

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

Taciéli Fagundes da Rosa

**REPOSICIONAMENTO DOS ANTIDEPRESSIVOS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DE NUCLEASE QUÍMICA *IN
VITRO* DE OXALATO DE ESCITALOPRAM E CLONAZEPAM**

Santa Maria, RS
2019

Taciéli Fagundes da Rosa

**REPOSICIONAMENTO DOS ANTIDEPRESSIVOS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DE NUCLEASE QUÍMICA *IN VITRO* DE
OXALATO DE ESCITALOPRAM E CLONAZEPAM**

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
2019

da Rosa, Taciéli Fagundes
REPOSICIONAMENTO DOS ANTIDEPRESSIVOS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DE NUCLEASE QUÍMICA IN VITRO
DE OXALATO DE ESCITALOPRAM E CLONAZEPAM / Taciéli
Fagundes da Rosa.- 2019.
67 f.; 30 cm

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosmari Hörner
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2019

1. Reposicionamento de medicamentos. 2. Clivagem do
DNA. 3. Antidepressivos. 4. Oxalato de Escitalopram. 5.
Clonazepam. I. Hörner, Prof^a. Dr^a. Rosmari II. Título.

Taciéli Fagundes da Rosa

**REPOSICIONAMENTO DOS ANTIDEPRESSIVOS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DE NUCLEASE QUÍMICA *IN VITRO* DE
OXALATO DE ESCITALOPRAM E CLONAZEPAM**

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 22 de agosto de 2019:

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

Daniela Fernandes Ramos, PhD. (FURG) - Parecer

Virgínia Maria Cóser, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, RS
2019

DEDICATÓRIA

Dedico a minha mãe, a minha avó Bimba (que infelizmente não está mais entre nós para presenciar esse momento), ao meu noivo e aos meus amigos que me apoiaram durante toda essa trajetória.

AGRADECIMENTOS

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

A minha mãe Divanir, que com muito amor, carinho e apoio não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

Ao meu pai Octacilio, “in Memoriam”, que não conseguiu acompanhar minha trajetória, mas que sempre esteve em meu pensamento e coração.

A Bimba, “in Memoriam”, pelo incentivo aos estudos, pelo amor, por tudo.

Ao Henrique, meu noivo. Por todo amor, paciência, apoio e amizade.

A minha orientadora, Rosmari Hörner, pela oportunidade concedida de fazer parte de seu grupo de pesquisa, pela confiança no meu trabalho e pelos conhecimentos científicos transmitidos.

Aos colegas do Laboratório de Bacteriologia, pelo companheirismo, ensinamentos, incentivos e amizade.

Aos meus amigos - de Rosário, cursinho, 111ª turma de farmácia e dança - pela amizade, cumplicidade e por todo o apoio. Vocês são essenciais na minha vida.

A minha colega e dupla Catrine, por todos os dias que fizemos técnicas e trabalhos juntas, com certeza a tua ajuda foi muito importante.

A minha amiga Laís Neves, que além do apoio, auxiliou-me com seu trabalho de designer.

A dona Rosa, pelo profissionalismo e amizade.

A Moreninha, meu animalzinho de estimação, que demonstrou um grande companheirismo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria, pelos anos de aprendizado e pela oportunidade de desenvolver e concretizar este estudo.

A CAPES, pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos a mim, fazendo esta vida valer a pena.

RESUMO

REPOSICIONAMENTO DOS ANTIDEPRESSIVOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DE NUCLEASE QUÍMICA *IN VITRO* DE OXALATO DE ESCITALOPRAM E CLONAZEPAM

AUTORA: Taciéli Fagundes da Rosa
ORIENTADORA: Dr^a. Rosmari Hörner

A emergência da multirresistência aos antimicrobianos disponíveis comercialmente na atualidade é provavelmente e continuará a ser um dos grandes problemas de saúde pública mundial, dado que apresenta consequências clínicas e econômicas preocupantes. Concomitante ao aumento das infecções ocasionadas por microrganismos resistentes a múltiplas drogas (MDR) ocorreu uma redução drástica de novos antibacterianos no mercado, bem como, investimentos para sua criação. Além da resistência aos antimicrobianos, a resistência aos medicamentos antitumorais também já é uma realidade. Assim, é essencial a pesquisa de novas substâncias e/ou compostos que apresentem atividade antibacteriana e/ou antitumoral. Com isso, o reposicionamento de fármacos surgiu como uma abordagem alternativa para a identificação mais rápida de medicamentos eficazes. Nesse sentido, o presente estudo objetivou, no primeiro artigo, apresentar à comunidade científica a pesquisa atual do reposicionamento de antidepressivos para o tratamento de infecções ocasionadas por microrganismos. No segundo manuscrito, analisou-se a atividade antibacteriana individual e em combinação com antibacterianos dos não-antibióticos oxalato de escitalopram e clonazepam frente a cepas padrão e isolados clínicos multirresistentes. Além disso, foi analisada a capacidade de nuclease química desses medicamentos. No primeiro artigo, relatamos que medicamentos antidepressivos, destacando a classe dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs), apresentam atividade significativa contra vários microrganismos. Foram apresentados 14 estudos abrangendo o reposicionamento de medicamentos antidepressivos para tratamento de infecções. Dentre os antidepressivos, foi citado o oxalato de escitalopram com atividade relatada *in vitro* frente a cepas bacterianas padrão. No segundo manuscrito, relatamos a atividade antibacteriana e de nuclease química dos medicamentos oxalato de escitalopram e clonazepam. O primeiro foi ativo frente a uma cepa padrão Gram-negativa e oito isolados clínicos MDR Gram-positivos. O segundo medicamento apresentou atividade tanto frente a Gram-positivas quanto a Gram-negativas, sendo quatro cepas padrão Gram-positivas e todos os isolados clínicos MDR Gram-positivos e Gram-negativos. Oxalato de escitalopram e clonazepam apresentaram atividade *in vitro* quando associados, individualmente, com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas-padrão e isolados clínicos MDR Gram-positivos. O clonazepam também foi ativo frente a uma bactéria Gram-negativa. Clonazepam foi capaz de clivar o DNA plasmidial. Mais estudos devem ser realizados pelo nosso grupo de pesquisa, com objetivo de verificar a atividade do clonazepam frente a linhagens celulares tumorais. Portanto, nesse trabalho evidenciamos que estes dois medicamentos constituem uma alternativa promissora ao redirecionamento no tratamento de doenças infecciosas e também para neoplasias. São necessários estudos adicionais, utilizando diferentes técnicas, para a elucidação dos mecanismos de ação envolvidos.

Palavras-chave: Reposicionamento de medicamentos. Clivagem do DNA. Antidepressivos. Oxalato de Escitalopram. Clonazepam.

ABSTRACT

REPOSITIONING ANTIDEPRESSIVES AND EVALUATING THE ANTIBACTERIAL AND *IN VITRO* CHEMICAL NUCLEASE ACTIVITY OF ESCITALOPRAM OXALATE AND CLONAZEPAM

AUTHOR: Taciéli Fagundes da Rosa

ADVISER: Dr.^a. Rosmari Hörner

The emergence of multiresistance to commercially available antimicrobials today is likely to continue to be one of the major global public health problems, as it has worrying clinical and economic consequences. Concomitant with the increase in infections caused by multidrug-resistant microorganisms (MDR), there has been a drastic reduction of new antibacterials in the market, as well as investments for their creation. In addition to antimicrobial resistance, resistance to antitumor drugs is already a reality. Thus, it is essential to search for new substances and / or compounds that exhibit antibacterial and / or antitumor activity. With this, drug repositioning has emerged as an alternative approach for the faster identification of effective drugs. In this sense, the present study aimed, in the first article, to present to the scientific community the current research on the repositioning of antidepressants for the treatment of infections caused by microorganisms. In the second manuscript, the individual antibacterial activity and in combination with antibacterials of the non-antibiotics escitalopram oxalate and clonazepam were analyzed against standard strains and clinical isolates multiresistant. In addition, the chemical nuclease ability of these drugs was analyzed. In the first article, we report that antidepressant drugs, highlighting the class of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), have significant activity against several microorganisms. We present 14 studies covering the repositioning of antidepressant drugs to treat infections. Among the antidepressants, escitalopram oxalate was reported with activity reported in vitro against standard bacterial strains. In the second manuscript, we report the antibacterial and chemical nuclease activity of the drugs oxalate of escitalopram and clonazepam. The first was active against a standard Gram-negative strain and eight Gram-positive MDR clinical isolates. The second drug showed activity against both Gram-positive and Gram-negative, with four standard Gram-positive strains and all Gram-positive and Gram-negative MDR clinical isolates. Escitalopram oxalate and clonazepam showed activity in vitro when individually associated with ciprofloxacin and sulfamethoxazole-trimethoprim against standard strains and clinical MDR Gram-positive isolates. Clonazepam was also active against a gram-negative bacterium. Clonazepam was able to cleave the plasmidial DNA. Further studies should be performed by our research group, in order to verify the activity of clonazepam against tumor cell lines. Therefore, in this work we show that these two drugs constitute a promising alternative to redirection in the treatment of infectious diseases and also for neoplasias. Further studies, using different techniques, are needed to elucidate the mechanisms of action involved.

Keywords: Drug Repositioning. DNA cleavage. Antidepressive agents. Escitalopram Oxalate. Clonazepam.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.4 ANTIDEPRESSIVOS: OXALATO DE ESCITALOPRAM

Figura 1 – Estrutura química do oxalato de escitalopram.....16

2.5 BENZODIAZEPÍNICOS: CLONAZEPAM

Figura 2 – Estrutura química do clonazepam.....17

3.1 PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA

3.2 MANUSCRITO 2

Figura 1 – Atividade do oxalato de escitalopram frente a A: *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 e B: SCN MDR (13). Atividade do clonazepam frente a C: *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 e D: SCN MDR (17). Asteriscos indicam os níveis de significância, quando comparados aos medicamentos testados isoladamente. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$54

Figura 2 – Representação ilustrativa das formas do DNA.....55

Figura 3 – Gel de agarose com medicamento clonazepam em diferentes temperaturas e pHs evidenciando a ocorrência da clivagem do DNA.....55

LISTA DE TABELAS

3. PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA

3.1 ARTIGO 1

Tabela 1 – Resumo de estudos realizados com medicamentos antidepressivos frente a bactérias e fungos, como potenciais sugestões ao reposicionamento para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas.....22

3.2 MANUSCRITO 2

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima (CIM) do oxalato de escitalopram, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.....42

Tabela 2 – Concentração bactericida mínima (CBM) do oxalato de escitalopram, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.....44

Tabela 3 – Concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e determinação do índice de tolerância (CBM/CIM) do oxalato de escitalopram (ESC) frente a cepas padrão e isolados clínicos.....46

Tabela 4 – Concentração inibitória mínima (CIM) do clonazepam, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.....48

Tabela 5 – Concentração bactericida mínima (CBM) do clonazepam, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.....50

Tabela 6 – Concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e determinação do índice de tolerância (CBM/CIM) do clonazepam (CLON) frente a cepas padrão e isolados clínicos.....52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADT	Antidepressivo tricíclico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CIP	Ciprofloxacino
CLON	Clonazepam
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ESC	Oxalato de Escitalopram
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa e Enterobacter spp.</i>
FICI	Índice de Concentração Inibitória Fracionada
GBM	Glioblastoma multiforme
HUSM	Hospital Universitário de Santa Maria
IMAO	Inibidores da monoamina oxidase
ISRS	Inibidor seletivo da recaptção da serotonina
MDR	Resistentes a múltiplas drogas (Multidrug-resistant)
MGMT	O6 metiltransferase-DNA-metilguanina
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
OMS	Organização mundial de saúde
RAM	Resistência antimicrobiana
SUT	Sulfametoxazol-Trimetoprima
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
SNC	Sistema Nervoso Central
TAG	Transtorno de ansiedade generalizada
TMZ	Temozolamida
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>
TOC	Transtorno obsessivo compulsivo
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.....	13
1.2.1 Objetivo Geral.....	13
1.2.2 Objetivos Específicos.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA.....	14
2.2 IMPORTÂNCIA DE NOVOS ANTIBACTERIANOS E REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS.....	14
2.3 COMBINAÇÕES DE MEDICAMENTOS SINÉRGICOS.....	15
2.4 ANTIDEPRESSIVOS: OXALATO DE ESCITALOPRAM.....	16
2.5 BENZODIAZEPÍNICOS: CLONAZEPAM.....	17
2.6 CLIVAGEM DO DNA PLASMIDIAL.....	18
3. PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA	20
3.1 ARTIGO 1 – Reposicionamento ou redirecionamento de medicamentos antidepressivos no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas.....	20
3.2 MANUSCRITO 2 – Reposicionamento de oxalato de escitalopram e clonazepam em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima para tratamento de microrganismos multirresistentes e avaliação da capacidade de clivagem do DNA plasmidial	29
4. DISCUSSÃO	56
5. CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO A – NORMAS PARA AUTORES DO PERIÓDICO “<i>JOURNAL OF CHEMOTHERAPY</i>”	65

1. INTRODUÇÃO

A incidência de infecções graves causadas por microrganismos resistentes a múltiplas drogas (MDR) é provavelmente e continuará a ser um dos grandes problemas de saúde pública, dado que apresenta consequências clínicas e econômicas preocupantes (FOLGORI e BIELICKI, 2018; LOUREIRO et al., 2016). Concomitante a emergência das infecções por microrganismos MDR, ocorre uma redução drástica de novos antibióticos no mercado, bem como, investimentos para sua criação. Este fato torna o cenário ainda mais preocupante, já que são necessários alguns anos para criar um novo medicamento (RODRIGUES et al., 2018). Assim, a pesquisa de novas substâncias e/ou compostos que apresentem atividade antibacteriana é essencial (BROWN, 2015).

Nesse sentido, o reposicionamento de drogas surgiu como uma abordagem alternativa para a identificação mais rápida de medicamentos eficazes contra doenças infecciosas (BOTTEGA et al., 2019; DA ROSA et al., 2019; FOLETTTO et al., 2019; SERAFIN e HÖRNER, 2018). Outro fato é que a combinação de medicamentos sinérgicos, identificados a partir do reaproveitamento de drogas, é uma opção útil no tratamento de infecções graves (ZHENG, 2018).

Além disso, existe um problema tão grande quanto a resistência bacteriana, o qual é a resistência a medicamentos antitumorais (SALES, 2015). Apesar do progresso no desenvolvimento de técnicas cirúrgicas, da radioterapia e quimioterapia, o tratamento de alguns tipos de câncer é extremamente difícil, entre eles, podemos citar o glioblastoma (WILSON, KARAJANNIS e HARTER, 2014). A descoberta de novos alvos terapêuticos para o tratamento do neoplasias constitui demanda urgente da área de oncologia (SALES, 2015). Com isso, é importante ressaltar a importância de pesquisar novas moléculas com capacidade de nuclease química, sendo que existem moléculas que possuem atividade antitumoral por clivarem o DNA e levarem as células a apoptose (ALMEIDA et al., 2013).

Recentemente, o medicamento utilizado como antidepressivo, oxalato de escitalopram teve sua atividade antibacteriana relatada na literatura. O medicamento exerce atividade antibacteriana frente a alguns microrganismos, os quais são *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter cloacae* (AKILANDESWARI, RUCKMANI e RANJITH, 2013; MACEDO et al., 2017). Foi também demonstrado que este inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRS), oxalato de escitalopram, exerceu atividade citotóxica em células cancerosas, provenientes de carcinoma colorretal (SAKKA et al., 2017).

