



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA



VALDEENE VIEIRA SANTOS

MODELAGEM FARMACOCINÉTICA/ FARMACODINÂMICA DA
ASSOCIAÇÃO ARTESUNATO E MEFLOQUINA

Salvador, BA

2024

VALDEENE VIEIRA SANTOS

**MODELAGEM FARMACOCINÉTICA/ FARMACODINÂMICA DA
ASSOCIAÇÃO ARTESUNATO E MEFLOQUINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmácia, da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Francine Johansson Azeredo

Coorientador: Dr. Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira

Salvador, BA

2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Vieira Santos, Valdeene
Modelagem farmacocinética/farmacodinâmica da
associação artesunato e mefloquina / Valdeene Vieira
Santos. -- Salvador, 2024.
95 f. : il

Orientadora: Francine Johansson Azeredo.
Coorientador: Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira.
Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Farmácia) -- Universidade Federal da Bahia, Faculdade
de Farmácia, 2024.

1. Malária. 2. Modelagem
farmacocinética/farmacodinâmica. 3. Plasmodium
berghei. 4. Plasmodium falciparum. 5. Time-to-event.
I. Johansson Azeredo, Francine. II. Rodrigo de
Magalhães Moreira, Diogo. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA



TERMO DE APROVAÇÃO

Valdeene Vieira Santos

"MODELAGEM FARMACOCINÉTICA/ FARMACODINÂMICA DA ASSOCIAÇÃO ARTESUNATO E MEFLOQUINA"

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia (nível Doutorado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Farmácia.

Aprovada em 30 julho de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Francine Johansson Azeredo

Dr^a. Francine Johansson Azeredo
Universidade Federal da Bahia
Orientadora

Documento assinado digitalmente

gov.br

ANDREA DINIZ

Data: 30/07/2024 12:44:00-0300

Verifique em <https://validar.jb.gov.br>

Dr^a. Andrea Diniz
Universidade Estadual de Maringá

Bibiana Verfindo de Araujo

Dr^a. Bibiana Verfindo de Araujo
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Documento assinado digitalmente

gov.br

HENRIQUE RODRIGUES MARCELINO

Data: 05/08/2024 13:06:34-0300

Verifique em <https://validar.jb.gov.br>

Dr. Henrique Rodrigues Marcelino
Universidade Federal da Bahia

Luciana Santos Cardoso

Dr^a. Luciana Santos Cardoso
Universidade Federal da Bahia

APOIO FINANCEIRO - Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), termo de outorga n° 628/2020.

APOIO FINANCEIRO - Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), projeto n° 440227/2022-4S.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Francine Azeredo por todos esses anos de ensinamento e orientação. Sempre será um exemplo de pesquisadora e professora para mim. Sou muito grata pelo nosso encontro.

Ao meu coorientador Diogo e ao LETI/Fiocruz-BA pelos ensinamentos e apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFBA pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao CNPq pelo financiamento deste projeto, e a FAPESB pela concessão da bolsa de estudos.

A todos do Laboratório de Farmacocinética e Farmacométrie da UFBA por estarem presentes dia e noite, serem minha família e amigos durante esses anos. Esse trabalho não teria sido realizado sem vocês. Essa conquista é nossa!

Aos meus pais, por serem meus maiores incentivadores, e fazerem dos meus sonhos os deles. Amo vocês!

A todos que contribuíram de alguma forma para a execução deste trabalho.

Muito obrigada!

“Em algum lugar, alguma coisa incrível está esperando para ser descoberta.”

Carl Sagan

RESUMO

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, e apesar de ser tratável e prevenível, ainda ocasiona um alto índice de mortalidade no mundo. A utilização de fármacos antimaláricos seguros e eficazes é essencial para a redução da mortalidade, principalmente considerando que a estratégia atual de controle está baseada no diagnóstico precoce e no tratamento adequado dos casos. A terapia combinada artesunato-mefloquina (AR-MQ) é uma terapia padrão para o tratamento da malária não complicada por *P. falciparum*, com eficácia terapêutica e ação frente a forma recorrente do *Plasmodium*. Apesar disso, ainda é necessário o entendimento dos parâmetros norteadores da posologia a serem utilizados e da eficácia quando os fármacos são avaliados em associação. Com isso, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um modelo farmacocinético/farmacodinâmico (PK/PD) populacional relacionando a parasitemia as concentrações plasmáticas total da terapia combinada AR-MQ. Para alcançar este objetivo, camundongos Swiss infectados com *P. berghei* foram divididos aleatoriamente em grupo não tratado e tratado, tendo o grupo tratado recebido 100 mg/kg de AR + 55 mg/kg de MQ por via oral, dose única. Posteriormente, foram coletadas amostras de plasma para análise PK e avaliado a % de parasitemia. Com os dados de sobrevivência obtidos foi realizada a análise Time-to-event (TTE). A análise PK/PD foi conduzido usando MonolixSuite™ versão 2024R1 por meio do método mixed-effects models. O perfil de concentração *versus* tempo do AR e MQ foram descritos por um modelo de 1 compartimento, constante de absorção (k_a) para o AR e absorção de ordem zero (Tk_0) para a MQ, com eliminação linear para ambos. Um modelo turnover de inibição descreveu a curva de efeito no tempo adequadamente, com estimativa das constantes k_{prol} e k_{death} de 26,36 e 0,024 h^{-1} , respectivamente, IC_{50} 42,34 $\mu\text{g/mL}$ e I_{max} 333,34 para o AR e IC_{50} de 0,086 $\mu\text{g/mL}$ e I_{max} 1,42 para MQ. A análise TTE, cujo objetivo consiste em avaliar a influência do tratamento na sobrevivência, também foi realizada no MonolixSuite™. A curva de sobrevivência dos dados foi melhor descrita pelo modelo Weibull. A análise subsequente identificou que o AR-MQ teve influência significativa no tempo de sobrevivência (Te_{pop}), estimado em 13,66 dias com beta Te_{ARMQ} de 0,77 dias. A probabilidade de sobrevivência 7, 15 e 30 dias após o tratamento com AR-MQ foi de 94,4%, 88,9% e 14,9%, respectivamente. Como conclusão, este estudo desenvolveu um modelo PK/PD para a descrição da curva de efeito-tempo após administração única da associação AR-MQ em camundongos infectados por *P. berghei* e identificou maior sobrevivência dos animais quando administrado a associação, tendo então potencial de aplicação dos modelos para futuras investigações pré-clínicas.

Palavras-chave: Malária, modelagem farmacocinética/farmacodinâmica, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium falciparum*, terapia combinada, artesunato, mefloquina, time-to-event.

ABSTRACT

Malaria is an infectious disease caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, and despite being it is treatable and preventable, it still causes a high mortality rate worldwide. The use of safe and effective antimalarial drugs is essential for reducing mortality, especially considering that the current control strategy is based on early diagnosis and adequate treatment of cases. Artesunate-mefloquine (AR-MQ) combined therapy is a standard therapy for the treatment of uncomplicated *P. falciparum* malaria, with therapeutic efficacy and action against the recurrent form of *Plasmodium*. Despite this, it is still necessary to understand the parameters guiding the dosage and effectiveness when the drugs are evaluated in combination. Therefore, this work aimed to establish a population pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) model relating parasitemia to total plasma concentrations of AR-MQ combined therapy. To achieve this objective, Swiss mice infected with *P. berghei* were randomly divided into an untreated and treated group, which received 100 mg/kg of AR + 55 mg/kg of MQ orally, in a single dose. Subsequently, plasma samples were collected for PK analysis, and the % of parasitemia was assessed. A Time-to-event (TTE) analysis was performed with the survival data obtained. PK/PD analysis was conducted using MonolixSuite™ version 2024R1 using the mixed-effects models method. The concentration *versus* time profile of AR and MQ were described by a 1-compartment model, absorption rate (k_a) for AR and zero-order absorption (Tk_0) for MQ, with linear elimination for both. A turnover inhibition model described the effect curve over time adequately, with estimated k_{prol} and k_{death} constants of 26.36 and 0.024 h^{-1} , respectively, IC_{50} 42.34 $\mu\text{g/mL}$ and Imax 333.34 for AR and IC_{50} of 0.086 $\mu\text{g/mL}$ and Imax 1.42 for MQ. TTE analysis, an analysis to evaluate the influence of treatment on survival, was also performed in MonolixSuite™. The data survival curve was best described by the Weibull model. Subsequent analysis identified that AR-MQ significantly influenced in the survival time (Te_{pop}), estimated at 13.66 days with a Te_{ARMQ} beta of 0.77 days. The probability of survival 7, 15, and 30 days after treatment with AR-MQ was 94.4%, 88.9%, and 14.9%, respectively. In conclusion, this study developed a PK/PD model to describe the effect-time curve after a single administration of the AR-MQ association in mice infected by *P. berghei* and identified greater survival of the animals when administered the association, thus having the potential to apply the models for future preclinical investigations.

Keywords: Malaria, pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium falciparum*, combination therapy, artesunate, mefloquine, time-to-event.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1- Mapa de risco de malária por município de infecção, Brasil 2021.....	23
Figura 2 - Ciclo de infecção da malária.....	25
Figura 3 - Estrutura química do artesunato (AR), da dihidroartemisinina (DHA) e da DHA-glicuronídeo, e enzimas responsáveis pela biotransformação	30
Figura 4 - Estrutura química da mefloquina.....	31
Figura 5 - Perfil PK das ACTs	35

MANUSCRITO 1

Figura 1 - Derivatização de artemisinina no composto Q260.	46
Figura 2 - Representação esquemática do modelo PK/PD	49
Figura 3 - Perfil de concentração plasmática ($\mu\text{g/mL}$) <i>versus</i> tempo (h) do artesunato e mefloquina	50
Figura 4 - Gráficos de diagnósticos do artesunato (AR)	41
Figura 5 - Gráficos de diagnósticos da mefloquina (MQ).....	52
Figura 6 - Parasitemia (%) ao longo do tempo (h) em camundongos após a administração de dose única do artesunato e mefloquina.....	53
Figura 7 - Gráficos de diagnósticos da parasitemia com ação do artesunato e mefloquina frente ao <i>Plasmodium berghei</i>	55

MANUSCRITO 2

Figure 1 - Kaplan-Meier survival curve of TTE.....	74
Figure 2 - Visual Predictive Check (VPC) of the empirical Kaplan-Meier curve	75

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 - Manifestações clínicas e laboratoriais indicativas de malária grave e complicada. 26

MANUSCRITO 1

Tabela 1 - Parâmetros farmacocinéticos populacionais estimados para a MQ e AR após administração oral em camundongos infectados por *Plasmodium Berghei* 50

Tabela 2 - Parâmetros farmacodinâmicos estimados após administração de dose única oral da associação AR-MQ em camundongos infectados por *Plasmodium berghei*..... 54

MANUSCRITO 2

Table 1 - Summary of OFV and BIC values of the tested survival models. 76

Table 2 - Estimated parameters and influence of treatment on malaria treatment hazard based on the final model 76

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ACTs	Terapias Combinadas à base de Artemisinina
AR	Artesunato
AR-MQ	Associação artesunato + mefloquina
ASC	Área Sob a Curva
BIC	<i>Bayesian Information Criteria</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL	<i>Clearance</i>
C _{max}	Pico de concentração máxima
CQ	Controle de qualidade
DHA	Dihidroartemisinina
DNDi	<i>Drugs Initiative for Neglected Diseases</i>
DPI	Dias Pós Infecção
EC ₅₀	Concentração que induz 50% do efeito máximo
E _{max}	Efeito máximo
EPR	Erro Padrão Relativo
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
GFP	Proteína de fluorescência verde
GOF	Goodness-of-fit
HPLC-DAD	High-Performance Liquid Chromatography com detector de arranjo de diodo
IC ₅₀	Concentração que inibe 50% do efeito
IIV	Variabilidade interindividual
I _{max}	Inibição máxima
K _a	Constante de absorção
k _{death}	Constante de morte do parasito
k _{prol}	Constante de proliferação do parasito
LIQ	Limite inferior de quantificação
MQ	Mefloquina
OFV	-2 x log-likelihood
OMS	Organização Mundial da Saúde
P0	Parasitemia inicial
PD	Farmacodinâmica
PfEMP1	Proteína de membrana eritrocitária

PK	Farmacocinética
PK/PD	Farmacocinética/ Farmacodinâmica
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Tk0	Constante de absorção de ordem zero
T _{max}	Tempo para o pico máximo de concentração
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
TTE	<i>Time-to-event</i>
V	Volume de distribuição
VPC	<i>Visual Predictive checks</i>

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
REFERENCIAL TEÓRICO	21
MANUSCRITO 1	40
MANUSCRITO 2	61
DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS	80
ANEXO A	85
ANEXO B	86
APÊNDICE A	87
APÊNDICE B	92

A malária é uma doença infecciosa febril aguda, causada por protozoários intracelulares do gênero *Plasmodium* e transmitidos pela fêmea infectada do mosquito *Anopheles*, que apesar de poder ser tratável e prevenível, ainda ocasiona um alto índice de mortalidade no mundo. É encontrada em regiões tropicais e subtropicais, sendo que a maioria dos casos da doença e mortes acontecem na África Subsaariana. Entretanto, as regiões do Sudeste Asiático, Mediterrâneo Oriental, Pacífico Ocidental e Américas também estão em risco (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2013).

