sucesso terapêutico (cura clínica e micológica) foi de 96% (DITTMAR, 1981). Em 2005, avaliou-se a eficácia do gel de CPO 0,77% no tratamento da *tinea pedis interdigitalis*, com infecção bacteriana secundária, em um estudo prospectivo duplo-cego, randomizado e controlado por placebo. Verificou-se, que o gel aplicado uma ou duas vezes ao dia reduziu significativamente os sinais e sintomas das lesões, na oitava semana de tratamento. As taxas de cura completa foram muito mais elevadas para CPO do que para o veículo, e redução da contagem bacteriana foi também observada pós-tratamento com CPO (GUPTA; SKINNER; COOPER, 2005). Em 2014, em um estudo da eficácia do CPO 1% e cloridrato de terbinafina 1%, em um modelo de onicomicose dermatofítica *in vitro*, notou-se alta taxa de permeação para ambos os compostos analisados, que mostraram eficácia muito semelhante (TAUBER; MULLER-GOYMANN, 2014). Além da atividade contra fungos e bactérias, recentemente descobriram-se propriedades anticâncer para o CPO (SHEN; ZHOU; HUANG, 2013).

#### 4.5. Terbinafina

A terbinafina (TBF) é um antimicótico empregado, por via tópica e/ou oral, no tratamento de infecções fúngicas cutâneas e até mesmo subcutâneas. TBF estabeleceu-se no mercado farmacêutico entre as décadas de 80-90 (PETRANYI; RYDER; STUTZ, 1984) e é considerada o principal antifúngico mais eficaz para dermatofitoses, visto que os dermatófitos, em geral, apresentam uma elevada suscetibilidade, sendo especialmente empregada nos casos em que há condições crônicas da micose (SOARES et al., 2013). TBF pertence à classe das alilaminas (alilamina terciária), fármacos sintéticos que atuam de forma distinta das demais classes de antifúngicos e cuja atividade, *in vitro* e *in vivo*, é direcionada especialmente contra dermatófitos e algumas leveduras, tendo também ação contra *Sporothrix schenckii*, *Scopulariopsis brevicaulis* e *Acremonium* spp. (LACAZ et al., 2002). A ação desse antifúngico dá-se pela inibição não-competitiva, específica e seletiva da esqualeno epoxidase, uma enzima envolvida nas etapas iniciais da síntese do ergosterol, o principal esterol

componente da membrana celular fúngica, acarretando tanto o acúmulo de esqualeno, como a deficiência do ergosterol (MOOSSAVI; BAGHERI; SCHER, 2001; ODSS; BROWN; GOW, 2003). Elevadas concentrações de esqualeno tóxico no citoplasma fúngico podem interferir na função da membrana e na síntese da parede celular dos fungos, bem como níveis deficitários de ergosterol influenciam na manutenção da célula, envolvendo tanto a membrana quanto a parede dos fungos, com consequências fungicidas em espécies suscetíveis (MOOSSAVI; BAGHERI; SCHER, 2001). TBF não tem uma elevada afinidade de ligação pela esqualeno epoxidase humana, e assim a produção de colesterol não é fortemente afetada (WAKELIN; MAIBACH, 2003).

Em relação à farmacocinética, a TBF é um fármaco muito bem absorvido, após a sua administração oral e liga-se fortemente às proteínas plasmáticas (MOOSSAVI; BAGHERI; SCHER, 2001). Essa ligação não é específica e a eliminação plasmática é lenta. A afinidade da TBF pelo citocromo P450 é baixa, em contraste com os azóis, sendo essa uma das razões para uma menor taxa de interações da mesma com comedidores ou demais medicamentos, em comparação, por exemplo, com os triazólicos e imidazólicos (REFAI; EL-YAZID; EL-HARIRI, 2013). Além disso, trata-se de um antifúngico lipo e queratinofílico, que é extensivamente distribuído pelo tecido adiposo, derme, epiderme e unhas. Devido a isso e à eficácia comprovada, considera-se a TBF um dos antimicóticos mais apropriados para o tratamento das dermatofitoses disseminadas de pele, pelos e unhas, bem como para casos de candidíase cutânea (DARKES; SCOTT; GOA, 2003).

Relata-se para o uso específico da TBF no tratamento das dermatofitoses, que a mesma apresenta uma maior eficácia contra espécies do gênero *Trichophyton* (KAKOUROU; UKSAI, 2010). Logo, após o início do uso da TBF, alguns estudos passaram a recomendá-la topicamente para lesões dermatofíticas não muito extensas, tendo um custo-benefício melhor que miconazol e CTZ tópicos (MCCLELLAN; WISEMAN; MARKHAM, 1999). Em um estudo de metanálise de ensaios clínicos randomizados, observou-se que particularmente para a espécie *T. tonsurans*, a TBF e a griseofulvina tiveram uma eficácia semelhante, porém o tempo necessário de tratamento com TBF foi menor (4 semanas), do que com a griseofulvina (8 semanas) (GUPTA; DRUMMOND-MAIN, 2013). A dose habitual da TBF por via oral é 250 mg/dia.

Para *tinea corporis* e *tinea cruris*, administra-se a mesma durante 2 a 4 semanas; em *tinea pedis*, durante 2 a 6 semanas e em onicomicoses dermatofíticas, durante 4 a 12 semanas (REFAI; EL-YAZID; EL-HARIRI, 2013). A TBF demonstrou superioridade, em eficácia e segurança, em relação ao esmalte de CPO 8%, para o tratamento de onicomicoses em pacientes diabéticos (MATRICCIANI; TALBOT; JONES, 2011). Mais recentemente, estuda-se a administração intralesional de injetáveis contendo microesferas de TBF, de liberação controlada, para o tratamento de onicomicoses, como uma forma de aplicação mais localizada e direcionada do antifúngico (ANGAMUTHU, 2014).

#### 4.6. Griseofulvina

A griseofulvina (GSF) foi descoberta por Oxford et al. (1939), tendo origem a partir do fungo *Penicillium griseofulvum* – foi o primeiro agente terapêutico específico para espécies fúngicas (ODSS; BROWN; GOW, 2003). É um derivado benzofurano, somente de administração via oral e com eficácia comprovada, principalmente para o tratamento de micoses cutâneas e onicomicoses dermatofíticas (LACAZ et al., 2002). O mecanismo de ação da GSF consiste na inibição da completa formação do fuso mitótico, por meio da interação com microtúbulos polimerizados, inibindo, desse modo, a mitose e o consequente desenvolvimento e crescimento fúngico, tendo ação fungistática (MOOSSAVI; BAGHERI; SCHER, 2001).

Comercialmente, a GSF está disponível em várias formas farmacêuticas (comprimidos, suspensão), porém a suspensão não é uma formulação licenciada, por exemplo, no Reino Unido, e os comprimidos já não estão disponíveis em alguns países europeus, tendo sido substituídos por outros agentes antifúngicos (KAKOUROU; UKSAI, 2010). As dosagens recomendadas variam muito com o tipo de formulação e o quão facilmente a mesma é absorvida (FULLER et al., 2014).

A GSF se distribui largamente por variados tecidos queratinizados (pele, pelos e unhas), sendo por isso, antes do surgimento da terbinafina e imidazólicos, um dos primeiros antifúngicos de escolha para a terapêutica das tinhas. Sua indicação é direcionada especialmente aos casos de *tinea corporis*, *tinea capitis* e *tinea unguium*. GSF apresenta uma maior aplicabilidade para o tratamento das dermatofitoses ocasionadas por espécies do gênero

*Microsporum*, especialmente *M. canis* (CHADEGANIPOUR; NILIPOUR; HAVAEI, 2004). A partir de sete estudos de metanálise, observaram-se taxas de resposta terapêutica com o uso da GSF diferenciadas, em relação às espécies dermatofíticas, evidenciando-se para espécies do gênero *Microsporum*, uma taxa de aproximadamente 90% e para *Trichophyton* cerca de 70%, corroborando com a afirmação de efetividade espécie-específica desse antifúngico (GUPTA; COOPER; BOWEN, 2008). Em concordância a isso, outro estudo de metanálise sugere que um tratamento de 8 semanas com GSF é bem mais efetivo que um tratamento de 4 semanas com TBF em tinas do couro cabeludo, envolvendo espécies microspóricas, o que não se verifica para as espécies tricofíticas (GUPTA; DRUMMOND-MAIN, 2013). Por ser um antifúngico de baixa solubilidade, envolvendo problemas de precipitação, há pesquisas no desenvolvimento e modulação da liberação *in vitro* e melhora da solubilidade da GSF, utilizando, por exemplo, nanopartículas de sílica na formulação desse composto (JAMBHRUNKAR et al., 2014).

#### **4.7. Tratamento combinado**

A associação de antimicóticos tem produzido cada vez mais avanços, por exemplo, no tratamento das dermatofitoses, principalmente quando se trata de casos mais graves e disseminados. Já foram descritas na literatura combinações entre TBF e ITZ oral administrados de forma consecutiva; tioconazol tópico e GSF oral; TBF e CPO; GSF e amorolfina, entre outras (MAGAGNIN, 2010). Algumas dessas combinações ainda não possuem ação total sobre dermatófitos resistentes, porém, todas apresentam evidências de efetiva melhora dos quadros clínicos infecciosos, quando comparadas com a monoterapia oral ou tópica tradicional (GROVER et al., 2007; HAVLICKOVA; FRIEDRICH, 2008).

Pires et al. (2014) apontam que em relação ao tratamento de escolha para a maioria das dermatofitoses, há uma predominância da terapia combinada com antifúngicos tópicos e sistêmicos (62,8%), sendo os azólicos (33,1%) e CPO (49%) os agentes sistêmicos e tópicos mais comumente prescritos, respectivamente (PIRES et al., 2014). A TBF vem sendo cada vez mais utilizada em combinação com outros agentes antifúngicos no tratamento das micoses refratárias, como onicomicoses, devido à sua capacidade, observada *in vitro*, de sinergismo com demais compostos. Usando-se modelos de farmacocinética e



farmacodinâmica, nota-se uma potente sinergia entre a TBF e antifúngicos azólicos, o que aumenta consideravelmente a chance de sucesso terapêutico. Os mecanismos de ação complementares da TBF e azólicos em diferentes pontos da via de biossíntese do ergosterol fúngico, teoricamente têm um impacto maior na inibição e até mesmo morte do microrganismo (DOLTON et al., 2014). Para os casos de *tinea pedis* com hiperqueratose, observou-se que a utilização da combinação de pomada de ureia a 10%, juntamente com TBF tópica e oral, otimiza o tempo de tratamento, fazendo com que o paciente apresente maior adesão, além de ser segura e eficaz (SHI et al., 2014). No Brasil, são comumente comercializadas associações dos antifúngicos mais recomendados para as tinhas com anti-inflamatórios e antibióticos, por exemplo, CTZ e betametasona, CTZ, betametasona e neomicina, dentre outras formulações, a fim de amenizar os sinais inflamatórios locais decorrentes da infecção fúngica, além de auxiliar no processo de cicatrização das lesões (PERARO, 2001).

Por fim, apesar do arsenal disponível de fármacos antifúngicos agir por diferentes mecanismos e vias, os alvos celulares são limitados em função da similaridade que existe entre as células eucarióticas fúngicas e humanas, em vários aspectos (MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2008). Os relatos de recorrentes falhas na terapêutica são normalmente associados com a descontinuação da terapia em decorrência do tratamento prolongado, efeitos adversos de alguns antifúngicos e com a cada vez mais comum problemática de resistência fúngica (MUKHERJEE et al., 2003; MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2008; PERES et al., 2010; VENA et al., 2012; TSAY et al., 2018). A crescente incidência de infecções fúngicas, aliado à SIDA e ao aumento da utilização de imunossupressores, foi seguido por uma utilização consequentemente mais ampla e frequente de antifúngicos, com intenções profiláticas e terapêuticas. A utilização demasiada ou em doses abusivas e inadequadas dos antimicóticos faz com que as espécies fúngicas desenvolvam resistência, por evoluções epigenéticas e em resposta ao estresse, fortemente dificultando o tratamento (CALO et al., 2014). Essa resistência pode ser intrínseca (todos os membros da espécie são resistentes) ou extrínseco-adquirida (quando as espécies se tornam resistentes mediante uma prévia exposição ao agente antifúngico) (MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2008).

Em 2003, foi reportado o primeiro caso confirmado de resistência dermatofítica *in vivo* (clínica) e *in vitro* à TBF (MUKHERJEE et al., 2003). Tratavam-se de seis isolados clínicos de *T. rubrum*, originários de um mesmo paciente com onicomicose dermatofítica, cuja terapia oral com TBF (250 mg/dia por 24 semanas) não foi eficaz. Os isolados apresentaram *in vitro* um valor de CIM para TBF 4.000 vezes maior do que o valor encontrado para cepas-referência (sensíveis), com suscetibilidade também reduzida para outros inibidores da esqualeno-epoxidase, incluindo naftidina, butenafina, tolnaftato e tolciclato, sugerindo-se um mecanismo de resistência alvo-específico (MUKHERJEE et al., 2003). Em 2005, um estudo objetivou caracterizar as possíveis modificações moleculares para a resistência dos isolados clínicos de *T. rubrum*, relatados por Mukherjee e colaboradores (2003). Posterior ao sequenciamento dos isolados e análise, relataram-se substituições únicas de aminoácidos na enzima esqualeno epoxidase, o que explicaria a resistência, já que modificações no alvo implicam dificuldades no reconhecimento e consequente ação antifúngica das alilaminas, no caso específico dessa enzima envolvida (OSBORNE et al., 2005).

Adicionalmente, dermatófitos mutantes resistentes à GSF são relatados desde a década de 60 (LENHART, 1969). Em um estudo realizado no México, em 2007, com 36 dermatófitos, detectou-se sete espécies (19,4%) – três *T. rubrum*, três *T. mentagrophytes* e um *T. tonsurans* resistentes a um ou mais antifúngicos (MANZANO-GAYOSSO et al., 2008). Pesquisas mais recentes constataram resistência múltipla em cepas de *T. rubrum* em relação à TBF, ao ITZ e à amorolfina (GHELARDI et al., 2014). Resistência aos azólicos também já foi relatada para dermatófitos (GHANNOUM, 2015) e *Candida* spp. (ACCOCEBERRY et al., 2018).

Agregando-se a toda essa problemática apresentada, infelizmente, o arsenal terapêutico dos antifúngicos apresenta espectro de atividade muito variável, podendo levar a falhas no tratamento *in vivo*, possivelmente devido aos multifatores já mencionados, como baixa adesão dos pacientes à terapia, eventual baixa penetração do fármaco, problemas na biodisponibilidade do medicamento, interações medicamentosas ou (multi) resistência (MANZANO-GAYOSSO et al., 2008). Desse modo, há uma real necessidade de novos

compostos mais eficazes e menos tóxicos, o que torna a pesquisa por novos agentes antifúngicos muito pertinente e relevante (SOARES et al., 2013).