O medicamento clonazepam, pertence a classe dos benzodiazepínicos, sendo indicado para o tratamento de distúrbios epilépticos, transtornos de humor e síndromes psicóticas (FIORELLI e ASSINI, 2017; KATZUNG, MASTERS e TREVOR, 2014). Até o momento, uma publicação de patente demonstrou interesse na avaliação das atividades antibacterianas do clonazepam. Esta patente trata do uso do clonazepam em combinação com antibióticos para o tratamento de meningite bacteriana (COMMISARIAT AL'ENERGIE ATOMIQUE ET-AUX ENERGIES ALTERNATIVES, 2016). Por ser um medicamento de ampla utilização na sociedade atual torna-se extremamente interessante e importante a busca dos efeitos antibacterianos e de nuclease química do clonazepam.

Considerando a gravidade dos problemas de resistência bacteriana e tumoral e a ameaça a saúde pública a nível mundial, constitui tema de interesse da comunidade científica o estudo da atividade antibacteriana e de clivagem do DNA plasmidial de algumas classes farmacológicas, tais como, anti-hipertensivos, anti-histamínicos, tranquilizantes, antipsicóticos, estes chamados de “não-antibióticos”. Já é consenso que os medicamentos que possuem o anel benzênico, como o oxalato de escitalopram e clonazepam, contribuem, consideravelmente, para um aumento da atividade antibacteriana (MOURA et al., 2017).

1.1 JUSTIFICATIVA

Pode-se inferir que o reposicionamento de fármacos não-antibióticos com perfis de toxicidade conhecidos representa uma alternativa promissora para o tratamento de infecções e neoplasias. Existem relatos de reposicionamento dos medicamentos oxalato de escitalopram e clonazepam, já aprovados para uso pelas autoridades responsáveis. Assim, torna-se interessante e importante a busca dos efeitos antibacterianos e de clivagem do DNA plasmidial, uma vez que drogas que atuam no DNA são potenciais antibacterianos e/ou citotóxicos. Além disso, a investigação da atividade antibacteriana sinérgica dos medicamentos candidatos ao reposicionamento em combinação com antibacterianos utilizados na terapêutica constitui uma investigação de extrema importância.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi apresentar o reposicionamento de medicamentos antidepressivos frente a microrganismos. Além disso, avaliar a atividade antibacteriana individual dos medicamentos oxalato de escitalopram e clonazepam e em associação com antibacterianos ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos multirresistentes. Também foi avaliada a capacidade de clivagem do DNA plasmidial dos medicamentos oxalato de escitalopram e clonazepam.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar os estudos abrangendo o reposicionamento de medicamentos antidepressivos frente a microrganismos, abordando as principais vantagens desse processo;
- b) Avaliar a atividade antibacteriana do antidepressivo oxalato de escitalopram e do benzodiazepínico clonazepam frente a cepas bacterianas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) e isolados clínicos multirresistentes provenientes o Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM);
- c) Avaliar a atividade antibacteriana do oxalato de escitalopram e clonazepam em associação com os antibacterianos ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima.
- d) Investigar a atividade de nuclease química do oxalato de escitalopram e clonazepam em diferentes pHs (7,4 e 8,0) e temperaturas (37° e 50°C) utilizando o DNA plasmidial dupla fita pUC 18.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA

Nos últimos anos, a resistência antimicrobiana (RAM) ou resistência a múltiplos fármacos (microrganismos resistentes a múltiplas drogas - MDR) tornou-se uma preocupação de saúde e grande questão desafiadora, em todo o mundo. O aumento do número de cepas resistentes a antibióticos tem ameaçado as realizações da ciência e da medicina, uma vez que inativa a terapêutica antimicrobiana convencional (SANTOS, LA ROCCA e HÖRNER, 2016).

A multirresistência bacteriana é atualmente um dos problemas de saúde pública mais relevantes, uma vez que muitas bactérias anteriormente suscetíveis aos antibióticos usualmente utilizados deixaram de responder a esses mesmos agentes (FOLGORI e BIELICKI, 2018; LOUREIRO et al., 2016).

Além disso, esta multirresistência é responsável por consequências clínicas e econômicas graves, relacionadas com o aumento da morbidade e mortalidade devido aos atrasos na administração de tratamentos eficazes contra as infecções causadas por bactérias resistentes (WHO, 2015). Por sua vez, a hospitalização prolongada e o uso de antibióticos diferentes dos de primeira linha aumentam também, de forma acentuada, os custos dos cuidados de saúde, o que constitui um problema particularmente relevante considerando os recursos finitos que sustentam os sistemas de saúde e tendo em conta a atual conjuntura de crise econômica e financeira (LOUREIRO et al., 2016).

Cientistas estão tentando responder à ameaça RAM/MDR explorando plataformas inovadoras e novas terapias estratégicas para combater infecções destas cepas resistentes e contornar as limitações do tratamento dessas patologias (BILAL et al., 2017; SANTOS, LA ROCCA e HÖRNER, 2016).

2.2 IMPORTÂNCIA DE NOVOS ANTIBACTERIANOS E REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS

As infecções bacterianas se tornaram uma séria ameaça à saúde pública global devido à escassez de antimicrobianos eficazes. Além disso, o desenvolvimento de novos antibióticos está se tornando cada vez mais difícil e incapaz de acompanhar o rápido surgimento de patógenos resistentes. Por isso, novos medicamentos e novas abordagens são urgentemente

necessários (THAKARE et al., 2017). Reaproveitamento de drogas, a aplicação de um medicamento aprovado para outra indicação terapêutica, é considerada solução plausível para este problema (NG et al., 2017).

As expressões “reposicionamento de drogas” e “reaproveitamento de drogas” foram primeiramente descritas por Ashburn e Thor no artigo “Reposicionamento de drogas: identificando e desenvolvendo novos medicamentos para drogas existentes” (ASHBURN e THOR, 2004). Este é o processo para encontrar novos usos para medicamentos clinicamente aprovados, também conhecido como redirecionamento. Tanto a descoberta de novos fármacos quanto o reaproveitamento de drogas têm sido utilizados na busca de antibióticos eficazes. Ao contrário do processo demorado e oneroso da descoberta de novas drogas, o seu reaproveitamento pode reduzir o tempo, custo e risco associados à inovação de medicamentos (ASHBURN e THOR, 2004; BOTTEGA et al., 2019; DA ROSA et al., 2019; FOLETTO et al., 2019; NOSENGO, 2016; SERAFIN et al., 2018). Dos medicamentos já aprovados se tem segurança, conhecimento da farmacologia, perfil e processo de fabricação, assim ele pode ser rapidamente disponibilizado para tratamento de outras doenças (NOSENGO, 2016).

O reaproveitamento de drogas já resultou em sucesso em várias áreas de doenças, incluindo doenças infecciosas (DEBNATH et al., 2012). Dado o problema crucial colocado pelos patógenos multirresistentes, especialmente os patógenos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), esforços adicionais precisam ser focados no uso de reaproveitamento de drogas para descobrir novas opções de tratamento (YOUNIS, SHANKAR e SELEEM, 2015).

2.3 COMBINAÇÕES DE MEDICAMENTOS SINÉRGICOS

Interações aditivas ocorrem quando o efeito da combinação de substâncias é igual ao simples somatório do efeito destas isoladamente. As interações sinérgicas, por sua vez, são observadas quando o efeito produzido por uma combinação de substâncias é superior ao que se poderia esperar com base na contribuição individual de seus componentes (WAGNER e ULRICH-MERZENICH, 2009; YANG et al., 2014).

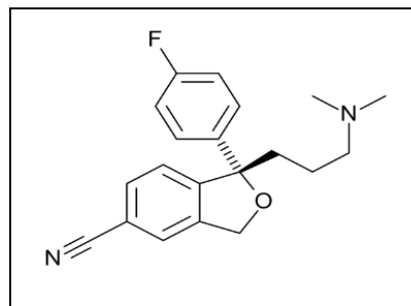
O interesse em efeitos sinérgicos entre substâncias com vistas às aplicações terapêuticas tem aumentado nos últimos anos em função de recentes mudanças de paradigmas. A abordagem mais frequente na busca de candidatos a fármacos vem cedendo lugar ao desenvolvimento de terapias múltiplas, com o objetivo de evitar o desenvolvimento

de mecanismos de resistência aos medicamentos (CHE et al., 2013; JIA et al., 2009; WAGNER e ULRICH-MERZENICH, 2009; YANG et al., 2014). Além disso, a combinação de substâncias com efeito sinérgico pode aumentar a biodisponibilidade de substâncias ativas e/ou reduzir as doses destas. Conseqüentemente, a toxicidade e efeitos adversos diminuem e ocorre um aumento da eficácia terapêutica (VAN VURREN e VILJOEN, 2011).

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, 2018). Algumas combinações de fármacos não-antibióticos com antibióticos têm demonstrado um aumento da atividade antimicrobiana *in vitro* (CHAN et al., 2017; MUNOZ-BELLIDO, MUNOZ-CRIADO E GARCÍA-RODRIGUES, 2000). Combinações de compostos não-antibióticos com antibióticos podem explorar uma maior área de espaço químico antimicrobiano se comparada à ação de agentes sozinhos (CHAN et al., 2017; EJIM et al., 2011).

2.4 ANTIDEPRESSIVOS: OXALATO DE ESCITALOPRAM

Figura 1: Estrutura química do oxalato de escitalopram.



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

Os termos psicotrópico e psicoativo são utilizados para denominar uma categoria ampla de substâncias que agem no Sistema Nervoso Central (SNC), as quais foram introduzidas na prática biomédica por volta da década de 1950, quando começa a “Era da Psicofarmacologia”. O termo Antidepressivo refere-se a uma subcategoria dessas substâncias (BITTENCOURT, CAPONI e MALUF, 2013). A primeira classe desses medicamentos foram a dos Inibidores da Monoaminoxidase (IMAO). Ao utilizar a iproniazida para tratar a tuberculose, percebeu-se que o humor dos pacientes melhorava. No entanto, por possuir

muitos efeitos colaterais, esta substância deixou de ser utilizada nas décadas seguintes (BITTENCOURT, CAPONI e MALUF, 2013).

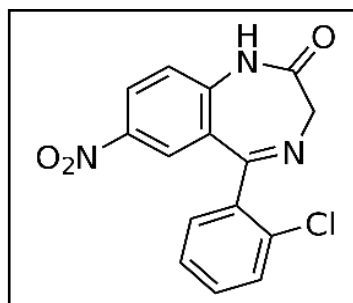
Atualmente, os ISRS têm sido utilizados com sucesso para o tratamento de diversas patologias psiquiátricas como transtornos de ansiedade e transtornos de humor, sendo que para muitas são consideradas drogas de primeira escolha como para o transtorno de pânico, transtorno de ansiedade social e transtorno depressivo maior (STEPHANSSON et al., 2013).

A eficácia clínica dos ISRS é atribuída a uma potencialização da transmissão serotoninérgica (CORDEIRO et al., 2014). As primeiras evidências que implicaram a serotonina com a modulação da ansiedade são do final da década de 60 e início dos anos 70, quando foi demonstrado que antagonistas da serotonina apresentavam efeito anticonflito em modelos experimentais de ansiedade (BRAGA, 2010). Os primeiros achados indicavam um efeito ansiogênico da serotonina, mas resultados posteriores obtidos em outros modelos experimentais indicaram que a serotonina tinha efeito ansiolítico (CORDEIRO et al., 2014).

O medicamento oxalato de escitalopram pertence a classe dos ISRSs e é indicado para o tratamento e prevenção da recaída ou recorrência da depressão, transtorno de ansiedade generalizada (TAG), transtorno de ansiedade social (fobia social) e transtorno obsessivo compulsivo (TOC) (BRAGA, 2010; CORDEIRO et al., 2014). Recentemente, podem ser encontrados na literatura estudos que relatam atividades antibacterianas (MACEDO et al., 2017) e citotóxicas (SAKKA et al., 2017) do oxalato de escitalopram. Demonstrando que, além das propriedades antidepressivas, outras atividades precisam ser pesquisadas.

2.5 BENZODIAZEPÍNICOS: CLONAZEPAM

Figura 2: Estrutura química do clonazepam.



FONTE: (Adaptado de Commisariat Al'Energie Atomique Et-Aux Energies Alternatives, 2016).

Os primeiros benzodiazepínicos foram sintetizados na década de 1950 e vêm sendo utilizados até a atualidade devido a sua relativa segurança e rápido início de ação. Em se tratando da indicação dos benzodiazepínicos, estes são prescritos em várias situações clínicas, exibindo efeitos ansiolíticos-tranquilizantes, hipnótico-sedativos, anticonvulsivantes, miorelaxantes, indução a amnésia e alterações psicomotoras. Pertencem a uma classe lipossolúvel, sendo assim, absorvidos de forma rápida pelo organismo. O uso prolongado dos benzodiazepínicos podem causar efeitos colaterais leves como sonolência diurna e mais graves como perda de memória e da função cognitiva e desequilíbrio (RICHARDSON, BENNETT e KENNY, 2015).

O clonazepam apresenta como principal propriedade a inibição leve das funções do sistema nervoso central permitindo assim uma ação anticonvulsivante, alguma sedação, relaxamento muscular e efeito tranquilizante. Em estudos feitos em animais, o medicamento inibiu crises convulsivas de diferentes tipos, devido a sua ação diretamente sobre o foco epiléptico e também por impedir que este interfira na função do restante do sistema nervoso (FIORELLI e ASSINI, 2017; KATZUNG, MASTERS e TREVOR, 2014). Os benzodiazepínicos constituem uma das classes farmacológicas com maior índice terapêutico. No Brasil, estima-se que quase 2% da população adulta seja usuária crônica de benzodiazepínicos (FIORELLI e ASSINI, 2016).

Uma patente publicada recentemente demonstrou interesse na avaliação do uso do clonazepam em combinação com antibióticos para o tratamento de meningite bacteriana (COMMISARIAT AL'ENERGIE ATOMIQUE ET-AUX ENERGIES ALTERNATIVES, 2016).

2.6 CLIVAGEM DO DNA PLASMIDIAL

A descoberta de medicamentos com atividade antitumoral continua sendo uma das mais importantes metas da química medicinal. As nucleases sintéticas que clivam rapidamente os ácidos nucleicos sob condições moderadas têm muitas aplicações potenciais importantes, desde a síntese de enzimas de restrição artificiais personalizadas até o desenvolvimento de novos agentes antitumorais (DOMINGUES et al., 2010; TAKASAKI e JIK CHIN, 1994).

Além dos agentes quimioterápicos que atuam por ligação aos sulcos, alquilação ou intercalação no DNA, existem moléculas que possuem atividade antitumoral por clivarem o DNA e levarem as células a apoptose (ALMEIDA et al., 2013). A habilidade de clivar o DNA

constitui um interesse predominante nos campos da medicina (quimioterapia) e biotecnologia (ou engenharia genética). É uma das áreas na qual a síntese química tem feito substanciais contribuições para o desenvolvimento de agentes que clivam os ácidos nucleicos com potencial utilização como sondas estruturais e agentes terapêuticos (ARMITAGE, 1998).

