

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Marissa Bolson Serafin

**REDIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS NÃO-ANTIBIÓTICOS E
EFEITO SINÉRGICO COM ANTIBIÓTICOS NO TRATAMENTO DE
DOENÇAS INFECCIOSAS**

Santa Maria, RS
2018

Marissa Bolson Serafin

**REDIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS NÃO-ANTIBIÓTICOS E EFEITO
SINÉRGICO COM ANTIBIÓTICOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS
INFECCIOSAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Rosmari Hörner

Santa Maria, RS
2018

Serafin, Marissa Bolson
REDIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS NÃO-ANTIBIÓTICOS E EFEITO
SINÉRGICO COM ANTIBIÓTICOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS
INFECCIOSAS / Marissa Bolson Serafin.- 2018.
50 p.; 30 cm

Orientadora: Rosmari Hörner
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2018

1. Redirecionamento 2. Não-antibióticos. 3.
Sertralina 4. Dissulfiram 5. Reposicionamento de drogas
I. Hörner, Rosmari II. Título.

Marissa Bolson Serafin

**REDIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS NÃO-ANTIBIÓTICOS E EFEITO
SINÉRGICO COM ANTIBIÓTICOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS
INFECCIOSAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Aprovado em 13 de setembro de 2018:



Rosmari Hörner, Dr.^a (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Francisco Montagner, Dr. (UFRGS) - Parecer



Tiango Aguiar Ribeiro, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2018

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, minha irmã, ao meu companheiro, e a todos os amigos que me apoiaram durante essa trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a execução desse trabalho, em especial, agradeço:

- a Deus, pela família e amigos que me concedeu, assim como pelas oportunidades a mim confiadas.

- aos meus pais Nelsor Serafin e Tania Maria Bolson Serafin, que sempre me apoiaram em minhas decisões, e sempre torceram por minhas conquistas.

- a minha irmã, Mírian Bolson Serafin, pelo amor, companheirismo, amizade e apoio.

- ao meu companheiro Marcos, pelo amor, e força para continuar nessa caminhada.

- a minha orientadora professora Dr^a. Rosmari Hörner, pela oportunidade concedida de fazer parte de seu grupo de pesquisa, por acreditar em minha capacidade na realização desse trabalho, pelo aporte financeiro, por ser tão dedicada, incentivadora e pelos conhecimentos científicos transmitidos.

- ao professor Dr. Manfredo Hörner, por sempre nos apoiar com seu conhecimento científico e também pelo aporte financeiro.

- a minha colega de laboratório Angelita Bottega, pelo companheirismo, confiança e amizade e por todas as horas de trabalho em conjunto.

- a todos os colegas do Laboratório de Bacteriologia, pelo convívio, auxílio na execução desse trabalho e por todo apoio.

- a CAPES, pelo suporte financeiro.

- a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização dessa pesquisa.

RESUMO

REDIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS E SINERGIA DE MEDICAMENTOS NÃO-ANTIBIÓTICOS E ANTIBIÓTICOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS INFECCIOSAS

AUTORA: Marissa Bolson Serafin
ORIENTADORA: Dr^a Rosmari Hörner

A utilização indiscriminada dos antimicrobianos em monoterapia ocasionou o surgimento de cepas bacterianas multiresistentes, as quais são atualmente uma das maiores ameaças para a saúde humana. Enquanto a resistência aos antibióticos apresenta dados alarmantes sobre sua ocorrência, as opções de tratamento e novos antibióticos não estão sendo desenvolvidos a tempo, requerendo cada vez mais o desenvolvimento de compostos que apresentem propriedades antibacterianas satisfatórias. Nesse sentido, o redirecionamento de fármacos surgiu como alternativa à busca tradicional de substâncias ativas, uma vez que é um processo mais rápido e vantajoso. Assim, o presente estudo objetivou, no primeiro artigo, apresentar à comunidade científica a pesquisa atual do reposicionamento de drogas não-antibióticas frente a bactérias. No segundo manuscrito, analisou-se a atividade antibacteriana sinérgica de sertralina e dissulfiram como candidatos ao redirecionamento. No primeiro artigo relatamos que entre as principais vantagens do reposicionamento estão a disponibilidade de dados farmacológicos e toxicologia, bem como o menor gasto em seu desenvolvimento, somado a taxas de sucesso que chegam a 30%, recente aprovação pelo *Food and Drug Administration* e ainda a possibilidade de sinergismos entre si ou em associação com antimicrobianos. As classes farmacológicas correntemente envolvidas no reposicionamento são os anti-inflamatórios não esteroidais, antidepressivos, antipsicóticos, antialcoolismo, neuroprotetores, antirreumáticos, antidiarreicos, tuberculostáticos e cardiovasculares. Referimos 19 fármacos não-antibióticos os quais apresentam atividade antibacteriana frente a diversas cepas, tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas. No segundo manuscrito, relatamos a atividade antibacteriana dos medicamentos dissulfiram e sertralina. O primeiro foi ativo frente às cepas padrão Gram-positivas, enquanto o segundo apresentou atividade tanto frente à Gram-positivas quanto às Gram-negativas e potente atividade frente a cinco isolados clínicos de *Staphylococcus* spp.. A associação desses dois fármacos foi sinérgica frente à duas cepas de *Staphylococcus aureus*, e quando associados com os antimicrobianos sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacino, ocorreram 8 eventos de sinergismo. Sertralina demonstrou atividade bactericida potencializada com o dissulfiram. Dissulfiram e sertralina, duas drogas não-antibióticas, constituem alternativas promissoras para o reposicionamento no tratamento de infecções bacterianas. Porém são necessários estudos adicionais, utilizando diferentes técnicas, para a elucidação dos mecanismos de ação envolvidos.

Palavras-chave: Redirecionamento. Reposicionamento de drogas. Não-antibióticos. Sertralina. Dissulfiram.

ABSTRACT

REDIRECTION OF DRUGS AND SYNERGY OF NON-ANTIBIOTIC AND ANTIBIOTIC MEDICINES IN THE TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES

AUTHOR: Marissa Bolson Serafin

ADVISER: Dr^a. Rosmari Hörner

The indiscriminate use of antimicrobials in monotherapy has led to the emergence of multiresistant bacterial strains, which are also one of the greatest threats to human health. While antibiotic resistance presents alarming data on its occurrence, treatment options and new antibiotics are not being developed in time, requiring more and more the development of compounds that have satisfactory antibacterial properties. In this sense, the redirection of drugs appeared as an alternative to the traditional search for active substances, since it is a faster and more advantageous process. Thus, the present study aimed, in the first article, to present to the scientific community the current research on the repositioning of non-antibiotic drugs against bacteria. In the second manuscript, the synergistic antibacterial activity of sertraline and disulfiram was analyzed as candidates for redirection. In the first article, we report that among the main advantages of repositioning are the availability of pharmacological data and toxicology, as well as the less expense in its development, together with success rates that reach 30%, recent approval by the *Food and Drug Administration* and also the possibility of synergies between itself or in combination with antimicrobials. The pharmacological classes currently involved in repositioning are nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antidepressants, antipsychotics, antialcoholism, neuroprotectors, antirheumatics, antidiarrheals, tuberculostatics and cardiovascular. We refer to 19 non-antibiotic drugs which have antibacterial activity against several strains, both Gram-positive and Gram-negative. In the second manuscript, we report the antibacterial activity of disulfiram and sertraline medications. The former was active against Gram-positive standard strains, while the second showed activity against both Gram-positive and Gram-negative and potent activity against five *Staphylococcus spp.* clinical isolates. The combination of these two drugs was synergistic with the two strains of *Staphylococcus aureus*, and when associated with antimicrobials sulfamethoxazole/trimethoprim and ciprofloxacin, 8 synergism events occurred. Sertraline demonstrated potentiated bactericidal activity with disulfiram. Disulfiram and sertraline, two non-antibiotic drugs, are promising alternatives for repositioning in the treatment of bacterial infections. However, additional studies, using different techniques, are necessary to elucidate the mechanisms of action involved.

Keywords: Redirection. Drug repositioning. Non-antibiotics. Sertraline. Disulfiram.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Principais etapas e tempo estimado envolvido no processo de desenvolvimento de medicamentos, reduzido significativamente pelo reaproveitamento de medicamentos.....	16
Figura 2 – Estrutura química do fármaco dissulfiram.....	17
Figura 3 – Estrutura química do fármaco sertralina.....	19

LISTA DE TABELAS

2.2 REDIRECIONAMENTO E COMBINAÇÕES SINÉRGICAS DE FÁRMACOS

Tabela 1– Linha do tempo da introdução de antibióticos e resistência identificada.....	13
--	----

3. PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA

3.1 ARTIGO 1

Tabela I – Estudos do reposicionamento de drogas não-antibióticas com efeito antibiótico.....	22
---	----

3.2 MANUSCRITO 2

Tabela I – Concentração inibitória mínima (CIM) de sertralina, dissulfiram, sulfametoxazol/trimethoprima e ciprofloxacino, sozinhos e em combinação frente a cepas padrão e isolados clínicos.....	40
Tabela II – Concentração bactericida mínima (CBM) de sertralina e dissulfiram, sulfametoxazol/trimethoprima e ciprofloxacino, sozinhos e em combinação frente a cepas padrão e isolados clínicos.....	41

LISTA DE ABREVIACOES

AAS	Ácido acetilsalicílico
ALDH	Aldeído Desidrogenase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DDTC	Diethyldithiocarbamato
DSF	Dissulfiram
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FICI	Índice de Concentração Inibitória Fracionada
HUSM	Hospital Universitário de Santa Maria
ISRS	Inibidores seletivos da recaptação da serotonina
MDR	Microrganismos multidroga resistente
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NCNLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
RAM	Resistência antimicrobiana
SER	Sertralina
UFC	Unidades formadoras de colônia
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à vancomicina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 JUSTIFICATIVA.....	12
1.2 OBJETIVOS.....	12
1.2.1 Objetivo Geral.....	12
1.2.2 Objetivos Específicos.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	13
2.2 REDIRECIONAMENTO E COMBINAÇÕES SINÉRGICAS DE FÁRMACOS.....	15
2.3 DISSULFIRAM.....	17
2.4 SERTRALINA.....	18
3. PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA.....	20
3.1 ARTIGO 1.....	20
3.2 MANUSCRITO 2.....	29
4. DISCUSSÃO.....	42
5. CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos antimicrobianos foi capaz de revolucionar o tratamento das infecções bacterianas, reduzindo as taxas de mortalidade ocasionadas por doenças infecciosas. (ARMSTRONG, CONN e PINNER, 1999; O'CONNELL et al., 2013). Porém seu uso indiscriminado em monoterapia proporcionou o surgimento de microrganismos multidroga resistentes (MDR) (SANTOS, LA ROCCA e HÖRNER, 2016), os quais são atualmente uma das maiores ameaças para a saúde humana (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Dessa maneira, a "era pós-antibiótica" tem se aproximado (LIU, BANAEI e REN, 2017), pois ao passo que a resistência aos antibióticos tem crescido, as opções de tratamento e novos antibióticos não estão sendo desenvolvidos a tempo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Por este motivo, a pesquisa de compostos com propriedades antibacterianas constitui uma necessidade imediata no campo da medicina (KALAIVANI et al., 2012).

Assim, o reposicionamento de medicamentos ganhou a atenção da comunidade científica (BROWN e PATEL, 2017), sendo considerado um novo meio de descoberta de drogas na ciência moderna, devido à sua acessibilidade, segurança e disponibilidade de dados farmacológicos e toxicológicos (KUNDU, 2015). Esse processo é definido como o encontro de novas indicações terapêuticas para medicamentos clinicamente aprovados (ASHBURN e THOR, 2004) e tem sido apontado como atraente, apresentando vantagens em relação à busca tradicional de substâncias ativas, uma vez que reduz os riscos no processo de desenvolvimento (LI et al., 2016; MEHNDIRATTA et al., 2016). Outro fato é que combinações de medicamentos sinérgicos, identificados a partir do reaproveitamento de drogas é uma opção útil no tratamento de infecções graves (ZHENG, SUN e SIMEONOV, 2018).