## **5. Prospecção de compostos sintéticos e formulações como novos agentes antifúngicos**

A procura por novos agentes antimicrobianos é objeto de contínua pesquisa na Química Medicinal. O arsenal terapêutico necessita de novos representantes, em decorrência da progressiva ineficácia dos agentes farmacológicos atuais frente à resistência dos microrganismos e limitações inerentes aos próprios fármacos (biodisponibilidade, toxicidade, farmacocinética, farmacodinâmica, etc.) (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; DHANASEKARAN; THAJUDDIN; PANNEERSELVAM, 2015).

Grandes vantagens são verificadas durante o planejamento e desenvolvimento racional de novos compostos, por via sintética. Essas decorrem, entre outros fatores, do prévio conhecimento de suas propriedades, rendimento e prováveis futuras aplicações, com base nas características químicas. A síntese é um dos processos mais utilizados na obtenção de protótipos para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial terapêutico, cuja compreensão das características físico-químicas interferentes na ação antimicrobiana pode direcionar a pesquisa de novos agentes anti-infecciosos (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; DHANASEKARAN; THAJUDDIN; PANNEERSELVAM, 2015; CAMPOY; ADRIO, 2017).

O aprimoramento da Química Orgânica tem proporcionado um aumento considerável de compostos sintéticos para uso medicinal, os quais têm sido empregados no combate a várias doenças. O delineamento e a síntese de novas substâncias e a avaliação de suas possíveis atividades biológicas compõem a primeira etapa para o surgimento de um novo composto potencialmente ativo, que pode conduzir ao lançamento de um novo fármaco (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; DHANASEKARAN; THAJUDDIN; PANNEERSELVAM, 2015; CAMPOY; ADRIO, 2017).

A abordagem mais comum em pesquisas sintéticas e semissintéticas é a correlação entre a estrutura e propriedade. Diferentemente dos compostos naturais, as moléculas de origem sintética e semissintética apresentam propriedades mais homogêneas e reprodutíveis, permitindo uma clara

compreensão da correlação entre propriedade e estrutura. Assim, a maioria dos antifúngicos comumente usados oferece pelo menos uma etapa sintética, produzindo moléculas que permitem avaliar seu mecanismo de ação (CAMPOY; ADRIO, 2017). Além disso, a síntese ainda oportuniza a otimização estrutural, com a produção de análogos daquelas moléculas que se mostrarem mais ativas frente a patógenos (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; DHANASEKARAN; THAJUDDIN; PANNEERSELVAM, 2015).

Em vista do exposto, a pesquisa e desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, vem cada vez mais incluindo a triagem de algumas classes de compostos sintéticos, como novos candidatos a tratamentos alternativos para infecções fúngicas (FUENTEFRÍA et al., 2018), tais como: SCY-078/MK-3118/Enfumafungin – contra *Candida* spp. e *Aspergillus fumigatus* (JIMÉNEZ-ORTIGOSA et al., 2014), piridazinonas – contra *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *C. neoformans*, *Fusarium* spp. e *Trychophyton* spp. (ROEMER; KRYSAN, 2014), luliconazol – contra dermatófitos (SCHER NAKAMURA; TAVAKKOL, 2014), sais imidazólicos – contra *Trichosporon asahii*, CNA, dermatófitos e *Fusarium graminearum* (BERGAMO et al., 2014, DALLA LANA et al., 2015, RIBAS et al., 2016), derivados de hidrazonas – contra *Candida* spp. e *T. asahii* (CASANOVA et al., 2015), VT1161 – contra *C. albicans* (GARVEY et al., 2015), novos azólicos alquilados – contra *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. (SHRESTHA et al., 2017), VT1129 – contra *Cryptococcus* spp. (CAMPOY; ADRIO, 2017), biafungina (CD101/SP3025) – contra *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. (CAMPOY; ADRIO, 2017) e derivados cumarínicos contra *Sporothrix* spp. (FOREZI et al.; 2018).

Além desses, sabe-se que novos compostos estão sendo sintetizados e posteriormente serão avaliados quanto a atividade biológica, podendo exibir mecanismos de ação inéditos, em alvos microbianos anteriormente não explorados, ou usarem estratégias diferenciadas (pró-fármaco), o que pode consolidar as tentativas de combate à emergência e resistência microbiana (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; DHANASEKARAN; THAJUDDIN; PANNEERSELVAM, 2015).

Dentre as moléculas deste estudo, TAs são compostos orgânicos contendo o núcleo S-C-N (SILVEIRA et al., 2012). Recentemente atividades biológicas começaram a ser relatadas para essa classe, tais como:

antituberculostática (SILVEIRA et al., 2012), antimicrobiana (SÁ et al., 2014; CAPON et al., 2014) e antitumoral (FORTES et al., 2016).

δ-Ls são importantes constituintes de sabor e aroma em muitos produtos naturais (ROMERO-GUIDO et al. 2011), mas também podem ter origem sintética e vêm sendo muito estudadas pelo seu potencial anticâncer e antimicrobiano (WANI et al., 1980; UMEZAWA et al., 1984; XU; LING, 1985; OHKUMA et al., 1992; KISHIMOTO et al. 2005; TANAKA et al. 2007; YANG et al. 2011; MODRANKA et al., 2012; VALENCIA–GALIZA et al., 2017).

Benzenodióis ou dihidroxibenzenos são compostos químicos orgânicos nos quais dois grupos hidroxila são substituídos em um anel de benzeno. Estes compostos aromáticos são classificados como (poli)fenóis. Existem três isômeros do benzenodiol: 1,2-benzenodiol (o isômero orto) é comumente conhecido como catecol, 1,3-benzenodiol (o isômero meta) é comumente conhecido como resorcinol e 1,4-benzenodiol (o isômero para) é comumente conhecido como hidroquinona. Todos os três isômeros possuem a fórmula química  $C_6H_6O_2$ . Semelhante a outros fenóis, os grupos hidroxilas no anel aromático de um benzenodiol são fracamente ácidos (LIMA; GRAZIANO; PANDOLFI, 2016). Os polifenóis são amplamente distribuídos na natureza e exibem uma gama notável de atividades biológicas e farmacológicas (HARBONE; BAXTER; MOSS, 1999; WHITTING, 2001; DAI; MUMPER, 2010; OKSANA et al., 2012; DE ARIAS ET AL., 2012; SERNA et al., 2015; SOTO-HERNANDEZ; PALMA-TENANGO; GARCIA-MATEOS, 2017). Especificamente para as hidroquinonas, atividade tumoral também já foi relatada (SILESS et al., 2012).

1,3-BXPs são compostos sintéticos cujas atividades biológicas (leishmanicida - *Leishmania amazonenses* e tripanocida - *Trypanosoma cruzi*) foram descobertas a partir de 2015 em amplas triagens, (LAVORATO et al., 2015; LAVORATO, 2016; LAVORATO et al., 2017; LAVORATO; DUARTE; DE ANDRADE, 2017). Essa prévia ação antiprotozoários despertou nosso interesse para investigação da atividade antifúngica desse grupo de compostos, visto que não há nada na literatura até então relacionado a ação antifúngica de seus intermediários e derivados sintéticos. O processo de síntese relativamente simples e já bem elucidado é muito vantajoso para a pesquisa e desenvolvimento de 1,3-BXPs como candidatos a antifúngicos.

Além da síntese de novos compostos, a proposta de estudo das formulações antifúngicas está em progresso. Tem-se de ter novas moléculas, mas posteriormente é necessário pensar no modo de aplicação em alguma forma farmacêutica e nas melhorias desse processo para um resultado ainda mais vantajoso de eficácia/toxicidade (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; AIAD et al., 2017; STEIMBACH et al., 2017).

As nanoformulações possuem qualidades únicas que as tornam veículos ideais para o tratamento de muitas doenças infecciosas (ROLLER, 2014). Nanopartículas têm a capacidade de melhorar a solubilidade de antimicrobianos, reduzir a citotoxicidade para o hospedeiro, alcançar maiores concentrações intracelulares e proporcionar terapia medicamentosa combinada (AIAD et al., 2017). Além disso, permitem o direcionamento de ação contra patógenos específicos (ROLLER, 2014). O desenvolvimento contínuo de novos antimicrobianos associados à nanotecnologia tem sido alvo de grande interesse (YUEN-KI et al., 2017). Quanto aos antifúngicos em particular, também cada vez mais estudos são reportados (KHALIL et al., 2018; SYLVIA et al., 2018). No contexto farmacêutico, a nanotecnologia mostra ainda muito interesse na resolução de problemas farmacotécnicos e farmacocinéticos, associados à utilização de alguns fármacos. Paralelamente, o uso de biomarcadores possibilita uma aplicação conjunta de um nanossistema como meio terapêutico e/ou de diagnóstico (YUEN-KI et al., 2017).

Além disso, formulações semissólidas, tais como hidrogéis, vêm sendo cada vez mais utilizadas para incorporação de agentes antifúngicos visando o tratamento tópico de dermatomicoses (WINNICKA et al., 2012; SAHOO et al., 2014; MAHATA et al., 2014; ALDAWSARI et al., 2015; SHU et al., 2018). Hidrogéis são sistemas simples e vantajosos, uma vez que quando aplicados sobre a pele, espalham-se facilmente; sendo que alguns ainda possuem propriedades bioadesivas, o que favorece a ação-local do antifúngico e a aderência do paciente ao tratamento (WINNICKA et al., 2012; SAHOO et al., 2014; MAHATA et al., 2014; ALDAWSARI et al., 2015; SHU et al., 2018).

**CAPÍTULO I – Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas,  
terapêutica e novas perspectivas de tratamento**

---

---

Nota: Manuscrito publicado no periódico Clinical and Biomedical Research (2016).





O texto do capítulo I, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 73 – 108, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito publicado. Trata-se de uma revisão bibliográfica sobre dermatofitose.











































































**CAPÍTULO II – Nanoemulsion improves the antifungal activity of allylic thiocyanates against yeasts and filamentous pathogenic fungi**

---

---

Nota: Manuscrito publicado no periódico ChemistrySelect (2018).



O texto do capítulo II, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 109 – 132, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito publicado. Aborda a prospecção de compostos sintéticos e formulações com potencial antifúngico, para o tratamento de dermatomicoses.

















































**CAPÍTULO III – Structure-based of  $\delta$ -lactones for new antifungal drugs development: susceptibility, mechanism of action, and toxicity**

---

---

Nota: Manuscrito publicado no periódico Folia Microbiologica (2019).



O texto do capítulo III, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 133 – 158, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito publicado. Aborda a prospecção de compostos sintéticos com potencial antifúngico para o tratamento de dermatomicoses.





















































**CAPÍTULO IV – Design, synthesis, and avaluation of novel 2-substituted 1,4-benzenediol library as antimicrobial agents against clinically relevant pathogens**

---

---

Nota: Manuscrito submetido ao periódico New Journal of Chemistry.



O texto do capítulo IV, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 159 – 214, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito submetido ao periódico *New Journal of Chemistry*. Aborda a prospecção de compostos sintéticos com potencial antimicrobiano.

































































188























































**CAPÍTULO V – Invasion of human nails by *Microsporium canis* with biofilm formation**

---

---

Nota: Manuscrito (*Picture of a microorganism*) submetido ao periódico Clinical Microbiology and Infection.



O texto do capítulo V, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 215 – 220, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito submetido ao periódico *Clinical Microbiology and Infection*. Aborda o processo de invasão ungueal por uma espécie de dermatófito formadora de biofilme.









**CAPÍTULO VI – Structural-functional elucidation of a novel selective fungicide applied in a topical formulation for dermatomycoses treatment**

---

---

---

Nota: Manuscrito em fase de redação. Posteriormente será submetido ao periódico European Journal of Pharmaceutical Sciences.



O texto do capítulo VI, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 221 – 262, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito em fase de redação, que posteriormente será submetido a um periódico científico. Aborda a prospecção de compostos sintéticos e um hidrogel para o tratamento de dermatomicoses.

























































































**CAPÍTULO VII – Bisaryloxypropanamines derivative exhibiting protective effect against fungal infection in *Drosophila melanogaster* minihost model**

---

---

Nota: Manuscrito em fase de redação. Posteriormente será submetido ao periódico Mycoses.



O texto do capítulo VII, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 263 – 282, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito em fase de redação, que posteriormente será submetido a um periódico científico. Aborda a utilização de metodologias alternativas para o futuro uso sistêmico de compostos sintéticos promissores quanto à atividade antigúngica.













































A incidência das infecções fúngicas vêm aumentando gradativamente nos últimos 30 anos, tornando-se um relevante problema de saúde pública no mundo todo. Muitas dessas infecções são responsáveis por elevadas taxas de morbimortalidade, principalmente em pacientes que apresentam comprometimento imunológico (PARKER et al., 2014; GAFFI, 2018; WHO, 2018; FUENTEFRIA et al., 2018).

O aumento da resistência dos microrganismos, em geral, aos agentes antimicrobianos é uma das maiores preocupações entre cientistas e médicos, sendo que no âmbito da resistência das espécies fúngicas, o problema é ainda mais grave, pois o arsenal de fármacos antifúngicos disponíveis além de restrito, apresenta muitas limitações, sendo necessária a pesquisa e desenvolvimento de novas terapias antifúngicas que apresentem eficácia, toxicidade seletiva para o patógeno e baixo custo (BOSTROM et al. 2012; ANEJA et al. 2016). Entre as estratégias investigadas, a síntese de novos compostos vem sendo muito aplicada para obtenção de protótipos que podem vir a complementar a terapia convencional ou ser uma nova opção de antifúngico (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; DHANASEKARAN; THAJUDDIN; PANNEERSELVAM, 2015; GARVEY et al., 2015; CAMPOY; ADRIO, 2017; FUENTEFRIA et al., 2018).

Nesse contexto, considerando-se que a síntese de compostos orgânicos constitui um importante processo na descoberta e no desenvolvimento de novos fármacos (SANGI, 2016), propôs-se a investigação detalhada da atividade antifúngica de variadas classes de compostos sintéticos (TAs,  $\delta$ -Ls, 1,4-BZs e 1,3-BXPs). Inicialmente, fez-se um triagem com aproximadamente 200 substâncias oriundas de processos sintéticos, chegando-se a essas quatro classes que apresentaram moléculas com ação *in vitro*, em concentrações  $\leq 50$   $\mu\text{g/mL}$ , contra dermatófitos e *Candida* spp., dois grupos de fungos de extrema importância clínica e elevada incidência (WATANABE et al., 2001; MARUYAMA et al., 2002; VANDER; HOSSAIN; GHANNOUM, 2003; MUKHERJEE et al., 2003; CORTEZ et al., 2012; SILVA et al., 2012; ATAIDES et al., 2012; SARDI et al., 2013; PFALLER; DIEKEMA, 2007; HOLLENBACH, 2008; MOHD et al., 2018). Para a prospecção de novos antifúngicos, além da atividade, a toxicidade e o mecanismo de ação são passos subsequentes e essenciais que devem ser investigados, para uma análise completa do quanto uma classe ou molécula realmente seria promissora (TEGOS; MYLONAKIS, 2012), o que foi realizado no

presente estudo. Espera-se de um novo antifúngico que ele tenha amplo espectro, que seja fungicida, atóxico e que apresente a possibilidade de múltiplas vias de administração (TEGOS; MYLONAKIS, 2012; CALDERONE et al., 2014; ROEMER; KRYSAN, 2014; DENNING; BROMLEY, 2015; DEL POETA, 2016).