O DNA plasmidial encontra-se naturalmente sob uma forma altamente tensionada, dita superenovelada. Ao sofrer uma quebra-simples em apenas uma das fitas, há o afrouxamento desta estrutura e o plasmídeo assume uma conformação do tipo circular aberta. Caso ocorra uma segunda quebra próxima à primeira, mas na fita oposta, o DNA plasmidial sofre a conversão para sua forma linear. Estas três conformações do plasmídeo são topologicamente distintas e possuem mobilidades eletroforéticas diferentes (NAVARRO et al., 2003; OLIVEIRA, 2006).

Assim, quando uma amostra de DNA plasmidial previamente tratada com um agente de interesse (um medicamento, por exemplo) é submetida à eletroforese em gel de agarose, pode-se separar cada uma de suas formas e, pela proporção de cada uma, determinar a presença e extensão das quebras induzidas ao DNA (NAVARRO et al., 2003; OLIVEIRA, 2006).

3. PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA

3.1 ARTIGO 1

O artigo foi publicado no “*American Journal of Therapeutics*”, classificado de acordo com o Qualis Capes como periódico B2. DOI: 10.1097/MJT.0000000000001001.

American Journal of Therapeutics 0, 1-5 (2019)

Repositioning or Redirection of Antidepressant Drugs in the Treatment of Bacterial and Fungal Infections

To the Editor:

The emergence of antibiotic resistance is an important issue. Annual reports from the European Center for Disease Prevention and Control show that increasing the percentage of infections is caused by resistant pathogens, making current drug therapies increasingly ineffective.¹ The World Health Organization released in 2017 a list of the 12 bacteria it considers to be a priority for the development of new antibiotics because they are resistant to multiple drugs (MDR).² Likewise, antifungal resistance represents a challenge for the treatment of systemic

infections because of the limited arsenal of available antifungal agents, drug interactions, and adverse effects.³

In view of the above, the alternative strategy began to be the investigation of the potential antibiotic and antifungal effects of nonantibiotic and nonantifungal drugs already in clinical use,⁴⁻⁷ using the so-called drug repositioning or redirection.^{5,8-10} In addition, the synergistic effects of nonantibiotics in combination with neglected antibiotics due to moderate activity, including polymyxin B, also constitute important research against MDR bacteria.³

Table 1. We present a summary of studies conducted with ADT drugs against bacteria and fungi, as potential suggestions for repositioning for the treatment of bacterial and fungal infections.

Drug	Category of ADTs	New Indication	Type of study and strains used	References
Escitalopram	Monoamine inhibitors: SSRIs ^{24,26}	Enterobacteriaceae Klebsiella pneumoniae Pseudomonas aeruginosa Protus mirabilis S. aureus	In vitro Standard strains	Akloniswaf et al ¹²
Fluoxetine	Monoamine inhibitors: SSRIs ^{24,26}	S. aureus resistente à meticilina (MRSA) ¹⁸ Aspergillus flavus ¹⁴ Aspergillus fumigatus ¹⁶ Aspergillus terreus ¹⁶ Campylobacter jejuni ¹⁶ Candida albicans ¹⁷ Candida glabrata ¹⁷ Candida krusei ¹⁷ Candida parapsilosis ^{16,17} Corynebacterium urealyticum ¹⁸ Escherichia coli ¹⁸ Haemophilus influenzae ¹⁶ Moraxella catarrhalis ¹⁶ P. aeruginosa ^{16,18} S. aureus ¹⁸	In vitro Clinical isolates	Munoz-Bellido et al ¹² Munoz-Bellido et al ¹⁶ Lass et al ¹⁶ Sousa et al ¹⁶ Hadera et al ¹⁶ Oliveira et al ¹⁷ Noto et al ¹⁸

(Continued on next page)

Reposicionamento ou redirecionamento de medicamentos antidepressivos no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas

Prezado editor,

O surgimento da resistência aos antibióticos é uma questão importante. Relatórios anuais do Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças mostram que o aumento do percentual de infecções é causado por patógenos resistentes, tornando as terapias medicamentosas atuais cada vez mais ineficazes¹. A organização mundial da saúde (OMS) divulgou em 2017 uma lista das 12 bactérias às quais consideram prioritárias para o desenvolvimento de novos antibióticos por serem resistentes a múltiplas drogas (MDR)². Da mesma forma, a resistência aos antifúngicos representa um desafio para o tratamento de infecções sistêmicas, devido ao arsenal limitado de agentes antifúngicos disponíveis, interações medicamentosas e efeitos adversos³.

Em face ao exposto, a estratégia alternativa começou a ser a pesquisa dos potenciais efeitos antibióticos e antifúngicos de medicamentos não-antibióticos e não-antifúngicos já em uso clínico⁴⁻⁷, utilizando o chamado reposicionamento ou redirecionamento de medicamentos^{5,8-10}. Além disso, os efeitos sinérgicos dos não-antibióticos em combinação com antibióticos ditos negligenciados e colocados em desuso por conta da atividade moderada, entre eles a polimixina B, também constitui importante pesquisa frente às bactérias MDR³.

Medicamentos antidepressivos, destacando a classe dos inibidores seletivos de recaptação da serotonina (ISRSs), apresentaram atividade significativa contra vários gêneros bacterianos e fúngicos^{4,11-24}. Recentemente, o ISRS oxalato de escitalopram teve sua atividade antibacteriana relatada, frente a Gram-positivos e Gram-negativos^{11,12}, e a fluoxetina frente a bactérias MDR¹⁶. Em outro estudo, esta última, testada frente a *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), demonstrou promover alterações na integridade da membrana plasmática: concluíram que pelo fato dela ser capaz de agir em locais específicos do DNA celular, poder levar à morte por apoptose¹⁸. O ISRS sertralina possui forte atividade antibacteriana intrínseca, além de atividades antifúngicas. Estudos de sinergismo revelaram que a sertralina aumentou significativamente o efeito antimicrobiano da ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, moxifloxacina, gentamicina e tetraciclina^{20,22}. Individualmente, sertralina e fluoxetina produziram efeito anti-biofilme frente a cepas de *Candida spp.*¹⁷.

Na Tabela 1, apresentamos um resumo de estudos realizados com medicamentos antidepressivos frente a bactérias e fungos, como potenciais sugestões ao reposicionamento

para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas. São apresentados na Tabela medicamentos antidepressivos das classes: inibidores da captura de monoaminas: inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs) e antidepressivos tricíclicos (ADTs) clássicos.

A pesquisa tem sido capaz de identificar atividades antibacterianas e antifúngicas em medicamentos não-antibacterianos e não-antifúngicos. Estes medicamentos já são usados clinicamente e estas características merecem investigações adicionais. Assim, um possível reposicionamento desses antidepressivos é uma alternativa de tratamento para infecções bacterianas e fúngicas.

Tabela 1 – Resumo de estudos realizados com medicamentos antidepressivos frente a bactérias e fungos, como potenciais sugestões ao reposicionamento para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas.

(continua)

Medicamento	Categoria de antidepressivos	Nova indicação	Tipo(s) de estudo(s) e cepas utilizadas	Referências
Escitalopram	Inibidores da captura de monoaminas: Inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs) ^{25,26}	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>In vitro</i> Cepas padrão	Akilandeswari, Ruckmani e Ranjith, 2013 ¹²
Fluoxetina	Inibidores da captura de monoaminas: Inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs) ^{25,26}	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA) ¹⁸ <i>Aspergillus flavus</i> ¹⁵ <i>Aspergillus fumigatus</i> ¹⁵ <i>Aspergillus terreus</i> ¹⁵ <i>Campylobacter jejuni</i> ¹⁴ <i>Candida albicans</i> ^{4,17} <i>Candida glabrata</i> ¹⁷ <i>Candida krusei</i> ¹⁷ <i>Candida parapsilosis</i> ^{15,17} <i>Corynebacterium urealyticum</i> ¹³ <i>Escherichia coli</i> ^{16,4} <i>Haemophilus influenzae</i> ¹⁴ <i>Moraxella catarrhalis</i> ¹⁴ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{14,16} <i>Staphylococcus aureus</i> ^{16,4}	<i>In vitro</i> Isolados clínicos	Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 1996 ¹³ Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 2000 ¹⁴ Lass et al., 2001 ¹⁵ Sousa et al., 2018 ¹⁶ Hadera et al., 2018 ⁴ Oliveira et al., 2018 ¹⁷ Neto et al., 2019 ¹⁸

(continuação)

Medicamento	Categoria de antidepressivos	Nova indicação	Tipo(s) de estudo(s) e cepas utilizadas	Referências
Paroxetina	Inibidores da captura de monoaminas: Inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRSs) ^{25,26}	<i>Campylobacter jejuni</i> ¹⁴ <i>Corynebacterium urealyticum</i> ¹³ <i>Haemophilus influenzae</i> ¹⁴ <i>Moraxella catarrhalis</i> ¹⁴	<i>In vitro</i> Isolados clínicos	Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 1996 ¹³ Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 2000 ¹⁴
Sertralina	Inibidores da captura de monoaminas: Inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRSs) ^{25,26}	<i>Escherichia coli</i> resistente à tetraciclina ²² <i>Acinetobacter baumannii</i> ²³ <i>Aspergillus niger</i> ²⁰ <i>Aspergillus fumigatus</i> ²⁰ <i>Aspergillus flavus</i> ²⁰ <i>Bacillus subtilis</i> ¹⁹ <i>Bacteroides fragilis</i> ¹⁴ <i>Brucella</i> spp. ¹⁴ <i>Campylobacter jejuni</i> ¹⁴ <i>Candida albicans</i> ^{19,17} <i>Candida tropicalis</i> ¹⁹ <i>Candida parapsilosis</i> ¹⁷ <i>Candida glabrata</i> ¹⁷ <i>Candida krusei</i> ¹⁷ <i>Citrobacter freundii</i> ^{14,19} <i>Clostridium perfringens</i> ¹⁴ <i>Clostridium difficile</i> ¹⁴ <i>Corynebacterium urealyticum</i> ^{13,19} <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i> ²¹ <i>Enterobacter cloacae</i> ^{14,19} <i>Enterococcus faecalis</i> ^{14,19} <i>Escherichia coli</i> ^{19,20, 23} <i>Haemophilus influenzae</i> ¹⁴ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ^{19,23} <i>Lactobacillus sporogenes</i> ¹⁹ <i>Micrococcus luteus</i> ¹⁹ <i>Moraxella catarrhalis</i> ¹⁴ <i>Morganella morganii</i> ¹⁴ <i>Prevotella</i> spp. ¹⁴ <i>Proteus mirabilis</i> ¹⁴ <i>Proteus vulgaris</i> ^{14,19}	<i>In vitro</i> ^{13,14,20,21,22,17,23} <i>In vivo</i> ¹⁹ Cepas padrão ^{19,20,21} Isolados clínicos ^{13,14,22,17,23}	Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 1996 ¹³ Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 2000 ¹⁴ Amalesh et al., 2012 ¹⁹ Ayaz et al., 2015 ²⁰ Rossato et al., 2016 ²¹ Li et al., 2017 ²² Oliveira et al., 2018 ¹⁷ Otto et al., 2019 ²³

(continuação)

Medicamento	Categoria de antidepressivos	Nova indicação	Tipo(s) de estudo(s) e cepas utilizadas	Referências
Sertralina	Inibidores da captura de monoaminas: Inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRSs) ^{25,26}	<i>Providencia</i> spp. ¹⁹ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{19,20,23} <i>Salmonella</i> spp. ^{14,19} <i>Serratia marcescens</i> ¹⁴ <i>Staphylococcus aureus</i> ^{19,20} <i>Staphylococcus epidermidis</i> ^{14,19} <i>Streptococcus pneumoniae</i> ¹⁴ <i>Streptococcus pyogenes</i> ¹⁴ <i>Streptococcus agalactiae</i> ¹⁴ <i>Shigella</i> spp. ¹⁹ <i>Vibrio cholerae</i> ¹⁹ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ¹⁹	<i>In vitro</i> ^{13,14,20,21,22,17,23} <i>In vivo</i> ¹⁹ Cepas padrão ^{19,20,21} Isolados clínicos ^{13,14,22,17,23}	Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 1996 ¹³ Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 2000 ¹⁴ Amalesh et al., 2012 ¹⁹ Ayaz et al., 2015 ²⁰ Rossato et al., 2016 ²¹ Li et al., 2017 ²² Oliveira et al., 2018 ¹⁷ Otto et al., 2019 ²³
Amitriptilina	Inibidores da captura de monoaminas: Antidepressivos tricíclicos (ADTs) clássicos ^{25,26}	<i>Acinetobacter baumannii</i> ²⁴ <i>Bacillus</i> spp. ²³ <i>Citrobacter</i> spp. ²³ <i>Escherichia coli</i> ^{7,24} <i>Klebsiella pneumoniae</i> ^{7,24} <i>Lactobacillus sporogenes</i> ²³ <i>Micrococcus luteus</i> ^{7,23} <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{7,24} <i>Staphylococcus aureus</i> ^{7,23} <i>Shigella</i> spp. ²³ <i>Salmonella</i> spp. ²³ <i>Vibrio cholerae</i> ²³ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ²³	<i>In vitro</i> ^{7,24} <i>In vivo</i> ²³ Cepas padrão ^{23,7} Isolados clínicos ²⁴	Mandal et al., 2010 ²³ Muthukumar e Janakiraman, 2014 ⁷ Otto et al., 2019 ²⁴
Clomipramina	Inibidores da captura de monoaminas: Antidepressivos tricíclicos (ADTs) clássicos ^{25,26}	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Brucella</i> spp. <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i>	<i>In vitro</i> Isolados clínicos	Munoz-Bellido, Munoz-Criado e García-Rodríguez, 2000 ¹⁴

				(conclusão)
Medicamento	Categoria de antidepressivos	Nova indicação	Tipo(s) de estudo(s) e cepas utilizadas	Referências
Imipramina	Inibidores da captura de monoaminas: Antidepressivos tricíclicos (ADTs) clássicos ^{25,26}	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>In vitro</i> Isolados clínicos	Otto et al., 2019 ²⁴

REFERÊNCIAS

1. ECDC. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). European Centre for Disease Prevention and Control. Stockholm: 2017.
2. Willyard C. 2017. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature*. 2017; 543: 15.
3. Wiederhold NP. 2017. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. Infection and drug resistance. *Infect Drug Resist*. 2017; 10: 249-259.
4. Hadera M, Mehari S, Saleem N, et al. Study on Antimicrobial Potential of Selected Non-antibiotics and its Interaction with Conventional Antibiotics. *UK J Pharm Biosci*. 2018; 6: 01-07.
5. Serafin MB, Hörner R. Drug repositioning, a new alternative in infectious diseases. *Braz J Infect Dis*. 2018; 22(3): 252-256.
6. Younis W, Thangamani S, Seleem MN. Repurposing Non-Antimicrobial Drugs and Clinical Molecules to Treat Bacterial Infections. *Current Pharmaceutical Design*. 2015; 21: 4106-4111.
7. Muthukumar V, Janakiraman K. Evaluation of Antibacterial Activity of Amitriptyline Hydrochloride. *Int J Chemtech Res*. 2014; 6 (11): 4878-4883.