Nessa perspectiva, esse estudo apresentou o reposicionamento de drogas não-antibióticas frente a infecções bacterianas, abordando as principais vantagens desse processo, os fármacos não-antibióticos envolvidos, suas classes farmacológicas, e frente a quais microrganismos esses são efetivos. Além disso, verificou-se a atividade antibacteriana sinérgica de sertralina e dissulfiram, como candidatos ao redirecionamento e suas atividades em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima.

1.1 JUSTIFICATIVA

Em razão de nas últimas duas décadas ter ocorrido uma diminuição significativa no número de antibióticos aprovados pelas agências reguladoras e simultaneamente um aumento crescente de bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos, essas tornaram-se um problema de saúde pública global, restringindo as opções de tratamento antibacteriano cada vez mais restritas. Dessa forma, a investigação do redirecionamento de fármacos não-antibióticos no tratamento dessas infecções emerge como uma abordagem alternativa promissora para a utilização clínica de drogas efetivas para seu tratamento.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Apresentar o reposicionamento de drogas não-antibióticas frente a bactérias e verificar a atividade antibacteriana sinérgica de sertralina e dissulfiram como candidatos ao redirecionamento.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar os estudos abrangendo o reposicionamento de drogas não-antibióticas frente a bactérias, abordando as principais vantagens desse processo;
- b) Avaliar quais fármacos não-antibióticos estão presentes em estudos de redirecionamento para tratamento de doenças infecciosas;
- c) Avaliar as principais classes farmacológicas envolvidas no processo do redirecionamento de fármacos nas infecções bacterianas;
- d) Avaliar a atividade antibacteriana de sertralina e dissulfiram frente a cepas bacterianas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) e isolados clínicos provenientes do Hospital Universitário de Santa Maria;

e) Avaliar a atividade antibacteriana de sertralina e dissulfiram, isoladamente e em associação com os antibacterianos ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESISTÊNCIA BACTERIANA

O desenvolvimento das sulfonamidas e da penicilina durante o século XX, revolucionou o tratamento das infecções bacterianas, anunciando uma nova era. Suas inserções na prática clínica resultaram em uma acentuada redução das taxas de mortalidade por doenças infecciosas, como por exemplo, nos Estados Unidos entre os anos de 1937 e 1952, passando de 283 para 75 mortes por 100.000 pessoas (ARMSTRONG, CONN e PINNER, 1999; O'CONNELL et al., 2013).

No entanto, segundo Ventola (2015) a cada novo antibiótico inserido na terapêutica, após cerca de dois anos, ou até mesmo antes à sua introdução, já era descrita a ocorrência de microrganismos resistentes à esses fármacos, como podemos observar na tabela 1.

Tabela 1- Linha do tempo da introdução de antibióticos e resistência identificada.

Antibiótico	Ano de introdução	Ano de identificação da resistência	Bactérias resistentes identificadas
Penicilina	1943	1940	<i>Staphylococcus</i>
Meticilina	1960	1962	<i>Staphylococcus</i>
Ceftazidima	1985	1987	<i>Enterobacteriaceae</i>
Levofloxacino	1996	1996	<i>Streptococcus</i>
Linezolida	2000	2001	<i>Staphylococcus</i>
Ceftarolina	2010	2011	<i>Staphylococcus</i>

Fonte: (Adaptado de Ventola, 2015).

Dessa forma, a resistência antimicrobiana (RAM) ameaça as conquistas da ciência e da medicina, uma vez que inviabiliza a terapêutica antimicrobiana (ABD-EL-AZIZ, AGATEMOR, ETKIN, 2017). Em vista disso, tanto profissionais da saúde, como governos e organizações internacionais têm relatado cada vez mais os riscos que esse fenômeno acarreta à segurança sanitária global, pois está relacionada a falha no tratamento, hospitalização prolongada, aumento dos custos de internação e da mortalidade. Estima-se que a RAM está causando atualmente cerca de 700.000 mortes ao ano, podendo atingir até 10 milhões em 2050 (CURRIE et al., 2014; LAXMINARAYAN et al., 2013; O'NEIL, 2014;).

Segundo Hwang e Gums (2016) o surgimento da RAM é um processo complexo, o qual envolve questões multifatoriais, como por exemplo mecanismos patológicos e comportamentais. Os patológicos referem-se ao processo bacteriano natural de desenvolvimento de resistência antimicrobiana, e abrange vários mecanismos, incluindo transmissão de material genético, adaptação microbiana e pressão seletiva pelo uso excessivo de antibióticos. Já os comportamentais estão relacionados ao uso inadequado do antimicrobiano, como por exemplo, o uso desnecessário em áreas não médicas, particularmente na agricultura e agropecuária, e a prescrição empírica de antibióticos para indicações inapropriadas.

A RAM tem sido constatada em todas classes de antibióticos, tais como penicilinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, quinolonas e tetraciclina, até mesmo antes de sua inserção na terapêutica (LEWIS, 2013). Em comparação, torna-se ainda mais alarmante o desenvolvimento da resistência de um microrganismo a múltiplas drogas, já que aumenta a probabilidade de uma infecção não poder ser tratada com antibióticos usuais. Santos e colaboradores (2016) revelam em seu trabalho que o uso indiscriminado dos agentes antimicrobianos tem provocado a emergência dos MDR.

Por esse motivo, a Organização Mundial da Saúde lançou em 2017 uma lista de “agentes patogênicos prioritários” resistentes aos antibióticos, ou seja, 12 famílias bacterianas que representam a maior ameaça para a saúde humana, as quais necessitam do desenvolvimento urgente de antimicrobianos. Conforme esta organização, ao passo que a resistência aos antibióticos está crescendo, estamos ficando sem opções de tratamento e os novos antibióticos que precisamos urgentemente, talvez não sejam desenvolvidos a tempo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Dessa maneira, a "era pós-antibiótica" tem se aproximado (LIU, BANAEI e REN, 2017), pois no momento em que estas drogas perdem sua eficácia, doenças comuns, bem como ferimentos leves, passam a tornar-se potencialmente fatais. Assim como seria inviável a realização de procedimentos com segurança, como terapias contra o câncer, cirurgias invasivas e transplantes, devido ao risco de infecção (BARRIERE, 2015).

Nas últimas quatro décadas houve o desenvolvimento de apenas duas novas classes de antibióticos (O'NEIL, 2015). Piddock (2012), também salienta em seu trabalho que poucos novos compostos têm chegado ao mercado ou serão disponibilizados nos próximos anos. Assim, cria-se a necessidade de novas estratégias que combatam a virulência da resistência aos antimicrobianos (ABD-EL-AZIZ, AGATEMOR e ETKIN, 2017).

2.2 REDIRECIONAMENTO E COMBINAÇÕES SINÉRGICAS DE FÁRMACOS

Seguramente, os medicamentos antimicrobianos disponíveis na atualidade estão perdendo a batalha frente aos patógenos multirresistentes recém-emergidos, havendo uma necessidade urgente e não satisfeita de novos antimicrobianos, bem como novas abordagens para desenvolvê-los (THANGAMANI, YOUNIS e SELEEM, 2015). No entanto, o desenvolvimento de novas drogas é complexo, demorado e dispendioso, fazendo com que as empresas farmacêuticas não tenham conseguido equilibrar a produção e o aumento das despesas em pesquisa e desenvolvimento (LANDERS, 2004).

Nesse sentido, recentemente, o reposicionamento de medicamentos aprovados para o tratamento de doenças, que não as suas indicações conhecidas, ganhou a atenção da comunidade científica (BROWN e PATEL, 2017). Este termo foi definido pela primeira vez por Ashburn e Thor (2004). Tem sido indicado como um processo alternativo de identificação rápida de novos agentes terapêuticos para tratar infecções com bactérias resistentes aos medicamentos e outras doenças infecciosas (ZHENG, SUN e SIMEONOV, 2018).

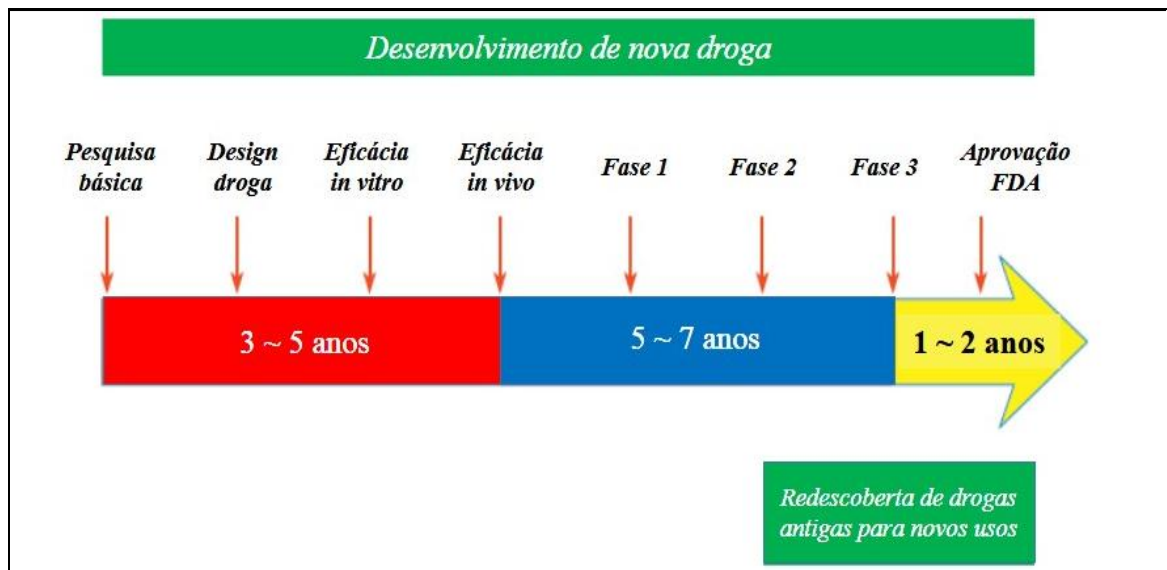
Existem inúmeras vantagens do reposicionamento de drogas, dentre as principais, estão a economia de tempo e dinheiro, e risco mínimo devido ao prévio conhecimento e disponibilidade de dados farmacológicos, de segurança e toxicologia (KUNDU et al., 2015). Enquanto a descoberta tradicional de medicamentos, desde a identificação do alvo até seu desenvolvimento e aprovação leva de 10-17 anos, a aprovação de um medicamento já existente leva de três a 12 anos (BRAUN, et al., 2010), como podemos verificar na figura 1. Assim, a redução do tempo de desenvolvimento e relançamento de droga reaproveitada fornece opções de tratamento acelerado aos pacientes.

Em relação ao custo, relançar o reposicionamento é razoável, cerca de 40 - 80 milhões de dólares, enquanto lançar uma nova droga chega a dois bilhões (PAPAPETROPOULOS e SZABO, 2018). Outro fato é que as taxas de sucesso para medicamentos redirecionados também são mais elevadas em comparação com a descoberta de novos fármacos, chegando a cerca de 30% nos últimos anos, sendo recentemente aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (BRAUN, et al., 2010).

Diversas combinações antibióticas têm sido usadas para tratar enfermidades, tais como, tuberculose, lepra, malária e infecções associadas à fibrose cística. Algumas combinações de fármacos não-antibióticos com antibióticos têm demonstrado um aumento da atividade antimicrobiana *in vitro*, como por exemplo nos estudos de Chan e colaboradores (2017) e Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodriguez (2000). Isso sugere que

combinações de compostos não-antibióticos com antibióticos podem explorar uma maior área de espaço químico antimicrobiano se comparada à ação de agentes sozinhos (EJIM et al., 2011).

FIGURA 1: Principais etapas e tempo estimado envolvido no processo de desenvolvimento de medicamentos, reduzido significativamente pelo reaproveitamento de medicamentos.