No Brasil, a maioria dos casos de malária se concentra na região Amazônica, nos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins. Nas demais regiões, chamadas de Extra-Amazônica, apesar das poucas notificações, não pode ser negligenciada, pois se observa uma letalidade mais elevada em comparação à região Amazônica (BRASIL, Guia De Tratamento da Malária No Brasil, 2021).

Fatores como resistência do vetor aos inseticidas utilizados, a resistência do *Plasmodium* aos antimaláricos, as condições socioeconômicas das populações atingidas, bem como esquemas de tratamento complexos dificultam o tratamento e erradicação da malária (PIMENTEL *et al.*, 2007; WINSTANLEY, 2001).

A utilização de fármacos antimaláricos em tratamentos seguros e eficazes é essencial para a redução da mortalidade por malária, principalmente considerando que a estratégia atual de controle está baseada no diagnóstico precoce e no tratamento adequado dos casos. O aparecimento e propagação de parasitos resistentes à grande maioria dos antimaláricos disponíveis, no decorrer das últimas décadas, tem-se revelado como o principal obstáculo a uma eficiente diminuição dos casos da malária. Muitos dos fármacos empregados são relativamente de baixo custo, fáceis de distribuir e eficazes. No entanto, o problema da resistência do *P. falciparum*, principalmente, tem tornado a profilaxia e quimioterapia mais complexas e menos satisfatórias, portanto alternativas terapêuticas devem ser desenvolvidas a fim de contornar este problema mundial (OLLIARO, 2001; SANTOS-MAGALHÃES; MOSQUEIRA, 2010).

Porém, existem poucos estudos de desenvolvimento de novos agentes antimaláricos devido às dificuldades intrínsecas do desenvolvimento, como o alto custo e o fato da malária ser uma doença negligenciada com maior incidência em países subdesenvolvidos. Nesse sentido, há pouco interesse da indústria farmacêutica em investir, em virtude da incerteza sobre os retornos financeiros (MAO *et al.*, 2023).

A eficácia do tratamento com um agente antimalárico depende das espécies de parasitos, os fármacos antimaláricos e a imunidade do hospedeiro humano (PLEWES *et al.*, 2019). Fármacos como a cloroquina e a associação sulfadoxina-pirimetamina, que são acessíveis, de baixo custo e eficazes apresentam resistência relatada (GLOBAL REPORT ON ANTIMALARIAL EFFICACY AND DRUG RESISTANCE, 2010).

Nesse sentido, a utilização das combinações de fármacos ao invés de monoterapia tem sido preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a fim de evitar a disseminação da resistência ao *P. falciparum* e melhorar os resultados clínicos (ASHLEY; WHITE, 2005; GLOBAL REPORT ON ANTIMALARIAL EFFICACY AND DRUG RESISTANCE, 2010). A terapia antimalárica de primeira linha para o tratamento da malária não complicada é a terapia combinada com artemisinina com fármacos de ação longa. Elas têm um rápido início de ação e capacidade de atingir uma ampla gama de estágios de desenvolvimento do ciclo de vida eritrocítico do parasito (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018). No entanto, a resistência à artemisinina e seus derivados estão se espalhando entre as populações de *P. falciparum* (RABINOVICH *et al.*, 2017).

No Brasil, as associações mais comumente utilizadas para o tratamento da malária são: artemeter+lumefantrina e artesunato+mefloquina. Para a malária severa ocasionada por *P. falciparum* pode-se destacar a utilização de artesunato, sozinho ou em associação com a mefloquina (BRASIL, 2021).

Uma formulação contendo a associação artesunato (AR) e mefloquina (MQ) foi desenvolvida na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e seus estudos pré-clínicos e clínicos foram realizados por um consórcio contendo diversos centros de pesquisa de diferentes países (WELLS; DIAP; KIECHEL, 2013). Esta associação é muito utilizada no tratamento da malária devido a elevada eficácia terapêutica, ausência de resistência e ação frente a forma recorrente do *P. falciparum* (SMITHUIS *et al.*, 2010). Além disso, a mesma não mostrou efeitos toxicológicos pronunciados em estudos clínicos realizados (WELLS; DIAP; KIECHEL, 2013).

Apesar das vantagens descritas da associação AR-MQ, ainda é necessário o entendimento dos parâmetros norteadores da posologia a serem utilizados, já que são capazes de verificar o efeito de fármacos administrados sozinhos, além de compreender a resistência, falhas terapêuticas e superexposição aos fármacos (ANDREWS *et al.*, 2018; CZOCK; KELLER, 2007).

Neste contexto, a farmacometria surgiu como uma ferramenta importante para o campo da farmacologia, permitindo o desenvolvimento e aplicação de métodos matemáticos e estatísticos na compreensão, caracterização e previsão da exposição/resposta a medicamentos, com a criação de modelos e simulações que descrevem e quantificam as interações entre os fármacos e o organismo, considerando efeitos benéficos e adversos (BANDEIRA; PINTO; CARNEIRO, 2023). E dentro da farmacometria, a modelagem farmacocinética-farmacodinâmica (PK/PD) é uma abordagem que auxilia na determinação de posologia de antimaláricos (HUGHES *et al.*, 2021; KAY; HASTINGS, 2013), caracterizando as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos fármacos e explorando o impacto de fatores intrínsecos e extrínsecos que contribuem para a variabilidade de exposição e resposta (ANDREWS *et al.*, 2018).

Para que o modelo PK/PD seja desenvolvido, realizam-se estudos de avaliação do perfil PK do fármaco e avaliação do PD em função do tempo, após a utilização de diferentes posologias, em ensaios *in vitro* ou *in vivo*, para determinar o efeito obtido devido à variação de concentração do fármaco em estudo (ZHANG *et al.*, 2022). De posse dos dados de PK e PD, busca-se estabelecer a correlação matemática do perfil temporal concentração-dose-resposta. Sob condições de equilíbrio entre a concentração plasmática e do local de ação, a relação entre a concentração e o efeito pode ser descrita por modelos PD tais como o modelo $E_{m\acute{a}x}$ e o modelo $E_{m\acute{a}x}$ sigmoidal. O modelo $E_{m\acute{a}x}$ descreve o efeito máximo do fármaco e a concentração para atingir 50% do efeito máximo (EC_{50}), o que representa a atividade intrínseca da substância e a potência da mesma, respectivamente (PEREIRA *et al.*, 2022).

Nos trabalhos em que a modelagem PK/PD foi utilizada para a verificação do efeito de fármacos antimaláricos, os autores concluem que a mesma é extremamente útil para a melhor utilização dos fármacos no tratamento da malária (KAY; HASTINGS, 2013; ZALOUMIS *et al.*, 2012). Com base no exposto, esse trabalho propõe-se a realizar uma modelagem PK/PD da associação AR+MQ.

Nesse contexto, o objetivo geral desse trabalho é desenvolver um modelo PK/PD para a associação artesunato e mefloquina. Os objetivos específicos são:

- Determinar a parasitemia, em modelo de infecção *in vivo* em camundongos infectados por *Plasmodium berghei*, após a administração da associação artesunato e mefloquina;
- Adaptar e validar metodologias bioanalíticas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para quantificação do artesunato e da mefloquina em plasma de camundongo;

- Determinar as concentrações da associação artesunato e mefloquina no plasma de camundongos infectados por *Plasmodium berghei*;
- Determinar a relação matemática entre o efeito antiparasitário da associação artesunato e mefloquina em função do tempo através de modelagem PK/PD;
- Avaliar a sobrevivência dos camundongos infectados por *Plasmodium berghei* após a administração da associação artesunato e mefloquina, utilizando a análise *Time-to-event*.

MALÁRIA

A malária é uma doença parasitária tropical causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, quando este é transmitido pela fêmea do mosquito *Anopheles*. Atualmente, se conhece mais de 120 espécies de *Plasmodium*, e cinco delas são capazes de infectar os humanos: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi* (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

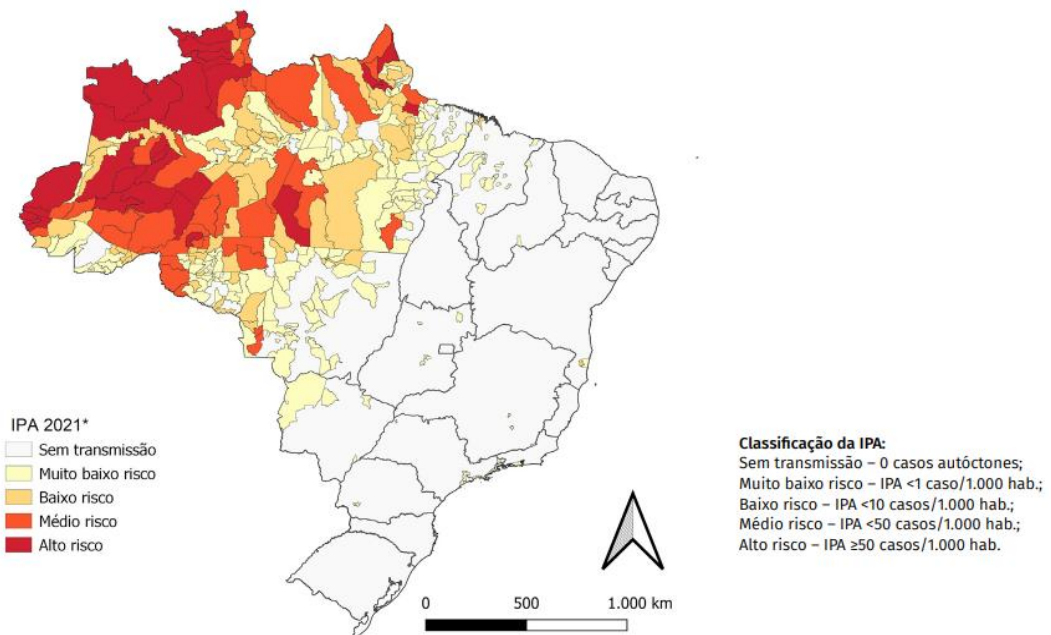
Há predominância de infecção pelo *P. falciparum* em áreas tropicais da África, com coinfeção por *P. malariae* em alguns casos; na América do Sul o *P. vivax* prevalece sobre o *P. falciparum*; na Ásia e Pacífico são encontrados tanto o *P. falciparum* quanto o *P. vivax*. Embora o *P. malariae* possa ocorrer em todas as áreas, sua prevalência é geralmente baixa, e o *P. ovale* é difundido principalmente na África tropical enquanto a infecção por *P. knowlesi* ocorre apenas em certas áreas florestais do Sudeste Asiático (AUTINO *et al.*, 2012). Das cinco espécies, o *P. falciparum* é considerado o mais letal, responsável por causar a doença grave e o responsável pela maioria das mortes devido a malária, especialmente na África Subsaariana (MEIBALAN; MARTI, 2017).

A incidência da malária depende de alguns fatores, como clima, vegetação, implementação de medidas de controle, e condições socioeconômicas (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018). Mundialmente, o maior número de casos de malária é contabilizado por países com transmissão moderada a alta na África Subsaariana. Em 2022, havia 249 milhões de casos estimados de malária em 85 países onde essa doença é considerada endêmica, um aumento de 5 milhões de casos em comparação com 2021. Entre 2020 e 2022, as estimativas para ambos os casos e mortes incluíram o impacto de interrupções em serviços essenciais serviços de malária durante a pandemia de COVID-19 (WORLD MALARIA REPORT, 2023). Quanto a taxa de mortalidade, em 2020, aumentou para cerca de 15,1 por 100.000 habitantes em risco (WORLD MALARIA REPORT, 2022).

Em 2021, na América do Sul, os casos e a incidência de malária diminuíram 70%, e as mortes e a taxa de mortalidade diminuíram 73%. A Venezuela, Brasil e Colômbia representaram 79% de todos os casos nesta região, cujo principal agente etiológico foi o *P. vivax*, sendo que na República Bolivariana da Venezuela, Brasil, Colômbia e Peru tiveram reduções substanciais na carga de casos em comparação com 2019 (WORLD MALARIA REPORT, 2022).

No Brasil, segundo o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde de 2021, cerca de 99,9% da transmissão da malária ocorre na região amazônica, mas surtos esporádicos ocorrem na região extra-amazônica e são de grande preocupação, visto que podem resultar no aumento de casos em áreas de baixa transmissão ou na reintrodução da endemia em áreas livres de malária por décadas. Sobre o risco de infecção na região amazônica, em 2021, 29 municípios foram classificados como de alto risco, 38 de médio risco e 61 de baixo risco (Figura 1). Neste mesmo ano, houve uma redução de 4,1% nas notificações dos casos de malária, sendo que do total de casos notificados, 99% foram autóctones, ou seja, tiveram transmissão relatada dentro do Brasil, e desses casos, 17% se deram por *P. falciparum* e malária mista, e 83% foram causados por *P. vivax* e outras espécies parasitárias. Quanto as internações e óbitos por malária, houve um aumento de 4,9% em internações em 2021, sendo que a região extra-amazônica apresentou o maior aumento, e 49 óbitos, representando 11,4% de aumento em relação a 2020 (BRASIL, Boletim Epidemiológico, 2021).

Figura 1. Mapa de risco de malária por município de infecção, Brasil 2021.