Compostos em uma mesma classe química, em geral, apresentam uma estrutura básica em comum, “*scaffold*” ou farmacóforo, que confere a atividade biológica. As substâncias pertencentes as mesmas classes diferem entre si por grupos químicos periféricos substituintes que conferem melhores propriedades farmacológicas e espectro de atividade (FISCHBACH; WALSH, 2009). Estruturalmente, comparando-se as quatro classes químicas estudadas, para todas observa-se como estrutura base um anel aromático, com ligações duplas conjugadas, e para alguns compostos em particular a presença de anéis heterocíclicos— ambas as condições estão presentes em outras substâncias que reconhecidamente possuem atividades biológicas importantes (SLANINOVÁ et al., 2001; CERNUCHOVÁ et al., 2005; RONKETTI et al., 2007; XIA et al., 2010; RESCIFINA et al., 2012; ABBEHAUSEN et al., 2013).

Em relação aos testes de suscetibilidade, comparando-se todas as classes investigadas no presente estudo, do total de 189 compostos, 48 desses ( $\approx 25\%$ ) apresentaram atividade antifúngica em concentrações  $\leq 50 \mu\text{g/mL}$  (concentração limite definida para a triagem inicial). 1,3-BXPs apresentaram os menores valores de CIM (0,39 a  $50 \mu\text{g/mL}$ ), com ação também frente a isolados clínicos resistentes e multirresistentes, sendo, portanto, o grupo de moléculas de maior destaque quanto ao potencial antifúngico (Capítulo VI). Devido a isso, o composto mais promissor do referido grupo químico foi selecionado para o desenvolvimento de uma formulação semissólida visando uma alternativa de tratamento tópico para dermatomicoses e demais estudos foram conduzidos para investigação de um possível e adicional uso sistêmico do mesmo.

Para as três demais classes investigadas (TAs,  $\delta$ -Ls e 1,4-BZs), os compostos mais ativos, contra dermatófitos e *Candida* spp., demonstraram faixa de CIM de 25 a  $50 \mu\text{g/mL}$  (Capítulos II, III e IV, respectivamente). Os “*hits*” de cada classe, ou seja, as moléculas que mais se destacaram para a atividade biológica em questão, em relação às demais do grupo, poderão servir de estrutura modelo para um possível melhoramento estrutural a fim de obterem-se compostos com valores menores de CIM, como já evidenciado em outros

estudos da literatura (LAFLEUR et al., 2011; SINGH et al., 2016; PIPPI et al., 2017). Neste sentido, um outro recurso interessante já visando uma futura aplicação, seria utilizar a nanotecnologia, testando os compostos em uma nanoformulação (QADIR, 2017), como foi feito para a molécula mais promissora da classe dos TAs (Capítulo II). O composto cloro-derivado teve os valores de CIM reduzidos em até 64 vezes quando em uma nanoemulsão, que foi devidamente desenvolvida e caracterizada. FERNANDEZ-CAMPOS et al. (2013) observaram efeito semelhante para uma nanoemulsão de nistatina, que apresentou melhor atividade antifúngica (CIM 2 vezes menor), em comparação com o fármaco livre (FERNANDEZ-CAMPOS et al., 2013). Adicionalmente, para outros antifúngicos comerciais, tais como clotrimazol, econazol e anfotericina B, já foi constatado que os nanossistemas são muito vantajosos por melhorar a biodisponibilidade e efeito, bem como reduzir a toxicidade (FUKUI et al., 2003; FRONZA; CAMPOS; TEIXEIRA, 2004; PANDEY et al., 2005; NAHAR et al., 2008; VAN DE VEM ET AL., 2012; SOLIMAN et al., 2017).

Nanoemulsões são misturas isotrópicas de fármacos, lipídios e surfactantes, geralmente com cossolventes hidrofílicos e com diâmetro de partícula variando de 10 a 500 nm (MUNDADA; PATEL; SAWANT, 2016; SOLIMAN et al., 2017). Essas nanoformulações possuem características interessantes para a administração de agentes antifúngicos, como tamanho pequeno de partícula, boa estabilidade cinética, alta capacidade de solubilização de fármacos e penetração aprimorada através da pele (HUSSAIN et al., 2016). Além disso, podem ser utilizadas como alternativa aos nanotransportadores lipídicos menos estáveis (por exemplo, lipossomas) (HUSSAIN et al., 2014; MAHTAB et al., 2016). A alta área superficial devido ao reduzido tamanho das partículas, além da natureza lipofílica da formulação são fatores que melhoram a permeação do fármaco através das membranas biológicas, resultando em melhor eficácia (THAKKAR et al., 2015; SOLIMAN et al., 2017). As nanoemulsões também podem permitir a liberação tópica de antifúngicos para maximizar os efeitos locais dos medicamentos e reduzir os danos tóxicos associados (HUSSAIN et al., 2016; SOLIMAN et al., 2017).

Em virtude de sua versatilidade e ampla gama de propriedades, as nanoformulações podem superar muitas das características farmacológicas desfavoráveis de fármacos, que têm limitações importantes relacionadas ao seu

espectro de atividade, propriedades físico-químicas, biofarmacêuticas e interações medicamentosas (SOLIMAN et al., 2017). Além disso, poderiam aumentar a penetração do antifúngico através da pele e, assim, ajudar a erradicar infecções fúngicas profundas (MBAH; BUILDERS; ATTAMA, 2014). Outras características atrativas incluem liberação sustentada, maior estabilidade do fármaco, direcionamento para tecido infectado, redução de efeitos adversos fora do alvo e prolongamento do tempo de permanência do ativo no sangue (CHANG et al., 2015; WICKI et al., 2015; SOLIMAN et al., 2017).

Quanto as demais propriedades biológicas das classes de moléculas avaliadas, para os TAs já foram relatadas atividade antibacteriana (SILVEIRA et al., 2012; SÁ et al., 2014) e antitumoral (FORTES et al., 2016). Para as  $\delta$ -Ls, propriedades antimicrobianas e antitumorais também já foram observadas (WANI et al., 1980; UMEZAWA et al., 1984; OHKUMA et al., 1992; KISHIMOTO et al., 2005; TANAKA et al., 2007; YANG et al., 2011; JANECKA et al., 2012; MODRANKA et al., 2012). Para os 1,4-BZs, algumas das atividades já identificadas para a classe são antioxidante (DAI; MUMPER, 2010), antitumoral (DAI, MUMPER, 2010) e antiprotozoária (ROLDOS et al., 2008; DE ARIAS et al., 2012; SERNA et al., 2015). Para os 1,3-BXPs, atividade antiprotozoária, contra *Leishmania amazonenses* e *Trypanosoma cruzi* já foram reportadas (LAVORATO et al., 2015; LAVORATO, 2016; LAVORATO et al., 2017; LAVORATO; DUARTE; DE ANDRADE, 2017). Essas atividades biológicas evidenciadas na literatura nos motivaram a investigar o potencial antifúngico das referidas classes.

A melhor compreensão dos mecanismos da ação antifúngica das moléculas mais promissoras foi uma das etapas subsequentes ao teste de suscetibilidade. De modo geral, dois alvos foram avaliados: parede e membrana celular fúngica. As moléculas das classes das  $\delta$ -Ls e 1,4-BZs apresentaram determinada ação na parede e/ou membrana, dependente do tipo de substituinte da estrutura; compostos da classe dos TAs demonstraram mecanismo de ação relacionado à complexação com o ergosterol fúngico e para os 1,3-BXPs foi observado como alvo a parede celular. Para dois dos compostos que demonstram ação na parede (composto **2j** - 1,3-BXPs e composto **8** - 1,4-BZs), o efeito observado para ambos foi fungicida, ressaltando-se nesse caso a importância desse alvo para a morte das espécies fúngicas analisadas. A saber,

as equinocandinas, classe fungicida, têm como alvo um complexo enzimático envolvido na síntese da parede celular fúngica. Recentes atualizações de diretrizes para tratamento de infecções fúngicas recomendam as equinocandinas como terapêutica de primeira linha para candidemia (LARKIN; DHARMAIAH; GHANNOUM, 2018). Atualmente, existem dois novos antifúngicos em desenvolvimento que visam a síntese de 1,3- $\beta$ -glucana: acetato de rezafungina (anteriormente CD101) e SCY078 (LARKIN; DHARMAIAH; GHANNOUM, 2018). Como as equinocandinas só estão disponíveis para administração intravenosa, buscam-se novos membros para a classe atuante a nível de parede celular fúngica, com biodisponibilidade oral satisfatória ou que ainda possam ser utilizados topicamente (LARKIN; DHARMAIAH; GHANNOUM, 2018).

Nas espécies fúngicas, a estrutura celular é semelhante à dos demais eucariotos, constituída basicamente por uma membrana, um citoplasma com as organelas distribuídas aleatoriamente por todo interior celular e um compartimento especial, o núcleo, que armazena o material genético. As células podem ser unicelulares, como as leveduras, ou então pluricelulares formando conjuntos de hifas, septadas ou não, denominadas de micélio, como no caso dos fungos filamentosos. Tanto as células leveduriformes, quanto o micélio estão envolvidos por uma camada protetora externa denominada de parede celular, quimicamente diferente da parede encontrada em vegetais, ainda que possa exercer os mesmos tipos de funções (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; FUKUDA et al., 2009). Desse modo, a parede exerce uma fundamental função de proteção a células fúngicas, além de ser exclusiva dos patógenos, por isso a sua importância como alvo terapêutico específico, na investigação da atividade antifúngica de novos compostos (FUENTEFRÍA et al., 2018).

Para o TA avaliado quanto ao mecanismo de ação antifúngico (Capítulo II), foi evidenciada somente atividade por complexação com o ergosterol da membrana celular fúngica, em um processo que se equipara a anfotericina B, utilizada como antifúngico controle, no ensaio realizado. O fundamento do teste consistiu em detectar se um composto atua por ligação ao ergosterol da membrana dos fungos, fornecendo-se ergosterol exógeno às substâncias-teste, que se possuem afinidade por esteróis, formam rapidamente um complexo com

o ergosterol comercial fornecido, evitando-se assim a complexação com o ergosterol próprio da membrana celular fúngica; como consequência, um aumento da CIM é observado para esses compostos (CARRASCO et al., 2012).

Os agentes antifúngicos tradicionais, como os azólicos e os polienos, são dirigidos contra alvos moleculares envolvidos na síntese e na estabilidade da membrana dos fungos. Como a membrana de células fúngicas é predominantemente composta de esteróis, glicerofosfolipídios e esfingolipídios, o papel dos lipídios na patogênese e a identificação de alvos para terapias melhoradas foram amplamente explorados por pesquisadores durante os últimos anos (OUF et al., 2013; SANT et al., 2016; CHEN et al., 2018b). A membrana celular fúngica contém tipicamente o ergosterol como componente principal, em contraste com o colesterol que é o principal esteroide presente nas células animais (SANT et al., 2016). Resultados semelhantes aos encontrados para as classes investigadas nos Capítulos II, III, IV e VI, quanto ao mecanismo de ação, foram também reportados para moléculas sintéticas de outras classes, analisadas pelo nosso grupo de pesquisa (PIPPI et al., 2017; BATISTA et al., 2017). Mais estudos são necessários no sentido de verificar detalhes da ação na membrana ou parede celular fúngica, concluindo se é a nível enzimático ou envolve outro processo que leva a alterações morfológicas na célula fúngica, como as evidenciadas nas imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), após tratamento *in vitro* com os compostos mais representativos de cada classe estudada neste trabalho. Com as imagens de MEV das principais moléculas mais promissoras, o dano celular ficou muito evidente, com efeito de ruptura de blastoconídios, formação de poros em hifas, inibição de pseudo-hifas, dentre outras consequências às células de *Candida* spp. e dermatófitos analisados.

Dois compostos estruturalmente semelhantes, diferenciando-se apenas por um átomo ou posição que este ocupa na molécula, podem apresentar diferenças quanto às suas propriedades físico-químicas e, conseqüentemente, quanto à ação biológica, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo. A ação terapêutica de medicamentos ocorre por interações destes com sistemas biológicos e é dependente de fatores relacionados com sua estrutura química e características físico-químicas. Estes fatores, sejam eles de caráter eletrônico, estérico ou hidrofóbico, influenciam a relação dos compostos com a biofase e a sua distribuição nos compartimentos que compõem o sistema biológico ou alvo.



Esse processo fundamenta o planejamento de novas substâncias que possuam perfil terapêutico mais adequado às necessidades atuais (TAVARES, 2004; FUENTEFRIA, 2018).

Em relação à toxicidade, os resultados para todas as classes foram promissores, quando as moléculas foram avaliadas nas CIMs e/ou concentrações superiores. A molécula **11** dos TAs não foi irritante (membrana cório-alantoide/HET-CAM), nem mutagênica, nem ocasionou inviabilidade celular e hemólise significativa, embora tenha apresentado dano ao DNA dose-dependente. Para as  $\delta$ -Ls, a toxicidade foi dose-dependente para a viabilidade de leucócitos humanos, mas nenhum dos compostos foi mutagênico, genotóxico ou irritante (HET-CAM). Para os 1,4-BZs, os efeitos da molécula **8** em relação à viabilidade celular foi dose-dependente, no entanto, o composto não demonstrou ser genotóxico e nem mutagênico, em células leucocitárias humanas e também não ocasionou hemólise. Complementarmente, não foi irritante, quando analisada pelo método HET-CAM. O composto **2j**, pertencente aos 1,3-BXPs, foi o único da referida classe química que apresentou índice de seletividade (IS) maior que 10. Essa informação é apresentada no Capítulo VI. Um elevado valor de IS é uma característica importante para candidatos a fármacos. Um valor de IS maior que dez é recomendado para que se garanta a segurança de um novo antimicrobiano (PIRES et al., 2013; VINCENT et al., 2016; LAVORATO, 2016). Logo, **2j** atende aos requisitos de segurança estabelecidos na literatura. Ainda para **2j**, não foi observado dano histopatológico em pele de orelha de porco após exposição ao composto e nem efeito irritante (HET-CAM).

De modo geral, a toxicidade a leucócitos humanos e eritrócitos de coelho foi verificada visando a possibilidade de futura administração oral de formulações a serem desenvolvidas, contendo os compostos mais promissores, e a toxicidade à membrana cório-alantoide e histopatológico, para observação, exemplificadamente, da segurança para uma futura aplicação tópica (CHANDRIKA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018).