Fonte: (Adaptado de Gupta et al., 2013)

Existem quatro principais vantagens relacionadas à combinação de drogas. Expansão do espectro antimicrobiano, proporcionando uma cobertura mais ampla de patógenos (ZILBERBERG et al., 2014); superação da resistência dos microrganismos aos antimicrobianos (QIN et al., 2017) e diminuição o desenvolvimento de resistência antibiótica através do uso prudente de combinações de drogas (ALDEYAB et al., 2008; LEVIN, 2002; MAHAMAT et al., 2007). Outra vantagem, é que combinações de dois ou mais medicamentos podem levar a um efeito sinérgico, que é alcançado por diferentes mecanismos de ação.

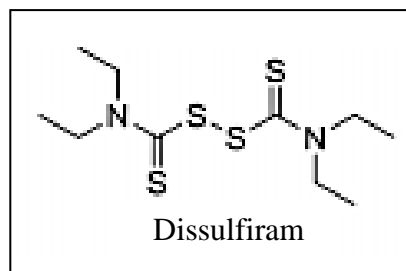
A combinação de drogas sinérgicas é particularmente útil para o reaproveitamento de drogas porque muitos compostos ativos têm atividades fracas (CIM >16 µg/mL), não podendo serem aplicados como terapia individual em humanos. Dessa maneira, para o tratamento de infecções graves, combinações de medicamentos sinérgicos, identificados a partir de reaproveitamento de drogas é uma opção útil para superar esse problema (ZHENG, SUN e SIMEONOV, 2018).

Embora a pesquisa científica progrida rapidamente no campo do redirecionamento de drogas, sua implementação enfrenta obstáculos financeiros e regulatórios. O reaproveitamento geralmente é realizado com medicamentos genéricos, os quais ainda devem der submetidos a pelo menos um ensaio clínico de fase III para sua nova indicação, requerendo investimento. Dessa forma, torna-se menos interessante financeiramente às indústrias farmacêuticas, já que provavelmente uma nova patente não será gerada e outras empresas poderão beneficiar-se capitalmente. Já a questão regulatória está associada a aprovação de extensão de rótulo de um medicamento, pois apenas na Europa é possível que a empresa responsável pela introdução desse no mercado solicite uma autorização de comercialização contendo a expansão. Assim, para a otimização do redirecionamento, ainda é necessária a criação de incentivos, que estimulem o envolvimento da indústria farmacêutica e favoreçam as opções para seu desenvolvimento comercial (VERBAANDERD et al., 2017).

2.3 DISSULFIRAM

O dissulfiram (DSF) é um medicamento amplamente utilizado na clínica para o tratamento do alcoolismo crônico. É um inibidor irreversível da enzima aldeído desidrogenase (ALDH), a qual é responsável pela degradação do álcool no organismo. Assim, o DFS para o metabolismo do etanol na fase de acetaldeído e induz a efeitos desagradáveis, como rubor, hipotensão, mal-estar, náuseas e vômitos (TRISCOTT et al., 2012). Este fármaco pertence à classe dos dissulfetos de tiuram, que são uma classe de drogas sintéticas à base de organosulfurados, conforme estrutura pode ser verificada na figura 2 (LONG, 2017).

Figura 2: Estrutura química do fármaco dissulfiram.



FONTE: (Adaptado de Long, 2017)

Apesar de o DSF ter uma longa história no tratamento do alcoolismo, tem demonstrado efeitos frente a fungos, protozoários, vírus e bactérias (HORITA et al., 2012). No que diz respeito a atividade antibacteriana, tal medicamento tem apresentado efeitos principalmente frente a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em estudos *in vitro* (LONG, 2017; VELASCO-GARCÍA et al., 2006; PHILLIPS et al., 1991) e frente a *Mycobacterium tuberculosis* em ensaios *in vitro* e *in vivo* (HORITA et al., 2012).

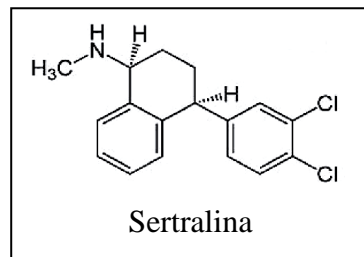
Seu mecanismo de ação antibacteriano ainda não está totalmente estabelecido. Sabe-se que as bactérias possuem uma gama diversificada de co-fatores intracelulares, metabólitos e enzimas (LOI, ROSSIUS e ANTELMANN, 2015) que contém resíduos tiofílicos em que o DSF é capaz de reagir para provocar efeitos antimicrobianos através da formação de ligações dissulfeto. Outra hipótese está relacionada ao seu principal metabólito, o diethyldithiocarbamato (DDTC), possivelmente o DSF é metabolizado pela bactéria para formar DDTC, que exerce efeitos antibacterianos (HORITA et al., 2009; HORITA et al., 2012; TAKII et al., 2012). Outra constatação, descrita por Cvek (2013) é que esse fármaco tem capacidade de exercer atividade proteolítica através da quelação íons, provocando a inibição bacteriana.

Tais atividades descritas tornam ainda mais interessante a busca dos efeitos do dissulfiram frente a cepas bacterianas, tanto em associação com outros fármacos candidatos ao redirecionamento, quanto com antimicrobianos, uma vez que já foi relatada sua sinergia com a vancomicina em estudo *in vitro* frente à três cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina do tipo-VanA (LONG, 2017). Essa combinação foi capaz de reduzir a concentração inibitória mínima de vancomicina de 128 µg/ml para 4 a 16 µg/ml.

2.4 SERTRALINA

A sertralina (SER), pertencente à classe dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), é uma das serotoninas seletivas de primeira linha mais comumente utilizadas no tratamento de várias condições psiquiátricas, tais como depressão maior, transtorno obsessivo-compulsivo, ataques de pânico, estresse pós-traumático e transtornos de ansiedade. (CIPRIANI, et al., 2009; CIPRIANI, et al., 2008), cuja estrutura pode ser verificada na figura 3.

Figura 3: Estrutura química do fármaco sertralina.



Fonte: (Adaptado Macedo et al., 2017).

Há décadas, foi evidenciado que fármacos psicotrópicos são capazes de apresentar atividade antimicrobiana (BROWN, 1975) sendo a maior atividade encontrada em antidepressivos de terceira geração, tais como a sertralina (LIEB, 2004; MUNOZ-BELLIDO, MUNOZ-CRIADO e GARCÍA-RODRIGUES, 2000). Estas drogas têm uma atividade antimicrobiana significativa, principalmente frente a bactérias Gram-Positivas, mostrando-se sinérgicas quando combinadas com antibióticos usuais, como tetraciclina e ciprofloxacino (MUNOZ-BELLIDO, MUNOZ-CRIADO e GARCÍA-RODRIGUES, 2000).

Existem descritos na literatura três possíveis mecanismos de atuação dos ISRS na inibição bacteriana. Visto que essa classe está associada a inibição da bomba de efluxo em células humanas (MUNOZ-BELLIDO, MUNOZ-CRIADO e GARCÍA-RODRIGUES, 2000; BOHNERT et al., 2011), poderia exercer essa propriedade nos microrganismos, contornando um dos principais mecanismos de resistência bacteriana da atualidade (AMARAL et al., 2010). Também há a hipótese de que esses fármacos atuam sobre processos metabólicos básicos, prejudicando uma série de processos que envolvem a biossíntese de produtos nos microrganismos (MACEDO et al., 2017). Já Hadera e colaboradores (2018), sugerem que tal atividade pode se dar através da inibição da formação da parede celular ou inibição da divisão celular.

3. PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA

3.1 ARTIGO 1

O artigo foi publicado no “*The Brazilian Journal of Infectious Diseases*”, classificado de acordo com o Qualis Capes como periódico B2, doi: 10.1016/j.bjid.2018.05.007.



Letter to the editor

Drug repositioning, a new alternative in infectious diseases

Dear Editor:

There has been a significant decrease in the number of approved antibiotics in the last two decades, and in parallel, a steady increase of multidrug resistant bacteria (MDR) has been occurring. Thus, MDR have become a global issue of public health, and with this threat, the challenge to develop new antibiotics has emerged in all areas: governmental, scientific, and the private pharmaceutical industry.¹ In this sense, drug repositioning has arisen as an alternative approach for the faster identification of drugs that are effective against infectious diseases.²

The expressions “Drug repositioning” and “drug repurposing” was first described by Ashburn and Thor (2004)³ in their paper “Drug repositioning: Identifying and developing new uses for existing drugs”. According to the authors, this is the process to find new uses for clinically approved drugs, and this is also known as redirecting and repurposing.

Several studies have signalled that drug repositioning has advantages compared to the traditional way of seeking for active substances,^{2,4-7} since pharmacological, toxicological and bioavailability data, among others, are already available. Thus, less time is spent in their development, leading to a significant reduction in costs, and it proves to be a preferred and advantageous alternative strategy to discover drugs more quickly.⁸ Other encouraging data are the success rates for repositioned drugs, which are higher when compared to new drugs, reaching 30% in the last few years. Also, together with the positive aspects of repositioning is its recent approval by the Food and Drug Administration (FDA).⁹

Comparing repurposing and use off-label, there is a similarity between these practices: a new indication of the drug, other than the usual one. However, the use outside the label goes beyond this, since it may include different age groups, dosage or route of administration. Although this is considered a legal and common application, it is often performed in the

Table 1 – Studies of repositioning non-antibiotic drugs with antibiotic effect.

Drug	Original indication	New indication	Reference
AAS Amitriptyline	Non-steroidal/anti-inflammatory Antidepressant	Staphylococcus spp.	Chan et al., 2017 ¹⁰ Mandal et al., 2010 ¹¹
		Enterococcus faecalis	
		Micrococcus luteus	Mathukumar and Janakiraman, 2014 ¹²
		Bacillus spp.	
		Shigella spp.	
		Salmonella spp.	
		Vibrio cholerae	
		Vibrio parahaemolyticus	
		Escherichia coli	
		Stenotrophomonas	
		Pseudomonas spp.	
		Proteus spp.	
		Citrobacter spp.	
		Providencia spp.	
Enterobacter cloacae			
Hafnia spp.			
Lactobacillus sporogenes			
Micrococcus flavus			
Wolbachia			
Azithromycin	Rheumatoid arthritis	MRSA	Starbat et al., 2015 ¹³

Please cite this article in press as: Serfús MI, Wörner R. Drug repositioning, a new alternative in infectious diseases. Braz J Infect Dis. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.05.007>

Reposicionamento de drogas, uma nova alternativa em doenças infecciosas

Nas últimas duas décadas houve uma diminuição significativa no número de antibióticos aprovados e paralelamente a isso um aumento crescente de bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos (MDR). Assim, as MDR tornaram-se um problema de saúde pública global e com essa ameaça, estava lançado o desafio de desenvolver novos antibióticos em todas as esferas: governamental, acadêmica e indústria privada de fármacos.¹ Nesse sentido, o reposicionamento de fármacos emergiu como uma abordagem alternativa para a identificação mais rápida de drogas efetivas no tratamento das doenças infecciosas.²

Os termos “*drug repositioning*” e “*drug repurposing*” foram descritos pela primeira vez por Ashburn e Thor (2004)³ em seu artigo denominado “*Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs*”. De acordo com os autores, este é o processo de busca de novos usos para as drogas já aprovadas clinicamente, sendo conhecido também como *redirecting* e *reprofiling*.