Fonte: Sivep-Malária e Sinan/SVS/MS. Excluídas lâminas de verificação de cura. Dados do Sivep-Malária atualizados em: 14/3/2022. Dados do Sinan atualizados em: 10/3/2022.
*Dados de 2021 são preliminares, sujeitos a alterações.

Fonte: Brasil, 2021.

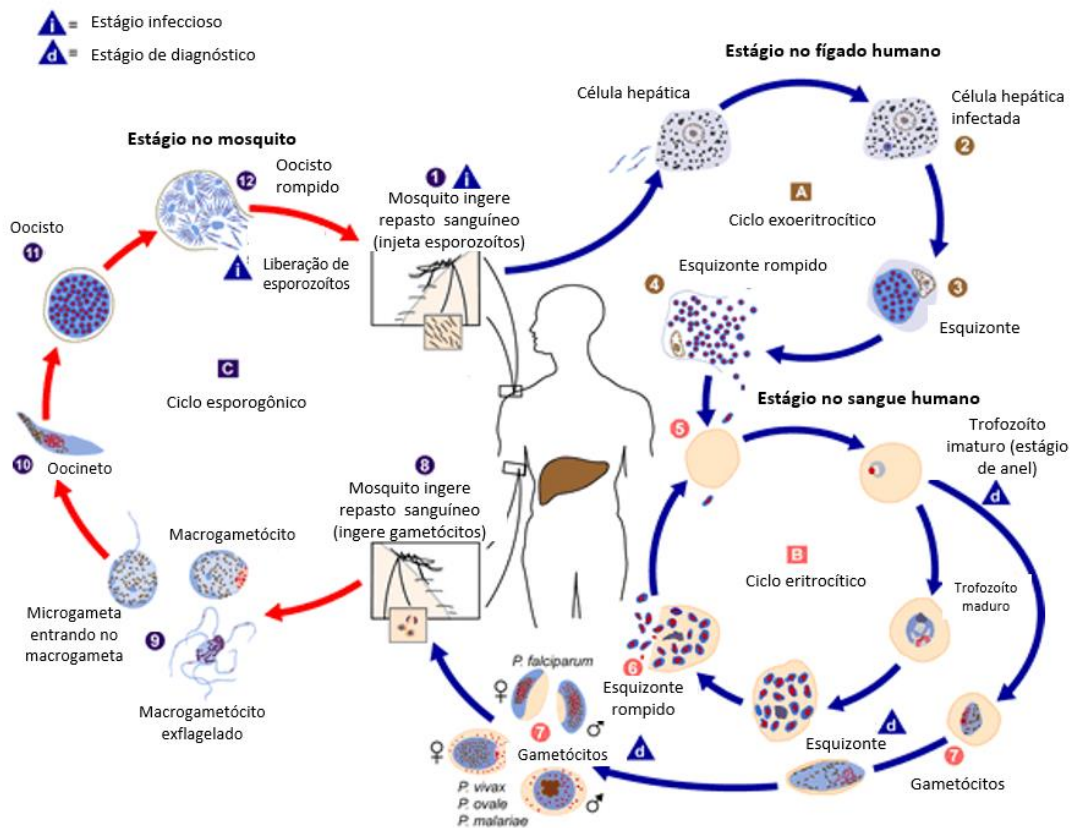
O ciclo de vida dos parasitos é um processo complexo que ocorre tanto em hospedeiros vertebrados quanto em um mosquito vetor. A infecção por *Plasmodium* acontece quando a fêmea do mosquito *Anopheles* no momento do hematofagismo, inocula os esporozoítos no

homem, as formas infectantes do parasito. Os esporozoítos inoculados, circulam pela corrente sanguínea e migram para o fígado, onde começam a se replicar de forma assexuada durante 7-14 dias, sendo esse período chamado de pré-eritrocitário. Nesse estágio ainda não há sintomas clínicos, e o tempo de replicação pode alterar de acordo com a espécie responsável pela infecção. Para o *P. falciparum* e *P. knowlesi*, o período de incubação varia entre 10 a 14 dias, 2 a 3 semanas para *P. vivax* e *P. ovale*, e 18 dias ou mais para o *P. malariae* (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

Após um período, os esporozoítos passam a ser merozoítos, começando o estágio eritrocitário e aparecimento dos sintomas. Nesse momento os merozoítos invadem as células vermelhas do sangue, se multiplicam em esquizontes sanguíneos, que liberará novos merozoítos para infectar novas células sanguíneas, dando continuidade à infecção. Uma parte dos merozoítos podem se diferenciar nas formas sexuais ou gametócitos, e essas formas garantem novas infecções quando um outro mosquito os absorve, acontecendo no intestino do mosquito a reprodução sexual. A reprodução sexual é responsável pela formação de um zigoto, que se diferencia em oocisto. O oocisto libera os novos esporozoítos que migram para as glândulas salivares do mosquito, onde estarão prontos para uma nova inoculação, completando o ciclo de transmissão (Figura 2). Em infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, uma parte de esporozoítos torna-se hipnozoítos dormentes, que levam a recaídas meses ou anos após a infecção inicial (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020). Além da transmissão vetor-parasito-humano, a malária pode ser transmitida através de transfusão de sangue, transplante de órgão e de forma congênita (VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

Os sintomas da infecção por malária só começam com a primeira ruptura do esquizonte hepático e liberação de merozoítos na circulação sanguínea, sendo que pode ser silencioso para a grande maioria dos pacientes, e persistem à medida que os parasitos continuam o ciclo de vida assexuado de reinvasão de merozoítos, desenvolvimento de trofozoítos e ruptura de esquizontes ao longo de 24 a 48 horas (MILNER, 2018).

Figura 2. Ciclo de infecção da malária.



Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control (CDC), 2020.

A malária é dividida em duas apresentações clínicas: não complicada e grave. Os sintomas da malária estão relacionados com o número de parasitos produzidos pelo ciclo eritrocítico. A malária não complicada é definida como sintomas presentes como a febre, mas sem sinais clínicos ou laboratoriais que indiquem gravidade ou disfunção de órgãos vitais. Relatos clássicos descrevem picos periódicos de febre em intervalos correspondentes à duração do ciclo eritrocitário da espécie infectante (48h para infecção por *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale*; e 72h para *P. malariae*). Além da febre, são observados sintomas inespecíficos, como mal-estar, fadiga, artralgia, mialgia, cefaleia, desconforto abdominal, náusea, vômito e hipotensão ortostática (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; MILNER, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

Já a malária na sua forma grave é definida como aquela que tem um maior risco de morte no momento da avaliação (50 vezes maior), e geralmente apresenta mortalidade superior a 5% (WHITE, 2022). São observados diversos sintomas e manifestações laboratoriais (Tabela 1) como convulsão, lesão renal aguda (apresentando necrose tubular aguda e acidose) e anemia

grave, sendo a última mais comum em crianças (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; MILNER, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

Tabela 1. Manifestações clínicas e laboratoriais indicativas de malária grave e complicada.

Manifestações clínicas
Dor abdominal intensa (ruptura de baço, mais frequente em <i>P. vivax</i>)
Mucosas amareladas, icterícia
Mucosas muito hipocoradas
Redução do volume de urina a menos de 400 mL em 24 horas
Vômitos persistentes que impeçam a tomada da medicação por via oral
Qualquer tipo de sangramento
Falta de ar
Extremidades azuladas (cianose)
Aumento da frequência cardíaca
Convulsão ou desorientação
Prostração (em crianças)
Comorbidades descompensadas
Manifestações laboratoriais
Anemia grave
Hipoglicemia
Acidose metabólica
Insuficiência renal
Hiperlactatemia
Hiperparasitemia (> 250.000/mm ³ para <i>P. falciparum</i>)

Fonte: Brasil, 2020.

Sobre a fisiopatologia, a malária não complicada é caracterizada por febre secundária à ruptura de eritrócitos, ingestão de merozoítos por macrófagos e/ou presença de antígenos apresentadores de trofozoítos na circulação ou no baço que medeia a liberação do fator de necrose tumoral α (TNF- α). O TNF- α é estimulado por metabólitos (particularmente glicosilfosfatidilinositol) liberados pelo parasita ao final da esquizogonia sanguínea, induzem a expressão de alguns receptores endoteliais promovendo a citoaderência, e estão associados à febre, à hipoglicemia e à anemia. A ligação de hemácias infectadas maduras às células endoteliais hospedeiras, chamado de citoaderência, é o principal fator na patogênese da malária grave. A expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na citoadesão e evasão

imunológica explica a virulência do *P. falciparum* quando comparado com outras espécies (NEVES, 2016; FIKADU; ASHENAFI, 2023), sendo o principal responsável por causar mortalidade associada a malária. Este parasito tem a característica única de infectar hemácias em qualquer estágio, o que leva a uma maior virulência, multiplicação e gravidade da doença, mas, apesar disso somente 1% das infecções causam manifestações grandes (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020). O *P. vivax* causa malária não complicada, mas pode estar associado com quadros graves; já o *P. malarie* e *P. ovale* causam malária não complicada, e é raro serem associados a complicações (VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

A citoaderência ocorre por mediação da proteína de membrana eritrocitária (PfEMP1), que são proteínas expostas na superfície do eritrócito infectado e se ligam a diferentes receptores endoteliais. O PfEMP1 codificado pelo gene Var é o antígeno de superfície variante mais bem caracterizado que é expresso na superfície dos eritrócitos infectados, onde medeia a ligação aos receptores endoteliais. A família PfEMP1 forma saliências eletrodensas denominadas botões na membrana de hemácias parasitadas, sendo inserida e projetando-se da membrana eritrocitária. Os botões servem como um local pelo qual os eritrócitos parasitados se ligam a outras superfícies celulares, como glóbulos vermelhos normais e endotélio. A adesão de eritrócitos parasitados ao endotélio vascular leva ao sequestro, fenômeno pelo qual hemácias infectadas translocadas da circulação periférica se ligam ao endotélio vascular, nas profundezas da microvasculatura de vários tecidos e órgãos. Há também a formação de rosetas, aglomerados de hemácias parasitadas em torno de hemácias não-parasitadas, o que aumenta a obstrução microvascular (NEVES, 2016; ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; FIKADU; ASHENAFI, 2023; MILNER, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

A doença clínica é, portanto, o resultado da interação da biologia pré-programada do parasito em conjunto com a resposta imunológica do hospedeiro. Variação nessa interação pode acontecer quando há diversidade genética parasitária de proteínas-chave, coinfeções, comorbidades, atrasos no tratamento, polimorfismos humanos e determinantes ambientais (MILNER, 2018).

TRATAMENTO FARMACOLÓGICO – Artesunato e Mefloquina

A redução e a eliminação dos casos de malária dependem de medidas preventivas, como o controle de vetores, técnica de diagnóstico que seja sensível e precoce, e o tratamento adequado da infecção. Acerca do tratamento, os antimaláricos agem principalmente por

mecanismos que buscam inibir um ou dois estágios do ciclo de vida do parasito e vários medicamentos estão disponíveis para atingir este objetivo (PINHEIRO *et al.*, 2018; TRIPATHI *et al.*, 2023).

Os antimaláricos disponíveis são fármacos baseados em produtos naturais, compostos semissintéticos e sintéticos, e são divididos em três classes principais: derivados da quinolina, antifolatos e derivados da artemisinina. As quinolinas são amplamente utilizadas para o tratamento da malária. A quinina, um alcaloide isolado da casca das árvores *Cinchona*, foi usada pela primeira vez para tratar a malária no início do século XVII e tornou-se a terapia padrão para a malária até década de 1940. A MQ, outro representante das quinolinas, desenvolvida pelo exército dos Estados Unidos, começou a ser utilizada em meados da década de 1980 e atualmente é recomendada para quimioprofilaxia da malária causada por todas as espécies (PINHEIRO *et al.*, 2018). Os antifolatos, representados por proguanil, pirimetamina e sulfonamidas, são inibidores da dihidrofolato redutase e diidropteroato sintase, da via do folato no *Plasmodium spp* (GREGSON; PLOWE, 2005).