Quanto às técnicas aplicadas, uma das metodologias mais utilizadas para avaliação de possíveis danos mutagênicos causados por fármacos ou novas biomoléculas é o teste de micronúcleo (MN). A investigação da frequência de MN é o padrão de teste de mutagenicidade OECD – *Guidelines for the testing of chemicals/ section 4: Health Effects – Mammalian Erythrocytes Micronucleos*

(Test: nº 474) e recomendado pelo *Gene-Tox Program, Environmental Protection Agency – EPA/US*, pela sua capacidade e precisão em detectar possíveis agentes clastogênicos (quebra de cromossomos) e aneugênicos (segregação cromossômica anormal) (FENECH, 2000; RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003). Os micronúcleos são definidos como pequenas massas esféricas, extranucleares, constituídas de cromatina não incorporada ao núcleo principal da célula, durante as etapas finais da mitose, servindo como um biomarcador de dano cromossomal, instabilidade genética e, eventualmente, se houver uma exposição crônica à substância tóxica, risco de câncer (FENECH, 2000).

Igualmente importante no screening de toxicidade de novos compostos, o teste cometa é um método extremamente sensível para estudos de danos ao DNA em células individualizadas (MUKHOPADHYAY et al., 2004; COLLINS, 2009). Alterações genéticas são quase sempre prejudiciais (excetuando-se os casos de compostos que agem contra células neoplásicas), especialmente em organismos multicelulares, nos quais a modificação está mais inclinada a perturbar o desenvolvimento e a fisiologia extremamente complexa de um organismo (SPIVAK; COX; HANAWALT, 2008). Enquanto o ensaio do cometa detecta lesões reversíveis, o teste de MN detecta lesões mais persistentes no DNA ou efeitos aneugênicos que não podem ser reparados (HARTMANN et al., 2003).

Então, a partir da relevância experimental desses testes realizados, incluindo a determinação do índice de seletividade em relação a linfócitos humanos, alguns dos compostos não terem apresentado indícios de mutagenicidade e genotoxicidade, nas concentrações que foram efetivos contra as espécies fúngicas patogênicas, é um resultado certamente muito promissor para uma possível bioaplicação em formulações. Apesar disso, ainda há uma evidente necessidade de avaliações adicionais de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade dessas substâncias, considerando outros modelos, principalmente utilizando-se parâmetros *in vivo*, e concentrações mais elevadas, para determinação de um perfil toxicológico mais completo.

Todos os demais testes adicionais realizados para os manuscritos deste estudo, além da tríade suscetibilidade-mecanismo de ação-toxicidade, incluíram: para os TAs, análise da atividade anti-quimiotóxica; para os TAs e 1,4-BZs, ensaio da eficácia *in vivo* em modelo alternativo de infecção em membrana cório-

alantoide de ovo de galinha; para os 1,4-BZs, a inclusão de cepas bacterianas na avaliação da atividade – para observar se os compostos exerciam ação antimicrobiana; para as  $\delta$ -Ls, análise quimiométrica, correlacionando-se as CIMs e propriedades químicas mais importantes para a atividade e por fim, para os 1,3-BXPs, incorporação do composto mais ativo em um hidrogel, modelagem farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) a partir dos dados do *time kill* e avaliação do efeito protetor em modelo de infecção fúngica sistêmica em moscas-frutas.

Associado ao efeito antifúngico, os TAs apresentaram importante efeito antiquimiotático, indicando ação na fase aguda do processo inflamatório (MEDZHITOV, 2008). Essa propriedade complementar auxilia tanto no processo de cura de uma infecção fúngica, bem como no alívio dos sintomas. Ao acessar o tecido do hospedeiro, os dermatófitos induzem uma resposta imune pelos queratinócitos, responsável pelo desencadeamento do processo inflamatório do organismo em face ao agressor (PERES et al., 2010). No entanto, quando a resposta inflamatória é exacerbada e prolongada, acarreta em prejuízo ao sistema de defesa e à evolução terapêutica (ROMANI, 2011; KIM et al., 2015).

O ensaio de infecção *in vivo* em membrana cório-alantoide de ovo de galinha embrionado foi realizado pela primeira vez, e ainda está em fase de padronizações, tendo como inspiração o próprio ensaio de toxicidade HET-CAM. O HET-CAM é uma alternativa *in vitro* ao teste *in vivo* de Draize (determinação da irritação ocular em coelhos), que imita as alterações vasculares na membrana corio-alantóide. Este método qualitativo avalia o potencial de irritação de produtos químicos. A membrana cório-alantoide responde à lesão com um processo inflamatório semelhante ao do tecido conjuntival do olho de coelho. Determina-se um composto com relativa baixa toxicidade dérmica, em determinada concentração, quando ele não é considerado irritante pelo HET-CAM, pois a membrana cório-alantoide é extremamente sensível, então isso é um forte indício de que a substância também não será irritante para a membrana epidérmica ou mucosas, por exemplo (OLIVEIRA et al., 2018).

Através da aplicação de ferramentas quimiométricas, observou-se a formação de grupamentos de moléculas das  $\delta$ -Ls com maior potencial de atividade e que o LogP (lipofilicidade) seria uma das propriedades mais importantes para o desempenho do efeito biológico e pela maior interação com

membranas fúngicas. As análises quimiométricas auxiliam no estabelecimento de uma relação entre um grande número de amostras, considerando sua complexidade química, a fim de estabelecer tendências, definir marcadores e quimiotipos (KONG et al., 2009; PODUNAVAC-KUZMANOVIĆ et al., 2012; SCOTTI et al., 2012).

Para os 1,3-BXPs, considerando o composto **2j**, a sua incorporação em um hidrogel (Capítulo VI) representa uma real aplicação da molécula mais promissora do estudo em uma forma farmacêutica simples e que vem sendo muito utilizada com outros agentes antifúngicos, visando tratamento tópico de infecções fúngicas (WINNICKA et al., 2012; SAHOO et al., 2014; MAHATA et al., 2014; ALDAWSARI et al., 2015; SHU et al., 2018). O posterior estudo, em relação ao potencial de **2j** para uso sistêmico (capítulo VII) contitui-se da determinação das curvas de morte (time kill), análise PK/PD, e efeito sobre a candidíase sistêmica em *Drosophila melanogaster* Toll-deficientes. **2j** demonstrou ser fungicida para todas as espécies fúngicas (dermatófitos e *Candida* spp.), atingindo o efeito máximo de morte fúngica em menos de 1h. Em relação à candidíase sistêmica em *D. melanogaster*, **2j** apresentou eficácia estatisticamente comparável ao fluconazol no controle do processo infeccioso. Esses resultados servem de base para estudos adicionais que complementem a hipótese de uso sistêmico do composto.

O ensaio *in vitro* denominado de *Time kill* é empregado para a caracterização da farmacodinâmica antifúngica de determinada substância, consistindo na análise de curvas de morte fúngica em função do tempo. Com isso, é possível determinar se um composto exerce ação fungicida ou fungistática, dependente ou não da dose e do tempo. **2j** teve o seu efeito fungicida evidenciado em tal experimento, que foi dose e tempo dependente. Fármacos antifúngicos que apresentam o efeito antifúngico dependente de tais variáveis, como **2j**, incluem poliênicos e equinocandinas (ANDES et al., 2003).

Além disso, a modelagem PK/PD é considerada uma abordagem muito útil para a determinação da posologia de antifúngicos. Essa técnica é desenvolvida e aplicada com base em simulações e previsão de efeito, assim como na otimização de posologias para diversos fármacos, através da combinação de parâmetros farmacocinéticos e propriedades farmacodinâmicas,

que permitam uma correlação matemática entre os elementos concentração-efeito-tempo (DE ARAÚJO, 2008).

*D. melanogaster* tem sido utilizada para estudos de resposta imune do hospedeiro, virulência de microrganismos e eficácia de novos agentes como um modelo de infecção (MERKEL, 2018a). Este díptero possui duas importantes vias de sinalização da resposta imune para o processo de resistência microbiana, a via Imd e a via Toll. O gene da imunodeficiência (Imd) parece ser mais importante contra bactérias, enquanto que os fungos são induzidos pelos componentes da via Toll (LEMAITRE et al., 1995; HOFFMANN; REICHHART, 2002). Mosca-das-frutas deficientes da sinalização Toll, portanto, apresentam muita utilidade em estudos de patogênese e pesquisa e desenvolvimento de fármacos frente a espécies fúngicas (CHAMILOS et al., 2008; ARVANITIS et al., 2013). A semelhança do sistema imune inato de *D. melanogaster* com o de humanos, corrobora a importância deste modelo para essas finalidades. Desse modo, *D. melanogaster* apresenta-se como um modelo promissor e já consolidado na pesquisa, envolvendo uma série de investigações de patologias de origem fúngica, tais como *Cryptococcus neoformans* (APIDIANAKIS et al., 2004), *Aspergillus* (LIONAKIS et al., 2005), *Candida* spp. (CHAMILOS et al., 2006), *Fusarium* spp. e *Scedosporium* (LAMARIS et al., 2007), *Mucorales* (CHAMILOS et al., 2008) e mais recentemente *Malassezia* spp. (MERKEL, 2018b).

Em suma, moléculas de variadas classes químicas apresentaram potencial antifúngico contra dermatófitos e *Candida* spp. Alguns compostos tiveram ainda efeito mais pronunciado pela ação antiquimiotáxica associada ou por estarem em nanoformulações. 1,3-BXPs foi o grupo de moléculas de maior destaque em relação à atividade antifúngica, com os menores valores de CIM. Em relação ao mecanismo, os compostos no geral apresentaram como alvo a parede e/ou membrana celular fúngica, dependendo do tipo de substituinte e classe de cada substância. Quanto à toxicidade a leucócitos humanos e irritação à membrana (HET-CAM), os resultados são promissores, principalmente quanto a uma futura aplicação tópica. O desenvolvimento de uma formulação semissólida com o composto mais promissor de todos (**2j**), bem como os estudos iniciais de modelagem PK/PD e efeito protetor em modelos alternativos de infecção fúngica, reafirmam a potencialidade de uma nova opção segura e eficaz

para o tratamento de dermatomycoses de origem dermatofítica e leveduriforme.

Os estudos adicionais de revisão bibliográfica sobre dermatofitose e imagens de MEV, demonstrando o processo de invasão ungueal por *Microsporum canis*, são complementares ao eixo central do estudo que consistiu de uma grande triagem de mais de uma centena de compostos, caracterização do mecanismo de ação, perfil de toxicidade; e por fim, desenvolvimento de um produto de aplicação tópica, no caso um hidrogel, com o composto mais promissor e subseqüentes análises do seu potencial adicional para uso sistêmico.

**CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

---





- Pela revisão da literatura sobre dermatofitoses, observou-se que essas micoses cutâneas figuram entre as infecções fúngicas de maior ocorrência. O quadro clínico mais comum inclui despigmentação, placas anulares, prurido e perda de cabelo. O tratamento, em geral, está relacionado ao uso de antifúngicos tópicos e/ou sistêmicos, apresentando como problemática o surgimento de espécies multirresistentes (Capítulo I).
- Para a classe dos tiocianatos alílicos: das 15 moléculas avaliadas, o composto **11** (4-clorofenil substituído) exibiu amplo espectro de ação antifúngica e significativa atividade antiquimiotáxica, com 100% de redução na migração de leucócitos. A faixa de CIM dos compostos foi de 25 a 50  $\mu\text{g/mL}$ , com mecanismo de ação relacionado à complexação com o ergosterol fúngico. Com a nanoemulsão contendo o composto **11**, observou-se melhora da atividade antifúngica *in vitro* em aproximadamente 64 vezes para dermatófitos e quatro vezes para *Candida* spp. A molécula **11** não foi mutagênica nem ocasionou inviabilidade celular e hemólise significativa, embora tenha apresentado dano ao DNA dose-dependente. Além disso, não foi irritante e inibiu 100% o crescimento fúngico no modelo de infecção alternativo de dermatofitose, em membrana cório-alantoide de ovo embrionado de galinha (Capítulo II).
- Para a classe das  $\delta$ -lactonas: dois dos compostos da série apresentaram os menores valores de CIM (25-50  $\mu\text{g/mL}$ ) e mais amplo espectro de atividade contra fungos filamentosos e leveduras, incluindo espécies resistentes e multirresistentes. O mecanismo de ação foi relacionado a parede e membrana celular, com ação alvo específica dependente do tipo de halogênio presente na estrutura. Os danos às células fúngicas foram corroborados por imagens de MEV, que evidenciaram células lisadas e completamente alteradas. A toxicidade foi dose-dependente para a viabilidade de leucócitos humanos, mas nenhum dos compostos foi mutagênico, genotóxico ou irritante, quando avaliado em concentrações superiores a CIM (Capítulo III).
- Para a classe dos 1,4-benzenodíóis 2-substituídos: 23 compostos apresentaram atividade *in vitro* contra fungos e/ou bactérias. As moléculas

com o mais amplo espectro de ação *in vitro* e com os menores valores de CIM, contra bactérias e fungos foram a “5” e a “8”, respectivamente. O composto **5** demonstrou eficácia *in vivo* na redução total da carga bacteriana, no modelo alternativo de infecção em ovos de galinha embrionados. O mecanismo antifúngico, para a molécula **8**, foi relacionado à parede e membrana celular, corroborado por imagens de MEV, que revelaram alterações consideráveis na forma celular após tratamento *in vitro* com o composto. Os efeitos do composto **8** na viabilidade celular foram dose-dependentes, no entanto, a molécula não demonstrou ser genotóxica e nem mutagênica, em células leucocitárias humanas e não ocasionou hemólise, nas concentrações avaliadas. Complementarmente, não foi irritante, quando analisada pelo método HET-CAM (Capítulo IV).

- Em relação a avaliação da capacidade de invasão ungueal (unhas humanas) por *Microsporum canis*, através de imagens de MEV, observou-se que essa espécie é capaz de colonizar a lâmina ungueal, incluindo o processo de formação de biofilme, recentemente descoberto e reportado para esta espécie dermatofítica (Capítulo V).
- Para os 1,3-BXPs, após observar a atividade antifúngica *in vitro* de cento e vinte e um compostos e o perfil de toxicidade, verificou-se que a molécula **2j** é a mais promissora de todas as moléculas analisadas neste estudo, com seletividade contra os patógenos (IS > 10) e baixíssimos valores de CIM (0,39 a 3,12 µg/mL), inclusive contra isolados clínicos resistentes e multirresistentes. **2j** tem como alvo a parede celular fúngica e adicionalmente inibe fatores de virulência de *Candida* spp. e dermatófitos. **2j** não foi irritante (HET-CAM) e, portanto, a incorporamos em um hidrogel com potencial bioadesivo, para o tratamento de dermatomicoses. O perfil de permeação em pele humana do composto no hidrogel foi excelente, permanecendo principalmente nas camadas mais superficiais da pele, o que é muito vantajoso para tratamentos tópicos (Capítulo VI). Além disso, usando experimentos dinâmicos de *time kill*, **2j** apresentou uma ação fungicida dose e tempo dependente. O efeito fungicida máximo foi alcançado em menos de uma hora de exposição do microrganismo ao

composto. Os valores de  $EC_{50}$  obtidos pela modelagem PK/PD foram semelhantes aos valores de CIM. Ainda, **2j** protegeu de modo eficaz moscas-das-frutas Toll-deficientes em modelo de candidíase sistêmica (Capítulo VII). Assim, o composto **2j** é um candidato antifúngico promissor para a terapêutica de infecções fúngicas associadas a dermatófitos e *Candida* spp..