Diversos estudos sinalizam que o redirecionamento de medicamentos apresenta vantagens em relação à maneira tradicional de procura à uma substância ativa^{2,4-7}, pois já estão disponíveis dados farmacológicos, de biodisponibilidade e toxicologia, entre outros (Ashburn e Thor, 2004). Emprega-se menos tempo no seu desenvolvimento, com conseqüente redução de gastos, o que prova ser uma estratégia alternativa vantajosa, preferida, na descoberta mais rápida de drogas.⁴ Outros dados encorajadores são que as taxas de sucesso para os fármacos reposicionados são mais altas quando comparadas com a de novos medicamentos, chegando a 30% nos últimos anos. No somatório dos pontos positivos do reposicionamento, está sua recente aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA).⁸

Comparando-se redirecionamento e o uso *off-label*, observa-se uma semelhança entre essas práticas: uma nova indicação do medicamento, que não a usual. Porém o uso fora do rótulo vai além, pois pode incluir faixa etária não aprovada, dosagem ou via de administração diferentes. Apesar dessa ser considerada uma aplicação legal e comum, muitas vezes é realizada na ausência adequada de dados científicos, podendo expor pacientes a experimentação irrestrita e ineficaz de medicamentos com riscos à saúde desconhecidos.⁹

Apresentamos na Tabela I um resumo do “*repurposing*” de fármacos para o tratamento antibacteriano: são exemplos de estudos que têm investigado as atividades antimicrobianas de inúmeras classes farmacológicas, envolvendo psicotrópicos, anestésicos locais, tranquilizantes, medicamentos cardiovasculares, anti-histamínicos e anti-inflamatórios, sendo estes chamados de “fármacos não-antibióticos”.¹⁰⁻¹⁴

O tratamento de infecções bacterianas graves de pacientes imunodeprimidos utilizando combinações sinérgicas de fármacos já está bem estabelecido e é procedimento adotado há anos.¹⁵ Essas combinações sinérgicas são utilizadas por apresentarem três vantagens principais: expansão do espectro de antibióticos^{16,17}, superação da resistência¹⁸ e diminuição do desenvolvimento de resistência aos antibióticos através de uma utilização prudente destas combinações¹⁹⁻²¹.

Visto que os fármacos não-antibióticos redirecionados apresentaram efeito antibiótico tanto entre si quanto se usados em conjunto com antimicrobianos, essas combinações constituem, na atualidade, uma opção útil em superar o problema da fraca atividade das drogas individuais.^{2,10,16}

Com base nos diversos estudos apresentados, pode-se inferir que o reposicionamento de medicamentos não-antibióticos, com perfis de toxicidade conhecidos, representa uma alternativa promissora para o tratamento de infecções bacterianas. Entretanto, constitui consenso da comunidade científica mundial, que estamos apenas no começo, sendo que estudos adicionais relacionados a mecanismos de ação, estudos *in vivo*, entre outros, são essenciais para a utilização segura dessas drogas.

Tabela I- Estudos do reposicionamento de drogas não-antibióticas com efeito antibiótico

Fármaco	Indicação original	Nova indicação	Referência
AAS	Anti-inflamatório não esteroideal	MRSA	Chan et al, 2017 ¹⁰
Amitriptilina	Antidepressivo	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Citrobacter spp.</i> <i>Providencia spp.</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Hafnias pp.</i> <i>Lactobacillus sporogenes</i> <i>Micrococcus flavus</i> <i>Vibrio cholerae</i>	Mandal et al., 2010 ¹¹ Muthukumare, Janakiraman, 2014 ²²
Auranofina	Artrite reumatoide	MRSA	Harbut et al., 2015 ²³
Clorpromazina	Antipsicótico	<i>Corynebacterium urealyticum</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Citrobacter freundii</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 1996 ¹²

		<i>Morganella morganii</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Prevotella spp.</i> <i>Brucella spp.</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 2000 ¹³
Clofazima	Tuberculose	<i>Mycobacterium leprae</i>	Naylorand, Schonfeld, 2014 ²⁴
Clomipramina	Antidepressivo	<i>Serratia marcescens</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Prevotella spp.</i> <i>Brucella spp.</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 2000 ¹³
Dissulfiram	Alcoolismo	MRSA <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Phillips et al, 1991 ²⁵ Velasco-García et al., 2006 ²⁶
Ebselen	Neuroprotetor	MRSA VRSA <i>Streptococcus spp.</i> <i>Enterococcus spp.</i>	Thangamani, Younis, Seleem 2015 ^{6,7}
Escitalopram	Antidepressivo	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Akilandeswari, Ruckmani,Ranjith, 2013 ²⁷
Fluoxetina	Antidepressivo	<i>Corynebacterium urealyticum</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 1996 ¹² Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 2000 ¹³
Ibuprofeno	Anti-inflamatório não esteroideal	MRSA	Chan et al, 2017 ¹⁰
Iproniazida	Antidepressivo	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	López-Muñoz, Alamo, 2009 ²⁸
Loperamida	Diarreia	<i>Salmonella enterica</i>	Ejim et al., 2011 ¹⁶
Sertralina	Antidepressivo	<i>Corynebacterium urealyticum</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterococcus cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 1996 ¹² Munoz-Bellido, Munoz-

		<i>Serratia marcescens</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Prevotella spp.</i> <i>Brucella spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Providencia spp.</i> <i>Lactobacillus sporogenes</i>	Criado, García-Rodríguez, 2000 ¹³ Samanta et al., 2012 ²⁹
Paroxetina	Antidepressivo	<i>Corynebacterium urealyticum</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 1996 ¹² Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 2000 ¹³
Risperidona	Antipsicótico	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 1996 ¹² Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 2000 ¹³
Sinvastatina e Atorvastatina	Doenças cardiovasculares	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Staphylococcus coagulase negative</i> MRSA	Rampelotto et al., 2018 <i>in press</i> ¹⁴ Graziano et al., 2015 ³⁰
Talidomida	Antiemético	<i>Mycobacterium leprae</i>	Paravare, Lee, 2008 ³¹

MRSA, *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; VRSA, *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina; AAS, ácido acetilsalicílico.

REFERÊNCIAS

1. WHO/CDC/ICBDSR. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: World Health Organization; 2017. Available at: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>[accessed 10.02.18].
2. Zheng W, Sun W, Simeonov, A. Drug repurposing screens and synergistic drug-combinations for infectious diseases. *Br J Pharmacol.* 2018; 175: 181–91. DOI: 10.1111/bph.13895.
3. Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2004; 3: 673–83.
4. Mehndiratta MM, Wadhai SA, Tyagi BK, Gulati NS, Sinha M. Drug repositioning. *International Journal of Epilepsy.* 2016; 3: 91–4.
5. Papapetropoulos A, Szabo C. Inventing new therapies without reinventing the wheel: the power of drug repurposing. *Br J Pharmacol.* 2018; 175: 165–67.
6. Thangamani S, Younis W, Seleem MN. Repurposing ebselen for treatment of multidrug-resistant staphylococcal infections. *Scientific Reports.*2015; 5:11596.
7. Thangamani S, Younis W, Seleem MN. Repurposing Clinical Molecule Ebselen to Combat Drug Resistant Pathogens. *Plos One.* 2015; 7: e0133877.
8. Jin G, Wong S. Toward better drug repositioning: prioritizing and integrating existing methods into efficient pipelines. *Drug Discov Today.* 2014; 19:637–44.
9. Gupta SK, Nayak RP. Off-label use of medicine: perspective of physicians, patients, pharmaceutical companies and regulatory authorities. *J Pharmacol Pharmacother.* 2014; 5: 88–92

10. Chan EWL, Yee ZY, Raja I, Yap JKY. Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Glob Antimicrob Resist*. 2017; 10:70-4.
11. Mandal A, Chandrima Sinha C, Jena AK, Ghosh S, Samanta A. An investigation on in vitro and in vivo antimicrobial properties of the antidepressant: amitriptyline hydrochloride. *Braz J Microbiol*. 2010; 41: 635-42.
12. Munoz-Bellido JL, Munoz-Criado S, García-Rodríguez JA. *In-vitro* activity of psychiatric drugs against *Corynebacterium urealyticum* (*Corynebacterium* group D2). *J Antimicrob Chemother*. 1996; 37: 1005-9.
13. Munoz-Bellido JL, Munoz-Criado S, García-Rodríguez JA. Antimicrobial activity of psychotropic drugs Selective serotonin reuptake inhibitors. *Int J Antimicrob Agents*. 2000; 14: 177–80.
14. Rampelotto RF, Lorenzoni VV, Silva DC, Moraes GA, Serafin MB, Tizotti MK, *et al.* Coelho SS, Zambiazzi P, Horner M, Horner R. Synergistic antibacterial effect of statins with the complex {[1-(4-bromophenyl)-3-phenyltriazene N3-oxide- κ 2 N1, O4](dimethylbenzylamine- κ 2 C1, N4)palladium(II)}. *Braz J Pharm Sci*. 2018 [in press].
15. González PR, Pesesky MW, Bouley R, Ballard A, Bidy BA, Suckow MA. Synergistic, collaterally sensitive β -lactam combinations suppress resistance in MRSA. *Nat Chem Biol*. 2015; 11: 855–61.
16. Ejim L, Afarha M, Falconer SB, Wildenhain J, Brian K Coombes BK, Mike Tyers M. Combinations of antibiotics and nonantibiotic drugs enhance antimicrobial efficacy. *Nat Chem Biol*. 2011; 7: 348-50.
17. Zilberberg MD, Shorr AF, Micek ST, Vazquez-Guillamet C, Kollef MH. Multi-drug resistance, inappropriate initial antibiotic therapy and mortality in Gram-negative severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care*. 2014; 18: 596.

18. Qin X, Tran BG, Kim MJ, Wang L, Nguyen DA, Chen Q, et al. A randomised, double-blind, phase 3 study comparing the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem for complicated intra-abdominal infections in hospitalised adults in Asia. *Int J Antimicrob Agents*. 2017; 49: 579-88.
19. Levin BR (2002). Models for the spread of resistant pathogens. *Neth J Med*. 2002; 60: 58–64.
20. Mahamat A, Mac Kenzie FM, Brooker K, Monnet DL, Daures JP, Gould IM. Impact of infection control interventions and antibiotic use on hospital MRSA: a multivariate interrupted time-series analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 30: 169–76.
21. Aldeyab MA, Monnet DL, Lopez-Lozano JM, Hughes CM, Scott MG, Kearney MP, et al. Modelling the impact of antibiotic use and infection control practices on the incidence of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a time-series analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 593–600.
22. Muthukumar V, Janakiraman K. Evaluation of Antibacterial Activity of Amitriptyline Hydrochloride. *International Journal of Chem Tech Research*. 2014; 6: 4878-83.
23. Harbut MB, Vilchèze C, Luo X, Hensler ME, Guo H, Yang B, et al. Auranofin exerts broad-spectrum bactericidal activities by targeting thiol-redox homeostasis. *PNAS*. 2015; 112: 4453–58.
24. Naylor S, Schonfeld JM. Therapeutic Drug Repurposing, Repositioning and Rescue. *Drug Discovery World Winter*. 2014; 49-62.
25. Phillips M, Malloy G, Nedunchezian D, Lukrec A, Howard RG. Disulfiram Inhibits the *in vitro* Growth of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991, 35:785-7.
26. Velasco-García RV, Zaldívar-Machorro VJ, Carlos Mújica-Jiménez CM, González-Segura L, Muñoz-Clares RA. Disulfiram irreversibly aggregates betaine aldehyde

dehydrogenase - A potential target for antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 341: 408–15.

27. Akilandeswari K, Ruckmani K, Ranjith MV. Efficacy of Antibacterial Activity of Antibiotics Ciprofloxacin and Gentamycin Improved with Anti Depressant Drug, Escitalopram. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2013; 21: 71-4.

28. López-Muñoz F, Alamo C. Monoaminergic neurotransmission: the history of the discovery of antidepressants from 1950s until today. *Curr Pharm*. 2009; 1563–86.

29. Samanta A, Chattopadhyay D, Sinha C, Jana AD, Ghosh S, Banerjee AMA. Evaluation of *In Vivo* and *in vitro* Antimicrobial Activities of a Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Sertraline Hydrochloride. *Anti-Infective Agents*. 2012; 10.