Os derivados de artemisinina, oriundos da planta *Artemisia annua*, mudou a forma de tratar a malária na década de 1990 (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018). A dihidroartemisinina (DHA), AR e arteméter, formam a pedra angular do tratamento antimalárico atual (HANBOONKUNUPAKARN; WHITE, 2022). As terapias à base de quinolonas foram deixadas para as terapias à base de artemisinina, devido a sua rápida eficácia, segurança e potência, e atualmente são a primeira escolha para tratar a malária não complicada e grave (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

Porém, com o passar dos anos, o tratamento monoterápico foi sendo substituído pelas combinações de fármacos, dada a disseminação global de *P. falciparum* resistente à cloroquina e antifolatos, e a terapia combinada de antimaláricos é atualmente considerada como uma importante estratégia para o combate de resistência. As recomendações são que crianças e adultos com malária não complicada causada pelo *P. falciparum*, *P. falciparum* misturado com espécies não falciparum, e para *P. vivax* resistente à cloroquina, sejam tratados com terapias combinadas à base de artemisinina (ACTs) (VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

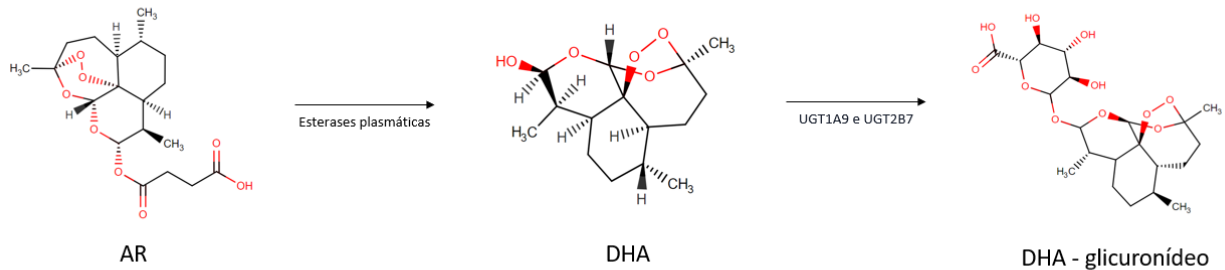
As ACTs consistem no uso simultâneo de uma combinação de um derivado da artemisinina que reduz rapidamente a parasitemia associado a um fármaco que remove os parasitas residuais por um período mais longo, sendo fármacos que possuem mecanismo de

ação independentes e diferentes alvos bioquímicos no parasito (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018). A combinação pode ser mais eficaz do que a terapia única, se os componentes exercem um efeito antimalárico sinérgico ou aditivo e há diminuição da eficácia devido à resistência a pelo menos um dos fármacos (BUKIRWA; ORTON, 2005). São representantes dos ACTs: artemeter-lumefantrina, artesunato-amodiaquina, artesunato-mefloquina, dihidroartemisinina-piperquina, artesunato-sulfadoxinepirimetamina e artesunato-pironaridina (VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020). Os tratamentos orais com ACT são eficazes de forma confiável, com poucos efeitos adversos e estão disponíveis como combinações de dose fixa (PLEWES *et al.*, 2019).

Segundo a OMS, cada país deve escolher a ACT mais adequada, levando em consideração aspectos relacionados à adesão, segurança e eficácia. No Brasil, o Ministério da Saúde orienta o tratamento e disponibiliza gratuitamente os medicamentos antimaláricos preconizados em todo o País nas unidades de saúde do Sistema Único de Saúde. As associações artemeter-lumefantrina e artesunato-mefloquina (AR-MQ) são indicadas para o tratamento da malária não complicada causada pelo *P. falciparum* e escolhido conforme a disponibilidade local. A combinação AR-MQ, desenvolvida pela Farmanguinhos/Fiocruz, em parceria com a Drugs Initiative for Neglected Diseases (DNDi), possui a vantagem de ter apenas uma administração diária, profilaxia pós-tratamento devido a maior meia-vida da mefloquina, além da apresentação pediátrica na forma de comprimido que se dissolve em água (BRASIL, 2021; PINHEIRO *et al.*, 2018). Além disso, em revisão sistemática e meta-análise realizada por Peixoto e colaboradores (2016), apresentou uma boa eficácia, com raros eventos adversos graves, não foram identificados óbitos associados ao uso do medicamento e obteve-se redução da taxa de incidência de malária por *P. falciparum* (PEIXOTO; MARCHESINI; DE OLIVEIRA, 2016).

Sobre os dois fármacos que compõem a associação, o AR (Figura 3), o representante da classe das artemisininas, tem como mecanismo de ação a capacidade química de gerar radicais livres. As artemisininas, após a reação com Fe^{2+} no eritrócito, são convertidas em radicais livres de oxigênio e de carbono, que têm atividade antiparasitária direta. Isso ocorre no vacúolo alimentar por qualquer Fe^{2+} livre ou por ferroprotoporfirina IX (heme reduzido). Mais recentemente outro mecanismo de ação foi proposto, com as artemisininas inibindo a cálcio ATPase do retículo endoplasmático do parasito (HESS; GOAD; ARGUIN, 2010; WOODROW; HAYNES; KRISHNA, 2005).

Figura 3. Estrutura química do artesunato (AR), da dihidroartemisinina (DHA) e da DHA-glicuronídeo, e enzimas responsáveis pela biotransformação.



Fonte: Adaptado de Pubchem, 2024.

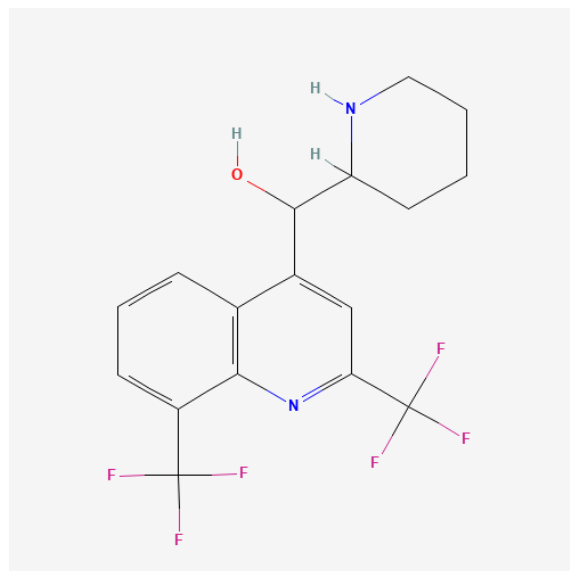
Esta classe tem a característica de eliminar todos os estágios eritrocíticos do parasito da malária, incluindo gametócitos envolvidos na transmissão de pessoa para pessoa. Além disso, as artemisininas inibem o metabolismo do parasito mais rapidamente do que outros antimaláricos e aumentam a depuração de eritrócitos infectados do baço através da redução da citoadesão. São considerados os agentes antimaláricos mais importantes em todo o Mundo devido à sua potência, rápida atividade e resolução dos sintomas, resistência limitada e boa tolerabilidade. No entanto, a sua utilização como monoterapia é limitada por meias-vidas curtas, e quando utilizado deve ser administrado com um medicamento oral em sequência (HESS; GOAD; ARGUIN, 2010).

Quanto a PK, o AR, em humanos, apresenta biodisponibilidade oral de aproximadamente 60%, e é rapidamente metabolizado no metabólito DHA, pelas esterases plasmáticas, molécula com atividade antiparasitária. A DHA então é subsequentemente metabolizada em DHA-glicuronídeo, molécula inativa, através da conjugação pelo sistema UDP-glucuronosiltransferase, com UGT1A9 e UGT2B7 (Figura 3). A DHA-glicuronídeo pode sofrer uma nova metabolização por uma via metabólica menor para formar um derivado de acetato de furano do DHA-glicuronídeo. O CYP2A6 pode contribuir ligeiramente para o metabolismo do AR (HESS; GOAD; ARGUIN, 2010; ILETT *et al.*, 2002; MORRIS *et al.*, 2011; PUBCHEM, 2023). A DHA apresenta alta biodisponibilidade oral, em torno de 82% em adultos saudáveis. A ligação às proteínas plasmáticas é em torno de 75% para o AR e 82% para a DHA, sendo que em altas concentrações a ligação as proteínas pode variar. Após a administração oral, as concentrações de AR são detectáveis precocemente, em torno de 15 minutos, com tempo para o pico máximo de concentração (T_{max}) sendo detectado na primeira hora após a dose, e sendo rapidamente eliminado, com meia-vida variando de 0,36 a 1,2 horas.

O volume de distribuição (Vd) médio é de 7 L/kg e clearance (Cl) de 20 L/kg/h (MORRIS *et al.*, 2011). Em camundongos, o pico de concentração máxima (C_{max}) é em torno de 14,13 $\mu\text{g/mL}$, Cl 0,19 L/h/kg, Vd de 0,69 L, e meia-vida de 1,39 h (ISMAIL *et al.*, 2019).

Já a MQ (Figura 4), uma quinolina, apresenta efeito antimalárico por diferentes mecanismos de ação. Pode se ligar em moléculas heme dos eritrócitos, formando o complexo heme-mefloquina, danificando, com isso, os vacúolos do parasito; causar toxicidade ao gerar espécies reativas de oxigênio no parasito; ou pela inibição da síntese de proteínas do parasito através da ligação direta ao ribossomo citoplasmático (Pf80S) do *P. falciparum* (KUMAR; GHOSH; RANJAN, 2020; MARTINS *et al.*, 2021; WONG *et al.*, 2017). É um fármaco esquizotocida e ativo contra os estágios sanguíneos de todas as espécies de malária capazes de infectar humanos (SCHLAGENHAUF *et al.*, 2010).

Figura 4. Estrutura química da mefloquina.



Fonte: Pubchem, 2023.

A MQ é um dos antimaláricos mais eficazes desde que foi descoberta (WONG *et al.*, 2017), mas embora seja geralmente bem tolerada quando combinada com AR, a MQ foi associada a um aumento na incidência de eventos adversos relacionados ao sistema nervoso central. Peixoto e colaboradores (2016) descrevem que eventos como tontura, dor de cabeça e distúrbios neuropsiquiátricos (ex. pesadelos intensos, alucinações, ansiedade e insônia) foram em sua maioria transitórios, e a baixa frequência não permite estabelecer uma associação clara entre o uso dos medicamentos e os eventos adversos (PEIXOTO; MARCHESINI; DE OLIVEIRA, 2016). Os mecanismos subjacentes aos seus efeitos neurotóxicos permanecem pouco compreendidos. Uma hipótese é que a MQ modula a liberação de neurotransmissores,

interrompe a homeostase celular gerando estresse oxidativo e prejudica a função dos canais de cálcio dependentes de voltagem e as comunicações intercelulares das junções comunicantes (MARTINS *et al.*, 2021).

A PK da MQ é caracterizada por um baixo Cl, grande Vd e, conseqüentemente, uma meia-vida terminal longa (REUTER *et al.*, 2015). Em análise não compartimental foi descrito C_{max} de 3,1 $\mu\text{g/mL}$, Vd de 13,2 L/kg, Cl de 0,04 L/h/kg, e meia vida de 10,1 dias (FERREIRA *et al.*, 2018). No estudo de Reuter e colaboradores (2015) o modelo de dois compartimentos com um compartimento de trânsito e eliminação de primeira ordem descreveu os dados de concentração-tempo da MQ. Com isso, obteve-se Cl total de 1,22 L/h, Cl intercompartimental de 1,34 L/h, Vd de 677 L, Vd do compartimento periférico de 186 L e constante de absorção (k_a) de 0,985 h^{-1} , com Vd do compartimento periférico reduzido na presença de infecção por malária (REUTER *et al.*, 2015). Em camundongos sadios é estimado C_{max} 10,2 ng/mL , T_{max} em 12h, e meia via de 33,6 h (INGRAM *et al.*, 2013).

A adição da MQ ao AR permite uma posologia mais curta, ou seja, três dias em comparação com cinco ou sete dias apenas para o AR, e também reduz as taxas de recrudescência (BUKIRWA; ORTON, 2005). A posologia recomendada da associação AR-MQ, segundo a OMS, para o tratamento de malária não complicada causada pelo *P. falciparum* é a administração de uma das duas doses fixas disponíveis, que são: artesunato 25 mg + mefloquina 50 mg e artesunato 100 mg + mefloquina 200 mg. Duas doses devem ser administradas diariamente durante três dias. Para pacientes com infecção mista por *P. falciparum* e *P. vivax* (ou *P. ovale*), o tratamento também pode ser realizado com as duas doses disponíveis, associando à primaquina por sete dias (para o tratamento radical de *P. vivax*) (BRASIL, 2021). A associação AR-MQ é utilizada em diversos países e continentes, dentre eles o Brasil, Colômbia, Cambódia, África e Ásia (WORLD MALARIA REPORT, 2022).

RESISTÊNCIA AOS ANTIMALÁRICOS

O tratamento da malária nem sempre resulta em cura. A eficácia dos medicamentos antimaláricos para ACTs e não-ACTs foram, respectivamente, de 29,6% e 36,0%, abaixo da eficácia clínica (RATHMES *et al.*, 2020). A falha do tratamento acontece quando a eliminação da parasitemia ou resolução dos sintomas clínicos não acontece apesar do uso de um medicamento antimalárico nas doses corretas, o que não equivale a resistência. Explicações alternativas para isso incluem fatores como altas densidades de parasitos (particularmente em indivíduos não imunes), baixa biodisponibilidade do medicamento, PK alterada (pacientes

obesos) e não adesão à terapia (SONDÉN et al., 2017; ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; PLEWES *et al.*, 2019).

Apesar de acontecer falhas no tratamento pelos motivos citados acima, é importante ressaltar o papel que a resistência tem na falha terapêutica. O surgimento de resistência aos antimaláricos vem sendo uma ameaça a eficácia, controle e eliminação da malária (VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020). Os ACTs eram altamente eficazes contra todos os *P. falciparum* até recentemente, quando o número de falhas no tratamento aumentou em partes do sudeste da Ásia, mesma área de onde surgiu a resistência à cloroquina e à sulfadoxina-pirimetamina (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018). A resistência é geralmente menor na malária causada por outros parasitos, embora a resistência aos antifolatos no *P. vivax* seja generalizada e altos níveis de resistência à cloroquina sejam encontrados em toda a Indonésia e Papua-Nova Guiné. Não há evidências conclusivas sobre a resistência à cloroquina em *P. malariae* (HANBOONKUNUPAKARN; WHITE, 2022; VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020).