- Como perspectiva do estudo, espera-se aprofundar ainda mais as análises para uso sistêmico do composto **2j**, com farmacodinâmica/farmacocinética envolvendo modelos em mamíferos, bem como avaliar de modo mais detalhado a toxicidade e eficácia no combate de infecções fúngicas, considerando-se incluir ensaios biológicos *in vivo*. Adicionalmente, visa-se a aplicação do composto em esmalte para tratamento de onicomicoses, com avaliação da eficácia em modelo de infecção fúngica em casco bovino.
-

---

## REFERÊNCIAS

---



ABBEHAUSEN, C. et al. Gold(I)-phosphine-N-heterocycles: biological activity and specific (ligand) interactions on the C-terminal HIVNCp7 zinc finger. **Inorganic chemistry**, v. 52, p. 11280-11287, 2013.

ACCOCEBERRY, I. et al. A CTG Clade Candida Yeast Genetically Engineered for the Genotype-Phenotype Characterization of Azole Antifungal Resistance in Human-Pathogenic Yeasts. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, 2018.

ACHTERMAN, R. R.; WHITE, T. C. A foot in the door for dermatophyte research. **PLOS Pathogens**, v. 8, p. e1002564, 2012.

ACHTERMAN, R. R.; WHITE, T. C. Dermatophytes. **Current Biology**, v. 23, p. R551-R552, 2013.

AIAD, et al. Antipyrine cationic surfactants capping silver nanoparticles as potent antimicrobial agents against pathogenic bacteria and fungi. **Journal of Molecular Liquids**, v. 243, p.572-584, 2017.

ALDAWSARI, H. M. et al. Design and formulation of a topical hydrogel integrating lemongrass-loaded nanosponges with an enhanced antifungal effect: *in vitro/in vivo* evaluation. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 893-902, 2015.

ALTER, S. J. et al. Common Child and Adolescent Cutaneous Infestations and Fungal Infections. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v. 28, p. 3-25, 2018.

ANAHORY, B.; SANTOS, P.; BORGES, M. Querion do couro cabeludo – A propósito de um caso clínico. **Revista Portuguesa de medicina Geral e Familiar**, v. 29, p. 394-397, 2013.

ANDERSON, E. B.; LONG, T.E. Imidazole- and imidazolium-containing polymers for biology and material science applications. **Polymer**, v. 51, p. 2447-2454, 2010.

ANDES, D. *In vivo* pharmacodynamics of antifungal drugs in treatment of candidiasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, p. 1179-1186, 2003.

ANDOH, T.; TAKAYAMA, Y.; KURAIISHI, Y. Involvement of leukotriene B4 in dermatophyte-related itch in mice. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 699-703, 2014.

ANEJA, B. et al. Effect of novel triazole-amino acid hybrids on growth and virulence of *Candida* species: *in vitro* and *in vivo* studies. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 14, p. 10599-10619, 2016.

ANGAMUTHU, M et al. Controlled-release injectable containing Terbinafine/PLGA microspheres for Onychomycosis Treatment. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, p. 1178-1183, 2014.

APIDIANAKIS, Y. et al. Challenge of *Drosophila melanogaster* with *Cryptococcus neoformans* and role of the innate immune response. **Eukaryotic Cell**, v. 3, p. 413-419, 2004.

AQUINO, V. R.; CONSTANTE, C. C.; BAKOS, L. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, p. 239-244, 2007.

ARENDRUP, M. C. *Candida* and candidemia: susceptibility and epidemiology. **Danish Medical Journal**, v. 60, p. 46-98, 2013.

ARVANITIS, M.; GLAVIS-BLOOM, J.; MYLONAKIS, E. Invertebrate models of fungal infection. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1832, p. 1378-1383, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10520**: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 14724**: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2011.

ATAIDES, F. S. et al. Antifungal susceptibility patterns of yeasts and filamentous fungi isolated from nail infection. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 26, p. 1479-1485, 2012.

AULER, M. E. et al. Biofilm formation on intrauterine devices in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. **Medical Mycology**, v. 48, p. 211-216, 2009.

BAILLY, S. et al. Impact of antifungal prescription on relative distribution and susceptibility of *Candida* spp. e trends over 10 years. **Journal of Infection**, v. 72, p. 103-111, 2015.

BALDO, A. et al. Mechanisms of skin adherence and invasion by dermatophytes. **Mycoses**, v. 55, p. 218-23, 2012.

BARBEDO, L. S.; SGARB, D. B. G. Candidíase. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 22, p. 22-38, 2010.

BARCHIESI, F. et al. Point prevalence, microbiology and fluconazole susceptibility patterns of yeast isolates colonizing the oral cavities of HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 50, p. 999-1002, 2002.



BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeast: Characteristics and identificacion**. 3 ed. Cambridge University Press, 2000.

BASSETTI, M.; PEGHIN, M.; TIMSIT, J. F. The current treatment landscape: candidiasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, p. ii13-ii22, 2016.

BATISTA, B. G. et al. Allylic Selenocyanates as New Agents to Combat *Fusarium* Species Involved with Human Infections. **Chemistry Select**, v. 2, p. 11926-11932, 2017.

BRASCH, J. Diagnosis of Dermatophytosis. **Current Fungal Infection Reports**, v. 8, p. 198-202, 2014.

BERGAMO, V. Z. et al. Imidazolium salts as antifungal agents: strong antibiofilm activity against multidrug-resistant *Candida tropicalis* isolates. **Letters in Applied Microbiology**, v. 60, p. 66-71, 2014.

BERGAMO, V. Z. et al. 1-n-Hexadecyl-3-methylimidazolium methanesulfonate and chloride salts with effective activities against *Candida tropicalis* biofilms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 61, p. 504-510, 2015.

BHAWNA, S.; SANGEETA, D.; UDAYAN, G. Vulvovaginal candidiasis in women of reproductive age group: importance of proper diagnosis and alarm for emerging non-*albicans* *Candida* among candidal vulvovaginitis cases. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 6, p. 7561-7564, 2015.

BITAR, D. et al. Population-based analysis of invasive fungal infections, France, 2001- 2010. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, p. 1149-1155, 2014.

BOFF, E. et al. Reavaliação da suscetibilidade de *Candida* à Anfotericina B: estudo comparativo com isolados de três hospitais do estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 36-40, 2008.

BOHN, M.; KRAEMER, K. T. Dermatopharmacology of ciclopirox nail lacquer topical solution 8% in the treatment of onychomycosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, p. S57-S69, 2000.

BOSTROM, J. et al. Oxadiazoles in Medicinal Chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 1817-1830, 2012.

BOUZA, E. et al. Mixed bloodstream infections involving bacteria and *Candida* spp. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, p. 1881-1888, 2013.

BRILHANTE, R. S. et al. Epidemiology and ecology of dermatophytoses in the City of Fortaleza: *Trichophyton tonsurans* as important emerging pathogen of *Tinea capitis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 417-425, 2000.

BRISTOW, I. Onychomycosis – a review of its presentation and treatment. **British Journal of Podiatry**, v. 7, p. 64-67, 2004.

BROWN, J. M. Y. **Fungal infections after hematopoietic cell transplantation. Thomas' Hematopoietic cell transplantation.** Third Edition Ed. Blackwell Publishing Ltda, 683 p., 2007.

BURGESS, D. S. et al. Pharmacodynamics of fluconazole, itraconazole, and amphotericin B against *Candida albicans*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 36, p. 13-18, 2000.

CAFARCHIA, C. et al. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes (Review). **Infection, Genetics and Evolution**, v. 20, p. 336-351, 2013.

CALADO, N. B. et al. A 7-year survey of superficial and cutaneous mycoses in a public hospital in Natal, northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 1296-1299, 2011.

CALDERONE, R.A.; FONZI, W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology**, v. 9, p. 327-335, 2001.

CALDERONE, R. Antifungal drug discovery: the process and outcomes. **Future Microbiology**, v. 9, p. 791-805, 2014.

CALEMAN, C. et al. Force Field Benchmark of Organic Liquids: Density, Enthalpy of Vaporization, Heat Capacities, Surface Tension, Isothermal Compressibility, Volumetric Expansion Coefficient, and Dielectric Constant. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, p. 61-74. 2012.

CALO, S. et al. Antifungal drug resistance evoked via RNAi - dependent epimutations. **Nature**, v. 513, p. 555-573, 2014.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochemical Pharmacology**, v. 133, p. 86-96, 2017.

CANELA, H. M. S. et al. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. **Mycoses**, v. 61, p. 11-21, 2018.

CAPON, J. et al. Nematocidal thiocyanatins from a southern Australian marine sponge *Oceanapia* sp. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1277-1282, 2004.

CARRASCO, H. et al. Antifungal Activity of Eugenol Analogues. Influence of Different Substituents and Studies on Mechanism of Action. **Molecules**, v. 17, p. 1002-1024, 2012.

CARRILLO-MUÑOZ, A. J.; BRIÓ, S.; QUINDÓS, G. Una nueva generación de fármacos antifúngicos. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 18, p. 2-5, 2001.

CASANOVA, B. B. et al. Synthesis and biological evaluation of hydrazone derivatives as antifungal agents. **Molecules**, v. 20, p. 9229-9241, 2015.

CERNUCHOVÁ, P. et al. Utilization of 2-ethoxymethylene-3-oxobutanenitrile in the synthesis of heterocycles possessing biological activity. **Tetrahedron**, v. 61, p. 5379-5387, 2005.

CERVELATTI, E. P. et al. Electrophoretic molecular karyotype of the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, p. 99-102, 2004.

CHABASSE, D. Dermatophytes: Where do they come from? How did they turn to parasites? **Journal de Mycologie Médicale**, v. 18, p. 27-35, 2008.

CHAMILOS, G. et al. *Drosophila melanogaster* as a facile model for large-scale studies of virulence mechanisms and antifungal drug efficacy in *Candida* species. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 193, p. 1014-1022, 2006.

CHAMILOS, G. et al. *Drosophila melanogaster* as a model host to dissect the immune pathogenesis of zygomycosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 9367-72, 2008.

CHANDRIKA, N. T. et al. Novel fluconazole derivatives with promising antifungal activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 26, p. 573-580, 2018.

CHANG, C. et al. The Safety of Oral Antifungal Treatments for Superficial Dermatophytosis and Onychomycosis: A Meta-analysis. **The American Journal of Medicine**, v. 120, p. 791-798, 2007.

CHANG, E. H. et al. Nanomedicine: past, present and future – a global perspective. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 468, p. 511-517, 2015.

CHADEGANIPOUR, M.; NILIPOUR, S.; HAVAEI, A. *In vitro* evaluation of griseofulvin against clinical isolates of dermatophytes from Isfahan. **Mycoses**, v. 47, p. 503-507, 2004.

CHEN, M. et al. Epidemiology of fungal infections in China. **Frontiers of Medicine**, v. 12, p.58-75, 2018a.

CHEN, C. et al. Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*. **PLoS ONE**, v. 13, p. 1-20, 2018b.

CHEON, S. J. et al. Epidemiology and Identification of Organisms Causing Superficial Dermatophytoses at Tertiary Hospitals in Korea: A Prospective Multicenter Study. **Journal of Mycology and Infection**, v. 23, p. 45-53, 2018.

CHERMETTE, R.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Dermatophytoses in Animals. **Mycopathologia**, v. 166, p. 385-405, 2008.

CLARK, G. L.; FELDMAN, M. P.; GERTLER, M. S. **The Oxford Handbook of Economic Geography**. Oxford: Oxford University Press, 2000.

COLLINS, A. R. Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay. **Mutation Research**, v. 681, p. 24-32, 2009.

COLOMBO, A. L. et al. Fluconazole Susceptibility of Brazilian Candida Isolates Assessed by a Disk Diffusion Method. **Journal of Infectious Diseases**, v. 6, p. 118-123, 2002.

COLOMBO, A. L. et al. Prospective Observational Study of Candidemia in Sao Paulo, Brazil: Incidence Rate, Epidemiology, and Predictors of Mortality. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 28, p. 570-576, 2007.

COLOMBO, A. L. et al. Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, p. 283-312, 2013.

COPETTI, M. V. et al. Dermatophytes isolated from dogs and cats suspected of dermatophytosis in Southern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 119-124, 2006.

CORRALO, D. S.; HERAS-ALONSO, M. E.; ACEBES, L. O. **Infecciones cutáneas**. **Medicine**, v. 11, p. 2755-2763, 2014.

CORTEZ A. C. A. et al. Frequency and a etiology of dermatophytosis in children age 12 and under in the state of Amazonas, Brazil. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 29, p. 223-226, 2012.

COSTA, C. B. **Dermatofitoses: Gêneros, principais espécies antropofílicas, diagnóstico laboratorial e tratamento**. 54 f. Monografia (Especialização) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

COSTA, C. R. et al. Differences in exoenzyme production and adherence ability of *Candida* spp. isolates from catheter, blood and oral cavity. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, p. 139-43, 2010.

COSTA-ORLANDI, C. B. et al. *In vitro* characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. **Biofouling**, v. 30, p. 719-27, 2014.

DAGDEVIREN, M.; CERIKCIOGLU, N.; KARAVUS, M. et al. Acid proteinase, phospholipase and adherence properties of *Candida parapsilosis* strains isolated from clinical species of hospitalised patients. **Mycoses**, v. 48, p. 321-326, 2005.

DARKES, M. J.; SCOTT, L. J.; GOA, K. L. Terbinafine: a review of its use in onychomycosis in adults. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 4, n. 1, p. 39-65, 2003.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, p. 7313-7352, 2010.

DALLA LANA, D. F. et al. Imidazolium salts with antifungal potential against multidrug-resistant dermatophytes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, p. 377-388, 2015.

DALLA LANA, D. F. et al. Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. **Clinical and Biomedical Research**, v. 36, p. 230-241, 2016.

DANIELLI, L. J. et al. Biofilm formation by *Microsporium canis*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, p. 941-942, 2017.

DATTA, P. et al. Epidemiology and Antifungal Susceptibility of *Candida* Species Isolated from Urinary Tract Infections: A Study from an Intensive Care Unit of a Tertiary Care Hospital. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, v. 22, p. 56-58, 2018.

DE ARAÚJO, B. V. **Modelagem farmacocinética-farmacodinâmica do antifúngico voriconazol**. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

DE ARIAS, A. R. et al. Selected Natural and Synthetic Phenolic Compounds with Antileishmanial Activity: A Five-year Review. **Current Bioactive Compounds**, v. 8, p. 307-333, 2012.

DEL POETA, M. Special Issue: Novel Antifungal Drug Discovery. **Journal of Fungi**, v. 2, p. 1-5, 2016.

DENNING, D. W.; BROMLEY, M. J. Infectious disease. How to bolster the antifungal pipeline. **Science**, v. 347, p. 1414-1416, 2015.

DEORUKHKAR, S.; SAINI, S. Non *albicans Candida* species: its isolation pattern, species distribution, virulence factors and antifungal susceptibility profile. **International Journal of Medical Science and Public Health**, v. 2, p. 533-538, 2013.

DEORUKHKAR, S. C.; SAINI, S. Non *albicans Candida* species: A review of epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **Pravara Medical Review**, v. 7, p. 7-15, 2015.