30. Graziano TS, Cuzzullin MC, Franco GC, Schwartz-Filho HO, de Andrade ED, Groppo FC, *et al*. Statins and Antimicrobial Effects: Simvastatin as a Potential Drug against *Staphylococcus aureus* Biofilm. *Plos One*. 2015, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0128098>.

31. Paravar T, Lee DJ. Thalidomide: Mechanisms of Action. *Int Rev of Immunol* 2008; 27:111–35.

3.2 MANUSCRITO 2

O manuscrito foi submetido ao “*Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*”, classificado de acordo com o Qualis Capes como periódico B2, e encontra-se em processo de revisão.

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences



**SYNERGISTIC EFFECT OF SERTRALINE AND DISULFIRAM
AGAINST MULTIDRUG RESISTANT BACTERIA AS A NEW
ALTERNATIVE TO DRUG REPOSITIONING**

Journal:	<i>Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences</i>
Manuscript ID	BJPS-2018-0089
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	15-Feb-2018
Complete List of Authors:	SERAFIN, MARISSA; Universidade Federal de Santa Maria Bottega, Anjelita; Universidade Federal de Santa Maria Foletto, Vitória ; Universidade Federal de Santa Maria Da Rosa, Tacieli; Universidade Federal de Santa Maria, Análises Clínicas e Toxicológicas Rampelotto, Roberta; Universidade Federal de Santa Maria Carvalho, Fernanda; Universidade Federal de Santa Maria, Análises Clínicas e Toxicológicas Hörner, Rosmari; Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Keyword:	Sertraline, Disulfiram, Antimicrobial activity, Drug synergism, Drug repositioning

SCHOLARONE™
Manuscripts

Efeito sinérgico da sertralina e dissulfiram frente a bactérias multirresistentes como nova alternativa no reposicionamento de drogas

Reposicionamento de drogas: sertralina e dissulfiram

RESUMO

O reposicionamento de medicamentos já aprovados é de crescente interesse para a academia e indústria farmacêutica. Ele já provou ser uma alternativa com redução de tempo e custos, constituindo um método alternativo para rápida identificação de novos agentes terapêuticos. A combinação sinérgica destas drogas pode gerar sucesso no tratamento de infecções por bactérias multidroga resistentes. Por essa razão, este estudo avaliou a atividade antibacteriana sinérgica *in vitro* da sertralina e dissulfiram e suas interações com os antimicrobianos ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima. Foi realizada determinação da concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima e avaliação do sinergismo através do Índice de Concentração Inibitória Fracionada. Foram utilizadas dezoito cepas bacterianas (nove referência *American Type Culture Collection* e nove isolados clínicos multirresistentes). Constatou-se sinergismo entre sertralina e disulfiram frente à cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (FICI=0,5) e um isolado clínico de *S. aureus* (FICI=0,5). Sertralina e dissulfiram quando associados com sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacino, apresentaram 8 eventos de sinergismo, sendo estes frente a três diferentes cepas padrão e 2 isolados clínicos multidroga resistentes. Na determinação da concentração bactericida mínima, a sertralina demonstrou atividade bactericida potencializada com o dissulfiram. Nossos resultados sugerem que essas drogas, utilizadas largamente no tratamento da depressão e do alcoolismo crônico, possuem potencial antibacteriano isoladamente, em associação, e em combinação com antimicrobianos, fazendo de seu redirecionamento, uma alternativa terapêutica promissora para o tratamento efetivo de infecções por bactérias multirresistentes.

Palavras-chave: Sertralina, Dissulfiram, Atividade antimicrobiana, Sinergismo de drogas, Reposicionamento de drogas.

ABSTRACT

The repositioning of approved drugs is an of interest for the academy and the pharmaceutical industry. The synergistic combination of these drugs can be successful in the treatment of infections caused by resistant bacteria. The aim of this study was to assess the *in vitro* synergistic antibacterial activity of sertraline and disulfiram and their interaction with ciprofloxacin and sulfamethoxazole/trimethoprim. We have determined the minimal inhibitory concentration, the minimal bactericidal concentration and Fractional Inhibitory Concentration Index. Eighteen bacterial strains (nine *American Type Culture Collection* reference and nine multidrug resistant clinical isolates) were used. Synergy was detected between sertraline and disulfiram against strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and a clinical isolate of *S. aureus*. When associated to sulfamethoxazole/trimethoprim and ciprofloxacin, sertraline and disulfiram showed eight synergistic events, which occurred against three different standard strains and two multidrug resistant clinical isolates. When the minimal bactericidal concentration was determined, the bactericidal activity of sertraline was enhanced with disulfiram. Our results suggest that these drugs, which are widely used to treat depression and chronic alcoholism, have antibacterial potential individually, in association, and combined with antimicrobials, what makes their repositioning a promising therapeutic alternative for the effective treatment of infections caused by multidrug resistant bacteria.

Keywords: Sertraline, Disulfiram, Antimicrobial activity, Drug synergism, Drug repositioning.

INTRODUÇÃO

A utilização indiscriminada dos antimicrobianos na terapia clínica favoreceu o surgimento de bactérias multirresistentes (MDR) (Santos, La Rocca, Hörner, 2016), o que representa um sério problema de saúde pública mundial, uma vez que as opções terapêuticas para tratamento têm se tornado restritas (Franco et al., 2015).

Embora haja cada vez mais a necessidade por compostos ativos contra bactérias MDR, as pesquisas por novos fármacos não evoluem de acordo com a demanda, sendo necessárias medidas alternativas para o controle das doenças infecciosas (Grillo et al., 2014). Dessa forma, novas terapias podem surgir através do redirecionamento de fármacos, onde há o emprego de drogas já utilizadas clinicamente e os testes em pacientes já são conhecidos (Wiggins et al., 2015). Além disso, pode haver combinação sinérgica entre estes fármacos, o que pode contribuir para um tratamento mais efetivo ao paciente (Zheng, Sun e Simeonov, 2017).

Ashburn e Thor (2004) definem o reposicionamento de fármacos como o processo de encontrar uma nova indicação para uma droga já aprovada. Este método já provou ser uma estratégia alternativa preferida para descoberta acelerada de drogas, uma vez que é relativamente barato e traz risco mínimo aos pacientes devido à disponibilidade dos dados farmacológicos, de segurança e toxicologia anteriores (Mehndiratta et al., 2016).

Diante disso, o reposicionamento constitui uma abordagem atrativa para estudos onde são investigadas as atividades antimicrobianas de psicotrópicos, anestésicos locais, tranquilizantes, medicamentos cardiovasculares, anti-histamínicos e anti-inflamatórios (Chan et al., 2017; Mandal et al., 2010; Rampelotto et al., 2018). A combinação de drogas tem sido utilizada com sucesso no tratamento de bactérias MDR uma vez que é alcançado efeito sinérgico pela soma de seus diferentes mecanismos de ação. Dessa forma, uma identificação rápida de terapias para o tratamento de infecções graves, também surge através da combinação de fármacos sinérgicos redirecionados, superando o problema da fraca atividade das drogas quando utilizadas de forma individual (Zheng, Sun e Simeonov, 2017).

Assim este estudo avaliou as atividades antibacterianas *in vitro* da sertralina e dissulfiram, o sinergismo da combinação entre si e com os antimicrobianos ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima. Os testes foram realizados através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), avaliando o Índice de Concentração Inibitória Fracionada (FICI).

MATERIAIS E MÉTODOS

Cepas bacterianas

Foram utilizadas dezoito cepas bacterianas, incluindo nove de referência *American Type Culture Collection*(ATCC) (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 7468, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) e nove isolados clínicos MDR, provenientes de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM). Desses, quatro foram de *S. aureus* e um isolado de cada espécie descrita a seguir: *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*.

Os isolados clínicos foram identificados através do sistema automatizado Vitek® 2 (bioMérieux, França). Para a caracterização de bactérias MDR, foram seguidas as diretrizes da Nota Técnica nº 1/2010 lançada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Anvisa, 2010). De acordo com estas diretrizes, MDR são microrganismos resistentes a diferentes classes de antimicrobianos testados em exames microbiológicos. O uso desses isolados para pesquisa clínica foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) sob número: 38850614.4.0000.5346.

Medicamentos usados

Sertalina (Legrand Pharma Indústria Farmacêutica Ltda, Hortolândia, SP, Brazil), dissulfiram (Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda, São Paulo, SP, Brazil), ciprofloxacino (Cimed Indústria de medicamentos Ltda, Pouso Alegre, MG, Brazil) e sulfametoxazol/trimetoprima (Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S. A., Rio de Janeiro, RJ, Brazil) foram testados frente a todas as cepas descritas anteriormente. Para a obtenção da solução estoque da sertralina, ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima, estes foram dissolvidos em metanol absoluto, já o dissulfiram em etanol absoluto. A concentração testada para ambos os medicamentos foi de 0,5-512 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para a comprovação da inexistência de atividade inibitória dos solventes utilizou-se metanol e etanol à 10% em teste realizado isoladamente.

Atividade antibacteriana

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM foi determinada pelo método padrão da microdiluição em caldo, conforme o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Todos os testes foram feitos em triplicata, sendo as leituras realizadas visualmente após 24 h de incubação à $35 \pm 2^\circ \text{C}$ em atmosfera ambiente. O inóculo bacteriano foi preparado em solução salina estéril, obtendo concentração da suspensão bacteriana conforme a escala 0,5 McFarland, ou seja, $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia/mL (UFC/mL).

Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

A CBM foi realizada conforme o método descrito no documento M26-A do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (NCCLS, 1999). Após a leitura visual da CIM, foram retirados aproximadamente $10\mu\text{L}$ do conteúdo dos poços onde não houve crescimento bacteriano e também do último poço onde houve crescimento bacteriano visível. Este volume foi semeado em placas de Petri contendo ágar Müller-Hinton, sendo incubadas a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ durante 48 h. Após o período de incubação, a CBM foi determinada como a menor concentração em que não houve crescimento do microrganismo.

Determinação do índice de concentração inibitória

A análise do sinergismo dos medicamentos foi obtida calculando-se o FICI, cuja interpretação é classificada como "sinérgico" ($\text{FICI} \leq 0,5$), "sem interação" ($\text{FICI} > 0,5$ e $\leq 4,0$) e "antagônico" ($\text{FICI} > 4,0$). (Odds, 2003; Konaté, Mavoungou, Lepengué, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de CIM obtidos, bem como de FICI podem ser visualizados na Tabela I. Os resultados demonstram que o medicamento dissulfiram foi especialmente mais ativo frente às cepas padrão Gram-positivas, enquanto que a sertralina apresentou atividade tanto frente à Gram-positivas quanto a Gram-negativas. Quando testada a atividade frente aos isolados clínicos, a sertralina apresentou potente atividade frente a cinco isolados de *Staphylococcus* (CIM = 8). Associados, os fármacos apresentaram efeito sinérgico frente ao *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e no isolado *S. aureus* MDR(1) (CIM=4; FICI=0,5).

Quanto à interação destes dois medicamentos com antimicrobianos usuais, observou-se sinergismo da sertralina e dissulfiram com sulfametoxazol/trimetoprima frente à cepa de *E. coli* ATCC 35218. Enquanto que ao serem associados ao ciprofloxacino, estes apresentaram sinergismo frente ao *B. cereus*. Ainda, a combinação de ciprofloxacino com dissulfiram foi efetiva frente à cepa de *M. luteus* e ao isolado clínico *A. baumannii*, ao passo que a interação de dissulfiram com sulfametoxazol/trimetoprima foi sinérgica frente aos isolados de *P. aeruginosa* e *A. baumannii*.

Munoz-Bellido et al. (2000), avaliaram a atividade antibacteriana da sertralina em diferentes isolados clínicos, provenientes de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Salamanca, Espanha. Os valores de CIM 90 obtidos frente ao *S. aureus* (CIM = 16) e *S. epidermidis* (CIM = 16), bem como em *A. baumannii* (CIM = 64) e *E. coli* (CIM = 128), assemelharam-se aos encontrados nesse estudo.