O uso de monoterapias com artemisinina foi provavelmente um fator contribuinte. A perda do rápido efeito parasiticida dos derivados da artemisinina levou ao agravamento da resistência dos parceiros (MQ e piperaquina) e a redução da eficácia das ACTs correspondentes. A redução da morte de parasitos em infecções por malária resistentes à artemisinina coloca uma pressão maior sobre o medicamento parceiro das ACTs. Isso ocorre porque o número de parasitos que permanecem na circulação após a eliminação do componente artemisinina em um ACT é muito maior, e a probabilidade de selecionar mutantes resistentes também (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; HANBOONKUNUPAKARN; WHITE, 2022).

A resistência é caracterizada por uma eliminação mais lenta do parasito, o que reflete a redução da morte no estágio anelar, denominadas trofozoítos jovens (HANBOONKUNUPAKARN; WHITE, 2022). Polimorfismos no gene propulsor kelch13 do *P. falciparum* foram associados à resistência à artemisinina (VARO; CHACCOUR; BASSAT, 2020). No nível populacional, a resistência é confirmada quando 5% das infecções carregam mutações relacionadas ao gene kelch13 em combinação com uma meia-vida de eliminação do parasito de 5 horas ou parasitemia persistente 3 dias após o tratamento (PLEWES *et al.*, 2019). Outro mecanismo proposto é que a resistência do *Plasmodium* depende de alterações no metabolismo do heme, bem como uma perda de formação de hemozoína ligada à expressão negativa da Heme Detoxification Protein. Foi proposto que as artemisininas atuam de forma semelhante às quinolinas contra o *Plasmodium* por meio da inibição da produção de hemozoína.

Parasitas no estágio trofozoíto exposto ao AR tiveram uma diminuição acentuada nas concentrações de hemozoína (PHOMPRADIT; CHAIJAROENKUL; NA-BANGCHANG, 2017).

Diante desse cenário, a resistência aos fármacos traz o questionamento sobre a importância do investimento e da pesquisa em malária. Em 2021, o financiamento total em estudos foi estimado em US\$ 3,5 bilhões, um aumento consistente em relação aos US\$ 3,3 bilhões em 2020 e US\$ 3,0 bilhões em 2019. No entanto, o valor investido em 2021 continua abaixo do valor necessário estimado globalmente para permanecer no caminho certo para os marcos do Global Technical Strategy para a malária (WORLD MALARIA REPORT, 2022).

Sobre a pesquisa básica em malária e o desenvolvimento de novos produtos, o financiamento global foi de US\$ 626 milhões em 2021, uma redução de US\$ 54 milhões (-7,9%) em relação a 2020. Essa queda representou o terceiro ano consecutivo de declínio de financiamento desde o pico de 2018, levando o investimento principal ao nível mais baixo desde 2013. A queda foi impulsionada por grandes reduções no financiamento da indústria e do United Kingdom's Foreign, Commonwealth and Development Office (FCDO). O financiamento em Pesquisa e Desenvolvimento em malária diminuiu na maioria das categorias de produtos (WORLD MALARIA REPORT, 2022).

FARMACOMETRIA – Modelagem farmacocinética/ farmacodinâmica (PK/PD)

O contínuo entendimento sobre a eficácia do esquema AR-MQ é crucial para o auxílio na tomada de decisão sobre o regime posológico no tratamento da malária não complicada por *P. falciparum*, e para isso pode-se utilizar abordagens como a farmacometria (HUGHES *et al.*, 2021). A farmacometria pode ser definida como a ciência dos modelos quantitativos em biologia, farmacologia, e progressão de doença que descreve os comportamentos dos medicamentos em relação às suas ações, incluindo efeitos terapêuticos e tóxicos. É uma junção de áreas como a farmacologia, fisiologia, fisiopatologia, matemática, estatística e modelagem *in silico* que através do uso de software, atende aos requisitos regulatórios e terapêuticos para desenvolvimento de novos medicamentos e tomada de decisão clínica (USMAN *et al.*, 2023).

Dentro das técnicas farmacométricas, a modelagem PK/PD, é um modelo matemático que integra a relação concentração-tempo de um fármaco com sua concentração-efeito no local de ação, ajudando na seleção da melhor dose e regime posológico, fazendo previsões de sucesso, avaliando a segurança, como também ajuda a minimizar os custos dos ensaios clínicos (SCHUCK; DERENDORF, 2005). A modelagem PK/PD pode ser utilizada com dados pré-

clínicos e/ou clínicos. Com os modelos PK/PD pré-clínicos, os dados *in vitro* e *in vivo* são utilizados para extrapolar a exposição e eficácia de medicamentos para os primeiros estudos em humanos, avaliar a sinergia em combinações de fármacos e explorar o papel da resistência. Após compreender a relação entre a exposição do fármaco e o resultado do tratamento pode-se explorar por meio de simulações quais regimes de dosagem são necessários para atingir a exposição necessária ao fármaco, como também entender os efeitos da variabilidade interindividual em uma mesma dose para diferentes populações (HUGHES *et al.*, 2021).

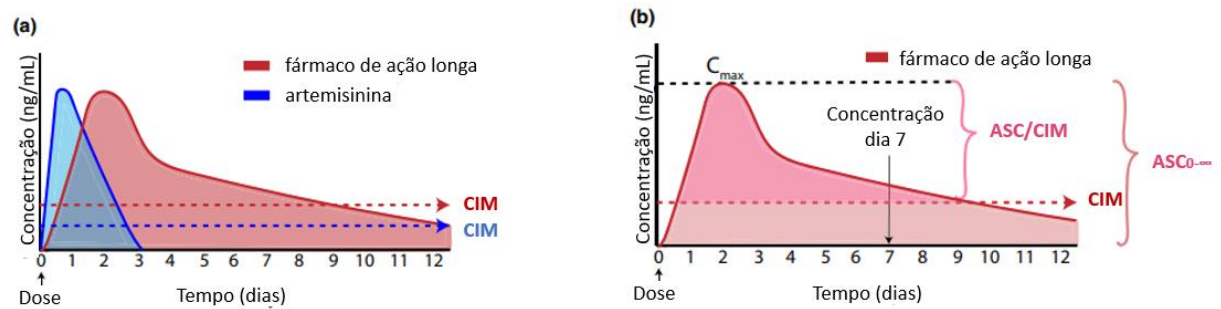
Para os fármacos antimaláricos, os modelos PK/PD são vantajosos devido a populações afetadas pela doença (crianças, grávidas e pacientes com comorbidades) serem pouco estudadas durante o desenvolvimento de medicamentos e têm características fisiológicas que frequentemente afetam tanto a PK quanto as relações exposição-resposta dos medicamentos (HUGHES *et al.*, 2021), além da interferência da gravidade da doença, disfunção de órgãos vitais, coinfeções e administração de outros medicamentos, a suscetibilidade dos parasitos aos fármacos, a carga parasitária e os mecanismos de defesa do hospedeiro (WHITE, 2013).

Para entender a relação concentração-efeito de um fármaco normalmente são utilizadas medidas típicas de exposição, que são: área sob a curva de concentração *versus* tempo (ASC), C_{max} ou o tempo em que as concentrações ficam acima da concentração inibitória mínima (ASC/CIM). Estudos das relações PK/PD para efeitos antimicrobianos mostraram que para alguns antibióticos, a morte bacteriana depende da duração a qual o antibiótico excede a CIM. Para outros antibióticos, é a C_{max} ou ASC que melhor explica a morte bacteriana. Com alguns ajustes, estes índices PK/PD podem ser aplicadas aos antimaláricos (PEREIRA *et al.*, 2022).

Para as ACTs, o componente artemisinina, o fármaco mais potente, elimina rapidamente os parasitos do estágio sanguíneo, no entanto, têm uma meia-vida muito curta e não permanecem acima da CIM além dos 3 dias padrão de dosagem. No dia 7 após tomada a dose, apenas o fármaco de longa meia vida está presente em concentrações acima da CIM, e é o responsável pela eliminação dos parasitos residuais (Figura 5). Se as concentrações forem altas o suficiente, o paciente será curado, no entanto, se essas concentrações forem muito baixas, ocorrerão infecções recorrentes (HUGHES *et al.*, 2021).

Figura 5. Perfil PK das ACTs. (a) Representação do perfil plasmático da artemisinina e do fármaco de ação longa. Depois da rápida eliminação da artemisinina, o fármaco de ação longa continua com concentração elevadas e é capaz de matar os parasitos por um período de tempo mais longo. (b) Marcadores PK preditivo do resultado do tratamento. Concentração plasmática do fármaco no dia 7 e ASC estão associados ao resultado do tratamento da

malária. O C_{max} representa a concentração máxima e a CIM a concentração mínima capaz de matar os parasitos.



Fonte: adaptado de Hughes et al, 2021.

Para a modelagem PK/PD em terapia combinada, o efeito do tratamento é resultado da integração da ação individual de cada fármaco, e torna-se necessário considerar como essas duas moléculas interagem e tem ação contra os parasitos. Existem alguns modos de ação que explicam essa relação: modo de ação independentes, a maioria das combinações de medicamentos são projetadas para conter fármacos com modos de ação independentes, e teria uma ação aditiva; dependente, onde a ação total do fármaco pode ser maior ou menor que o esperado da soma dos dois de forma independente, comumente referido como “sinergia” ou ‘antagonismo’; e modos de ação idênticos, em casos de estruturas similares, como um fármaco e seu metabólito. A interação que melhor descrever os dados é a escolhida (BRILL *et al.*, 2018; KAY; HASTINGS, 2013).

Dois modelos de referência são amplamente empregados para quantificar a atividade conjunta de fármacos antibacterianos, o “Bliss independence model” e “Loewe additivity model”, que utilizam diferentes suposições e interpretações de sinergia. O Bliss independence model usa a teoria probabilística para modelar o efeito combinado de dois antibióticos, assumindo que nenhum dos fármacos afeta o outro, então o efeito é igual à soma dos efeitos esperados, ou seja, são aditivos:

$$efeito = E_0 - \left(\frac{Emax_A \times D_A^{H_A}}{E_{50_A}^{H_A} + D_A^{H_A}} + \frac{Emax_B \times D_B^{H_B}}{E_{50_B}^{H_B} + D_B^{H_B}} \right)$$

onde, o efeito do fármaco A em combinação com o fármaco B pode ser modelada usando um modelo do tipo Hill, em que D_A e D_B são concentrações dos fármacos, E_0 , o efeito da linha de base; $Emax_A$ e $Emax_B$ (efeito máximo do fármaco, potência); EC_{50_A} e EC_{50_B} (concentrações de

fármaco que produz 50% do efeito máximo, sensibilidade); e H_A e H_B , coeficientes de Hill que descrevem a inclinação da relação entre A e B (RAO *et al.*, 2018).

Já o Loewe additivity model assume que os fármacos utilizados em combinação atuam no mesmo alvo através de um mecanismo de ação semelhante, com isso um E_{max} , E_0 e H são parecidos, e os fármacos diferem em sua sensibilidade (EC_{50}). O efeito conjunto E de uma combinação de fármacos aditivos, onde D_m é a exposição média ao efeito; o EC_{50} “combinado” é o valor de D resultando em efeito igual à metade de E_{max} :

$$E = E_0 - \frac{Emax \times D^H}{D_m^H + D^H} = E_0 - \frac{Emax_B \times \left(\frac{D}{D_m}\right)^H}{1 + \left(\frac{D}{D_m}\right)^H}$$

O Loewe additivity model é incapaz de acomodar fármacos com valores muito diferentes de E_{max} ou H . Há algumas limitações nestes modelos para a descrição do efeito em doenças infecciosas, já que ele não consegue reconhecer ou explicar a presença de múltiplas subpopulações bacterianas com diferentes suscetibilidades, por exemplo; quantificar ou interpretar o mecanismo de interação (sinergia/antagonismo); e, não podem acomodar mutações espontâneas (RAO *et al.*, 2018).

Na farmacometria existe diversos modelos que podem descrever o efeito de fármacos. Entre eles estão o modelo de efeito fixo, linear, log-linear, modelo de efeito máximo (E_{max}) e efeito máximo sigmoidal (E_{max} sigmoidal), sendo os dois últimos os mais utilizados na modelagem PK/PD (PEREIRA *et al.*, 2022). Para fármacos antimaláricos, na relação concentração-efeito, o efeito é a morte dos parasitos, que pode ser medida de diferentes maneiras. O E_{max} é a morte máxima parasitária que um fármaco pode produzir, o que se traduz *in vivo* na taxa máxima de redução de parasitos. A EC_{50} é a concentração do fármaco no sangue ou plasma que proporciona 50% da morte máxima (WHITE, 2013). Então a equação de E_{max} sigmoidal se modifica para:

$$k = k_{max} \times \left(\frac{C^n}{EC_{50}^n + C^n}\right)$$

onde k é a taxa de morte do parasito e k_{max} é a taxa máxima de morte do parasito (ou seja, o efeito máximo (E_{max}) para aquele fármaco na infecção, C é a concentração do fármaco no sangue ou plasma, EC_{50} é a concentração no sangue/plasma que resulta em 50% do efeito

máximo, e n é um parâmetro que define a inclinação da relação dose-resposta, equivalente ao Hill (WHITE, 2013).

Na literatura há escassos estudos de modelagem PK/PD de associação de fármacos antimaláricos. Os estudos existentes abordam sobre a relação do efeito-tempo apenas do fármaco isolado, ou são modelos semi-mecanístico e estudos *in silico*.