8. Ng SMS, Sioson JSP, Yap JM, et al. Repurposing Zidovudine in combination with Tigecycline for treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017; 37: 141-148.
9. Astolfi A, Felicetti T, Iraci N, et al. Pharmacophore-Based Repositioning of Approved Drugs as Novel *Staphylococcus aureus* Nor A Efflux Pump Inhibitors. *J Med Chem*. 2017; 60: 1598-1604.
10. Brown D. Antibiotic resistance breakers: repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? *Nat Rev*. 2015; 14: 821-832.
11. Macedo D, Chaves Filho AJM, Sousa CNS, 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 Disorders*. 2017; 208: 22-32.
12. Akilandeswari K, Ruckmani K, Ranjith V. Efficacy of Antibacterial Activity of Antibiotics Ciprofloxacin and Gentamycin Improved with Anti Depressant Drug, Escitalopram. *Int. J Pharm Sci Rev Res*. 2013; 21(2): 71-74.
13. 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.
14. 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.
15. Lass FC, Dierich MP, Fuchs D, et al. Antifungal properties of selective serotonin reuptake inhibitors against *Aspergillus* species in vitro. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 48(6): 775-9.
16. Sousa AK, Rocha JE, Souza TG, et al. New roles of fluoxetine in pharmacology: Antibacterial effect and modulation of antibiotic activity. *Microb Pathog*. 2018; 123: 368-371.

17. Oliveira AS, Oliveira JM, Donders GGG, et al. Anti-*Candida* activity of antidepressants sertraline and fluoxetine: effect upon pre-formed biofilms. *Med Microbiol Immunol*. 2018; 207: 195–200.
18. Neto JBA, Josino MAA, Silva CR, et al. A mechanistic approach to the in-vitro resistance modulating effects of fluoxetine against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microbial Pathogenesis*. 2019; 335–340.
19. Amallesh S, Debprasad C, Chandrima S, et al. Evaluation of in vivo and in vitro antimicrobial activities of a selective serotonin reuptake inhibitor sertraline hydrochloride. *Anti-Infective Agents*. 2012; 10: 0–0.
20. Ayaz M, Subhan F, Ahmed J, et al. Sertraline enhances the activity of antimicrobial agents against pathogens of clinical relevance. *J Biol Res-Thessalon*. 2015; 22: 4.
21. Rossato L, Loreto ER, Zanette RA. In vitro synergistic effects of chlorpromazine and sertraline in combination with amphotericin B against *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. *Folia Microbiol*. 2016; 61: 399–403.
22. Li L, Kromann S, Olsen JE, et al. Insight into synergistic mechanisms of tetracycline and the selective serotonin reuptake inhibitor, sertraline, in a tetracycline-resistant strain of *Escherichia coli*. *Jpn J Antibiot*. 2017; 70: 944–953.
23. Mandal A, Sinha C, Kumar JA, et al. An investigation on in vitro and in vivo antimicrobial properties of the antidepressant: amitriptyline hydrochloride. *Braz J Microbiol*. 2010; 41: 635- 642.
24. Otto RG, Gorp EV, Kloezen W. An alternative strategy for combination therapy: Interactions between polymyxin B and non-antibiotics. *Int J Antimicrob Agents*. 2019; 53: 34-39.
25. Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, et al. *RANG & DALE Farmacologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

26. Brunton LL, Dandan RH, Knollmann BC, et al. *Goodman and Gilman: Manual de Farmacologia e Terapêutica*. Califórnia: AMGH, 2019.

3.2 MANUSCRITO 2

O manuscrito será submetido ao “*Journal of Chemotherapy*”, classificado de acordo com o Qualis Capes como periódico B2.



Reposicionamento de oxalato de escitalopram e clonazepam em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima para tratamento de microrganismos multirresistentes e avaliação da capacidade de clivagem do DNA plasmidial

Resumo

A resistência bacteriana impulsionou um dos mais sérios problemas de saúde pública do mundo. Nesse sentido, o reposicionamento de medicamentos surgiu para a identificação mais rápida de drogas eficazes. O objetivo deste estudo foi investigar o reposicionamento dos medicamentos oxalato de escitalopram e clonazepam individualmente e em combinação com antibióticos para tratar microrganismos resistentes a múltiplas drogas (MDR) e avaliar a capacidade de nuclease química. A avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* foi realizada contra quarenta e sete isolados clínicos resistentes a múltiplos fármacos e onze cepas bacterianas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC). Oxalato de Escitalopram foi ativo principalmente frente a bactérias Gram-positivas e clonazepam frente a Gram-positivas e Gram-negativas. Quando associados aos dois antibióticos citados, tiveram efeito sinérgico significativo. Clonazepam foi apto a clivar o DNA plasmidial. Esses resultados nos permitem sugerir reposicionamento destes medicamentos não-antibióticos para tratamento de infecções bacterianas.

Palavras-chave: Agentes Antibacterianos; Sinergismo de drogas; Reposicionamento de drogas; Terapia medicamentosa; Oxalato de escitalopram; Clonazepam.

Introdução

O surgimento da resistência bacteriana aos antibióticos impulsionou a um dos mais graves problemas de saúde pública mundial¹. O uso de altas doses de antimicrobianos para controle das infecções causadas por esses microrganismos, em especial as nosocomiais, tiveram efeito sinérgico nessa consequência. Com o passar do tempo, vários fatores conduziram a seleção de microrganismos resistentes a múltiplas drogas (MDR). São citados, quatro mecanismos principais de resistência bacteriana: alteração do local-alvo, inativação enzimática do fármaco, captação ou efluxo aumentado e formação de biofilme².

Agravando o quadro acima, soma-se a redução drástica nas pesquisas de novos antibióticos, bem como, investimentos nessa área, tornando o cenário ainda mais preocupante, já que se levam anos na obtenção de um medicamento³. Portanto, desenvolver novas substâncias e/ou compostos que apresentem atividade antibacteriana constitui um desafio na atualidade³. Nesse sentido, o reposicionamento ou o redirecionamento surgiu como uma abordagem alternativa para a identificação mais rápida de medicamentos eficazes no tratamento de doenças infecciosas⁴⁻⁹.

Além disso, outra pesquisa importante é a capacidade de clivar o DNA. Moléculas capazes de clivar o DNA têm um grande valor nos campos da medicina, biologia molecular e engenharia genética pois apresentam a capacidade de atuarem como antibacterianos e/ou antineoplásicos¹⁰. As nucleases são enzimas capazes de clivar (ou cortar) a ligação fosfodiéster das moléculas de ácidos nucleicos¹¹.

Recentemente, o medicamento oxalato de escitalopram, utilizado como antidepressivo, teve sua atividade antibacteriana relatada na literatura, frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter cloacae*^{12,13}. Foi também demonstrado que este inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRS), oxalato de escitalopram, exerceu atividade citotóxica em células cancerosas, provenientes de carcinoma colorretal¹⁴.

O medicamento clonazepam, pertencente a classe dos benzodiazepínicos é utilizado no tratamento de distúrbios epiléticos, transtornos de ansiedade e síndromes psicóticas¹⁵. Oxalato de escitalopram e clonazepam são medicamentos das classes farmacológicas mais prescritas do mundo^{16,17}, sendo o clonazepam um medicamento de baixo custo e ampla utilização na sociedade atual. Existe apenas um registro de patente sobre o uso do clonazepam em combinação com antibióticos no tratamento de meningite bacteriana causada pelo *Streptococcus pneumoniae*¹⁸. Sendo assim, o presente estudo, pelo que é de nosso

conhecimento, é o primeiro artigo científico que relata a atividade antibacteriana *in vitro* do clonazepam.

Considerando a gravidade do problema da resistência bacteriana e a ameaça a saúde pública que representa, constitui tema de interesse atual da comunidade científica o estudo da atividade antibacteriana de algumas classes farmacológicas, tais como, anti-hipertensivos, anti-histamínicos, tranquilizantes, antipsicóticos, destes chamados de “não-antibióticos” para então o efeito “antibiótico”, no reposicionamento ou redirecionamento, como já citado⁴⁻⁹. Já é consenso, que os medicamentos que possuem o anel benzênico, como o oxalato de escitalopram e clonazepam, contribuem, consideravelmente, para um aumento da atividade antibacteriana¹⁹. Reposicionamento de medicamentos já aprovados por agências reguladoras, com citotoxicidades conhecidas, recentemente tem sido considerado como a grande solução²⁰.

O objetivo do presente estudo foi o reposicionamento dos medicamentos oxalato de escitalopram e clonazepam em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima para tratamento de microrganismos multirresistentes e avaliação da capacidade de clivagem do DNA plasmidial.

Materiais e métodos

Cepas bacterianas

A avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* foi realizada frente a 47 isolados clínicos multirresistentes provenientes de hospital universitário do sul do Brasil e 11 cepas bacterianas padrão de referência da *American Type Culture Collection* (ATCC). Foram armazenadas em caldo *Tryptic Soy Broth* (TSB) contendo 15% de glicerol a - 20 °C. Dos isolados clínicos, 25 eram de *Staphylococcus coagulase negativa* e 22 de *Klebsiella pneumoniae*. As cepas padrão Gram-positivas utilizadas foram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* ATCC 14579 e *Micrococcus luteus* ATCC 7468. Já as Gram-negativas foram: *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Foi realizada utilizando o método de microdiluição em caldo, baseado no documento M100-S26 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)²¹. Os medicamentos teste

utilizados no estudo foram oxalato de escitalopram (Laboratório Eurofarma S.A., São Paulo, SP, Brasil) e clonazepam (Laboratório Sanofi Medley Farmacêutica Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil). Para obtenção da solução estoque, o oxalato de escitalopram foi diluído até a concentração de $1024 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ e o clonazepam foi diluído até a concentração de $512 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$, ambos em etanol, P.A.. Os medicamentos antibacterianos ciprofloxacino (Cimed Indústria Farmacêutica Ltda, Pouso Alegre, MG, Brasil) e sulfametoxazol/trimetoprima (Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A., Rio de Janeiro, RJ, Brasil), foram dissolvidos, respectivamente, em metanol e etanol e nas duas concentrações ($1-1024 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,5-512 \mu\text{g mL}^{-1}$). Para a comprovação da inexistência de atividade inibitória do solvente foram utilizados metanol e etanol à 10%, em testes realizados isoladamente. O inóculo bacteriano foi preparado em solução salina estéril, obtendo turbidez padrão da escala 0,5 de McFarland. Em microplacas de 96 orifícios, contendo caldo Mueller-Hinton, os medicamentos e o inóculo bacteriano (1×10^5 UFC/poço) foram incubados a $35 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após esse período de incubação, a CIM foi determinada por meio de leitura visual, como a menor concentração em que não houve crescimento visual dos microrganismos.

Determinação da concentração inibitória fracionada (FICI)

A análise do sinergismo dos medicamentos foi analisada calculando-se o índice de concentração inibitória fracionada (FICI) a partir da fórmula apresentada a seguir, sendo utilizada a seguinte interpretação: "sinérgico" ($\text{FICI} \leq 0,5$), "sem interação" ($\text{FICI} > 0,5 \text{ e } \leq 4,0$) e "antagônico" ($\text{FICI} > 4,0$)^{22,23}.

$$\text{FICI do agente A} = \frac{\text{CIM do agente A em combinação}}{\text{CIM do agente A sozinho}}$$

$$\text{FICI do agente B} = \frac{\text{CIM do agente B em combinação}}{\text{CIM do agente B sozinho}}$$

$$\Sigma\text{FICI} = \text{FICI do agente A} + \text{FICI do agente B}$$

Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

Foi realizada conforme o método descrito no documento M26-A do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) em 1999²⁴, com algumas alterações.

Após a leitura visual da CIM, foram retirados aproximadamente $10 \mu\text{L}$ do conteúdo dos poços onde não houve crescimento bacteriano visível e também do último poço onde houve crescimento bacteriano visível (controle positivo). Este volume foi semeado em placas de

petri contendo ágar Mueller-Hinton, sendo incubadas a 35 ± 2 °C durante 24/48 horas. Após a incubação, a CBM foi determinada como a menor concentração requerida para matar o microrganismo.

Clivagem do DNA plasmidial

A análise de clivagem do DNA plasmidial foi realizada no intuito de analisar o potencial de nuclease química dos medicamentos. Dessa forma, foi extraído o DNA plasmidial inserido em cepa de *E. coli*. (puC 18) utilizando-se a lise alcalina (“*large-scale preparation of plasmid DNA*”), descrita no livro de protocolos²⁵.

Após a extração do DNA plasmidial, este foi incubado com o oxalato de escitalopram e o clonazepam (separadamente). Primeiramente, foram solubilizados obtendo-se as concentrações de 3,75 mM, 1,875 mM e 0,375 mM. Posteriormente o DNA e os medicamentos em estudo foram incubados em microtubos por 24 h à 37°C e a 50°C em dois diferentes pHs: 7,4 e 8,0. Após o período de incubação, foram adicionados 4µL de loading buffer. Posteriormente, para a detecção da clivagem do DNA plasmidial, foi utilizada a eletroforese em gel de agarose a 0,8%, onde a ocorrência de clivagem foi identificada através da diminuição da banda referente a forma I do DNA (superenovelada ou FI) e aumento da forma II (circular aberta ou FII). Em alguns casos pode ser observada uma clivagem altamente eficiente, com formação da forma III (linear ou FIII).

Nível de tolerância

Os níveis de tolerância das cepas padrão e dos isolados clínicos frente ao oxalato de escitalopram e clonazepam foram determinados de acordo com um método padrão usando a seguinte fórmula^{26,27,28}:

$$\text{Tolerância} = \text{CBM} / \text{CIM}.$$

A relação CBM/CIM é um parâmetro que reflete a capacidade bactericida do medicamento analisado. A proporção CBM/CIM pode ser interpretada como bacteriostático, caso seja ≥ 16 , e bactericida se ≤ 4 . CBM é geralmente idêntica ou dentro de 1 ou 2 duplicações de diluição da CIM. Se a CBM excede a CIM em 32 vezes ou mais, o microrganismo é definido como tolerante^{26,27,28}.

Análise estatística

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey usando o software *GraphPad Prism 5.0* (*GraphPad*, San Diego, CA). Diferenças com $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$ foram consideradas significativas.

Conceitos éticos

A utilização das cepas bacterianas isoladas de pacientes atendidos no hospital foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, estando registrada sob o número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética CAAE 38850614.4.0000.5346.

O cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) está registrado sob o número AE78E18 – Universidade Federal de Santa Maria.