Phillips et al. (1991), em Valhalla, New York, ao investigarem a atividade *in vitro* do dissulfiram frente a *S. aureus*, obtiveram CIM de $1,33 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para todos os isolados investigados. Em nosso estudo encontramos valores de CIM acima dos relatados por este grupo de pesquisa. Este fato pode estar relacionado com as diferenças da matéria-prima utilizada e sua dissolução, bem como por se tratar de isolados clínicos diferentes. Entretanto ao associarmos sertralina e dissulfiram evidenciamos que tal combinação foi capaz de inibir o crescimento do *S. aureus* MDR, com FICI de 0,5, o que caracteriza o efeito sinérgico existente entre estes fármacos.

Estudos que avaliam a atividade antibacteriana sinérgica de potenciais candidatos ao redirecionamento de drogas já são explorados, como o desenvolvido por Chan et al. (2017) na Malásia. Estes pesquisadores avaliaram a atividade antibacteriana sinérgica de drogas anti-inflamatórias não-esteroidais, cefuroxima e cloranfenicol frente à *S. aureus* sensíveis e resistentes à meticilina, porém as CIMs foram avaliadas em mg.mL^{-1} , sendo essas concentrações cerca de mil vezes maiores que as encontradas em nosso estudo.

Ainda não está estabelecido o mecanismo antibacteriano de ação da sertralina e dissulfiram. Entretanto, Munoz-Bellido e Munoz-Criado e García-Rodríguez sugerem que ação da sertralina se dá através da inibição das bombas de efluxo, uma vez que é consenso que este medicamento atua em células humanas como inibidor dessas bombas (Munoz-Bellido, Munoz-Criado, García-Rodríguez, 2000).

Já o dissulfiram apresenta vários mecanismos capazes de inibir o crescimento bacterino. Seu principal metabólito é o diethyldithiocarbamato (DDTC). Provavelmente este fármaco é metabolizado pela bactéria para formar DDTC, que tem efeitos antibacterianos

(Horita et al., 2009; Horita et al.,2012; Takii et al.,2012). Além disso, Cvek (2013) constatou em seu estudo, que o dissulfiram é capaz de exercer atividade proteolítica através da quebração de proteínas, o que pode provocar inibição bacteriana.

A determinação CBM dos fármacos sertralina e dissulfiram encontram-se descritas na Tabela II. Através destes dados podemos inferir que isoladamente a sertralina apresentou atividade bactericida frente a maioria das cepas testadas, enquanto que o dissulfiram não exerceu esta atividade. Entretanto, ao associarmos estes medicamentos, houve intensificação da atividade bactericida da sertralina, em especial nas cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 35218 e *Bacillus cereus* ATCC 14579. Já nos isolados clínicos esta atividade foi evidenciada principalmente no *S. warneri* (CBM = 8).

Sertralina e dissulfiram apresentaram atividade antibacteriana sinérgica frente a determinadas cepas padrão de referência e isolados clínicos MDR testados nesse estudo e suas interações com sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacino também foram sinérgicas. Esses resultados nos permitem sugerir que seu redirecionamento constitui uma alternativa terapêutica promissora para o tratamento efetivo de infecções bacterianas multirresistentes. No entanto, estudos adicionais sobre os mecanismos de ação envolvidos nestas atividades são necessários para o uso seguro dessas drogas em associação.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Nota Técnica nº 1/2010, Brasília, Brasil, 2010.

Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov.*2004, 3: 673–683.

Chan EWL, Yee ZY, Raja I, Yap JKY. Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Glob Antimicrob Resist.* 2017, 10:70-74.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M07–A9. Wayne, USA: CLSI; 2012.

Cvek B. Comment on cytotoxic effect of disulfiram/copper on human glioblastoma cell lines and ALDH-positive cancer-stem-like cells. *Br J Cancer*. 2013, 108(4): 993.

Dos Santos SO Dos, La Rocca SM, Hörner, R. Colistin resistance in non-fermenting Gram-negative bacilli in a university hospital. *Braz J Infect Dis*. 2016, 20 (6): 649–650.

Franco JMP, Menezes CDA, Cabral FRF. Resistência bacteriana e o papel do farmacêutico frente ao uso irracional de antimicrobianos: revisão integrativa. *Rev ciên*. 2015, 3:5 7-65.

Grillo STRS, Gonçalves TG, Campos JJ, Paniágua NC, Teles CBG. Incidência bacteriana e perfil de resistência a antimicrobianos em pacientes pediátricos de um hospital público de Rondônia, Brasil. *Rev Ciên Farm Básica Apl*. 2013, 34: 117-123.

Horita Y, Takii T, Chiba T, Kuroishi R, Maeda Y, Kurono Y, et al. Synthesis of new sugar derivatives and evaluation of their antibacterial activities against *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009, 19(22): 6313-6.

Horita Y, Takii T, Kuroishi R, Chiba T, Ogawa K, Kremer L, et al. Synthesis and evaluation of anti-tubercular activity of new dithiocarbamate sugar derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011, 21(3): 899-903.

Konaté K, Mavoungou JF, Lepengué AN, Aworet-Samseny RRR, Hilou A, Souza A, et al. Antibacterial activity against β -lactamase producing Methicillin and Ampicillin-resistants *Staphylococcus aureus*: Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) determination. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2012, 11:1-12.

Mandal A, Sinha C, Kumar Jena A, Ghosh S, Samanta A. An investigation on in vitro and in vivo antimicrobial properties of the antidepressant: amitriptyline hydrochloride. *Braz J Microbiol*. 2010, 41(3): 635-45.

Mehndiratta MM, Wadhai SA, Tyagi BK, Gulati NS, Sinha M. Drug repositioning. *International Journal of Epilepsy*. 2016, 3: 91–94.

Munoz-Bellido JL, Munoz-Criado S, García-Rodríguez JA. Antimicrobial activity of psychotropic drugs Selective serotonin reuptake inhibitors. *Int J Antimicrob Agents*. 2000; 14: 177–180.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Determining Bactericidal Activity of antimicrobial agents. Approved Guideline M26-A. Wayne, USA: NCCLS; 1999.

Odds FC. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *J Antimicrob Chemother*. 2003, 52 (1) :1

Phillips M, Malloy G, Nedunchezian D, Lukrec A, Howard RG. Disulfiram Inhibits the *in vitro* Growth of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991, 35:785-787.

Rampelotto RF, Lorenzoni VV, Silva DC, Moraes GA, Serafin MB, Tizotti MK, et al. Coelho SS, Zambiazzi P, Hörner M, Hörner R. Synergistic antibacterial effect of statins with the complex {[1-(4-bromophenyl)-3-phenyltriazene N3-oxide-κ2 N1, O4](dimethylbenzylamine-κ2 C1, N4)palladium(II)}. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2018 (in press).

Samanta A, Chattopadhyay D, Sinha C, Jana AD, Ghosh S, Mandal A, et al. Evaluation of *in vivo* and *in vitro* Antimicrobial Activities of a Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Sertraline Hydrochloride. *Anti-Infect Agents*. 2012; 10:95-104.

Takii T, Horita Y, Kuroishi R, Chiba T, Mori M, Hasegawa T, et al. The Potential Therapeutic Usage of Dithiocarbamate Sugar Derivatives for Multi-Drug Resistant Tuberculosis, Understanding Tuberculosis - New Approaches to Fighting Against Drug Resistance, Dr. Pere-Joan Cardona (Ed.), ISBN: 978-953-307-948- 6, InTech, InTech, 2012 , pp. 263–270 , DOI: 10.5772/29628, ISBN 978-953-307-948-6.

Wiggins HL, Wymant JM, Solfa F, Hiscox SE, Taylor KM, Westwell AD et al. Disulfiram-induced cytotoxicity and endo-lysosomal sequestration of zinc in breast cancer cells. *Biochem Pharmacol*. 2015; 93:332–342.

Zheng W, Sun W, Simeonov, A. Drug repurposing screens and synergistic drug-combinations for infectious diseases. *British Journal of Pharmacology*. 2017; DOI: 10.1111/bph.13895.

TABELA I – Concentração inibitória mínima (CIM) de sertralina, dissulfiram, sulfametoxazol/trimethoprima e ciprofloxacino, sozinhos e em combinação frente a cepas padrão e isolados clínicos.

Cepas Bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)													
	SER	DSF	SER + DSF	FICI	SUT*	SUT* + SER	FICI	SUT* + DSF	FICI	CIP	CIP + SER	FICI	CIP + DSF	FICI
Cepas padrão ATCC														
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	32	>512	32	-	1	1	1.03	1	-	4	4	1.125	4	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16	16	4	0.5	256	16	1.06	16	1.06	256	16	1.06	16	1.06
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	16	16	8	1	1	0,5	0,53	0,5	0,53	1	0,5	0,53	0,5	0,53
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	16	32	8	0.75	256	32	2.125	32	1.125	64	8	0.625	4	0.18
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	32	8	4	0,62	32	32	2	4	0.625	2	0,25	0.13	0,25	0.15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	32	256	16	0.56	8	1	0.15	1	0.12	1	2	2.06	2	2.00
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	32	>512	32	-	1	0,5	0.51	0,5	-	0,25	0,25	1,0	0,25	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	16	>512	32	-	4	4	1.25	16	-	0,5	0,25	0.51	0,25	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>512	>512	>512	-	256	128	-	64	-	1	0,25	-	0,25	-
Isolados clínicos														
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (1)	16	16	4	0.5	256	16	1.06	32	2.125	64	8	0.625	32	2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (2)	16	16	16	2	256	16	1.06	16	1.06	64	32	2.5	16	1.25
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (3)	8	4	4	1.5	128	8	1.06	8	2.06	128	16	2.06	16	2.12
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (4)	8	16	16	3	512	16	2.03	16	1,03	256	16	2.06	16	1,06
<i>Staphylococcus warneri</i> MDR	8	16	4	0.75	512	512	8	256	1.01	512	16	1.03	16	2.03
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> MDR	8	8	4	1	256	16	2.06	16	2.06	128	16	2.12	16	2.12
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MDR	8	16	8	1.5	16	16	3	8	1	2	2	1.25	2	1.12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	16	512	32	2.06	128	32	2.25	32	0.31	1	1	1.06	1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i> oxa 23MDR	16	128	16	1.125	256	32	2.12	16	0,18	32	32	3	8	0,31

SER, sertralina; DSF, dissulfiram; SER+ DSF, combinação de sertralina e dissulfiram; SUT, sulfametoxazol/trimethoprima; SUT+ SER, combinação de sulfametoxazol/trimethoprima e sertralina; SUT +DSF, combinação de sulfametoxazol/trimethoprima e dissulfiram; CIP, ciprofloxacino; CIP+SER, combinação de ciprofloxacino e sertralina; CIP+DSF, combinação de ciprofloxacino e dissulfiram; FICI, Índice de Concentração Inibitória Fracionada; (-), resultado sem determinação; MDR, bactéria multidroga-resistente; *, cinco vezes a concentração de trimetoprima.

TABELA II – Concentração bactericida mínima (CBM) de sertralina e dissulfiram, sulfametoxazol/trimethoprima e ciprofloxacino, sozinhos e em combinação frente a cepas padrão e isolados clínicos.