Para a análise do efeito combinado dos antibióticos meropenem e colistina, Mohamed et al, 2016 utilizou a equação:

$$k_{drug} = k_{drug,M} \times \left(1 + \frac{k_{drug,C}}{k_{drug,C} + k_{drug,M}} \right)^{Int} + k_{drug,C} \times \left(1 + \frac{k_{drug,M}}{k_{drug,M} + k_{drug,C}} \right)^{Int}$$

onde k_{drug} é a constante da taxa de morte da associação de colistina (C) e meropenem (M) isolados e o efeito da interação (Int). Um valor Int igual a zero sugere nenhuma interação, um valor positivo sugere um efeito maior do que esperado (sinergia) e um valor negativo sugere um efeito menor do que esperado (indiferença ou antagonismo) (MOHAMED *et al.*, 2016).

No estudo de Saeheng e Na-bangchang (2023), foi desenvolvido um modelo PK/PD para a MQ frente ao *P. falciparum* sensível e resistente em pacientes, com o objetivo de investigar regimes posológicos alternativos para a associação de fármacos. Os dados PK foram oriundos de pacientes com malária não complicada que utilizaram a associação AR-MQ durante 3 dias, o IC_{50} foi determinado refletindo a susceptibilidade do parasito e a eficácia do fármaco. Os parâmetros PK foram estimados, e o modelo PD foi avaliado usando o modelo E_{max} (turn-over rate) com inibição da produção, e corrigido com a fração livre do fármaco (f_u) no plasma e tecido:

$$\frac{d(\text{parasito})}{d(t)} = K_{in} \times \left(\frac{1 - C \times f_u}{C \times f_u + IC_{50} \times f_u} \right) - K_{out} \times \text{parasito}$$

onde, $d(\text{parasito})$ é o número de parasito em função do tempo, $d(t)$; C , concentração plasmática do fármaco; IC_{50} é concentração que inibe o crescimento do parasito em 50%; K_{in} é um modelo turn-over indireto com inibição total da produção de parasito; K_{out} é a taxa de morte do parasito. Porém, este estudo não inclui o efeito do AR e da DHA, para a eliminação do parasito (SAEHENG; NA-BANGCHANG, 2023).

Diante do que foi exposto, é perceptível a falta de estudos que desenvolveram um modelo PK/PD para a associação AR-MQ, onde os resultados dos experimentos tanto PK e PD

foram obtidos após a administração dos dois fármacos em associação. Com isso, o objetivo do projeto é desenvolver um modelo PK/PD da associação AR-MQ para ser possível avaliar o efeito ao longo do tempo dos fármacos frente ao *P. berghei*, além de avaliar a sobrevivência dos animais após administração dos fármacos. Para compor esse modelo, a análise de infecções por malária pré-clínico, com camundongos, permite a caracterização PK/PD e fornecem informações úteis na previsão de respostas terapêuticas em pacientes. Além disso, caracterizar o modo de ação da ACTs pode ser útil para determinar se a dose combinada prevista a partir dos estudos individuais requer ajuste.

Modelagem PK/PD do efeito da associação artesunato-mefloquina em modelo de malária pré-clínico

Valdeene Vieira Santos^{1,2}, Laiz Campos Pereira^{1,2}, Aline Lorena Lourenço dos Santos Miranda², Helenita Costa Quadros³, Diogo Rodrigo Magalhães Moreira², Francine Johansson Azeredo^{4*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador (BA) Brasil.

² Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brasil.

³ Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS III), Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Juazeiro, Brasil.

⁴ Center for Pharmacometrics & System Pharmacology, College of Pharmacy, University of Florida, Orlando, FL, United States.

* Correspondente:

Francine Johansson Azeredo

francinej@ufl.edu

Resumo

O objetivo deste estudo foi estabelecer um modelo farmacocinético/farmacodinâmico (PK/PD) populacional relacionando a parasitemia a concentração plasmática total da terapia combinada artesunato (AR) + mefloquina (MQ) para a inibição da parasitemia em camundongos infectados por *Plasmodium berghei*. Camundongos Swiss infectados com *P. berghei* foram divididos aleatoriamente em grupo controle e tratado, que receberam 100 mg/kg de AR + 55 mg/kg de MQ por via oral, dose única, e foi coletado amostras de plasma para análise PK e avaliados a % de parasitemia para análise de efeito PD. A análise PK/PD foi conduzido usando MonolixSuite™ versão 2024R1 por meio do método mixed-effects models. O perfil de concentração *versus* tempo do AR e MQ foram descritos por um modelo de 1 compartimento, constante de absorção (k_a) para o AR e absorção de ordem zero (Tk_0) para a MQ, com eliminação linear para ambos. Um modelo turnover de inibição descreveu a curva de efeito no tempo adequadamente, com estimativa das constantes k_{prol} e k_{death} de 26,36 e 0,024 h⁻¹, respectivamente, IC₅₀ 42,34 µg/mL e I_{max} 333,34 para o AR e IC₅₀ de 0,086 µg/mL e I_{max} 1,42 para MQ. Como conclusão, este estudo desenvolveu um modelo PK/PD para a descrição da curva de efeito-tempo após administração única da associação AR-MQ em camundongos infectados por *P. berghei*, tendo potencial de aplicação do modelo para futuras investigações pré-clínicas.

Palavras-chave: Malária, modelagem farmacocinética/farmacodinâmica, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium falciparum*, terapia combinada, artesunato, mefloquina.

A time-to-event analysis in the survival of *Plasmodium berghei*-infected mice treated with an artesunate-mefloquine association

Valdeene Vieira Santos^{1,2}, Laiz Campos Pereira^{1,2}, Aline Lorena Lourenço dos Santos Miranda², Helenita Costa Quadros³, Diogo Rodrigo Magalhães Moreira², Francine Johansson Azeredo^{4*}

¹Pharmacy Post Graduate Program, College of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil.

²Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil.

³Department of Technology and Social Sciences (DTCS III), Bioprocess Engineering and Biotechnology, Juazeiro, Brazil.

⁴Center for Pharmacometrics & System Pharmacology, College of Pharmacy, University of Florida, Orlando, FL, United States.

* Correspondence:
Francine Johansson Azeredo
francinej@ufl.edu

Manuscrito submetido à revista Frontiers in Tropical Diseases

Keywords: Survival analysis¹, malaria², *Plasmodium berghei*³, *Plasmodium falciparum*⁴, antimalarial drug combinations⁵.

Abstract

Artesunate-mefloquine combination therapy (AR-MQ) is a standard therapy for treating uncomplicated malaria by *Plasmodium falciparum*. Time-to-event (TTE) analysis is used to describe the occurrence and timing of events by yielding information about the risk of an event occurring during a specific period. Therefore, the aim of the present study is to evaluate the efficacy of AR-MQ combination therapy on the survival time of *Plasmodium berghei*-infected mice using TTE analysis. Here, TTE analysis was used to analyze *P. berghei*-infected mice receiving a single oral dose of 100 mg/kg artesunate and 55 mg/kg mefloquine or dose-matched artesunate monotherapy. Median survival was higher for AR-MQ than for monotherapy. A survival analysis to evaluate the influence of treatment on survival was performed using MonolixSuite™. The mortality curve of the data was best described by the Weibull model. Subsequent analysis identified that AR-MQ had a significant influence on population survival time (Te_{pop}), estimated at 13.66 days, population parameter for curve fitting (p_{pop}) at 4.39, and survival time under AR-MQ treatment (beta Te_{AR-MQ}) at 0.77 days. The probability of survival 7, 15, and 30 days after treatment with AR-MQ was 94.4%, 88.9%, and 14.9%, respectively. The experimental and modeling data both found that AR-MQ combination therapy yielded increased survival of infected animals.

A malária é uma doença infecciosa febril aguda, causada por protozoários do gênero *Plasmodium* que apesar de poder ser tratada e evitada, ainda ocasiona um alto índice de mortalidade no mundo (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2013). E apesar dos avanços na quimioterapia antimalárica, as posologias são geralmente empíricas e abaixo do ideal em alguns ambientes clínicos (PATEL et al., 2015).

A eficácia de compostos/fármacos antimaláricos pode ser avaliada por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*. Para realizar os testes pré-clínicos *in vivo* é necessárias modelos experimentais que possam reproduzir a patogênese da malária e quadro clínico da infecção. O modelo em roedor é uma solução para os estudos *in vivo*, já que se mostram semelhantes em fisiologia, ciclo de vida e estrutura dos parasitos da malária humana e pode ajudar a compreender a sua biologia e patogênese (HARRIS *et al.*, 2012; RAZ, 2022). Com os dados obtidos nos ensaios pré-clínicos é possível utilizar a farmacometria, com seus modelos matemáticos e estatísticos, para descrever e entender a eficácia e o efeito dos fármacos, facilitando a tradução dos resultados dos ensaios pré-clínicos para os clínicos, e também fornecendo uma base teórica sobre a eficácia (ATCHESON; BAUZA; REYES-SANDOVAL, 2019; BANDEIRA; PINTO; CARNEIRO, 2023).

Para a malária, a principal preocupação terapêutica é a velocidade de morte do parasito e reduzir a sua multiplicação, então para o tratamento com um antimalárico a morte do parasito *in vivo* se aproxima de um processo de primeira ordem:

$$P_t = P_0 \times e^{-kp \times t} \quad (2)$$

onde P_t é o nível de parasitemia em qualquer momento t após o início do tratamento, P_0 é o nível de parasitemia imediatamente antes do início do tratamento e kp é a constante da taxa de eliminação do parasito de primeira ordem (WHITE, 2013).

Uma compreensão PK e PD dos fármacos é um elemento essencial para o desenvolvimento de diretrizes de dosagem otimizada, já que os modelos PK/PD podem auxiliar em simulações e racionalização de terapias (PATEL et al., 2015). E, além da modelagem PK/PD, outra modelagem farmacométrica que também pode ser utilizada com dados *in vivo* dos antimaláricos é a análise TTE. O TTE ou análise de sobrevivência é uma abordagem usada para descrever, explicar e/ou prever a ocorrência e o momento de eventos, sendo altamente informativa quando usada adequadamente para produzir informações importantes sobre o risco

de um evento acontecer durante um período específico de tempo (DENFELD; BURGER; LEE, 2023).

Neste trabalho, foram obtidos os perfis de concentração plasmática *versus* tempo após a administração da associação AR-MQ em camundongos infectados por *P. berghei* e desenvolvido modelo PK/PD para correlacionar essas concentrações a parasitemia ao longo do tempo. O modelo que melhor descreveu os dados foi o I_{max} indireto, no qual foi possível estimar os parâmetros de I_{max} e IC_{50} dos fármacos, mostrando que a MQ é mais potente quando comparado ao AR. Além disso, a análise TTE identificou que a associação AR-MQ teve influência significativa na sobrevivência dos animais, quando comparado com o AR monoterapia.

Com isso, pode-se concluir que o modelo PK/PD e o modelo de sobrevivência TTE desenvolvidos para descrever a ação antimalárica e sobrevivência dos animais após administração da associação AR-MQ frente ao *P. berghei* foi adequado, tendo potencial de aplicação para futuras investigações pré-clínicas e clínicas.

REFERÊNCIAS

- ANDREWS, K. A. *et al.* Model-Informed Drug Development for Malaria Therapeutics. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, [S. l.], v. 58, p. 567–582, 2018.
- ASHLEY, E. A.; PYAE PHYO, A.; WOODROW, C. J. Malaria. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 391, n. 10130, p. 1608–1621, 21 abr. 2018.
- ASHLEY, E. A.; WHITE, N. J. Artemisinin-based combinations. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [S. l.], v. 18, n. 6, p. 531–536, dez. 2005.
- ATCHESON, E.; BAUZA, K.; REYES-SANDOVAL, A. A probabilistic model of pre-erythrocytic malaria vaccine combination in mice. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. e0209028, 9 jan. 2019.
- AUTINO, B. *et al.* Epidemiology of malaria in endemic areas. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. e2012060, 2012.
- BANDEIRA, L. C.; PINTO, L.; CARNEIRO, C. M. Pharmacometrics: The Already-Present Future of Precision Pharmacology. **Therapeutic Innovation & Regulatory Science**, [S. l.], v. 57, n. 1, p. 57–69, jan. 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico de malária. Boletim epidemiológico, Brasil, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/situacao-epidemiologica-da-malaria-1/boletins-epidemiologicos-de-malaria/boletim-epidemiologico-vol-53-no17-2022-panorama-epidemiologico-da-malaria-em-2021-buscando-o-caminho-para-a-eliminacao-da-malaria-no-brasil>. Acesso em: 19 maio 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de tratamento da malária no Brasil 2º edição, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/malaria/tratamento/guia_tratamento_malaria_2nov21_isbn_site.pdf/view. Acesso em: 22 jan. 2024.
- BRILL, M. J. E. *et al.* Semi-mechanistic pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of antibiotic drug combinations. **Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 24, n. 7, p. 697–706, jul. 2018.
- BUKIRWA, H.; ORTON, L. Artesunate plus mefloquine versus mefloquine for treating uncomplicated malaria. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, [S. l.], v. 2005, n. 4, p. CD004531, 19 out. 2005.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Malaria - About Malaria – Biology, 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>. Acesso em: 15 maio 2023.
- CZOCK, D.; KELLER, F. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of antimicrobial drug effects. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**, [S. l.], v. 34, n. 6, p. 727–751, dez. 2007.