Resultados e discussão

Na Tabela 1 podemos visualizar os valores de CIM obtidos das análises do oxalato de escitalopram, ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima, bem como os valores de FICI de suas associações. Analisando-se os resultados temos que o oxalato de escitalopram apresentou altos valores de CIM, similares aos relatados em outros estudos (entre 512 e $1024 \mu\text{g mL}^{-1}$)^{12,13}. Considerando-se os resultados do não-antibiótico oxalato de escitalopram associado com o antibiótico ciprofloxacino houve efeito sinérgico frente as cepas padrão de *S. epidermidis* ATCC 12228 (FICI = 0,006), *E. faecalis* ATCC 51299 (FICI = 0,006), *B. cereus* ATCC 14579 (FICI = 0,501), *M. luteus* ATCC 7468 (FICI = 0,017) e *S. aureus* ATCC 25923 (FICI = 0,004) e frente aos isolados clínicos de *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) MDR (13) (FICI = 0,125), SCN MDR (14) (FICI = 0,5), SCN MDR (17) (FICI = 0,031), SCN MDR (20) (FICI = 0,094), SCN MDR (21) (FICI = 0,156) e SCN MDR (23) (FICI = 0,375). Houve efeito sinérgico também na associação do oxalato de escitalopram com o antibacteriano sulfametoxazol/trimetoprima, frente as cepas padrão de *E. faecalis* ATCC 51299 (FICI = 0,002), *M. luteus* ATCC 7468 (FICI = 0,009) e *S. aureus* ATCC 25923 (FICI = 0,009) e frente aos isolados clínicos de SCN MDR (4) (FICI = 0,5), SCN MDR (6) (FICI = 0,5) e SCN MDR (13) (FICI = 0,125). Estudos similares em que foi avaliado o efeito antimicrobiano dos ISRSs sertralina, fluoxetina e paroxetina houve maior atividade frente a bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp.²⁹. No nosso estudo,

a atividade antibacteriana do oxalato de escitalopram foi maior frente a cepas Gram-positivas, portanto de estreito espectro, e seu efeito quando em combinação com o ciprofloxacino e/ou sulfametoxazol/trimetoprima intensamente sinérgico.

Na Tabela 2 podemos visualizar os valores de CBM obtidos das análises do oxalato de escitalopram, ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima, bem como os valores de CBM das associações. Considerando-se os resultados do medicamento não-antibiótico associado com o antibiótico ciprofloxacino, houve efeito bactericida frente as cepas padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853 (CBM = 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *E. coli* ATCC 35218 (CBM = 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. cereus* ATCC 14579 (CBM = 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e frente ao isolado clínico de SCN MDR (17) (CBM = 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Não houve efeito bactericida significativo na associação do oxalato de escitalopram com o antibacteriano sulfametoxazol/trimetoprima.

Na Tabela 3 foi demonstrado o nível de tolerância do oxalato de escitalopram. O antidepressivo apresentou atividade bactericida frente a uma cepa padrão Gram-negativa e oito isolados clínicos MDR Gram-positivos. Tendo atividade importante frente a *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus* spp., como foi evidenciado na literatura^{12,13}.

Na Tabela 4 podemos visualizar os valores de CIM obtidos das análises do clonazepam, ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima, bem como os valores de FICI de suas associações. O clonazepam quando testado isoladamente apresentou valores altos de CIM, como ocorreu com outros medicamentos não-antibióticos que quando testados isoladamente também mostraram valores altos de CIM²⁹. Considerando-se os resultados do medicamento não-antibiótico associado com o antibiótico ciprofloxacino, houve efeito sinérgico do clonazepam frente as cepas padrão de *S. epidermidis* ATCC 12228 (FICI = 0,25), *E. faecalis* ATCC 51299 (FICI = 0,094) e *S. aureus* ATCC 25923 (FICI = 0,5) e frente aos isolados clínicos de SCN MDR (13) (FICI = 0,094), SCN MDR (16) (FICI = 0,5), SCN MDR (17) (FICI = 0,016), SCN MDR (19) (FICI = 0,187), SCN MDR (20) (FICI = 0,312), SCN MDR (21) (FICI = 0,156) e SCN MDR (23) (FICI = 0,25). Houve efeito sinérgico também na associação do clonazepam com o antibacteriano sulfametoxazol/trimetoprima, frente as cepas padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853 (FICI = 0,5), *S. epidermidis* ATCC 12228 (FICI = 0,5), *E. faecalis* ATCC 51299 (FICI = 0,187) e *S. aureus* ATCC 25923 (FICI = 0,5) e frente aos isolados clínicos de SCN MDR (13) (FICI = 0,375), SCN MDR (16) (FICI = 0,375), SCN MDR (17) (FICI = 0,375) e SCN MDR (23) (FICI = 0,5). Várias drogas não-antibióticas comercializadas podem reduzir a CIM do antibiótico quando em combinação com ele no tratamento de infecções nosocomiais graves³. Neste estudo, houve atividade antibacteriana do clonazepam principalmente frente a microrganismos Gram-positivos (gêneros *Staphylococcus*

spp. e *Enterococcus* spp.) e um microrganismo Gram-negativo (*P. aeruginosa*), quando em associação com ciprofloxacino e/ou sulfametoxazol/trimetoprima. Dado o problema da multirresistência, especialmente os patógenos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp), medidas urgentes como o reaproveitamento de drogas constituem alternativas promissoras para descobrir novas opções de tratamento²⁹.

Na Tabela 5 podemos visualizar os valores de CBM obtidos das análises do clonazepam, ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima, bem como os valores de CBM das associações. Considerando-se os resultados do medicamento não-antibiótico associado com o antibiótico ciprofloxacino, podemos citar o efeito bactericida significativo frente ao isolado clínico de SCN MDR (17) (CBM = 4µg mL⁻¹).

Na Tabela 6 foi demonstrado o nível de tolerância do clonazepam. O benzodiazepínico foi bactericida frente a quatro cepas padrão Gram-negativas e todos os isolados clínicos MDR Gram-positivos e Gram-negativos. Evidenciando, novamente, a atividade frente aos patógenos ESKAPE²⁹.

Os gráficos efetuados através do programa estatístico *GraphPad Prism 5.0* demonstraram que o oxalato de escitalopram e o clonazepam interferiram fortemente na ação principalmente de microrganismos Gram-positivos, representados na Figura 1: *E. faecalis* ATCC 51299 (Figura 1 – A) e SCN MDR (13) (Figura 1 – B) frente ao oxalato de escitalopram e *E. faecalis* ATCC 51299 (Figura 1 – C) e SCN MDR (17) (Figura 1 – D) frente ao clonazepam. Os valores de p foram considerados significativos considerando cálculos previamente efetuados no programa estatístico utilizado. Os valores de CIM diminuiram significativamente quando os medicamentos não-antibióticos foram associados com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima.

O estudo da atividade de nuclease química foi realizado com DNA plasmidial (pUC 18) conforme descrito anteriormente. Quando ocorrem rupturas nas fitas, o plasmídeo altera a conformação do DNA da forma superenovelada (FI) para a forma circular aberta (FII) que migra a uma velocidade menor do que a anterior. Em alguns casos pode ser observada uma clivagem altamente eficiente, com formação da forma linear (FIII)³⁰ (Figura 2). O medicamento oxalato de escitalopram não foi apto a clivar o DNA plasmidial. No entanto, o medicamento clonazepam foi apto a clivar o DNA, a 37 °C, pH 7,4, na concentração de 3,75 mM (banda 2). Já a 50 °C, pH 8,0 houve maior efetividade de clivagem, que podemos visualizar no desaparecimento total das bandas nas três concentrações testadas^{10,11} (Figura 3).

Em conclusão, oxalato de escitalopram e clonazepam apresentaram atividade bactericida significativa frente as cepas ATCC e MDR testadas nesse estudo. O antidepressivo oxalato de escitalopram apresentou atividade bactericida frente a uma cepa padrão Gram-negativa e oito isolados clínicos MDR Gram-positivos, enquanto que o benzodiazepínico clonazepam foi bactericida frente a quatro cepas padrão Gram-negativas e todos os isolados clínicos MDR Gram-positivos e Gram-negativos. A associação aos antibióticos ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima, produziu significativo efeito sinérgico. Estes resultados nos permitem sugerir esta associação como candidatos ao redirecionamento destes dois não-antibióticos para o tratamento de infecções bacterianas, principalmente frente a Gram-positivos. Como já foi citado, é consenso, o fato deles possuírem na sua estrutura química o anel benzênico, que lhes confere atividade antibacteriana. Supõem-se que a maior atividade do clonazepam pode ser devido a presença do cloro. Porém estudos adicionais sobre o mecanismo de ação desses fármacos deverão ser efetuados, inclusive para aumentar a segurança no uso. Somente o clonazepam foi apto a clivar o DNA plasmidial; compostos com esta característica podem ter, além do efeito antibacteriano, também efeito citotóxico. Nosso grupo de pesquisa continuará os estudos com o referido medicamento utilizando linhagem celulares cancerígenas pois ele possui potencial para reposicionamento como agente citotóxico.

Referências

- ¹ Loureiro RJ, Roque F, Rodrigues AT, Herdeiro MT, Ramalheira E. Use of antibiotics and bacterial resistances: Brief notes on its evolution. *Port J Public Health*. 2016;34(1):77-84.
- ² Astolfi A, Felicetti T, Iraci N, Manfroni G, Massari S, Pietrella D, et al. Pharmacophore-Based Repositioning of Approved Drugs as Novel *Staphylococcus aureus* Nor A Efflux Pump Inhibitors. *J Med Chem*. 2017;60:1598-1604.
- ³ Brown D. Antibiotic resistance breakers: repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? *Nat Rev*. 2015;14:821-832.
- ⁴ Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(8):673-683.

- ⁵ Serafin MB, Hörner R. Drug repositioning, a new alternative in infectious Diseases. *Braz J Infect Dis.* 2018;22(3):252-256.
- ⁶ Serafin MB, Bottega A, Da Rosa TF, Machado CS, Foletto VS, Coelho SS, et al. Drug Repositioning in Oncology. *Am J Ther.* 2019 [Ahead-of-Print].
- ⁷ Da Rosa TF, Machado CS, Serafin MB, Bottega A, Foletto VS, Coelho SS, et al. Repositioning or redirection of antidepressant drugs in the treatment of bacterial and fungal infections. *Am J Ther.* 2019 [Ahead-of-Print].
- ⁸ Foletto VS, Serafin MB, Da Rosa TF, Bottega A, Coelho SS, Machado CS, et al. Fluoxetine And Paroxetine: Repositioning As A Therapeutic Alternative In The Treatment Of Various Diseases. *Am J Ther.* 2019 [Ahead-of-Print].
- ⁹ Bottega A, Serafin MB, Da Rosa TF, Foletto VS, Machado CS, Coelho SS, et al. Antimicrobial and antineoplastic properties of sertraline. *Am J Ther.* 2019 [Ahead-of-Print].
- ¹⁰ Gowda KRS, Mathew BB, Sudhamani CN, Naik HSB. Mechanism of DNA Binding and Cleavage. *J Biomed and Biotechnol.* 2014;2(1):1-9.
- ¹¹ Jekimovs C, Bolderson E, Suraweera A, Adams M, O'Byrne KJ, Richard DJ. Chemotherapeutic compound targeting the DNA double-strand break repair pathways: the good, the bad, and the promising. *Frontiers in Oncology Molecular and Cellular Oncology.* 2014;86(4):1-18.
- ¹² Akilandeswari K, Ruckmani K, Mathan VR. Efficacy of Antibacterial Activity of Antibiotics Ciprofloxacin and Gentamycin Improved with Anti Depressant Drug, Escitalopram. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2013;14:71-74.
- ¹³ Macedo D, Chaves Filho AJM, Sousa CNS, Quevedo J, Barichello T, Nobre Júnior HV, 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 Disorders.* 2017;208:22-32.

- ¹⁴ Sakka L, Delétage N, Chalus M, Aissouni Y, Vidal VS, Gobron S, et al. Assessment of citalopram and escitalopram on neuroblastoma cell lines: Cell toxicity and gene modulation. *Oncotarget*. 2017;26(8):42789-42807.
- ¹⁵ National Health Surveillance Agency of Brazil. Clonazepam. ANVISA. 2017.
- ¹⁶ Olfson M, King M, Schoenbaum M. Benzodiazepine Use in the United States. *JAMA Psychiatry*. 2015;72(2):136-142.
- ¹⁷ Barnett R. Depression. *The Lancet*. 2019;393:2113.
- ¹⁸ Commissariat Al'énergie Atomique Et-Aux Energies Alternatives. Frank Mouthon e Matthieu Charverlat. Use of Clonazepam in Combination with Antibiotic in the Treatment of Bacterially Induced Meningitis. 2016.
- ¹⁹ Moura WCS, Pereira DN, Lima ZN, Moura RO. Antibacterial profile of new substituted n-acylidrazonic derivatives. *Biofarm*. 2017;13(4):59-66.
- ²⁰ Ng SMS, Sioson JSP, Yap JM, Ng FM, Ching SV, Teo JWP. Repurposing Zidovudine in combination with Tigecycline for treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;37:141-148.
- ²¹ Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M07–A9. Wayne, USA: CLSI. 2012.
- ²² Odds FC. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(1):1-1.
- ²³ Konaté K, Movoungou 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 of Clin Microbiol. Antimicrob*. 2012;11(18).

- ²⁴ National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Determining Bactericidal Activity of antimicrobial agents; Approved Guideline, NCCLS document M26-A. NCCLS. 1999.
- ²⁵ Ausubel F. Short Protocols in Molecular Biology. John Wiley & Sons. 2003(5).
- ²⁶ Das B, Mandal DM, Dash SK, Chattopadhyay S, Tripathy S, Dolai DP, et al. Eugenol provokes ROS-mediated membrane damage- associated antibacterial activity against clinically isolated multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Infectious Diseases: Research and Treatment*. 2016;16(9):11–19.
- ²⁷ Das B, Dash SK, Mandal D, Ghosh T, Chattopadhyay S, Tripathy S, et al. Green synthesized silver nanoparticles destroy multidrug resistant bacteria via reactive oxygen species mediated membrane damage. 2015.
- ²⁸ May J, Shannon K, King A, French G. Glycopeptide tolerance in *Staphylococcus aureus*. 1998;42:189-197.
- ²⁹ Ayaz M, Subhan F, Ahmed J, Khan A, Ullah F, Ullah I, et al. Sertraline enhances the activity of antimicrobial agents against pathogens of clinical relevance. *J Biol Res*. 2017;208(4):22–32.
- ³⁰ Domingues VO, Hörner R, Reetz LGB, Kuhn F, Coser VM, Rodrigues JN, et al. In Vitro Evaluation of Triazines: DNA Cleavage, Antibacterial Activity and Cytotoxicity against Acute Myeloid Leukemia Cells. *J Braz Chem Soc*. 2010;21(12):2226-2237.