Cepas bacterianas	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								
	SER	DSF	SER +	SUT*	SUT* +	SUT* +	CIP	CIP +	CIP +
Cepas padrão ATCC			DSF		SER	DSF		SER	DSF
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	32	-	64	>512	128	>512	>512	>512	>512
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	32	>512	16	>512	256	>512	>512	>512	>512
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	32	>512	16	>512	128	>512	>512	>512	>512
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	16	>512	16	>512	128	>512	>512	256	>512
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	64	32	4	>512	128	>512	1	1	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	256	>512	32	>512	>512	>512	>512	128	>512
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	64	>512	64	>512	128	>512	2	2	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	32	>512	64	>512	128	>512	1	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>512	>512	>512	256	256	>512	1	1	1
Isolados clínicos									
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (1)	512	>512	64	>512	>512	>512	>512	128	>512
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (2)	64	>512	64	>512	128	>512	>512	256	>512
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (3)	32	>512	32	>512	128	>512	128	128	128
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (4)	128	>512	32	>512	256	>512	>512	256	>512
<i>Staphylococcus warneri</i> MDR	>512	>512	8	>512	>512	>512	>512	>512	>512
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> MDR	64	>512	16	>512	128	>512	>512	128	>512
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MDR	16	>512	32	>512	64	512	2	2	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	>512	>512	>512	128	512	>512	512	512	512
<i>Acinetobacter baumannii</i> oxa 23MDR	32	>512	16	>512	64	>512	>512	64	512

SER, sertralina; DSF, dissulfiram; SER+ DSF, combinação de sertralina e dissulfiram; SUT, sulfametoxazol/trimethoprima; SUT+ SER, combinação de sulfametoxazol/trimethoprima e sertralina; SUT +DSF, combinação de sulfametoxazol/trimethoprima e dissulfiram; CIP, ciprofloxacino; CIP+SER, combinação de ciprofloxacino e sertralina; CIP+DSF, combinação de ciprofloxacino e dissulfiram; (-), resultado sem determinação; *, cinco vezes a concentração de trimetoprima.

4. DISCUSSÃO

Diversos estudos descrevem a atividade antibacteriana de fármacos não-antibióticos, sendo efetivos frente a uma gama de microrganismos (CHAN et al., 2017; HARBUT et al., 2015; MUTHUKUMAR e JANAKIRAMAN, 2014; THANGAMANI, YOUNIS e SELEEM, 2015). Esse fato torna cada vez mais interessante a investigação das atividades antimicrobianas de possíveis fármacos candidatos ao redirecionamento.

Entre os fármacos pesquisados, estão a sertralina e o dissulfiram, apresentados no artigo publicado: “*Drug repositioning, a new alternative in infectious diseases*”. Ao investigarmos as atividades antibacterianas da sertralina, verificamos que nossos dados corroboraram com os descritos por Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodrigues (2000), que também avaliaram sua atividade frente a diferentes isolados clínicos.

No manuscrito, a CIM do dissulfiram frente a *S. aureus* não corroborou com a descrita por Phillips e colaboradores (1991), que obtiveram valores de CIM menores para todos os isolados investigados. No entanto nossos resultados podem ser comparados aos descritos por Long (2017), com CIM similares, onde dissulfiram também demonstrou ser um agente bacteriostático, com atividade de estreito espectro para bactérias Gram-positivas.

Como citado no artigo publicado, o tratamento de infecções bacterianas através de combinações sinérgicas de fármacos já é adotado a anos (GONZÁLES et al., 2015), uma vez que apresenta vantagens em relação a terapia individual (ALDEYAB et al., 2008; EJIM et al., 2011; LEVIN, 2002; MAHAMAT et al., 2007; QIN et al., 2017; ZILBERBERG et al., 2014;). Além disso, os fármacos não-antibióticos redirecionados podem apresentar efeito antibacteriano tanto entre si quanto em combinação com antimicrobianos, constituindo uma alternativa para superar o problema da fraca atividade das drogas quando utilizadas sozinhas (CHAN et al., 2017; EJIM et al., 2011; ZHENG, SUN e SIMEONOV, 2018;).

Constatamos nesse estudo que a sertralina e dissulfiram foram sinérgicos frente à duas cepas de *Staphylococcus aureus*, e quando associados com sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacino, apresentaram oito eventos de sinergismo. Esses fatos demonstram que o redirecionamento de fármacos é uma alternativa muito promissora no tratamento de infecções bacterianas, podendo serem utilizados em terapia combinada, superando a baixa atividade de drogas individuais e evitando o surgimento de resistência bacteriana ocasionada pela utilização de monoterapias.

5. CONCLUSÕES

Nesse trabalho evidenciamos que o redirecionamento de fármacos não-antibióticos é uma alternativa no tratamento de doenças infecciosas, contornando a problemática da diminuição do número de antibióticos aprovados pelas agências reguladoras e o aumento crescente de bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos.

- a) Foram apresentados um total de 17 estudos abrangendo o reposicionamento de drogas não-antibióticas com efeito antibiótico.
- b) As classes farmacológicas correntemente envolvidas no processo do redirecionamento de fármacos nas infecções bacterianas são as de anti-inflamatórios não esteroides, antidepressivos, antipsicóticos, antialcoolismo, neuroprotetores, antirreumáticos, antidiarreicos, tuberculostáticos e cardiovasculares.
- c) Entre os estudos avaliados, foram encontrados 19 fármacos não-antibióticos que apresentavam atividade antibacteriana frente a diversas cepas, tanto Gram-Positivas quanto Gram-Negativas.
- d) Em relação a atividade antibacteriana dos medicamentos testados, dissulfiram foi ativo frente às cepas padrão Gram-positivas, enquanto que sertralina apresentou atividade tanto frente à Gram-positivas quanto a Gram-negativas e potente atividade frente a cinco isolados de *Staphylococcus spp.*, sendo bactericida frente a maioria das cepas testadas.
- e) A associação entre sertralina e dissulfiram foi sinérgica frente à duas cepas de *Staphylococcus aureus*, e quando associados com os antimicrobianos sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacino, ocorreram oito eventos de sinergismo.
- f) Na determinação da concentração bactericida mínima, sertralina demonstrou atividade bactericida potencializada com o dissulfiram.

REFERÊNCIAS

- ABD-EL-AZIZ, A. S.; AGATEMOR, G.; ETKIN, N. Antimicrobial resistance challenged with metal-based antimicrobial macromolecules. **Biomaterials.**, Canadá, v. 118, p. 27-50, dezembro, 2017. Disponível em:< <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961216306901>>. Acesso em: 14 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.12.002.
- ALDEYAB, M. A.; MONNET, D. L.; LOPEZ-LOZANO, J. M. et al. Modelling the impact of antibiotic use and infection control practices on the incidence of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a time-series analysis. **J. Antimicrob. Chemother.**, Reino Unido, v. 62, n. 3, p. 593–600, maio, 2008. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18467307>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1093/jac/dkn198.
- AMARAL, L.; MARTINS, A.; MOLNAR, J. et al. Phenothiazines, bacterial efflux pumps and targeting the macrophage for enhanced killing of intracellular XDRTB. **In Vivo.**, Portugal, v. 24, n. 4, p. 409-424, julho-agosto, 2010. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20668307>>. Acesso em: 1 jun. 2018
- ARMSTRONG, G.L.; CONN, L.A.; PINNER, R.W. Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. **JAMA**, Estados Unidos, v. 281, n. 1, p. 61-66, janeiro, 1999. Disponível em: < <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/768249> >. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1001/jama.281.1.61
- ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nat. Rev. Drug Discov.**, Estados Unidos, v. 3, n. 8, p. 673- 683, agosto, 2004. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15286734>>. Acesso em: 29 jun. 2018. DOI: 10.1038/nrd1468.
- BARRIERE, S.L. Clinical, economic and societal impact of antibiotic resistance. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, Estados Unidos, v.16, n. 2, p. 151–153, fevereiro, 2015. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25483564>>. Acesso em: 4 jul. 2018. DOI: 10.1517/14656566.2015.983077.
- BOHNERT, J.A.; SZYMANIAK-VITS, M.; SCHUSTER, S.; KERN, W. V. Efflux inhibition by selective serotonin reuptake inhibitors in *Escherichia coli*. **J. Antimicrob. Chemother.**, Alemanha, v. 66, n. 9, p. 2057-2060, junho, 2011. Disponível em:<Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19026250>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1093/jac/dkr258.
- BRAUN, M. M.; FARAG-EL-MASSAH, S.; XU, K.; COTE, T. R. Emergence of orphan drugs in the United States: a quantitative assessment of the first 25 years. **Nat. Ver. Drug Discov.**, Estados Unidos, v.9, n.7, p.519–522, julho, 2010. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20531273>>. Acesso em: 04 jul. 2018. DOI: 10.1038/nrd3160.
- BROWN, M. W. *In vitro* antibacterial activity of drugs against human intestinal anaerobic bacteria. **J. Pharm. Sci.**, Reino Unido, v. 64, p. 700–702, abril, 1975. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/238017>>. Acesso em: 19 jun. 2018. DOI:10.1002/jps.2600640431.

BROWN, A. S.; PATEL, C. J.; A standard database for drug repositioning. **Sci. Data**, Estados Unidos, v. 4, p. 1-7, março, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/sdata201729>>. Acesso em: 03 jul. 2018. DOI: 10.1038/sdata.2017.29.

CIPRIANI, A.; LA FERLA, T.; FURUKAWA, T.A. et al. Sertraline versus other antidepressive agents for depression. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 15, n. 2, p. 1-41, abril, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19370626>>. Acesso em: 15 jul. 2018. DOI:10.1002/14651858.CD006117.pub2.

CIPRIANI, A.; FURUKAWA, T. A.; GEDDES, J. R. et al. Does randomized evidence support sertraline as firstline antidepressant for adults with acute major depression? A systematic review and meta-analysis. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 69, n. 11, p. 1732-1742, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19026250>>. Acesso em: 04 jun. 2018.

CHAN, E. W. L, YEE, Z. Y.; RAJA, I.; YAP, J. K. Y. Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Glob. Antimicrob. Resist.**, Malasya, v.10, p. 70- 74, setembro, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716517300784?via%3Dihub>>. Acesso em: 5 jun. 2018 DOI: 10.1016/j.jgar.2017.03.012.

CVEK B. Comment on cytotoxic effect of disulfiram/copper on human glioblastoma cell lines and ALDH-positive cancer-stem-like cells. **Br. J. Cancer**, República Checa, v. 108, n. 4, p. 993, janeiro, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3590659/>>. Acesso em: 6 jul. DOI: 10.1038/bjc.2013.18.

CURRIE, C. J.; BERNI, E.; JENKINS-JONES, S. et al. Antibiotic treatment failure in four common infections in UK primary care 1991–2012: longitudinal analysis. **BMJ**, Reino Unido, v. 349, p. 1-13, setembro, 2014. Disponível em: <<https://www.bmj.com/content/349/bmj.g5493>>. Acesso em: 5 mai. 2018 DOI: 10.1136/bmj.g5493.

EJIM, L.; FARHA, M. A.; FALCONER, S. B. et al. Combinations of antibiotics and nonantibiotic drugs enhance antimicrobial efficacy. **Nat. Chem. Biol.**, Canadá, v. 7, p. 348-350, junho, 2011. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nchembio.559>>. Acesso em: 23 jun. 2018. DOI: 10.1038/NChemBio.559

GONZÁLES, P. R.; PESESKY, M. W.; BOULEY, R. et al. Synergistic, collaterally sensitive β -lactam combinations suppress resistance in MRSA. **Nat Chem Biol.**, Estados Unidos, v. 11, n. 11, p. 855–61, novembro, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26368589>>. Acesso em: 05 jun. 2018.