DEORUKHKAR, S. C.; SAINI, S. Why *Candida* species have emerged as important nosocomial pathogens? **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, p. 533-545, 2016.

DHANASEKARAN, D.; THAJUDDIN, N.; PANNEERSELVAM, P. **Antimicrobials: Synthetic and Natural Compounds**, 1st Ed., Kindle Edition, 540 p., 2015.

DIEGO, A. M. Aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos de las dermatofitosis. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 29, p. 33-39, 2011.

DIEKEMA, D. et al. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.73, p. 45-48, 2012.

DITTMAR, W. Non-European open clinical studies on the efficacy and tolerance of ciclopiroxolamine in dermato-mycoses. **Arzneimittel-Forschung**, v. 31, p. 1381-1385, 1981.

DOCTOR FUNGUS. Disponível em: <http://www.doctorfungus.org/mycoses/index.php> >. Acesso em: 15 jan. 2018.

DOLTON, M. J et al. Terbinafine in Combination with Other Antifungal Agents for Treatment of Resistant or Refractory Mycoses: Investigating Optimal Dosing Regimens Using a Physiologically Based Pharmacokinetic Model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, p. 48-54, 2014.

DOUGLAS, C. M. et al. Identification of the FKS1 gene of *Candida albicans* as the essential target of 1,3-beta-D-glucan synthase inhibitors. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, p. 2471-2479, 1997.

ESQUENAZI, D. et al. The influence of surface carbohydrates during *in vitro* infection of mammalian cells by the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **Research in Microbiology**, v. 155, p. 144-53, 2004.

FALAGAS, M. E.; ROUSSOS, N.; VARDAKAS, K. Z. Relative frequency of *albicans* and the various non-*albicans* *Candida* spp among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. e954-e966, 2010.

FALAHATI, M. et al. Epidemiology of dermatophytoses in an area south of Tehran, Iran. **Mycopathologia**, v. 156, p. 279-287, 2003.

FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, p. 81-95, 2000.

FERNANDEZ-CAMPOS, F. et al. Evaluation of novel nystatin nanoemulsion for skin candidosis infections. **Mycoses**, v. 56, p. 70-81, 2013.

FISCHBACH, M.; WALSH, C. Antibiotics for Emerging Pathogens. **Science**, v. 325, p. 1089-1093, 2009.

FLECK, R.; HOF, H. Breakpoints for posaconazole susceptibility testing: background and discussion about the need of establishing values. **Mycoses**, v. 51, p. 1-4, 2008.

FOREZI, L. S. M. et al. Synthesis And Antifungal Activity of Coumarins Derivatives against *Sporothrix* spp. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, v. 20, doi: 10.2174/1568026618666180221115508, 2018.

FORTES, M. P. et al. Synthesis and preliminary evaluation of 3-thiocyanato-1H-indoles as potential anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 118, p. 21-26, 2016.

FRAISSE, T. et al. Candiduria in those over 85 years old: a retrospective study of 73 patients. **Internal Medicine Journal**, v. 50, p. 1935-1940, 2011.

FRONZA T, CAMPOS A, TEIXEIRA H. Nanoemulsões como sistemas de liberação para fármacos oftálmicos. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, p. 558-566, 2004.

FUENTEFRIA, A. M. et al. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Letters in Applied Microbiology**, v. 66, p. 2-13, 2018.

FUKUDA, E. K. et al. Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 117-134, 2009.

FUKUI H. et al. A novel delivery system for amphotericin B with lipid nano-sphere (LNS). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 265, p. 37-45, 2003.

FULLER, L. C et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of *tinea capitis* 2014. **British Journal of Dermatology**, v. 171, p. 454-463, 2014.

GAFFI - **Global action fund for fungal infection**. Disponível em: <<http://www.gaffi.org/>>. Acesso em: 5 mar. 2018.

GALLO, M. G.; LANFRANCHI, P.; POGLAYEN, G. Seasonal 4-year investigation into the role of the alpine marmot (*Marmota marmota*) as a carrier of zoophilic dermatophytes. **Medical Mycology**, v. 43, p. 373-379, 2005.

GARNACHO-MONTERO, L. J. et al. Initial Antifungal Strategy Reduces Mortality in Critically Ill Patients With Candidemia: A Propensity Score-Adjusted Analysis of a Multicenter Study. **Critical Care Medicine**, v. 46, p. 384-393, 2018.

GARVEY, E. P. et al. Efficacy of the clinical agent VT-1161 against fluconazole-sensitive and -resistant *Candida albicans* in a murine model of vaginal candidiasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, p. 5567-5573, 2015.

GERZENSHTEIN, L. et al. Breakthrough Candida Infections in Patients Receiving Voriconazole. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 39, p. 1342-1345, 2005.

GHANNOUM, M. Azole resistance in dermatophytes: Prevalence and mechanism of action. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 72, p. AB133-AB133, 2015.

GHELARDI, E. et al. Potential of Ergosterol synthesis inhibitors to cause resistance or cross-resistance in *Trichophyton rubrum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, p. 2825-2829, 2014.

GIDDEY, K. et al. Comprehensive analysis of proteins secreted by *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton violaceum* under *in vitro* conditions. **Journal of Proteome Research**, v. 6, p. 3081-3092, 2007.

GINTER-HANSELMAYER, G. Update on clinics, diagnosis and treatment of dermatophytosis. **Mycoses**, v. 55, p. 4, 2012.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, p. 225-234, 2010.

GÓMEZ, J. et al. Candidemias nosocomiales: nuevos retos de un problema emergente. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 23, p. 158-168, 2010.

GROVER, C et al. Combination of surgical avulsion and topical therapy for single nail onychomycosis: a randomized controlled trial. **British Journal of Dermatology**, v. 157, p. 364-368, 2007.

GUINEA, J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, p. 5-10, 2014.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and Infection**, v. 18, p. 310-321, 2016.

GUPTA, A. K.; KOHLI, Y. *In vitro* susceptibility testing of ciclopirox, terbinafine, ketoconazole and itraconazole against dermatophytes and nondermatophytes, and *in vitro* evaluation of combination antifungal activity. **British Journal of Dermatology**, v. 149, p. 296-305, 2003.

GUPTA, A. K.; SKINNER, A. R.; COOPER, E. A. Evaluation of the efficacy of ciclopirox 0.77% gel in the treatment of *tinea pedis* interdigitalis (dermatophytosis complex) in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **International Journal of Dermatology**, v. 44, p. 590-593, 2005.

GUPTA, A. K.; COOPER, E. A.; BOWEN, J. E. Meta-analysis: griseofulvin efficacy in the treatment of *tinea capitis*. **Journal of drugs in dermatology**, v. 7, p. 369-372, 2008.



GUPTA, A. K.; DRUMMOND-MAIN, C. Meta-analysis of randomized, controlled trials comparing particular doses of griseofulvin and terbinafine for the treatment of *tinea capitis*. **Pediatric Dermatology**, v. 30, p.1-6, 2013.

HAMDAN, J.S.; HAHN, R.C. Antifungal drugs for systemic mycosis: an overview of mechanism of action and resistance. **Anti-infective agents in medicinal chemistry**, v. 5, p. 403-412, 2006.

HARBORNE, J. B.; BAXTER, H.; MOSS, G. P. **Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants**. Second Ed., Taylor & Francis: London, 1999.

HARTMANN, A. et al. Recommendations for conducting the *in vivo* alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, v. 18, p. 45-51, 2003.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D. **Microbiologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

HAVLICOVA, B.; CZAICA, V. A.; FRIEDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses**, v. 51, p. 2-15, 2008.

HEGENER, P. et al. Treatment of fluconazole-resistant candidiasis with voriconazole in patients with AIDS (letter). **AIDS**, v. 12, p. 2227-2228, 1998.

HEILMANN, C. J. et al. An A643T mutation in the transcription factor Upc2p causes constitutive ERG11 upregulation and increased fluconazole resistance in *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, p. 353-359, 2010.

HOFFMANN, J.A.; REICHHART, J-M. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. **Nature Immunology**, v. 3, p. 121-126, 2002.

HOFS, S.; MOGAVERO, S.; HUBE, B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. **Journal of Microbiology**, v. 54, p. 149-169, 2016.

HOLLENBACH, E. Invasive candidiasis in the ICU: evidence based and on the edge of evidence. **Mycoses**, v. 51, p. 25-45, 2008.

HOSPENTHAL, D. R.; RINALDI, M. G. **Diagnosis and Treatment of Fungal Infections**. 2 ed., Springer International Publishing, ISBN 978-3-319-13090-3, 2015.

HUBE, B. et al. Dermatomycoses and inflammation: The adaptive balance between growth, damage, and survival. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 25, p. 44-58, 2015.

HUSSAIN, A. et al. Nanocarrier-based topical drug delivery for an antifungal drug. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 40, p. 527-541, 2014.

HUSSAIN, A. et al. Nanoemulsion gel-based topical delivery of an antifungal drug: *in vitro* activity and *in vivo* evaluation. **Drug Delivery**, v. 23, p. 642-647, 2016.

INDIRA, G. et al. Clinic etiologic investigations on superficial mycoses of Warangal (A.P) India. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. S311-S319, 2014.

ISHIDA, K. et al. Characterization of *Candida* spp. isolated from vaginal fluid: identification, antifungal susceptibility, and virulence profile. **ABCS Health Sciences**, v. 35, p. 1-8, 2013.

JAMBHRUNKAR, S et al. Modulating *in vitro* release and solubility of griseofulvin using functionalized mesoporous silica nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 434, p. 218-225, 2014.

JANECKA A. et al. Natural and Synthetic  $\alpha$ -Methylenelactones and  $\alpha$ -Methylenelactams with Anticancer Potential. **Drug Discovery Today**, v. 17, p. 561-572, 2012.

JIMÉNEZ-ORTIGOSA, C. et al. Enfumafungin derivative MK-3118 shows increased *in vitro* potency against clinical echinocandin-resistant *Candida* species and *Aspergillus* species isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, p. 1248-1251, 2014.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KAKOUROU, T.; UKSAI, U. Guidelines for the management of tinea capitis in children. **Pediatric Dermatology**, v. 27, p. 226-228, 2010.

KARTSONIS, N. et al. Efficacy of caspofungin in the treatment of esophageal candidiasis resistant to fluconazole. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 31, p. 183-187, 2002.

KATHIRAVAN, M. K. et al. The biology and chemistry of antifungal agents: a review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 5678-5698, 2012.

KAUL, S.; YADAV, S.; DOGRA, S. Treatment of dermatophytosis in elderly, children, and pregnant women (Review Article). **Indian Dermatology Online Journal**, v. 8, p. 310, 2017.

KAUFMAN, G. et al. Markers for host – induced gene expression in *Trichopyton* dermatophytosis. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 6584-6590, 2005.

KECHIA, F. A. et al. Epidemiology of *tinea capitis* among school-age children in Meiganga, Cameroon. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 24, p. 129-134, 2014.

KHALIL, N. et al. Antifungal Activity of Chitosan-Coated Poly(lactic-co-glycolic) Acid Nanoparticles Containing Amphotericin B. **Mycopathologia**, p. 1-10, doi: 10.1007/s11046-018-0253-x, 2018.

KHAN, M. S. A. et al. Virulence and Pathogenicity of Fungal Pathogens with Special Reference to *Candida albicans*. **Combating Fungal Infections**, p. 21-45, 2010.

KHANNA, D.; MANCHANDA, V.; AGARWAL, S. Rapid Response to Ciclopirox Olamine Lacquer in a Young Infant with *Candida parapsilosis* - Induced Onychomycosis. **Tropical Clinics of Dermatology**, v. 1, p. 1-6, 2014.

KHANDELWAL, N. K. et al. Azole resistance in a *Candida albicans* mutant lacking the ABC transporter CDR6/ROA1 depends on TOR signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, p. 412-432, 2018.

KHURANA, A. et al. Reinterpreting minimum inhibitory concentration (MIC) data of itraconazole versus terbinafine for dermatophytosis - time to look beyond the MIC data? **Indian Journal of Dermatology, Venereology & Leprology**, v. 84, p. 61-63, 2018.

KIM, D. S. et al. Alpha-pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- $\kappa$ B pathway in mouse peritoneal macrophages. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 43, p. 731-742, 2015.

KISHIMOTO N. et al. *In Vitro* Antifungal and Antiviral Activities  $\alpha$ -and  $\delta$ -Lactone Analogs Utilized as Food Flavoring. **Biocontrol Science**, v. 10, p. 31-36, 2005.

KOLACZKOWSKA, A.; KOLACZKOWSKI, M. Drug resistance mechanisms and their regulation in non-albicans *Candida* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, p. 1-13, 2016.

KONEMAN, E. W. et al. **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. 6. ed. Lincott Company: Philadelphia, 2006.

KONG, W. J. et al. Effect of emodin on *Candida albicans* growth investigated by microcalorimetry combined with chemometric analysis. **Applied Microbiology & Biotechnology**, v. 83, p. 1183-1191, 2009.

KONTOYIANNIS, D. P. et al. Itraconazole-amphotericin B antagonism in *Aspergillus fumigatus*: an E-test-based strategy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, p. 2915-8, 2000.

LACAZ, C. S. et al. **Tratado de Micologia médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LAKSHMIPATHY, D. T.; KANNABIRAN, K. Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. **Natural Science**, v. 2, p. 726-731, 2010.

LAMARIS, G. A., et al. Virulence studies of *Scedosporium* and *Fusarium* species in *Drosophila melanogaster*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 196, p. 1860- 1864, 2007.

LANTERNIER, F. et al. Deep Dermatophytosis and Inherited CARD9 Deficiency. **The New England Journal of Medicine**, v. 369, p. 1704-1714, 2013.

LARKIN, E. L. et al. Biofilms and beyond: expanding echinocandin utility. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, p. i73-i81, 2018.

LASS-FLORL, C. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. **Mycoses**, v. 52, p. 197-205, 2009.

LAVORATO, S. N. et al. *In vitro* activity of 1,3-bisaryloxypropanamines against Trypanosoma cruzi-infected L929 cultures. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 566-568, 2015.

LAVORATO, S. N. **Síntese e avaliação das atividades leishmanicida e tripanocida de derivados 1,3-Bisariloxi-2-Aminopropano**. 409 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

LAVORATO, S. N. et al. Synthesis and antileishmanial activity of 1,3-bis(aryloxy)propan-2-amines. **Medicinal Chemistry Research**, v. 26, p. 1052-1072, 2017.

LAVORATO, S. N., DUARTE, M. C., DE ANDRADE, P. H. R. Synthesis, antileishmanial activity and QSAR studies of 2-chloro- N -arylacetamides. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, p. 1-7, 2017.

LAWTON, S. Fungal skin infections: When patients present with a skin infection, it is important to correctly identify the condition through detailed history taking, thorough examination and appropriate investigations to ensure that they are offered the right treatment. **Practice Nurse**, v. 47, p.12-17, 2017.

LECERF, P.; ANDRÉ, J.; RICHERT, B. Prise en charge des onychomycoses. **La Presse Médicale**, v. 43, p. 1240-1250, 2014.