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima (CIM) do oxalato de escitalopram, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continua)

Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	ESC	CIP	ESC+CIP	FICI	SUT	ESC+SUT	FICI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1024	1	1	1,001	256	256	1,25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	1024	1	1	1,001	8	512	64,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1024	0,25	1	4,001	1	256	256,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	1024	0,5	1	2,001	4	8	2,008
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1024	512	2	0,006	1024	1024	2,008
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	1024	512	2	0,006	1024	1	0,002
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1024	1	2	2,002	1	128	128,125
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	1024	2	1	0,501	32	1024	33
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	1024	4	128	32,125	1	1024	1025
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	1024	64	1	0,017	256	2	0,009
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1024	256	1	0,004	256	2	0,009
Isolados clínicos							
SCN MDR (1)	1024	512	512	1,5	1024	512	1
SCN MDR (2)	1024	512	1024	3	1024	1024	2
SCN MDR (3)	1024	1024	1024	2	1024	512	1
SCN MDR (4)	1024	1024	512	1	1024	256	0,5
SCN MDR (5)	1024	1024	512	1	1024	512	1
SCN MDR (6)	1024	1024	512	1	1024	256	0,5
SCN MDR (7)	1024	256	512	2,5	1024	512	1
SCN MDR (8)	512	512	512	2	512	512	2
SCN MDR (9)	1024	1024	512	1	512	512	1,5
SCN MDR (10)	1024	1024	1024	2	1024	512	1
SCN MDR (11)	1024	512	512	1,5	1024	512	1
SCN MDR (12)	1024	512	1024	3	512	512	1,5
SCN MDR (13)	1024	1024	64	0,125	1024	64	0,125
SCN MDR (14)	1024	1024	256	0,5	1024	512	1
SCN MDR (15)	1024	1024	512	1	1024	512	1
SCN MDR (16)	1024	1024	1024	2	512	1024	3
SCN MDR (17)	1024	1024	16	0,031	512	256	0,75
SCN MDR (18)	512	1024	512	1,5	512	256	1
SCN MDR (19)	1024	512	512	1,5	512	512	1,5
SCN MDR (20)	512	1024	32	0,094	1024	256	0,75

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima (CIM) do oxalato de escitalopram, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continuação e conclusão)

Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	ESC	CIP	ESC+CIP	FICI	SUT	ESC+SUT	FICI
Isolados clínicos							
SCN MDR (21)	256	1024	32	0,156	1024	256	1,25
SCN MDR (22)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
SCN MDR (23)	1024	512	128	0,375	512	1024	3
SCN MDR (24)	1024	512	512	1,5	1024	512	1
SCN MDR (25)	1024	512	512	1,5	1024	512	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (1)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (2)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (3)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (4)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (7)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (8)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (9)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (10)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (11)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (12)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (13)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (14)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (15)	1024	1024	512	1	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (16)	1024	1024	512	1	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (17)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (18)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (19)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (20)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (21)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (22)	1024	1024	1024	2	1024	1024	2

ESC, Oxalato de Escitalopram; CIP, Ciprofloxacino; SUT, Sulfametoxazol/Trimetoprima; ESC+CIP, combinação de Oxalato de Escitalopram e Ciprofloxacino; ESC+SUT, combinação de Oxalato de Escitalopram e Sulfametoxazol/Trimetoprima; FICI, Índice de Concentração Inibitória Fracionada; SCN, *Staphylococcus* coagulase negativa; MDR, isolados clínicos multirresistentes.

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Tabela 2 – Concentração bactericida mínima (CBM) do oxalato de escitalopram, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continua)

Cepas bacterianas	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
	ESC	CIP	SUT	ESC+CIP	ESC+SUT
Cepas padrão ATCC					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>1024	1	256	32	>1024
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	>1024	>512	>512	2	>1024
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>1024	2	>512	1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	1024	1	>512	128	>1024
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	>1024	>512	>512	1024	>1024
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	>1024	>512	>512	1024	>1024
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	>1024	>512	>512	1024	>1024
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	>1024	1	>512	32	1024
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	>1024	>512	>512	1024	>1024
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	>1024	>512	>512	1024	1024
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>1024	>512	>512	>1024	>1024
Isolados clínicos					
SCN MDR (1)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (2)	>1024	1024	>1024	1024	1024
SCN MDR (3)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (4)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (5)	1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (6)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (7)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (8)	1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (9)	1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (10)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (11)	>1024	1024	>1024	1024	1024
SCN MDR (12)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (13)	1024	1024	1024	512	1024
SCN MDR (14)	>1024	>1024	>1024	1024	1024
SCN MDR (15)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (16)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (17)	>1024	1024	1024	16	1024
SCN MDR (18)	1024	>1024	1024	1024	1024
SCN MDR (19)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (20)	1024	>1024	1024	64	1024

Tabela 2 – Concentração bactericida mínima (CBM) do oxalato de escitalopram, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continuação e conclusão)

Cepas bacterianas	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
	ESC	CIP	SUT	ESC+CIP	ESC+SUT
Isolados clínicos					
SCN MDR (21)	1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (22)	>1024	1024	>1024	1024	1024
SCN MDR (23)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (24)	>1024	1024	1024	1024	1024
SCN MDR (25)	1024	1024	1024	1024	1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (1)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (2)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (3)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (4)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (7)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (8)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (9)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (10)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (11)	>1024	1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (12)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (13)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (14)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (15)	>1024	>1024	>1024	1024	1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (16)	>1024	>1024	>1024	1024	1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (17)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (18)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (19)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (20)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (21)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (22)	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024

ESC, Oxalato de Escitalopram; CIP, Ciprofloxacino; SUT, Sulfametoxazol/Trimetoprima; ESC+CIP, combinação de Oxalato de Escitalopram e Ciprofloxacino; ESC+SUT, combinação de Oxalato de Escitalopram e Sulfametoxazol/Trimetoprima; SCN, *Staphylococcus* coagulase negativa; MDR, isolados clínicos multirresistentes.

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Tabela 3 – Concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e determinação do nível de tolerância (CBM/CIM) do oxalato de escitalopram (ESC) frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continua)

ESC				
Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Índice de Tolerância (CBM/CIM)	Interpretação
Cepas padrão ATCC				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1024	>1024	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	1024	>1024	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	1024	1024	1	Bactericida
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1024	>1024	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	1024	>1024	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1024	>1024	-	-
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	1024	>1024	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	1024	>1024	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	1024	>1024	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1024	>1024	-	-
Isolados clínicos				
SCN MDR (1)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (2)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (3)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (4)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (5)	1024	1024	1	Bactericida
SCN MDR (6)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (7)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (8)	512	1024	2	Bactericida
SCN MDR (9)	1024	1024	1	Bactericida
SCN MDR (10)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (11)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (12)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (13)	1024	1024	1	Bactericida
SCN MDR (14)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (15)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (16)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (17)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (18)	512	1024	2	Bactericida
SCN MDR (19)	1024	>1024	-	-

Tabela 3 – Concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e determinação do nível de tolerância (CBM/CIM) do oxalato de escitalopram (ESC) frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continuação e conclusão)

ESC				
Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Índice de Tolerância (CBM/CIM)	Interpretação
Isolados clínicos				
SCN MDR (20)	512	1024	2	Bactericida
SCN MDR (21)	256	1024	4	Bactericida
SCN MDR (22)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (23)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (24)	1024	>1024	-	-
SCN MDR (25)	1024	1024	1	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (1)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (2)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (3)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (4)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (7)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (8)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (9)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (10)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (11)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (12)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (13)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (14)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (15)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (16)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (17)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (18)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (19)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (20)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (21)	1024	>1024	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (22)	1024	>1024	-	-

ESC, Oxalato de Escitalopram; SCN, *Staphylococcus coagulase negativa*; MDR, isolados clínicos multirresistentes.

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Tabela 4 – Concentração inibitória mínima (CIM) do clonazepam, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continua)

Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
Cepas padrão ATCC	CLON	CIP	CLON+CIP	FICI	SUT	CLON+SUT	FICI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	256	1	64	64,25	256	64	0,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	256	1	32	34,125	8	128	16,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	256	0,25	64	256,25	1	64	64,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	256	0,5	64	128,25	4	128	32,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	512	512	64	0,25	512	128	0,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	256	512	16	0,094	512	32	0,187
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	512	1	64	64,125	1	128	128,25
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	256	2	164	32,25	32	128	4,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	512	4	128	32,25	1	128	128,25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	512	64	64	1,125	256	256	1,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	256	256	64	0,5	256	64	0,5
Isolados clínicos							
SCN MDR (1)	256	256	256	2	256	256	2
SCN MDR (2)	256	256	256	2	512	512	3
SCN MDR (3)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
SCN MDR (4)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
SCN MDR (5)	256	256	256	2	512	256	1,5
SCN MDR (6)	128	512	128	1,25	512	128	1,25
SCN MDR (7)	256	256	256	2	512	256	1,5
SCN MDR (8)	128	256	256	3	512	256	2,5
SCN MDR (9)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
SCN MDR (10)	256	256	256	2	512	256	1,5
SCN MDR (11)	256	256	256	2	512	256	1,5
SCN MDR (12)	256	256	512	4	512	256	1,5
SCN MDR (13)	256	512	16	0,094	512	64	0,375
SCN MDR (14)	256	512	128	0,75	128	128	1,5
SCN MDR (15)	256	512	512	3	512	512	3
SCN MDR (16)	256	256	64	0,5	512	128	0,375
SCN MDR (17)	512	512	4	0,016	256	64	0,375
SCN MDR (18)	256	512	512	3	256	512	4
SCN MDR (19)	512	256	32	0,187	512	512	2
SCN MDR (20)	128	512	32	0,312	512	256	2,5

Tabela 4 – Concentração inibitória mínima (CIM) do clonazepam, isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continuação e conclusão)

Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	CLON	CIP	CLON+CIP	FICI	SUT	CLON+SUT	FICI
Isolados clínicos							
SCN MDR (21)	128	512	16	0,156	512	128	1,25
SCN MDR (22)	256	512	256	1,5	512	512	3
SCN MDR (23)	512	128	64	0,25	512	128	0,5
SCN MDR (24)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
SCN MDR (25)	256	512	512	3	512	256	1,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (1)	256	512	256	1,5	512	512	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (2)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (3)	128	512	512	5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (4)	256	512	512	3	512	512	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5)	256	512	512	3	512	256	1,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (7)	256	512	512	3	512	512	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (8)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (9)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (10)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (11)	128	512	512	5	512	512	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (12)	256	512	512	3	512	256	1,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (13)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (14)	512	512	512	2	512	256	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (15)	256	512	256	1,5	512	512	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (16)	256	512	512	3	512	512	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (17)	256	512	256	1,5	512	256	1,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (18)	128	512	512	5	512	512	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (19)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (20)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (21)	128	512	256	2,5	512	256	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (22)	256	512	512	3	512	512	3

CLON, Clonazepam; CIP, Ciprofloxacino; SUT, Sulfametoxazol/Trimetoprima; CLON+CIP, combinação de Clonazepam e Ciprofloxacino; CLON+SUT, combinação de Clonazepam e Sulfametoxazol/Trimetoprima; FICI, Índice de Concentração Inibitória Fracionada; SCN, Staphylococcus coagulase negativa; MDR, isolados clínicos multirresistentes.

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Tabela 5 – Concentração bactericida mínima (CBM) do clonazepam isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

(continua)

Cepas bacterianas	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
	CLON	CIP	SUT	CLON+CIP	CLON+SUT
<i>Pseudomonasaeruginosa</i> ATCC 27853	512	1	256	64	>256
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	512	>512	>512	128	>256
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	512	2	>512	64	64
<i>Klebsiellapneumoniae</i> ATCC 700603	512	1	>512	>256	>256
<i>Staphylococcusepidermidis</i> ATCC 12228	>512	>512	>512	>256	>256
<i>Enterococcusfaecalis</i> ATCC 51299	>512	>512	>512	>256	>256
<i>Enterococcusfaecalis</i> ATCC 29212	>512	>512	>512	>256	>256
<i>Bacilluscereus</i> ATCC 14579	>512	1	>512	256	>256
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	>512	>512	>512	>256	>256
<i>Micrococcusluteus</i> ATCC 7468	>512	>512	>512	>256	>256
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>512	>512	>512	>256	256
Isolados clínicos					
SCN MDR (1)	512	512	512	512	512
SCN MDR (2)	512	512	>512	512	512
SCN MDR (3)	512	512	512	512	512
SCN MDR (4)	512	512	512	512	512
SCN MDR (5)	512	512	512	512	512
SCN MDR (6)	512	512	512	512	512
SCN MDR (7)	512	512	512	512	512
SCN MDR (8)	512	512	>512	512	512
SCN MDR (9)	512	512	512	512	512
SCN MDR (10)	512	512	>512	512	512
SCN MDR (11)	512	512	512	512	512
SCN MDR (12)	512	512	512	512	512
SCN MDR (13)	512	512	512	512	512
SCN MDR (14)	512	>512	512	512	512
SCN MDR (15)	512	>512	>512	512	512
SCN MDR (16)	512	512	512	256	256
SCN MDR (17)	512	>512	512	4	512
SCN MDR (18)	512	>512	512	512	512
SCN MDR (19)	512	512	512	512	512
SCN MDR (20)	512	512	512	512	512

Tabela 5 – Concentração bactericida mínima (CBM) do clonazepam isoladamente e em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprima frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continuação e conclusão)

Cepas bacterianas	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
	CLON	CIP	SUT	CLON+CIP	CLON+SUT
Isolados clínicos					
SCN MDR (21)	512	512	512	512	512
SCN MDR (22)	512	512	>512	512	512
SCN MDR (23)	512	512	512	512	512
SCN MDR (24)	512	512	512	512	512
SCN MDR (25)	512	512	512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (1)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (2)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (3)	512	512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (4)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (7)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (8)	512	512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (9)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (10)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (11)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (12)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (13)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (14)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (15)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (16)	512	512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (17)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (18)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (19)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (20)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (21)	512	>512	>512	512	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (22)	256	>512	>512	512	512

CLON, Clonazepam; CIP, Ciprofloxacino; SUT, Sulfametoxazol/Trimetoprima; CLON+CIP, combinação de Clonazepam e Ciprofloxacino; CLON+SUT, combinação de Clonazepam e Sulfametoxazol/Trimetoprima; SCN, Staphylococcus coagulase negativa; MDR, isolados clínicos multirresistentes.

Tabela 6 – Concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e determinação do nível de tolerância (CBM/CIM) do clonazepam (CLON) frente a cepas padrão e isolados clínicos.

(continua)

CLON				
Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Índice de Tolerância (CBM/CIM)	Interpretação
Cepas padrão ATCC				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	256	512	2	Bactericida
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	256	512	2	Bactericida
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	256	512	2	Bactericida
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	512	>512	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	256	>512	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	512	>512	-	-
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	256	>512	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	512	>512	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468	512	>512	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	256	>512	-	-
Isolados clínicos				
SCN MDR (1)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (2)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (3)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (4)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (5)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (6)	128	512	4	Bactericida
SCN MDR (7)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (8)	128	512	4	Bactericida
SCN MDR (9)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (10)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (11)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (12)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (13)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (14)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (15)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (16)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (17)	512	512	1	Bactericida
SCN MDR (18)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (19)	512	512	1	Bactericida

Tabela 6 – Concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e determinação do nível de tolerância (CBM/CIM) do clonazepam (CLON) frente a cepas padrão e isolados clínicos.