GUPTA, S. C.; SUNG, B.; PRASAD, S.; WEBB, L. J.; AGGARWAL, B. B. Cancer drug discovery by repurposing: teaching new tricks to old dogs. **Trends Pharmacol. Sci.**, Estados Unidos, v. 34, n.9, p. 508-517, setembro, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23928289>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.tips.2013.06.005

- HADERA, M.; MEHARI, S.; BASHA, N. S.; AMHA, N. D.; BERHANE, Y. Study on Antimicrobial Potential of Selected Non-antibiotics and its Interaction with Conventional Antibiotics. **UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences**, Eritreia, v. 6, n. 1, p. 1-7, janeiro, 2018. Disponível em: < http://ukjpb.com/article_details.php?id=355>. Acesso em: 3 jun. 2018. DOI:10.20510/ukjpb/6/i1/173522.
- HARBUT, M. B.; VILCHÈZE, C.; LUO, X. et al. Auranofin exerts broad-spectrum bactericidal activities by targeting thiol-redox homeostasis. **PNAS.**, Estados Unidos, v. 112, n. 14, p. 4453- 4458, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25831516>. Acesso em: 10 jun. 2018.
- HORITA, Y.; TAKII, T.; CHIBA, T. et al. Synthesis of new sugar derivatives and evaluation of their antibacterial activities against *Mycobacterium tuberculosis*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, Japão, v.19, n. 22, p. 6313-6316, setembro, 2009. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/19828313>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI:10.1016/j.bmcl.2009.09.095.
- HORITA, Y.; TAKII, T.; YAGI, T. et al. Antitubercular activity of disulfiram, an antialcoholism drug, against multidrug- and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Japão, v.56, n. 8, p. 4140–4145, agosto, 2012. Disponível em:< <http://aac.asm.org/content/56/8/4140.full>>. Acesso em: 20 jun. 2018. DOI:10.1128/AAC.06445-11.
- HWANG, A. Y.; GUMS, J. G. The emergence and evolution of antimicrobial resistance: Impact on a global scale. **Bioorg. Med. Chem.**, Estados Unidos, v. 118, n. 24, p. 27-50, dezembro, 2017. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089616302619>> Acesso em: 5 jun. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.04.027.
- KALAIVANI, P.; PRABHAKARAN, R.; DALLEMER, F. DNA, protein binding, cytotoxicity, cellular uptake and antibacterial activities of new palladium(II) complexes of thiosemicarbazone ligands: effects of substitution on biological activity. **Metallomics**, Índia, v. 1, n.4, p.101-113, janeiro, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051854>>. Acesso em: 19 jun. 2018. DOI: 10.1039/c1mt00144b.
- KUNDU, C. N.; DAS, S.; NAYAK, A.; SATAPATHY, S. R.; DAS, D.; SIDDHARTH, S. Anti-malarials are anti-cancers and vice versa – One arrow two. **Acta Trop.**, Índia, v. 149, p. 113–127, março, 2015. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25963804>>. Acesso em: 17 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.03.028.
- LANDERS P. Drug industry’s big push into technology falls short. **Wall Street J.**, fevereiro, 2004.
- LAXMINARAYAN, R.; DUSE, A.; WATTAL, C. et al. Antibiotic resistance - the need for global solutions. **Lancet Infect. Dis.**, Estados Unidos, v. 13, p. 1057–98, novembro, 2013. Disponível em: < <https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2813%2970318-9/abstract>>. Acesso em: 18 jun. 2018. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70318-9.

LEWIS, K. Platforms for antibiotic discovery. **Nat. Ver. Drug Discov.**, Estados Unidos, v. 12, n. 5, p. 371–387, maio, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23629505>>. Acesso em: 03 jul. 2018. DOI: 10.1038/nrd3975.

LEVIN, B. R. Models for the spread of resistant pathogens. **Neth. J. Med.**, Estados Unidos, v. 60, n. 7, p. 58–64, agosto, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12430592>>. Acesso em: 26 jun. 2018.

LI, J.; HUANG, Y.; GAO, Y. et al. Antibiotic drug rifabutin is effective against lung cancer cells by targeting the eIF4E- β -catenin axis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, China, v. 472, n. 2, p. 299-305, abril, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26944016>>. Acesso em: 6 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.02.120.

LIEB, J. The immunostimulating and antimicrobial properties of lithium and antidepressants. **J. Infect.**, Estados Unidos, v. 49, p. 88-93, agosto, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15236914/>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 0.1016/j.jinf.2004.03.006.

LIU, Z; BANAEI, N.; REN, K. Microfluidics for Combating Antimicrobial Resistance. **Trends. Biotechnol.**, China, v. 35, n. 12, dezembro, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29153761>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.07.008

LOI, V. V.; ROSSIUS, M.; ANTELMANN, H. Redox regulation by reversible protein S-thiolation in bacteria. **Front Microbiol**, Alemanha, v.6, n.187, p. 1-22, março, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4360819/>>. Acesso em: 4 jun. 2018 DOI: 10.3389/fmicb.2015.00187.

LONG, T. E. Repurposing thiram and disulfiram as antibacterial agents for multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Antimicrob. Agents. Chemother.**, Estados Unidos, v. 61, n. 9, p. 898-917, setembro, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28674046>>. Acesso em: 6 jun. 2018. DOI: 10.1128/AAC.00898-17.

MACEDO, D.; FILHO, A. J. M. C.; DE SOUZA, C. N. S. et al. Antidepressants, antimicrobials or both? Gut microbiota dysbiosis in depression and possible implications of the antimicrobial effects of antidepressant drugs for antidepressant effectiveness. **J. Affect. Disord.**, Brasil, v. 208, p. 22-32, janeiro, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27744123>>. Acesso em: 2 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.jad.2016.09.012.

MUTHUKUMAR V, JANAKIRAMAN K. Evaluation of antibacterial activity of amitriptyline hydrochloride. **Int. J. Chem. Tech. Res.**, v. 6, p. 4878–4883, janeiro, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/287769663_Evaluation_of_antibacterial_activity_of_amitriptyline_hydrochloride>. Acesso em: 05 jun. 2018.

MAHAMAT, A.; MACKENZIE, F. M.; BROOKER, K.; MONNET, D. L.; DAURES, J. P.; GOULD, I.M. Impact of infection control interventions and antibiotic use on hospital MRSA:

a multivariate interrupted time-series analysis. **Int. J. Antimicrob. Agents.**, França, v. 30, n. 2, p. 169–176, agosto, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17560085>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2007.04.005.

MEHNDIRATTA, M. M.; WADHAI, S. A.; TYAGI, B. K.; GULATI, N. S.; SINHA, M. Drug repositioning. **Int. J. Epilepsy**, Índia, v. 3, n. 2, p. 91–4, setembro, 2016. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1016/j.ijep.2016.09.002>>. Acesso em: 20 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.ijep.2016.09.002.

MUNOZ-BELLIDO, J. L.; MUNOZ-CRIADO, S.; GARCÌA-RODRÌGUES, J. A. Antimicrobial activity of psychotropic drugs: Selective serotonin reuptake inhibitors. **Int J Antimicrob. Agents**, Espanha, v. 14, n. 3, p. 177-180, abril, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10773485>>. Acesso em: 5 jun. 2018.

O'CONNELL, K. M.; HODGKINSON, J.T.; SORE, H.F. et al. Combating multidrug-resistant bacteria: current strategies for the discovery of novel antibacterials. **Angew. Chem. Int. Ed.**, Inglaterra, v.52, n. 41, p. 10706-10733, outubro, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24038605>> Acesso em: 5 jul. 2018.. DOI: 10.1002/anie.201209979

O'NEIL. The Review on Antimicrobial Resistance. Securing new Drugs for Future Generations: The Pipeline of Antibiotics. p. 151–153, 2015. Acesso em: 5 jul. 2018.

PAPAPETROPOULOS, A.; SZABO, C. Inventing new therapies without reinventing the wheel: the power of drug repurposing. **Br. J. Pharmacol.**, Grécia, v. 175, n. 2, p. 165–167, janeiro, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29313889>>. Acesso em: 3 jul. 2018. DOI: 10.1111/bph.14081

PHILLIPS, M.; MALLOY, G.; NEDUNCHEZIAN, D.; LUKREC, A.; HOWARD, R. G. Disulfiram Inhibits the In Vitro Growth of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Estados Unidos, v. 35, n. 4, p. 785-787, abril, 1991. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC245102/pdf/aac00049-0207.pdf>>. Acesso em: 2 jul. 2018.

PIDDOCK, L. J. The crisis of no new antibiotics-what is the way forward. **Lancet Infect. Dis.**, Reino Unido, v. 12, n.3, p. 249- 253, março, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22101066>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70316-4.

QIN, X.; TRAN, B. G; KIM, M. J. et al. A randomised, double-blind, phase 3 study comparing the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem for complicated intra-abdominal infections in hospitalised adults in Asia. **Int J Antimicrob Agents**, China, v. 49, n. 5, p. 579-588, maio, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28363526>>. Acesso em: 23 jul. DOI: 10.1186/s13054-014-0596-8.

SANTOS, S. O. DOS; LA ROCCA, S. M., HÖRNER, R. Colistin resistance in non-fermenting Gram-negative bacilli in a university hospital. **Braz J Infect Dis**, Brasil, v. 20, n.

6, p. 649-650, novembro/dezembro, 2016. Disponível em:<
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702016000600649>.
 Acesso em: 22 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.bjid.2016.08.009.

TAKII, T.; HORITA, Y.; KUROISHI, R. et al. The Potential Therapeutic Usage of Dithiocarbamate Sugar Derivatives for Multi-Drug Resistant Tuberculosis. **Understanding Tuberculosis**, Japão, fevereiro, 2012. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/221924913_The_Potential_Therapeutic_Usage_of_Dithiocarbamate_Sugar_Derivatives_for_Multi-Drug_Resistant_Tuberculosis>. Acesso em: 5 jul. 2018. DOI:10.5772/29628 .

THANGAMANI, S.; YOUNIS, W.; SELEEM, M. N. Repurposing Clinical Molecule Ebselen to Combat Drug Resistant Pathogens. **Plos One**, Estados Unidos, v. 10, n. 7 , p. 1- 16, julho, 2015. Disponível em:<
<http://journals.plos.org/plosone/article/authors?id=10.1371/journal.pone.0133877>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI:10.1371/journal.pone.0133877.

TRISCOTT, J.; LEE, C.; HU, K. et al. Disulfiram, a drug widely used to control alcoholism, suppresses self-renewal of glioblastoma and overrides resistance to temozolomide. **Oncotarget**, Canadá, v. 3, n. 10, p. 1112–1123, outubro, 2012. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23047041>>. Acesso em: 2 jun. 2018. DOI: 10.18632/oncotarget.604.

VELASCO-GARCÍA, R.; ZALDÍVAR-MACHORRO, V. J.; MÚJICA-JIMÉNEZ, C.; GONZÁLEZ-SEGURA, L.; MUÑOZ-CLARES, R.A. Disulfiram irreversibly aggregates betaine aldehyde dehydrogenase - A potential target for antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, México, v. 341, p.408–415, janeiro, 2006. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16426571>>. Acesso em: 4 jun. 2018. DOI:10.1016/j.bbrc.2006.01.003.

VENTOLA, C. L. The Antibiotic Resistance Crisis, Part 1: Causes and Threats. **Pharmacy and Therapeutics**, Estados Unidos, v. 40, n. 4, p. 277–283, abril, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>>. Acesso em: 7 jun. 2018.

VERBAANDERD, C.; MEHEUS, L.; HUYS, I.; PANTZIARKA, P. Repurposing Drugs in Oncology: Next Steps. **Trends Cancer**, Bélgica, v. 3, n. 8, p. 543-546, agosto, 2017. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28780930>>. Acesso em: 23 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.trecan.2017.06.007

WORLD HEALTH ORGANIZATION/CDC/ICBDSR. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: World Health Organization; 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/medicines/publications/global-prioritylist-antibiotic-resistant-bacteria/en/>>. Acesso em: 10 fev. 2018.

ZHENG, W.; SUN, W.; SIMEONOV, A. Drug repurposing screens and synergistic drug-combinations for infectious diseases. **Br. J. Pharmacol.**, Estados Unidos, v. 175, n. 2, p. 181–191, janeiro, 2018. DOI: 10.1111/bph.13895. Disponível

em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28685814>>. Acesso em: 5 jul. 2018. DOI: 10.1111/bph.13895.

ZILBERBERG, M. D.; SHORR, A. F.; MICEK, S. T.; VAZQUEZ-GUILLAMET, C.; KOLLEF, M. H. Multi-drug resistance, inappropriate initial antibiotic therapy and mortality in Gram-negative severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. **Crit. Care.**, Estados Unidos, v. 18, n. 6 , p. 596- 608, novembro, 2014. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25412897>>. Acesso em: 5 jun. 2018. DOI: 10.1186/s13054-014-0596-8.