LEFLEUR, M. D. et al. Novel high-throughput screen against *Candida albicans* identifies antifungal potentiators and agents effective against biofilms. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 66, p. 820-826, 2011.

LEMAITRE, B. et al. A recessive mutation, immune deficiency (Imd), defines two distinct control pathways in the *Drosophila* host defense. **Genetics**, v. 92, p. 9465- 9469, 1995.

LEMSADDEK, A. **Estudo de dermatófitos por métodos moleculares: identificação, resistência a antifúngicos e virulência**. 218 f. Tese (Doutorado em Biologia-Microbiologia) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2008.

LENHART, K. Griseofulvin-resistant Mutants in Dermatophytes. **Mycosen**, v. 12, p. 655-660, 1969.

LESTER, M. Ketoconazole 2 percent cream in the treatment of *tinea pedis*, *tinea cruris*, and *tinea corporis*. **Cutis**, v. 55, p. 181-183, 1995.

LEWIS, R. E. Overview of the changing epidemiology of candidemia. **Current Medical Research and Opinion**, v. 25, p. 732-1740, 2009.

LIM, C. S. et al. *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, p. 21-31, 2012.

LIMA, K. M. et al. *Candida albicans* e *Candida tropicalis* isoladas de onicomicose em paciente HIV-positivo: Co-resistência *in vitro* aos azólicos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, p. 57-64, 2008.

LIMA, A. P. A.; GRAZIANO, N.; PANDOLFI, E. Green, lithium salt-free synthesis of 2-alkylated 1,4-benzenediols in hydroalcoholic media. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 9, p. 210-215, 2016.

LIONAKIS, M. S. et al. Toll-deficient *Drosophila* flies as a fast, high-through put model for the study of antifungal drug efficacy against invasive aspergillosis and *Aspergillus* Virulence. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 191, p. 1188-1195, 2005.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S. **Programa de zoonoses da região Sul: Manual de zoonoses**, 3. ed., 136 p., v. 2, 2011.

MAGAGNIN, C. M. **Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de dermatófitos isolados de pacientes com insuficiência renal crônica**. 2010. 30 f. Monografia (Trabalho de conclusão de curso em biomedicina) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MAGAGNIN, C. M. et al. Antifungal susceptibility of dermatophytes isolated from patients with chronic renal failure. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, p. 694-701, 2011.

MAHALE, R. P. et al. Clinicomycological profile of Dermatophytosis in a teaching hospital. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention**, v. 3, p. 43-46, 2014.

MAHATA, D. et al. Self-assembled cardanol azo derivatives as antifungal agent with chitin-binding ability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 5-11, 2014.

MAHTAB, A. et al. Transungual delivery of ketoconazole nanoemulgel for the effective management of onychomycosis. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, p. 1477-1490, 2016.

MANFREDI, M. et al. *In vitro* candidacidal activity of a synthetic killer decapeptide (KP) against *Candida albicans* cells adhered to resin acrylic discs. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 36, p. 468-471, 2007.

MANZANO-GAYOSSO, P. et al. La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente em México. **Gaceta Médica de México**, v. 144, p. 23-26, 2008.

MARTINEZ, R. An update on the use of antifungal agents. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, p. 449-460, 2006.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T.; ROSSI, A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 166, p. 369-383, 2008.

MARTÍNÉZ, E. et al. *Microsporum* spp. onychomycosis: disease presentation, risk factors and treatment responses in an urban population. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, p. 181-186, 2014.

MARUYAMA, R. et al. An epidemiological and clinical study of untreated patients with *tinea pedis* within a company in Japan. **Mycoses**, v. 46, p. 208-212, 2002.

MAULINGKAR S. V.; PINTO M. J. W.; RODRIGUES, S. A Clinico-Mycological Study of Dermatophytoses in Goa, India. **Mycopathologia**, v. 178, p. 297-301, 2014.

MBAH, C. C.; BUILDERS, P. F.; ATTAMA, A. A. Nanovesicular carriers as alternative drug delivery systems: ethosomes in focus. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, p. 45-59, 2014.

MCCARTY, T. P.; PAPPAS, P. G. Invasive Candidiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, p. 103-124, 2016.

MCCLELLAN, K. J.; WISEMAN, L. R.; MARKHAM, A. Terbinafine. An update of its use in superficial mycoses. **Drugs**, v. 58, p. 179-202, 1999.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.

MERKEL, S. **Mosca-das-frutas como modelo para estudo da patogenicidade e prospecção de fármacos frente a *Malassezia pachydermatis***. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

MERKEL, S. et al. *Drosophila melanogaster* as a model for the study of *Malassezia pachydermatis* infections. **Veterinary Microbiology**, v. 224, p. 31-33, 2018.

MESSALI, M. et al. Synthesis, characterization and the antimicrobial activity of new eco-friendly ionic liquids. **Chemosphere**, v. 91, p. 1627-1634, 2013.

MODRANKA, J. Synthesis and biological evaluation of  $\alpha$ -methylidene- $\delta$ -lactones with 3,4-dihydrocoumarin skeleton. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 5017-5026, 2012.

MOHD, T. R. et al. A Fatal Case of *Candida auris* and *Candida tropicalis* Candidemia in Neutropenic Patient. **Mycopathology**, doi: 10.1007/s11046-018-0244-y, 2018.

MOOSSAVI, M.; BAGHERI, B.; SCHER, R. K. Systemic antifungal therapy. **Dermatologic Clinics**, v. 19, p. 35-52, 2001.

MORAES, M. A. et al. Dermatophytic pseudomycetoma: report of a case caused by *Trichophyton tonsurans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 291-294, 2001.

MOUDGAL V. Multiechinocandin- and multiazoleresistant *Candida parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 767-769, 2005.

MUKHERJEE, P. K. et al. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 1, p. 82-86, 2003.

MUKHOPADHYAY, D. K. et al. Evaluation of *in vivo* genotoxicity of cypermethrin in *drosophila melanogaster* using the alkaline comet assay. **Mutagenesis**, v. 19, p. 85-90, 2004.

MUNDADA, V., PATEL, M., SAWANT, K. Submicron emulsions and their applications in oral delivery. *Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems*, v. 33, p. 265-308, 2016.

MYCOLOGY ONLINE – **National Mycology Reference Centre**. Disponível em: <http://www.mycology.adelaide.edu.au/>. Acesso em: 2 fev. 2018.

NAGLIK, J. R.; RICHARDSSON, J. P.; MOYES, D. L. *Candida albicans* Pathogenicity and Epithelial Immunity. **PLOS Pathogens**, v. 10, p. 1-4, 2014.

NAHAR M. et al. Development, characterization, and toxicity evaluation of amphotericin B-loaded gelatin nanoparticles. **Nanomedicine**, v. 4, p. 252-261, 2008.

NUCCI, M.; COLOMBO, A. L. Emergence of resistant *Candida* in neutropenic patients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 6, p. 124-28, 2002.

NUCCI, M. et al. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, p. 561-570, 2010.

ODSS, F. C.; BROWN, A. J. P.; GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action. **TRENDS in Microbiology**, v. 11, p. 272-279, 2003.

OHKUMA, H. et al. Sultricin, a new antifungal and antitumor antibiotic from *Streptomyces roseiscleroticus*. Production, isolation, structure and biological activity. **Journal of Antibiotics**, v. 45, p. 1239-1249, 1992.

OKSANA, S. et al. Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, p. 2526-2539, 2012.

OLIVEIRA, J. C. **Diagnóstico Micológico por Imagens-Um Guia para o Laboratório de Micologia Médica**. 1. ed., Rio de Janeiro, 2014a.

OLIVEIRA, V. K. P.; RUIZ, L. S.; PAULA, C. R. Fungemia caused by *Candida species* in a children's public hospital in the city São Paulo, Brazil, study in the period 2007-2010. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.56, p. 301-305, 2014b.

OLIVEIRA, R. P. et al. Testing vaginal irritation with the hen's egg test-chorioallantoic membrane assay. **ALTEX**. doi:10.14573/altex.1710091, 2018.

OREN, I.; PAUL, M. Up to date epidemiology, diagnosis and management of invasive fungal infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, p. 1-4, 2014.

ORHAN, D. D. et al. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. **Microbiological Research**, v. 165, p. 496-504, 2010.

OSBORNE, C. S. et al. Amino Acid Substitution in *Trichophyton rubrum* Squalene Epoxidase Associated with Resistance to Terbinafine. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 49, p. 2840-2844, 2005.

OUF, S. A. et al. Efficacy of some synthesized thiazoles against dermatophytes. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 23, p. 230-236, 2013.

OYECA, C. A. *Trichophyton mentagrophytes*: a keratinophilic fungus. In.: Biology of dermatophytes and other keratinolytic fungi. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.17, p. 60-65, 2000.

PANDEY R. et al. Nano-encapsulation of azole antifungals: Potential applications to improve oral drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 301, p. 268-276, 2005.

PAPON, N. et al. Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: beyond the *Candida albicans* paradigm. **PLoS Pathogens**, v. 9, p. e1003550, 2013.



PAPPAS, P. G. et al. Guidelines for treatment of candidiasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 161-189, 2004.

PAPPAS, P. G. et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, p. e1, 2016.

PARK, S.; NELLY, J.; NIELSEN, K. J. Specific substitutions in the echinocandins targetFks1p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* spp. isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 3264-3273, 2005.

PARKER, J. E. et al. Resistance to antifungals that target CYP51. **Journal of Chemical Biology**, v. 7, p. 143-161, 2014.

PASSOS, X. S. et al. Species distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* spp. bloodstream isolates from a Brazilian tertiary care hospital. **Mycopathologia**, v. 163, p. 145-151, 2007.

PATIL, S. et al. Clinical appearance of oral *Candida* infection and therapeutic strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1391, 2015.

PEI-LAN, S.; LI-MIN H.; PO-REN, H. Recent advances and challenges in the treatment of invasive fungal infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 487-495, 2007.

PEIXOTO, J. V. et al. Candidíase: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 8, p. 75-82, 2014.

PERARO, A. C. **Estabilidade física e metodologia analítica para formulações farmacêuticas contendo cetoconazol**. 2001. 128 f. Dissertação (Mestrado em produção e controle farmacêuticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PEREIRA, D. I. B. et al. Surto de *Trichophyton equinum* var. *equinum* em equinos no Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1849-1853, 2006.

PEREIRA, C. A. et al. Análise das principais micoses encontradas na rotina de um laboratório de análises clínicas na cidade de Jataí, estado de Goiás, Brasil. **SaBios -Revista de Saúde e Biologia**, v. 9, p. 108-114, 2014.

PERES, N. T. A. et al. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, p. 657-667, 2010.

PÉREZ, P.; RIBAS, J. C. Cell wall analysis. **Methods**, v. 33, p. 245-251, 2004.

PIPPI, B. et al. Evaluation of 8-Hydroxyquinoline Derivatives as Hits for Antifungal Drug Design. **Medical Mycology**, v. 55, p. 763-773, 2017.

PERLIN, D. Echinocandin Resistance in *Candida*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 61, p. S612, 2015.

PETRANYI, G.; RYDER, N. S.; STUTZ, A. Allylamine derivatives: new class of synthetic antifungal agents inhibiting fungal squalene epoxidase. **Science**, v. 224, p. 1239-1241, 1984.

PFALLER, M. A. et al. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance program, 1997 to 2000. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 852-856, 2002.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 133-163, 2007.

PIHET, M.; LE GOVIC, Y. Reappraisal of Conventional Diagnosis for Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, p. 169-180, 2017.

PIPPI, B. et al. Evaluation of 8-Hydroxyquinoline Derivatives as Hits for Antifungal Drug Design. **Medical Mycology**, v. 55, p. 763-773, 2017.

PIRES, C. L. et al. Evaluation of Macroalgae Sulfated Polysaccharides on the *Leishmania (L.) amazonensis* Promastigote. **Marine Drugs**, v. 11, p. 934-943, 2013.

PIRES, C. A. A. et al. Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, p. 259-264, 2014.

PODUNAVAC-KUZMANOVIĆ, S. O. et al. A chemometric approach for prediction of antifungal activity of some benzoxazole derivatives against *Candida albicans*. **Acta Periodica Technologica**, v. 43, p.273-282, 2012.

PONGSIRIWET, S. et al. Oral colonization of *Candida* species in perinatally HIV-infected children in northern Thailand. **Journal of Oral Science**, v. 46, p.101-105, 2004.

PORVIR.ORG. Exposição: A química e sua contribuição para a humanidade. Disponível em: < <http://porvir.org/acontece/exposicao-quimica-sua-contribuicao-para-humanidade/>>. Acesso em: 15 dez. 2018.

QADIR, M. I. Nanopreparations for better drug delivery. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 30, p. 2301-2309, 2017.

QUINDÓS, G. et al. Enfermedad fúngica invasora: ¿Diagnóstico micológico convencional o molecular? **Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica**, v. 30, p. 560-571, 2012.

QUINDOS, G. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 31, p. 42-48, 2014.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. 1. ed. São Paulo: Artmed, 2002.

RAJPUT, S. B. et al. Anti-*Candida* properties of asaronaldehyde of *Acorus gramineus* rhizome and three structural isomers. **Chinese Medicine**, v. 8, p. 2-8, 2013.

REFAI, M.; EL-YAZID, H. A.; EL-HARIRI, M. **Monograph On Dermatophytes: A guide for isolation and identification of dermatophytes, diseases and treatment**. 73 f. Monografia - Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Egito, 2013.

RESCIFINA, A. et al. Synthesis and biological activity of novel bifunctional isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p.4978-4984, 2012.

RESENDE, M. A. **Dermatofitoses: gêneros, principais espécies antropofílicas, diagnóstico laboratorial e tratamento**. 54 f. Monografia (Especialização) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

REZENDE, C. et al. Estudo epidemiológico das dermatofitoses em instituições públicas da cidade de Barretos, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, p. 13-16, 2008.

RIBAS, A. D. et al. Imidazolium salts with antifungal potential for the control of head blight of wheat caused by *Fusarium graminearum*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, p. 445-452, 2016.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. 1ª ed. Canoas: Editora Ulbra, 2003.

RICHARDSON, M.; LASS-FLÖRL. Changing epidemiology of systemic fungal infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 5-24, 2008.

ROBINSON, R. Antifungal Fluconazole Induces Aneuploidy, Sowing the Seeds of Its Own Failure. **PLOS Biology**, v. 12, p. e1001816, 2014.

ROEMER, T.; KRYSAN, D. J. Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 4, p. 1-14, 2014.

ROLDOS, V. et al. Activity of a hydroxybibenzyl bryophyte constituent against *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*: *in silico*, *in vitro* and *in vivo* activity studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1797-1807, 2008.

ROLLAS, S.; KUÇUKGUZEL, S. G. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. **Molecules**, v. 12, p. 1910-1939, 2007.

ROLLER, S. Editorial - virtual issue on antimicrobial nanoparticles. **Journal of applied microbiology**, v. 116, p.51, 2014.

ROMANI, L. Immunity to fungal infections. **Nature Reviews**, v. 11, p. 275-288, 2011.