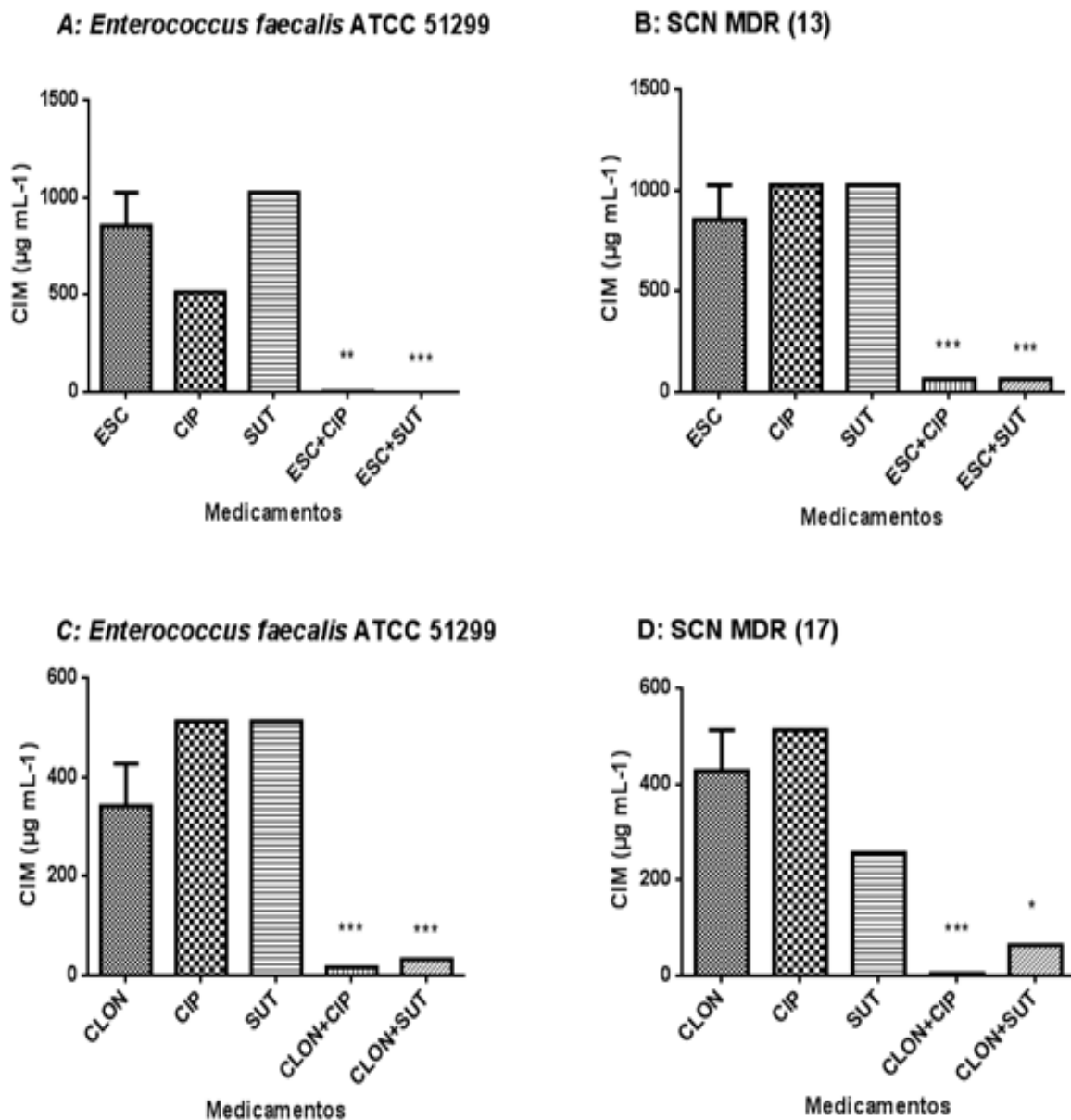
(continuação e conclusão)

CLON				
Cepas bacterianas	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Índice de Tolerância	Interpretação
Isolados clínicos	(CBM/CIM)			
SCN MDR (20)	128	512	4	Bactericida
SCN MDR (21)	128	512	4	Bactericida
SCN MDR (22)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (23)	512	512	1	Bactericida
SCN MDR (24)	256	512	2	Bactericida
SCN MDR (25)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (1)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (2)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (3)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (4)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (7)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (8)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (9)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (10)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (11)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (12)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (13)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (14)	512	512	1	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (15)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (16)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (17)	256	512	2	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (18)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (19)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (20)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (21)	128	512	4	Bactericida
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (22)	256	256	2	Bactericida

CLON, Clonazepam; SCN, *Staphylococcus coagulase negativa*; MDR, isolados clínicos multirresistentes.

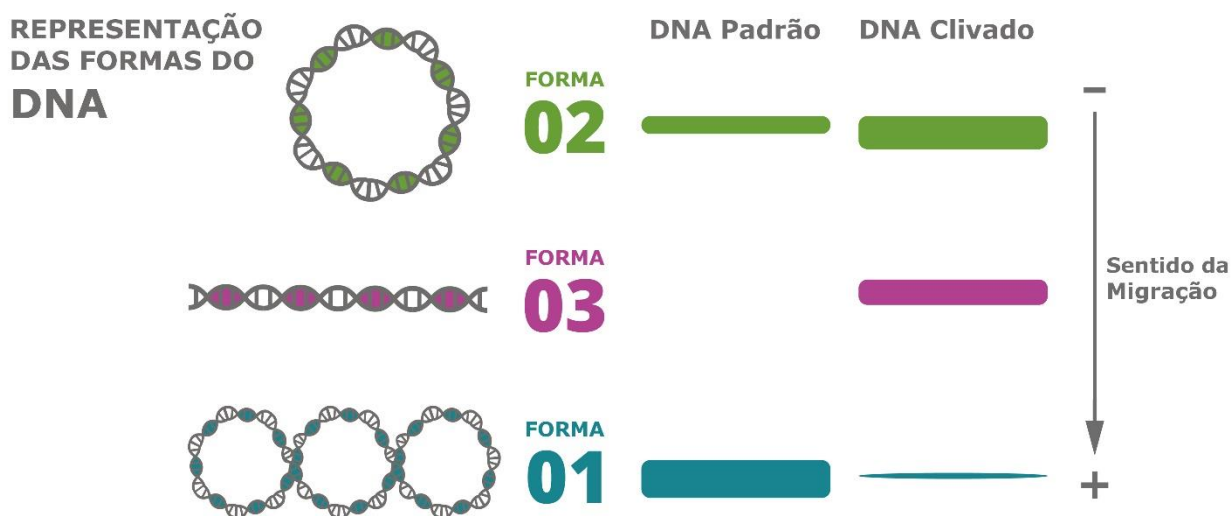
Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Figura 1 – Atividade do oxalato de escitalopram frente a A: *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 e B: SCN MDR (13). Atividade do clonazepam frente a C: *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 e D: SCN MDR (17). Asteriscos indicam os níveis de significância, quando comparados aos medicamentos testados isoladamente. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$.



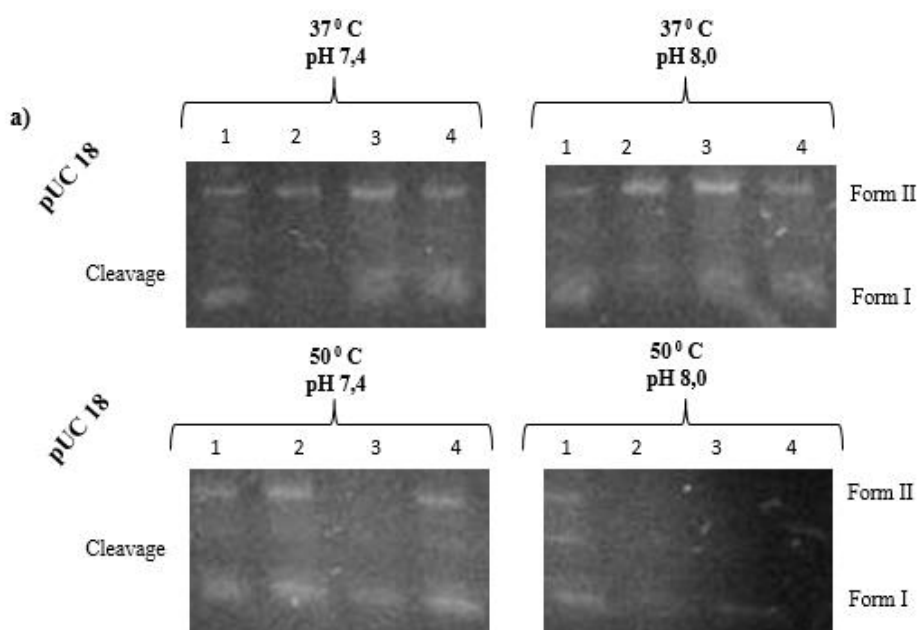
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Figura 2 – Representação ilustrativa das formas do DNA.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Figura 3 – Gel de agarose com medicamento clonazepam em diferentes temperaturas e pHs evidenciando a ocorrência da clivagem do DNA.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

4. DISCUSSÃO

Vários estudos descrevem a atividade antibacteriana de medicamentos antidepressivos, sendo efetivos frente a muitos microrganismos (AKILANDESWARI, RUCKMANI e RANJITH, 2013; AMALESH et al., 2012; AYAZ et al., 2015; HADERA et al., 2018; LASS et al., 2001; LI et al., 2017; MUNOZ-BELLIDO, MUNOZ-CRIADO e GARCÍA-RODRÍGUEZ, 1996; MUNOZ-BELLIDO, MUNOZ-CRIADO e GARCÍA-RODRÍGUEZ, 2000; MUTHUKUMAR e JANAKIRAMAN, 2014; NETO et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2018; OTTO et al., 2019; ROSSATO et al., 2016; SOUSA et al., 2018). Esse fato torna cada vez mais interessante a investigação das atividades antimicrobianas de antidepressivos.

Um dos medicamentos pesquisados, Oxalato de Escitalopram, está apresentado no artigo publicado: *“Repositioning or Redirection of Antidepressant Drugs in the Treatment of Bacterial and Fungal Infections”*. Ao investigarmos as atividades antibacterianas do oxalato de escitalopram, verificamos que nossos dados concordam com os descritos por Akilandeswari, Ruckmani e Ranjith (2013), que avaliaram a atividade do oxalato de escitalopram frente a cepas padrão, tendo atividade frente a Gram-positivos e Gram-negativos. No nosso estudo, foi bactericida frente a uma cepa padrão Gram-negativa e alguns isolados clínicos Gram-positivos. Quando o antidepressivo foi testado em combinação com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima apresentou resultado significativo tanto frente às cepas padrão, quanto aos isolados clínicos. Apesar de na literatura o medicamento oxalato de escitalopram ter apresentado atividade frente a células de carcinoma colorretal (SAKKA et al., 2017), no presente estudo o medicamento não foi capaz de clivar o DNA plasmidial.

No manuscrito, os resultados descritos são do oxalato de escitalopram, mas também temos resultados de outro medicamento testado, o benzodiazepínico clonazepam. Os resultados obtidos demonstraram que o clonazepam apresentou atividade bactericida importante frente a microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. Quando em combinação com antibacterianos demonstrou que houve sinergismo frente a alguns microrganismos, corroborando com dados já descritos, os quais afirmam que a associação de medicamentos não-antibacterianos com antibacterianos pode reduzir a concentração inibitória mínima e apresentar uma solução para infecções bacterianas graves (BROWN, 2015). Sendo que, o clonazepam em combinação com antibacterianos teve atividade frente a algumas espécies bacterianas, dando ênfase a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, que fazem parte dos patógenos ESKAPE (YOUNIS, SHANKAR e SELEEM, 2015). Outro dado

importante à cerca do benzodiazepínico clonazepam, é que ele foi capaz de clivar o DNA plasmidial (ALMEIDA et al., 2013).

Esses resultados demonstram que o redirecionamento de fármacos é uma alternativa promissora no tratamento de infecções bacterianas (principalmente em associação com antibacterianos) e neoplasias.

5. CONCLUSÕES

Nesse trabalho evidenciamos que o redirecionamento de medicamentos é uma alternativa no tratamento de doenças infecciosas e também para neoplasias. Sendo que no presente estudo:

a) Apresentamos 14 estudos abrangendo o reposicionamento de medicamentos antidepressivos para tratamento de infecções bacterianas e fúngicas; sete antidepressivos apresentaram atividade frente a microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos. Dentre os antidepressivos, foi citado o oxalato de escitalopram com atividade relatada *in vitro* frente a cepas bacterianas padrão.

b) Em relação a atividade antibacteriana dos medicamentos testados, o antidepressivo oxalato de escitalopram apresentou atividade bactericida frente a uma bactéria Gram-negativa (cepa padrão de *Klebsiella pneumoniae*) e oito isolados clínicos MDR Gram-positivos, enquanto que o benzodiazepínico clonazepam foi bactericida frente a quatro cepas padrão Gram-negativas e todos os isolados clínicos MDR Gram-positivos e Gram-negativos.

c) Oxalato de escitalopram e clonazepam apresentaram atividade *in vitro* quando associados, individualmente, com ciprofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprima frente a cepas-padrão e isolados clínicos MDR Gram-positivos. O clonazepam, quando em associação, apresentou atividade também frente a uma bactéria Gram-negativa (cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa*).

d) O oxalato de escitalopram não teve atividade de nuclease química; em contrapartida, clonazepam foi capaz de clivar o DNA plasmidial. Mais estudos devem ser realizados pelo nosso grupo de pesquisa, com objetivo de verificar a atividade do clonazepam frente a linhagens celulares tumorais.

REFERÊNCIAS

- AKILANDESWARI, K.; RUCKMANI, K.; RANJITH, V. Efficacy of Antibacterial Activity of Antibiotics Ciprofloxacin and Gentamycin Improved with Anti Depressant Drug, Escitalopram. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, Índia, v. 21, n. 2, p. 71-74, jul./ago., 2013. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/484a/8fad22a8a8c7fb3e3b6e7182e6f8fce4eebd.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2019.
- ALMEIDA, V. R.; XAVIER, F. R.; OSÓRIO, R. E. W. M. B. et al. In vitro and in vivo activity of a new unsymmetrical dinuclear copper complex containing a derivative ligand of 1,4,7-triazacyclononane: Catalytic promiscuity of [Cu₂(L)Cl₃]. **Dalton Trans.**, Brasil, v. 42, n. 19, p. 7059-7073, fev., 2013. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/DT/C3DT33046J#!divAbstract>>. Acesso em: 30 jun. 2019. DOI: 10.1039/C3DT33046J.
- AMALESH, S.; DEBPRASAD, C.; CHANDRIMA, S. et al. Evaluation of *in vivo* and *in vitro* antimicrobial activities of a selective serotonin reuptake inhibitor sertraline hydrochloride. **Anti Infective Agents**, Índia, v. 10, n. 2, mar., 2012. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/96419/article/evaluation-vivo-and-vitro-antimicrobial-activities-selective-serotonin-reuptake>>. Acesso em: 3 jun. 2019. DOI: 10.2174/2211362611208020095.
- ARMITAGE, B. Photocleavage of nucleic acids. **Chem. Rev.**, Estados Unidos, v. 98, n. 3, p. 1171-1200, mar., 1998. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr960428%2B>>. Acesso em: 29 jun. 2019. DOI: 10.1021/cr960428%2B.
- 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, ago., 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15286734>>. Acesso em: 12 set. 2018. DOI: 10.1038/nrd1468.
- AYAZ, M.; SUBHAN, F.; AHMED, J. et al. Sertraline enhances the activity of antimicrobial agents against pathogens of clinical relevance. **J. Biol. Res-Thessalon.**, Paquistão, v. 22, n. 1, p. 4, abr., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26029671>>. Acesso em: 14 mai. 2019. DOI: 10.1186/s40709-015-0028-1.
- BILAL, M.; RASHEED, T.; IQBAL H. M. N. et al. Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. **Int. J. Biol. Macromol.**, China, v. 103, p. 554-574, mai., 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28528940>>. Acesso em: 05 out. 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.071.
- BITTENCOURT, S. C.; CAPONI, S; MALUF, S. Medicamentos antidepressivos: Inserção na prática biomédica (1941 a 2006) a partir da divulgação em um livro-texto de farmacologia. **MANA**, Brasil, v. 19, n. 2, p. 219-247, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-93132013000200001&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 30 jun. 2019.