- DENFELD, Q. E.; BURGER, D.; LEE, C. S. Survival analysis 101: an easy start guide to analysing time-to-event data. **European Journal of Cardiovascular Nursing**, [S. l.], v. 22, n. 3, p. 332–337, 12 abr. 2023.
- FERREIRA, M. V. D. *et al.* Pharmacokinetics of mefloquine administered with artesunate in patients with uncomplicated falciparum malaria from the Brazilian Amazon basin. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 268, 16 jul. 2018.
- FIKADU, M.; ASHENAFI, E. Malaria: An Overview. **Infection and Drug Resistance**, [S. l.], v. 16, p. 3339–3347, 2023.
- GLOBAL REPORT ON ANTIMALARIAL EFFICACY AND DRUG RESISTANCE: 2000-2010. [s. d.]. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241500470>. Acesso em: 19 dez. 2023.
- GREGSON, A.; PLOWE, C. V. Mechanisms of resistance of malaria parasites to antifolates. **Pharmacological Reviews**, [S. l.], v. 57, n. 1, p. 117–145, mar. 2005.
- HANBOONKUNUPAKARN, B.; WHITE, N. J. Advances and roadblocks in the treatment of malaria. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 88, n. 2, p. 374–382, fev. 2022.
- HARRIS, J. V. *et al.* Sequential Plasmodium chabaudi and Plasmodium berghei infections provide a novel model of severe malarial anemia. **Infection and Immunity**, [S. l.], v. 80, n. 9, p. 2997–3007, set. 2012.
- HESS, K. M.; GOAD, J. A.; ARGUIN, P. M. Intravenous artesunate for the treatment of severe malaria. **The Annals of Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 44, n. 7–8, p. 1250–1258, 2010.
- HUGHES, E. *et al.* Malaria PK/PD and the Role Pharmacometrics Can Play in the Global Health Arena: Malaria Treatment Regimens for Vulnerable Populations. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, [S. l.], v. 110, n. 4, p. 926–940, out. 2021.
- ILETT, K. F. *et al.* Glucuronidation of dihydroartemisinin in vivo and by human liver microsomes and expressed UDP-glucuronosyltransferases. **Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals**, [S. l.], v. 30, n. 9, p. 1005–1012, set. 2002.
- INGRAM, K. *et al.* Disposition of mefloquine and enpiroline is highly influenced by a chronic Schistosoma mansoni infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 9, p. 4506–4511, set. 2013.
- ISMAIL, M. *et al.* Artesunate-heparin conjugate based nanocapsules with improved pharmacokinetics to combat malaria. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 562, p. 162–171, 1 maio 2019.
- KAY, K.; HASTINGS, I. M. Improving pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling to investigate anti-infective chemotherapy with application to the current generation of antimalarial drugs. **PLoS computational biology**, [S. l.], v. 9, n. 7, p. e1003151, 2013.
- KUMAR, A.; GHOSH, D. K.; RANJAN, A. Mefloquine binding to human acyl-CoA binding protein leads to redox stress-mediated apoptotic death of human neuroblastoma cells. **Neurotoxicology**, [S. l.], v. 77, p. 169–180, mar. 2020.

- MAO, W. *et al.* Scaling malaria interventions: bottlenecks to malaria elimination. **BMJ global health**, [S. l.], v. 8, n. 11, p. e013378, nov. 2023.
- MARTINS, A. C. *et al.* Review of the mechanism underlying mefloquine-induced neurotoxicity. **Critical Reviews in Toxicology**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 209–216, mar. 2021.
- MEIBALAN, E.; MARTI, M. Biology of Malaria Transmission. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. a025452, 1 mar. 2017.
- MILNER, D. A. Malaria Pathogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. a025569, 2 jan. 2018.
- MOHAMED, A. F. *et al.* Dynamic interaction of colistin and meropenem on a WT and a resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* as quantified in a PK/PD model. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], v. 71, n. 5, p. 1279–1290, maio 2016.
- MORRIS, C. A. *et al.* Review of the clinical pharmacokinetics of artesunate and its active metabolite dihydroartemisinin following intravenous, intramuscular, oral or rectal administration. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 10, p. 263, 13 set. 2011a.
- NEVES, D. P. Parasitologia humana. - 13. ed. -- São Paulo: **Editora Atheneu**, 2016.
- OLLIARO, P. Mode of action and mechanisms of resistance for antimalarial drugs. **Pharmacology & Therapeutics**, [S. l.], v. 89, n. 2, p. 207–219, fev. 2001.
- OPAS; OMS. Organização Pan-Americana Da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/malaria>. Acesso em: 19 dez. 2023.
- PATEL, K. *et al.* Modelling the time course of antimalarial parasite killing: a tour of animal and human models, translation and challenges. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 79, n. 1, p. 97–107, jan. 2015.
- PEIXOTO, H. M.; MARCHESINI, P. B.; DE OLIVEIRA, M. R. F. Efficacy and safety of artesunate-mefloquine therapy for treating uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria: systematic review and meta-analysis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 110, n. 11, p. 626–636, nov. 2016.
- PEREIRA, L. C. *et al.* Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling and Application in Antibacterial and Antifungal Pharmacotherapy: A Narrative Review. **Antibiotics**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 986, 22 jul. 2022.
- PHOMPRADIT, P.; CHAIJAROENKUL, W.; NA-BANGCHANG, K. Cellular mechanisms of action and resistance of *Plasmodium falciparum* to artemisinin. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 116, n. 12, p. 3331–3339, dez. 2017.
- PIMENTEL, L. *et al.* Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira De Ciências Farmaceuticas - RBCF**, [S. l.], v. 43, 1 dez. 2007.
- PINHEIRO, L. C. S. *et al.* Current Antimalarial Therapies and Advances in the Development of Semi-Synthetic Artemisinin Derivatives. **Anais Da Academia Brasileira De Ciências**, [S. l.], v. 90, n. 1 Suppl 2, p. 1251–1271, 2018.

- PLEWES, K. *et al.* Malaria: What's New in the Management of Malaria? **Infectious Disease Clinics of North America**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 39–60, mar. 2019.
- PUBCHEM. Artesunate. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6917864>. Acesso em: 7 jan. 2024a.
- PUBCHEM. Artesunic acid. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6917864>. Acesso em: 14 maio 2023b.
- RABINOVICH, R. N. *et al.* malERA: An updated research agenda for malaria elimination and eradication. **PLoS Medicine**, [S. l.], v. 14, n. 11, p. e1002456, 30 nov. 2017.
- RAO, G. G. *et al.* Assessment and modelling of antibacterial combination regimens. **Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 24, n. 7, p. 689–696, jul. 2018.
- RATHMES, G. *et al.* Global estimation of anti-malarial drug effectiveness for the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria 1991-2019. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 374, 20 out. 2020.
- RAZ, A. Plasmodium berghei Infection in BALB/c Mice Model as an Animal Model for Malaria Disease Research. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, [S. l.], v. 2410, p. 589–595, 2022.
- REUTER, S. E. *et al.* Population pharmacokinetics of orally administered mefloquine in healthy volunteers and patients with uncomplicated Plasmodium falciparum malaria. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], v. 70, n. 3, p. 868–876, mar. 2015.
- SAEHENG, T.; NA-BANGCHANG, K. Prediction of improved antimalarial chemotherapy of artesunate-mefloquine in combination with mefloquine sensitive and resistant Plasmodium falciparum malaria. **PloS One**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. e0282099, 2023.
- SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; MOSQUEIRA, V. C. F. Nanotechnology applied to the treatment of malaria. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. l.], v. 62, n. 4–5, p. 560–575, 18 mar. 2010.
- SCHLAGENHAUF, P. *et al.* The position of mefloquine as a 21st century malaria chemoprophylaxis. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 9, p. 357, 9 dez. 2010.
- SCHUCK, E. L.; DERENDORF, H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of anti-infective agents. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 361–373, jun. 2005.
- SMITHUIS, F. *et al.* Effectiveness of five artemisinin combination regimens with or without primaquine in uncomplicated falciparum malaria: an open-label randomised trial. **The Lancet. Infectious Diseases**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. 673–681, out. 2010.
- SONDÉN, K. *et al.* High Rate of Treatment Failures in Nonimmune Travelers Treated With Artemether-Lumefantrine for Uncomplicated Plasmodium falciparum Malaria in Sweden: Retrospective Comparative Analysis of Effectiveness and Case Series. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 64, n. 2, p. 199–206, 15 jan. 2017.

TRIPATHI, H. *et al.* Malaria therapeutics: are we close enough? **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 130, 14 abr. 2023.

USMAN, M. *et al.* Pharmacometrics: A New Era of Pharmacotherapy and Drug Development in Low- and Middle-Income Countries. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 2023, p. 3081422, 2023.

VARO, R.; CHACCOUR, C.; BASSAT, Q. Update on malaria. **Medicina Clinica**, [S. l.], v. 155, n. 9, p. 395–402, 13 nov. 2020.

WELLS, S.; DIAP, G.; KIECHEL, J.-R. The story of artesunate-mefloquine (ASMQ), innovative partnerships in drug development: case study. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 12, p. 68, 21 fev. 2013.

WHITE, N. J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in antimalarial dose optimization. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 57, n. 12, p. 5792–5807, dez. 2013.

WHITE, N. J. Severe malaria. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 284, 6 out. 2022.

WINSTANLEY, P. Modern chemotherapeutic options for malaria. **The Lancet. Infectious Diseases**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 242–250, nov. 2001.

WONG, W. *et al.* Mefloquine targets the Plasmodium falciparum 80S ribosome to inhibit protein synthesis. **Nature Microbiology**, [S. l.], v. 2, p. 17031, 13 mar. 2017.

WOODROW, C. J.; HAYNES, R. K.; KRISHNA, S. Artemisinins. **Postgraduate Medical Journal**, [S. l.], v. 81, n. 952, p. 71–78, fev. 2005.

World malaria report 2022. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>. Acesso em: 16 abr. 2023.

World malaria report 2023. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

ZALOUMIS, S. *et al.* Assessing the utility of an anti-malarial pharmacokinetic-pharmacodynamic model for aiding drug clinical development. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 11, p. 303, 30 ago. 2012.

ZHANG, L. *et al.* Pharmacodynamic Parameters of Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) Integration Models. **Frontiers in Veterinary Science**, [S. l.], v. 9, p. 860472, 24 mar. 2022.

ANEXO A – Certificado de aprovação CEUA



Comissão de Ética no Uso de Animais – IGM / FIOCRUZ

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

PROTOCOLO: 015-2022

PROJETO: “MODELAGEM FARMACOCINÉTICA / FARMACODINÂMICA DA ASSOCIAÇÃO ARTESUNATO E MEFLOQUINA”

COORDENADOR: Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira

Quantitativo de Animais Aprovados	
Espécie/Linhagem	Nº de Animais
Camundongo heterogênico Suiço 4-6 semanas 19-22g	185 MF
Camundongo isogênico Nude 4-6 semanas 14-20	75 MF
Total	260 MF

Certificamos que na presente versão este projeto está de acordo com os princípios de ética na pesquisa com animais adotado pela Lei 11.784/2008, foi aprovado e licenciado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-IGM) em 01/11/2022 e tem validade até 01/11/2024

The present version of the above referenced project agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by the Brazilian law 11.784/2008 and was approved and licensed by the ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH of the IGM-FIOCRUZ at 11/01/2022, being valid until 11/01/2024.

ENVIO DOS RELATÓRIOS PARCIAL E FINAL NOS PRAZOS ESTABELECIDOS ABAIXO:

Vigência: 01/11/2022 a 01/11/2024

Relatório Parcial: 01/11/2023

Relatório Final: 01/11/2024

Salvador, 01 de novembro de 2022

Natália Machado Tavares

Natália Machado Tavares
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Gonçalo Moniz - FIOCRUZ

ANEXO B – Comprovante de submissão do manuscrito 2

Your manuscript submission - 1454252

Frontiers In Tropical Diseases Editorial Office
<tropicaldiseases.editorial.office@frontiersin.org>

Seg, 24/06/2024 15:08

Para:Valdeene Vieira Santos <enevieira@hotmail.com>

Dear Dr Vieira Santos

We are pleased to inform you that we have received the manuscript "A time-to-event analysis of the survival of Plasmodium berghei-infected mice treated with artesunate-mefloquine combination therapy" to be considered for publication in Frontiers in Tropical Diseases, section Major Tropical Diseases.

You can access the review forum and track the progress of your manuscript using the following link:

<https://www.frontiersin.org/Journal/MySubmission.aspx?stage=100>

If you have already created a Frontiers account using a different email address, please add this one as a secondary email to your Frontiers profile following this link:

<https://loop.frontiersin.org/settings/email>

For any questions on the above, you can contact support@frontiersin.org

You will receive a notification as soon as the interactive review forum is activated and you receive access the review reports. You will then be able to interact directly with the reviewers in the interactive review forum and also re-submit a revised manuscript. If the required number of reviewers endorse your manuscript in the Independent Review stage, their tabs will be closed and the manuscript will be forwarded to the Review Finalized stage, where you will be able to interact with the handling editor via the Editor tab.