RONKETTI, F. et al. Praziquantel derivatives I: Modification of the aromatic ring. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p. 4154-4157, 2007.

ROTTA, I, et al. Efficacy of Topical Antifungals in the Treatment of Dermatophytosis: A Mixed-Treatment Comparison Meta-analysis Involving 14 Treatments. **JAMA Dermatology**, v. 149, p. 341-349, 2013.

ROUZAUD, C. et al. Severe Dermatophytosis and Acquired or Innate Immunodeficiency: A Review. **Journal of Fungi**, v. 2, p. 2-13, 2015.

ROUZAUD et al. Severe dermatophytosis in solid organ transplant recipients: A French retrospective series and literature review.(Report). **Transplant Infectious Disease**, v. 20, p. 11, 2018.

SÁ, M. M. et al. Antimicrobial activity of allylic thiocyanates derived from the Morita-Baylis-Hillman reaction. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 807-812, 2014.

SADEGHI, G. et al. Emergence of non-*Candida albicans* species: Epidemiology, phylogeny and fluconazole susceptibility profile. **Journal de Mycologie Medicale**, pii: S1156-5233(17)30220-2, doi: 10.1016/j.mycmed, 2018.

SAENZ, F. J. Identificación de hongos dermatofitos. **Revista Iberoamericana de Micología**, p.1-12, 2001.

SAHOO, S. et al. Microemulsion based topical hydrogel of sertaconazole: formulation, characterization and evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 120, p. 193-199, 2014.

SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, p. 995-1006, 2016.

SANGLARD, D. Resistance of human fungal pathogens to antifungal drugs. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 379-385, 2002.

SANGLARD, D.; COSTE, A.; FERRARI, S. Antifungal drug resistance mechanisms in fungal pathogens from the perspective of transcriptional gene regulation. **FEMS Yeast Research**, v. 9, p. 1029-1050, 2009.

SANTANA, P. (2017) Micose e outras doenças de pele: descubra como tratá-las e previna-se! Disponível em: <<https://www.altoastral.com.br/problemas-pele-inverno/>>. Acesso em: 15 dez. 2018.

SANTANA, S. et al. Diagnosis and management of a fatal case of sepsis caused by *Candida parapsilosis sensu stricto* in a neonate with omphalocele. **Medical Mycology Case Reports**, v. 20, p. 10-14, 2018.

SANT, D. G. et al. Fungal cell membrane - promising drug target for antifungal therapy. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, p. 1498-1510, 2016.

SANTOS, J. I. et al. Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, p. 137-140, 1997.

SARDI, J. C. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 10-24, 2013.

SARIGUZEL, F. M. et al. Investigation of the relationship between virulence factors and genotype of *Candida* spp. isolated from blood cultures. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, p. 857-864, 2015.

SATO, N., TAGAMI, H. Severe measles in a young female patient with chronic, generalized *Trichophyton rubrum* infection showing type 2 helper T cell-dominant immunologic reactivity. **The Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 48, p. S43-S46, 2003.

SCHER, R. K.; NAKAMURA, N.; TAVAKKOL, A. Luliconazole: a review of a new antifungal agent for the topical treatment of onychomycosis. **Mycoses**, v. 57, p. 389-393, 2014.

SCOTTI, L. et al. Experimental Methodologies and Evaluations of Computer-Aided Drug Design Methodologies Applied to a Series of 2-Aminothiophene Derivatives with Antifungal Activities. **Molecules**, v. 17, p. 2298-2315, 2012.

SEEBACHER, C.; BOUCHARA, J.; MIGNON, B. Updates on the Epidemiology of Dermatophyte Infections. **Mycopathologia**, v. 166, p. 335-352, 2008.

SEGAL, E. Dermatophytes. **Mycoses**, v. 58, p. 33-34, 2015.

SERNA, M. E. et al. Finding of leishmanicidal activity of 14-hydroxylunularin in mice experimentally infected with *Leishmania infantum*. **Parasitology International**, v. 64, p. 295-298, 2015.

SEYMOR, M. D. R. Overview: The treatment of dermatophytosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, p. S104-112, 2000.

SHEMER, A et al. Clinical comparison and complete cure rates of terbinafine efficacy in affected onychomycotic toenails. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 29, p. 521-526, 2014.

SHEN, T.; ZHOU, H.; HUANG, S. The anticancer mechanisms of ciclopirox olamine. **Cancer Research**, v. 73, p. 3408, 2013.

SHI, T. et al. Combination treatment of oral terbinafine with topical terbinafine and 10% urea ointment in hyperkeratotic type *tinea pedis*. **Mycoses**, v. 57, p. 560-564, 2014.

SHRESTHA, S. K.; GARZAN, A.; GARNEAU-TSODIKOVA, S. Novel alkylated azoles as potent antifungals. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 309-318, 2017.

SHU, C. et al. Amphotericin B-conjugated polypeptide hydrogels as a novel innovative strategy for fungal infections. **Royal Society Open Science**, v. 5, 1-12, 2018.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SILESS, G. et al. Synthesis of steroidal quinones and hydroquinones from bile acids by Barton radical decarboxylation and benzoquinone addition. Studies on their cytotoxic and antifungal activities. **Steroids**, v. 77, p. 45-51, 2012.

SILVA, S. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, p. 288-305, 2012.

SILVEIRA, G. P. et al. Allylic thiocyanates as a new class of antitubercular agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 6486-6489, 2012.

SINGH, A. et al. *In silico* and *in vitro* screening to identify structurally diverse non-azole CYP51 inhibitors as potent antifungal agent. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 63, p.1-7, 2016.

SLANINOVÁ, J. et al. Magnesium and biological activity of oxytocin analogues modified on aromatic ring of amino acid in position 2. **Journal of Peptide Science**, v. 7, p. 413-424, 2001.

SOARES, L. A. et al. Anti dermatophytic therapy - Prospects for the discovery of new drugs from natural products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 1035-1041, 2013.

SOLIMAN GM. Nanoparticles as safe and effective delivery systems of antifungal agents: Achievements and challenges. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, p. 15-32, 2017.

SOLL, D. R. et al. *Candida* commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. **Acta Tropica**, v. 81, p. 101-110, 2002.

SOTO-HERNANDEZ, M.; PALMA-TENANGO, M.; GARCIA-MATEOS, M. Phenolic compounds-Biological Activity. InTech ISBN 978-953-51-2960-8, doi: 10.5772/63693, 2017.

SPIEWAK, R.; SZOSTAK, W. Zoophilic and geophilic dermatophytoses among farmers and non-farmers in Eastern Poland. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 7, p. 125-129, 2000.

SPIVAK, G.; COX, R. A.; HANAWALT, P. C. New applications of the Comet assay: Comet-FISH and transcription-coupled DNA repair. **Mutation Research**, v. 681, p. 44-50, 2008.

SPOLIDORIO, D. M. P. et al. Diferentes Métodos Fenotípicos para Isolamento e Identificação de Espécies de *Candida*. **Robrac**, v. 18, p. 18-26, 2009.

STABER, P. et al. Antifungal management in cancer patients. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 20, p. 503-510, 2007.

STEIMBACH, L. M. et al. Efficacy and safety of amphotericin B lipid-based formulations—A systematic review and meta-analysis. **Mycoses**, v. 60, p. 146-154, 2017.

SU, H. A. et al. Deep Dermatophytosis Caused by Zoophilic Strain of *Trichophyton interdigitale* with Successful Treatment of Itraconazole. **Mycopathologia**, v. 182, p. 715-720, 2017.

SUBISSI, A et al. Ciclopirox: recent nonclinical and clinical data relevant to its use as a topical antimycotic agent. **Drugs**, v. 70, p. 2133-2152, 2010.

SYLVIA, B. et al. Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles. **Microbial Pathogenesis**, v. 115, p. 287-292, 2018.

SYMOENS, F. O. et al. Molecular analysis and mating behaviour of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, p. 260-266, 2011.

TANAKA, H. et al. Anti-tumor and anti-invasive effects of diverse delta-alkyllactones: Dependence on molecular side-chain length, action period and intracellular uptake. **Life Sciences**, v. 80, p. 1851-1855, 2007.

TAYLOR, C.; GURR, S. Fungal pathogenesis: Past, present and future. **Fungal Biology Reviews**, v. 28, p. 24-28, 2014.

TAUBER, A.; MULLER-GOYMANN, C. Comparison of the Antifungal Efficacy of Terbinafine Hydrochloride and Ciclopirox Olamine Containing Formulations against the Dermatophyte *Trichophyton rubrum* in an Infected Nail Plate Model. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, p. 1991-1996, 2014.

TAVARES, L. C. Qsar: A abordagem de Hansch. **Química Nova**, v. 27, p. 631-639, 2004.

TEGOS, A.; MYLONAKIS, E. **Antimicrobial drug discovery: emerging strategies**. CAB International, ISBN 9781845939434, doi: 10.1079/9781845939434.0000, 2012.

TEIXEIRA, G. P. G.; GRIPP, A. C. Frequency of dermatoses in pediatric in patients at Hospital Universitário Pedro Ernesto. **Revista HUPE**, v. 13, p. 28-39, 2014.

THAKKAR, H. P. et al. Formulation and evaluation of itraconazole nanoemulsion for enhanced oral bioavailability. **Journal of Microencapsulation**, v. 32, p. 559-569, 2015.

THEURETZBACHER, U. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of echinocandins. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 23, p. 805-812, 2004.

TONINI, J. et al. Azole antifungals: therapeutic drug monitoring and/or bioassay? **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 28, p. 19, 2014.

TOUKABRI, N. et al. *In vitro* biofilms and antifungal susceptibility of dermatophyte and non-dermatophyte moulds involved in foot mycosis. **Mycoses**, v. 61, p. 79-87, 2018.

TRAGIANNIDIS, A. et al. Candidaemia in a European Paediatric University Hospital: a 10-year observational study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, p. E27-E30, 2012.

TSAY, T. et al. Approach to the Investigation and Management of Patients with *Candida auris*, an Emerging Multidrug-Resistant Yeast. **Clinical infectious diseases**, v. 66, p.306-311, 2018.

UMEZAWA, I. et al. A new antitumor antibiotic, kazusamycin. **Journal of Antibiotics**, v. 37, p. 706-711, 1984.

VALENCIA-GALICIA, N. A. et al. Synthesis of novel N,N bis(triflyl)-1,7-dihydroimidazo[4,5-b]pyridines and their d-bromolactone derivatives as antifungal agents. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 3168-3171, 2017.

VANDEN-BOSSCHE, H. Mechanisms of antifungal resistance. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 14, p. 44-49, 1997.

VAN DE VEN H. et al. PLGA nanoparticles and nanosuspensions with amphotericin B: Potent *in vitro* and *in vivo* alternatives to Fungizone and AmBisome. **Journal of Controlled Release**, v. 161, p. 795-803, 2012.



VERMOUT, S. et al. Pathogenesis of dermatophytosis. **Mycopathologia**, v. 166, p. 267-275, 2008.

VANDER, S. M. R.; HOSSAIN, M. A.; GHANNOUM, M. A. Cutaneous infectious dermatophytosis, onychomycosis, and *tinea versicolor*. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 17, p. 87-112, 2003.

VAZQUEZ, J. Invasive fungal infections in the intensive care unit. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 31, p. 79-86, 2010.

VENA, G. A. et al. Epidemiology of dermatophytoses: retrospective analysis from 2005 to 2010 and comparison with previous data from 1975. **New Microbiologica**, v. 35, p. 207-213, 2012.

VIDOTTO, V. et al. Adherence of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to buccal and vaginal cells. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 20, p. 52-54, 2003.

VINCENT, B. M. et al. A Fungal-Selective Cytochrome bc<sub>1</sub> Inhibitor Impairs Virulence and Prevents the Evolution of Drug Resistance. **Cell Chemical Biology**, v. 23, p. 978-991, 2016.

VIRIATO, A. Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida* Berkhout, causadoras de infecções hospitalares. **O Mundo Da Saúde**, V. 38, p. 40-50, 2014.

WAKELIN, S. H.; MAIBACH, H. I. **Handbook of Systemic Drug Treatment in Dermatology**. London: Manson Publishing Ltd., 281 p., ISBN 1-84076-044-3, 2003.

WANG, H. et al. Rapid detection of ERG11 gene mutations in clinical *Candida albicans* isolates with reduced susceptibility to fluconazole by rolling circle amplification and DNA sequencing. **BMC Microbiology**, v. 9, p. 167, 2009.

WANI, M. C. et al. Plant antitumor agents. Synthesis and biological activity of camptothecin analogues. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 554-560, 1980.

WATANABE, S. et al. An epidemiological study to assess the prevalence of *tinea pedis* et *unguium* in Japan. **Japanese Journal of Dermatology**, v. 111, p. 2101-2112, 2001.

WEITZMAN, I.; SUMMERBELL, R.C. The dermatophytes (Review). **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, p. 240-259, 1995.

WHITTING, D. A. Natural phenolic compounds 1900-2000 a bird's eye view of a century's chemistry. **Journal of Natural Products**, v. 18, p. 583-606, 2001.

WHO (2018) **World Health Organization**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>>. Acesso em: 1 mar. 2018.

WICKI, A. et al. Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 200, p. 138-157, 2015.

WILLIAMS, D.; LEWIS, M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. **Journal of Oral Microbiology**, v. 3, p. 5771, 2011.

WINNICKA, K. et al. Hydrogel of ketoconazole and PAMAM dendrimers: formulation and antifungal activity. **Molecules**, v. 17, p. 4612-4624, 2012.

WOREK, M. et al. Identification of dermatophyte species using genomic *in situ* hybridization (GISH). **Journal of Microbiological Methods**, v. 100, p. 32-41, 2014.

XIA, Q. et al. Synthesis and Biological Activity Test of Some New Five Membered Heterocycles. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 28, p. 2433-2440, 2010.

XU, B.; LING, Y. H. The effect of hydroxycamptothecin in the activity of RNA and DNA polymerases prepared from murine hepatoma cells. **American Journal of Chinese Medicine**, v.13, p. 23-31, 1985.

YAMADA, T. et al. Terbinafine Resistance of *Trichophyton* Clinical Isolates Caused by Specific Point Mutations in the Squalene Epoxidase Gene. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, p. e00115-e00117, 2017.

YANG, E. J.; KIM, Y. S.; CHANG, H. C. Purification and Characterization of Antifungal d-Dodecalactone from *Lactobacillus plantarum* AF1 Isolated from Kimchi. **Journal of Food Protection**, v. 74, p. 651-657, 2011.

YOUNGCHIM, S. et al. Melanogenesis in dermatophyte species *in vitro* and during infection. **Microbiology**, v. 157, p. 2348-56, 2011.

YUEN-KI, C. et al. Characterisation of the Chemical Composition and Structural Features of Novel Antimicrobial Nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 7, p. 2079-4991, 2017.

ZARRIN, M.; MAHMOUDABADI, A. Z. Invasive candidiasis; a review article. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 2, p. 1-6, 2009.

ZAUGG, C. et al. Secreted aspartic proteinase family of *Candida tropicalis*. **Infection and Immunity**, v. 69, p. 405-412, 2001.