Please note that in line with our authorship policy (<https://www.frontiersin.org/guidelines/policies-and-publication-ethics#:~:text=Changes%20in%20authorship>), the version of the authors' list that appears in the submission system at this stage is considered final except in exceptional circumstances, for example when the revision process requires additional expertise. If you need to change the author list at any stage of the review process, please submit and authorship change form to the editorial office using the authorship change form (https://www.frontiersin.org/files/pdf/Authorship_change_form_CRediT.pdf). Changes to the author list in the uploaded manuscript files will not be recognized.

Best regards,

Your Frontiers in Tropical Diseases Team,

Frontiers | Editorial Office - Collaborative Peer Review Team
www.frontiersin.org
Avenue du Tribunal Fédéral 34
1005 Lausanne Switzerland

For technical issues please contact our IT Helpdesk (support@frontiersin.org) or visit our Frontiers Help Center (helpcenter.frontiersin.org)

-----MANUSCRIPT DETAILS-----

Manuscript title: A time-to-event analysis of the survival of Plasmodium berghei-infected mice treated with artesunate-mefloquine combination therapy

Manuscript ID: 1454252

Submitted By: Francine Johansson Azeredo

Authors: Valdeene Vieira Santos, Laiz Campos Pereira, Aline Lorena dos Santos Miranda, Helenita Quadros, Diogo Magalhães Moreira and Francine Johansson Azeredo

Journal: Frontiers in Tropical Diseases, section Major Tropical Diseases

Article type: Brief Research Report

Submitted on: 24 Jun 2024

-----ADDITIONAL INFORMATION-----

In order to enable a smooth and efficient review process, please familiarize yourself with the Frontiers review guidelines:

https://www.frontiersin.org/Journal/ReviewGuidelines.aspx?s=2311&name=major_tropical_diseases

To take part in the Resource Identification Initiative please cite antibodies, genetically modified organisms, software tools, data, databases and services using the corresponding catalog number and RRID in the text of your article. Please see here for more information: https://www.frontiersin.org/files/pdf/letter_to_author.pdf

If you encounter any technical issue, contact support@frontiersin.org, with dukRkCG9sQDC0hm as reference.

APENDICE A – Material suplementar

MODELAGEM PK/PD PARA CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DA ASSOCIAÇÃO
ARTESUNATO-MEFLOQUINA EM MODELO DE MALÁRIA PRÉ-CLÍNICO

APÊNDICE B – Artigos publicados

Figura 5S. Artigo de revisão publicado durante o doutorado.

CRITICAL REVIEWS IN BIOTECHNOLOGY
2021, VOL. 41, NO. 2, 229–248
<https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1874283>

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

REVIEW ARTICLE Check for updates

A patent review of antibiofilm fungal drugs (2002-present)

Mairim Russo Serafini^{a*}, Valdeene Vieira Santos^{b*}, Bruna Gaelzer Silva Torres^c, Francine Johansson Azeredo^b, Flávia Medeiros Savi^d and Izabel Almeida Alves^b

^aDepartment of Pharmacy, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, Brazil; ^bPharmacy Graduate Program, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ^cPharmaceutical Sciences Graduate Program, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ^dCentre in Regenerative Medicine, Institute of Health and Biomedical Innovation, Queensland University of Technology, Brisbane, Australia

ABSTRACT
Fungal biofilms, such as *Candida albicans* biofilms, are capable of surviving in hostile environments owing to their remarkable ability to adhere to surfaces and their tolerance to chemical interventions. Currently, therapeutic treatment options are few, making these biofilm-based infections problematic particularly due to their great tolerance to conventional antimicrobial drugs, thus causing serious health and economic problems. Therefore, the development of new drugs and antibiofilm specific therapies for the prevention and treatment of antifungal to eradicate biofilms are needed. This study was aimed at carrying out a patent review analysis to identify the innovation trends, and to explore the latest antifungal drugs and the specific therapeutic strategies available for the treatment of fungal biofilms. The present patent review was carried out using the Espacenet database, using the key words "biofilm and antifungal," from 2002 to December 2019. Through this review, it was possible to identify that most of the patent contents refer to new synthetic drugs derived from natural products and associations thereof with existing antifungal drugs. Methods and biomaterials for the treatment and prevention of fungal biofilms, mainly for *C. albicans* biofilms, which is the most isolated and studied fungal species, were also disclosed. The lack of scientific and technical information on the biofilm eradication subject is remarkable and further confirmed by the small number of patents identified in this survey.

ARTICLE HISTORY
Received 7 January 2021
Accepted 7 January 2021

KEYWORDS
Fungal biofilms; *Candida albicans*; patents; antifungals; biofilms; treatment

Introduction

Biofilms are the predominant nature of most microbial lives, in which microorganisms are enclosed in a polysaccharides-rich extracellular matrix forming a complex three-dimensional architecture that develops on living or inert surfaces [1,2]. Fungal biofilm formation is a pathogenic attribute of some yeasts, which allows such microorganisms to survive in hostile environments by enhancing their ability to adhere to surfaces. Bonhomme and d'Enfert [3], investigating recent advances in the characterization of fungal biofilms, states that up to 80% of all of microorganisms living in a biofilm community are attached to a surface, and about 65–80% of most of human infections are caused by pathogenic biofilms.

In the last few decades, the incidence of nosocomial fungal infections has been dramatically increased due to the growing number of immunocompromised patients, mostly because of chronic diseases, including cancer and transplantation. Santos et al. [4] also reported that more than one million cases of nosocomial infections are associated with the use of biomedical devices annually. The introduction of a foreign body and its inherent biofilm-associated colonization, particularly when inserting medical devices, has substantial effects on patient's morbidity and mortality. Once fungal cells invade tissues in contact with medical devices or spread to the bloodstream, systemic infections can occur [5]. *Candida albicans* is reported to be the most frequent species associated with biofilm formation on medical devices [6] and the fourth most common hospital-acquired bloodstream infection [7].

Effective antifungal treatment options are scarce, and antifungal drug resistance is a major clinical challenge [3,8]. Several antifungal drug resistance key factors, including an increased expression of efflux pump proteins, plasma membrane composition modifications, and the extracellular matrix produced itself, participate

CONTACT Izabel Almeida Alves izabelalmeidaalves@gmail.com Street Barão de Jeremoabo, 147, 2nd Floor, Room C, Ondina, Salvador 40170-115, Brazil
*These authors contributed equally to this work.
© 2021 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Figura 6S. Artigo de revisão publicado durante o doutorado.



Review

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling and Application in Antibacterial and Antifungal Pharmacotherapy: A Narrative Review

Laiz Campos Pereira ^{1,2}, Marcelo Aguiar de Fátima ¹, Valdeene Vieira Santos ^{1,2} , Carolina Magalhães Brandão ¹ , Izabel Almeida Alves ¹ and Francine Johansson Azeredo ^{2,3,*}

- ¹ Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacometrics, Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia (UFBA), Rua Barão de Jeremoabo, 147, Salvador 40170-115, BA, Brazil; laiz.campos08@gmail.com (L.C.P.); marcelodefátima@hotmail.com (M.A.d.F.); valdeenevieira19@gmail.com (V.V.S.); carolinambrandao@gmail.com (C.M.B.); izabel.alves@ufba.br (I.A.A.)
- ² Pharmacy Graduate Program, Federal University of Bahia, Rua Barão de Jeremoabo, 147, Salvador 40170-115, BA, Brazil
- ³ Center for Pharmacometrics & Systems Pharmacology, Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Orlando, FL 32827, USA
- * Correspondence: francinej@uf.edu



Citation: Pereira, L.C.; Fátima, M.A.d.; Santos, V.V.; Brandão, C.M.; Alves, I.A.; Azeredo, F.J. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling and Application in Antibacterial and Antifungal Pharmacotherapy: A Narrative Review. *Antibiotics* **2022**, *11*, 986. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11080986>

Academic Editors: Francoise Van Bambeke, Sebastian Wicha, Markus Zettlinger and Paul M. Tulkens

Received: 30 May 2022

Accepted: 19 July 2022

Published: 22 July 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Pharmacokinetics and pharmacodynamics are areas in pharmacology related to different themes in the pharmaceutical sciences, including therapeutic drug monitoring and different stages of drug development. Although the knowledge of these disciplines is essential, they have historically been treated separately. While pharmacokinetics was limited to describing the time course of plasma concentrations after administering a drug-dose, pharmacodynamics describes the intensity of the response to these concentrations. In the last decades, the concept of pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling (PK/PD) emerged, which seeks to establish mathematical models to describe the complete time course of the dose-response relationship. The integration of these two fields has had applications in optimizing dose regimens in treating antibacterial and antifungals. The anti-infective PK/PD models predict the relationship between different dosing regimens and their pharmacological activity. The reviewed studies show that PK/PD modeling is an essential and efficient tool for a better understanding of the pharmacological activity of antibacterial and antifungal agents.

Keywords: PK/PD modeling; antibacterial; antifungal; pharmacotherapeutic treatment

1. Introduction

The discovery and production of antimicrobials in the early twentieth century is one of the most outstanding achievements of public health since infectious diseases were considered one of the leading causes of the high mortality rates [1]. Bacterial infections have a higher prevalence in intensive care units (ICU) and are one of the leading causes of mortality in these units, both in the adult and pediatric populations [2,3]. Furthermore, antibiotic resistance has been considered an expanding global crisis. Resistant bacteria have several mechanisms that prevent the proper action of the antibacterial [4].


Fungal infections have increased considerably in recent years and are associated with high mortality and morbidity rates, mainly in immunocompromised patients. Limitations in antifungal treatment, such as fungal resistance, unwanted side effects due to drug toxicity, and reduced spectrum of action, contribute to the aggravation of this type of infection [5].

Therefore, drug development with different mechanisms of action against bacteria and fungi is of paramount importance. The administration in the correct dose and dosage according to the specificity of each population is also a necessity, mainly due to the increased resistance of these microorganisms to most existing antimicrobials [6,7]. Another critical

Figura 7S. Artigo publicado durante o doutorado.



Figura 8S. Artigo publicado durante o doutorado.





Received: 8 February 2024 | Revised: 3 June 2024 | Accepted: 10 June 2024
 DOI: 10.1002/bmc.5949

Biomedical Chromatography WILEY

RESEARCH ARTICLE

Validation of a bioanalytical HPLC–UV method to quantify α -Bisabolol in rat plasma applied to pharmacokinetic pilot study with the drug nanoemulsion

Matheus Antônio da Hora Borges¹ | Jackeline Marley Santos de Araújo¹ |
 Laiz Campos Pereira¹ | Luisa Oliveira Santos¹ | Valdeene Vieira Santos¹ |
 Lorena Santos Santana² | Jullyana de Souza Siqueira Quintans³ |
 Henrique Rodrigues Marcelino¹  | Douglas Fernando Rambo² |
 Francine Johansson Azeredo^{1,4} 

¹Pharmacy Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

²Department of Medicine, Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

³Laboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brazil

⁴Center for Pharmacometrics and Systems Pharmacology, Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, University of Florida, Orlando, Florida, USA

Correspondence
 Francine Johansson Azeredo, Center for Pharmacometrics and Systems Pharmacology, Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, University of Florida, 6550 Sanger Road, Orlando, FL 32827, USA.
 Email: francinej@ufl.edu

Funding information
 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brazil (CAPES), Grant/Award Number: 001

Abstract

α -Bisabolol (α -BIS) is a sesquiterpene alcohol present in chamomile essential oil [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert]. Despite its numerous pharmacological effects, its pharmacokinetics remain understudied. An analytical method capable of quantifying α -BIS in plasma is crucial to enable pharmacokinetic analysis. Presently, only one study has quantified it using mass spectrometry. Administering α -BIS requires a nanoemulsion for intravenous injection. This study aimed to develop and validate a bioanalytical method using high-performance liquid chromatography with an ultraviolet detector to quantify α -BIS in rat plasma. The method employed acetonitrile and ultrapure water (80:20, v/v) as the mobile phase, with a flow rate of 1 ml/min and concentrations ranging from 465 to 29.625 μ g/ml. All US Food and Drug Administration-designated assays were successful, indicating the method's precision, accuracy, sensitivity and linearity in determining α -BIS in rat plasma. The developed nanoemulsion, assessed through dynamic light scattering analysis, the ensemble collection of particles and polydispersity index evaluation, proved safe and effective for intravenous administration. The pharmacokinetic parameters such as volume of distribution, clearance and half-life indicated that α -BIS tends to persist in the body. This study provides a foundation for further research to explore α -BIS's potential pharmaceutical applications in the future.

KEYWORDS
 bioanalytical validation, HPLC–UV, nanoemulsion, pharmacokinetics, rat plasma, α -bisabolol

1 | INTRODUCTION

α -Bisabolol (α -BIS) (Figure 1) is a sesquiterpene alcohol that is one of the major constituents of the essential oil of chamomile (*Chamomilla recutita*; Isaac, 1979). It has a pleasant aroma, which makes it a raw material for the perfumery industry. (Bhatia et al., 2008). However,

use in the cosmetics industry is not its only focus. α -Bisabolol has several reported pharmacological effects, such as anti-inflammatory, antimicrobial and anxiolytic (Rocha et al., 2011; Rodrigues et al., 2018; Tabari & Tehrani, 2017).

Despite having several reported pharmacological effects, α -BIS has no reported pharmacokinetic studies. This type of study is crucial