BOTTEGA, A.; SERAFIN, M. B.; DA ROSA, T. F. et al. Antimicrobial and antineoplastic properties of sertraline. **Am. J. Ther.**, Brasil, jun., 2019 [Ahead-of-Print]. Disponível em: <https://journals.lww.com/americantherapeutics/Citation/publishahead/Antimicrobial_and_Antineoplastic_Properties_of.98424.aspx>. Acesso em: 22 jul. 2019. DOI: 10.1097/MJT.0000000000001022.

BRAGA, J. E. F.; PORDEUS, L. C.; DA SILVA, A. T. M. C. et al. Ansiedade Patológica: Bases Neurais e Avanços na Abordagem Psicofarmacológica. **Rev. Bras. Ciênc. Saúde**, Brasil, v. 14, n. 2, p. 93-100, 2010. Disponível em: <<http://www.periodicos.ufpb.br/ojs2/index.php/rbcs/article/view/8207/5320>>. Acesso em: 03 jun. 2019. DOI: 10.4034/RBCS.2010.14.02.13.

BROWN, D. Antibiotic resistance breakers: repurposed drugs fill the antibiotic discovery avoid? **Nat. Rev.**, Inglaterra, v. 14, n. 12, p. 821-832, dez., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26493767>>. Acesso em: 10 out. 2018. DOI: 10.1038/nrd4675.

CHAN, E. W. L, YEE, Z. Y.; RAJA, I. et al. 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, set., 2017. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716517300784?via%3Dihub>>. Acesso em: 5 jun. 2019. DOI: 10.1016/j.jgar.2017.03.012.

CHE, C.T.; WANG, Z.J.; CHOW M.S.S. et al. Herb-Herb combination for therapeutic enhancement and advancement: theory, practice and future perspectives. **Molecules**, Estados Unidos, v. 18, n. 5, p. 5125-41, mai., 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23644978>>. Acesso em: 27 fev. 2019. DOI: 10.3390/molecules18055125.

COMMISARIAT AL'ENERGIE ATOMIQUE ET-AUX ENERGIES ALTERNATIVES. Frank Mouthon e Matthieu Charverlat. Use of Clonazepam in Combination with Antibiotic in the Treatment of Bacterially Induced Meningitis. 14/890,984. 24 mar. 2016.

CORDEIRO, P. C. F.; GUIMARÃES, J. P.; BONATO L. L. et al. Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina e Bruxismo: Associação em Usuário de Prótese Total. **Rev. Saúde Pesqui.**, Brasil, v. 7, n. 3, p. 553-561, set./dez., 2014. Disponível em: <<http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/3557>>. Acesso em: 13 abr. 2019.

DA ROSA, T. F.; MACHADO, C. S.; SERAFIN M. B. et al. Repositioning or redirection of antidepressant drugs in the treatment of bacterial and fungal infections. **Am. J. Ther.**, Brasil, mai., 2019 [Ahead-of-Print]. Disponível em: <https://journals.lww.com/americantherapeutics/Citation/publishahead/Repositioning_or_Redirection_of_Antidepressant.98451.aspx>. Acesso em: 20 mai. 2019. DOI: 10.1097/MJT.0000000000001001.

DEBNATH, A.; PERSONAGE, D; ANDRADE, R. M. et al. A high-throughput drug screen for *Entamoeba histolytica* identifies a new lead and target. **Nat. Med.**, Estados Unidos, v. 18, n. 6, p. 956–60, jun., 2012. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22610278>>. Acesso em: 20 out. 2018. DOI: 10.1038/nm.2758.

DOMINGUES, V. O.; HÖRNER, R.; REETZ, L. G. B. et al. In Vitro Evaluation of Triazenes: DNA Cleavage, Antibacterial Activity and Cytotoxicity against Acute Myeloid Leukemia Cells. **J. Braz. Chem. Soc.**, Brasil, v. 21, n. 12, p. 2226-2237, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532010001200009>. Acesso em: 01 jul. 2019. DOI: 10.1590/S0103-50532010001200009.

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, jun., 2011. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nchembio.559>>. Acesso em: 1 jul. 2019. DOI: 10.1038/NChemBio.559.

FIORELLI, K.; ASSINI F. L. A prescrição de benzodiazepínicos no Brasil: uma análise da literatura. **ABCS Health Sci.**, Brasil, v. 42, n. 1, p. 40-44, mai., 2017. Disponível em: <<https://www.portalnepas.org.br/abcshs/article/view/948>>. Acesso em: 20 mai. 2019. DOI: 10.7322/abcshs.v42i1.948.

FOLETTI, V. S.; SERAFIN, M. B.; DA ROSA, T. F. et al. Fluoxetine And Paroxetine: Repositioning As A Therapeutic Alternative In The Treatment Of Various Diseases. **Am. J. Ther.**, Brasil, mai., 2019 [Ahead-of-Print]. Disponível em: <<https://journals.lww.com/americantherapeutics/pages/articleviewer.aspx?year=9000&issue=00000&article=98442&type=Citation#pdf-link>>. Acesso em: 20 mai. 2019. DOI: 10.1097/MJT.0000000000001011.

FOLGORI, L.; BIELICKI, J. Future Challenges in Pediatric and Neonatal Sepsis: Emerging Pathogens and Antimicrobial Resistance. **J. Pediatr. Intensive Care**, Inglaterra, v. 8, n. 1, p. 17-24, dez., 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31073504>>. Acesso em: 11 mai. 2019. DOI: 10.1055/s-0038-1677535.

HADERA, M.; MEHARI, S.; SALEEM, N. et al. Study on Antimicrobial Potential of Selected Non-antibiotics and its Interaction with Conventional Antibiotics. **UK J. Pharm. Biosci.**, Eritréia, v. 6, n. 1, p. 01-07, jan., 2018. Disponível em: <http://ukjpb.com/article_details.php?id=355>. Acesso em: 02 jun. 2019.

JIA, J.; ZHU, F.; MA, X. et al. Mechanisms of drug combinations: interaction and network perspectives. **Nat. Rev. Drug Discov.**, Singapura, v. 8, n. 2, p. 111-128, fev., 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19180105>>. Acesso em: 15 jun. 2019. DOI: 10.1038/nrd2683.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014, 1205 p.

LASS, F. C.; DIERICH, M. P.; FUCHS, D. et al. Antifungal properties of selective serotonin reuptake inhibitors against *Aspergillus* species *in vitro*. **J. Antimicrob. Chemother.**, Áustria, v. 48, n. 6, p. 775-779, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11733460>>. Acesso em: 15 jun, 2019. DOI: 10.1093/jac/48.6.775.

LI, L.; KROMANN, S.; OLSEN, J. E. et al. Insight into synergetic mechanisms of tetracycline and the selective serotonin reuptake inhibitor, sertraline, in a tetracycline-resistant strain of *Escherichia coli*. **J. Antibiot (Tokyo)**, Dinamarca, v. 70, n. 9, p. 944–953, jul., 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28698674>>. Acesso em: 03 mar. 2019. DOI: 10.1038/ja.2017.78.

LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Rev. Port. Sal. Pub.**, Portugal, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S087090251500067X>>. Acesso em: 05 out. 2018. DOI: 10.1016/j.rpsp.2015.11.003.

MACEDO, D.; FILHO A. J. M. C.; DE SOUSA, 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. 15, n. 208, p. 22-32, set., 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27744123>>. Acesso em: 15 jun. 2019. DOI: 10.1016/j.jad.2016.09.012.

MOURA, W. C. S.; PEREIRA, D. N.; LIMA, Z. N. et al. Perfil antibacteriano de novos derivados n-acilidrazônicos substituídos. **Biofarm – Universidade Estadual da Paraíba**, Brasil, v. 13, n. 4, p. 59-66, out./dez., 2017. Disponível em: <<http://revista.uepb.edu.br/index.php/biofarm/article/view/3279/2373>>. Acesso em: 15 out. 2018.

MUNOZ-BELLIDO, J. L.; MUNOZ-CRIADO, S.; GARCÍA-RODRIGUEZ, J. A. *In-vitro* activity of psychiatric drugs against *Corynebacterium urealyticum* (*Corynebacterium* group D2). **J. Antimicrob. Chemother.**, Espanha, v. 37, n. 5, p. 1005-1009, jan., 1996. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article/37/5/1005/749677>>. Acesso em: 10 mai. 2019. DOI: 10.1093/jac/37.5.1005.

MUNOZ-BELLIDO, J. L.; MUNOZ-CRIADO, S.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, J. A. Antimicrobial activity of psychotropic drugs: Selective serotonin reuptake inhibitors. **Int J Antimicrob. Agents**, Espanha, v. 14, n. 3, p. 177-180, abr., 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10773485>>. Acesso em: 5 mai. 2019. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(99\)00154-5](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(99)00154-5).

MUTHUKUMAR, K; JANAKIRAMAN, V. Evaluation of Antibacterial Activity of Amitriptyline Hydrochloride. **Int. J. Chemtech Res.**, Índia, v. 6, n. 11, p. 4878-4883, out./nov., 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/287769663_Evaluation_of_antibacterial_activity_of_amitriptyline_hydrochloride>. Acesso em: 02 jul. 2018.

NAVARRO, M.; CISNEROS-FAJARDO, E. J.; FERNANDEZ-MESTRE, M. et al. Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of [Cu(dppz)₂]BF₄. **J. Inorg. Biochem.**, Venezuela, v. 97, n. 4, p. 364-369, jul., 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14568241>>. Acesso em: 01 jul. 2019. DOI: 10.1016/S0162-0134(03)00290-3.

NETO, J. B. A.; JOSINO, M. A. A.; SILVA, C. R. et al. A mechanistic approach to the in-vitro resistance modulating effects of fluoxetine against meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Microb. Pathog.**, Brasil, v. 127, p. 335-340, jan., 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30529514>>. Acesso em: 15 jun. 2019. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.11.056.

NG, S. M. S.; SIOSON J. S. P.; YAP J. M. et al. Repurposing Zidovudine in combination with Tigecycline for treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, Singapura, v. 37, n. 1, p. 141-148, out., 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29019016>>. Acesso em: 06 out. 2018. DOI: 10.1007/s10096-017-3114-5.

NOSENGO, N. Can you teach old drugs new tricks? **Nat.**, Itália, v. 534, n. 7607, p. 314–316, jun., 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27306171>>. Acesso em: 07 out. 2018. DOI: 10.1038/534314a.

OLIVEIRA, M. C. B. **Nucleases Sintéticas: Caracterização bioquímica e mecanismo de ação sobre o DNA.** 2013. 129 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2006.

OLIVEIRA, A. S.; OLIVEIRA, J. M.; DONDERS, G. G. G. et al. Anti-Candida activity of antidepressants sertraline and fluoxetine: effect upon pre-formed biofilms. **Med. Microbiol. Immunol.**, Portugal, v. 207, p. 195–200, mar., 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29556778>>. Acesso em: 05 jun. 2019. DOI: 10.1007/s00430-018-0539-0.

OTTO, R. G.; GORP, E. V.; KLOEZEN, W. et al. An alternative strategy for combination therapy: Interactions between polymyxin B and non-antibiotics. **Int. J. Antimicrob. Agents.**, Holanda, v. 53, n. 1, p. 34-39, set., 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30240838>>. Acesso em: 25 abr. 2019. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2018.09.003.

RICHARDSON, K.; BENNETT, K.; KENNY, R. A. Polypharmacy including falls risk-increasing medications and subsequent falls in community dwelling middle-aged and older adults. **Age Ageing**, Irlanda, v. 44, n. 1, p. 90-6, out., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25313240>>. Acesso em: 20 mai. 2019. DOI: 10.1093/ageing/afu141.

RODRIGUES, T. S.; DOS SANTOS, A. M. R.; LIMA, P. C. et al. Resistência Bacteriana á Antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva: Revisão Integrativa. **Rev. Pre. Infec. e Saúde**, Brasil, v.4, p. 7350, 2018. Disponível em: <<http://www.ojs.ufpi.br/index.php/nupcis/article/view/7350>>. Acesso em: 12 out. 2018. DOI: 10.26694/repis.v4i0.7350.

ROSSATO, L.; LORETO, E. R.; ZANETTE, R. A. et al. *In vitro* synergistic effects of chlorpromazine and sertraline in combination with amphotericin B against *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. **Folia Microbiol. (Praha)**, Brasil, v. 61, n. 5, p. 399–403, jan., 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26847460>>. Acesso em: 15 nov. 2018. DOI: 10.1007/s12223-016-0449-8.

SAKKA, L.; DELÉTAGE, N.; CHALUS, M. et al. Assessment of citalopram and escitalopram on neuroblastoma cell lines: Cell toxicity and gene modulation. **Oncotarget**, França, v. 8, n. 26, p. 42789-42807, abr., 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28467792>>. Acesso em: 01 jul. 2019. DOI: 10.18632/oncotarget.17050.

SALES, T. T. **Silenciamento do canal de potássio Eag1 potencializa efeitos da temozolomida em células U-87 MG de glioblastoma multiforme**. 2015. 128 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

SANTOS, S. O.; 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, out., 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjid/v20n6/1413-8670-bjid-20-06-0649.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2018. DOI: 10.1016/j.bjid.2016.08.009.

SERAFIN, M. B.; HÖRNER, R. Drug repositioning, a new alternative in infectious Diseases. **Braz. J. Infect. Dis.**, Brasil, v. 22, n. 3, p. 252-256, abr., 2018. Disponível em: <<http://www.bjid.org.br/en-estadisticas-S141386701830252>>. Acesso em: 06 out. 2018. DOI: 10.1016/j.bjid.2018.05.007.

SOUSA, A. K.; ROCHA, J. E.; SOUZA, T. G. et al. New roles of fluoxetine in pharmacology: Antibacterial effect and modulation of antibiotic activity. **Microb. Pathog.**, Brasil, v. 123, p. 368-371, jul., 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30056107>>. Acesso em: 02 jul. 2019. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.07.040.

STEPHANSSON, O.; KIELER, H.; HAGLUND, B. et al. Inibidores Selectivos da Recaptação de Serotonina: uma opção segura no tratamento da depressão durante a gravidez? **Rev. Port. Med. Geral Farm.**, Brasil, v. 309, n. 1, p. 48-54, jan., 2013. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2182-51732013000400012>. Acesso em: 02 jun. 2018.

TAKASAKI, B. K.; JIK CHIN, J. Cleavage of the Phosphate Diester Backbone of DNA with Cerium (III) and Molecular Oxygen. **J. Am. Chem. Soc.**, Brasil, v. 116, n. 3, p. 1121-1122, set., 1994. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00082a040>>. Acesso em: 06 jun. 2019. DOI: 10.1021/ja00082a040.

THAKARE, R.; SINGH, A. K.; DAS, S. et al. Repurposing Ivacaftor for treatment of *Staphylococcus aureus* infections. **Int. J. Antimicrob. Agents**, Índia, v. 50, n. 3, p. 389–392, mar., 2017. Disponível em: <[https://www.ijaaonline.com/article/S0924-8579\(17\)30249-2/abstract](https://www.ijaaonline.com/article/S0924-8579(17)30249-2/abstract)>. Acesso em: 20 out. 2018. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.020.

VAN VUUREN, S.; VILJOEN, A. Plant-based antimicrobial studies – methods and approaches to study the interaction between natural products. **Planta Med.**, África do Sul, v. 77, n. 11, p. 1168-1182, jan., 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21283954>>. Acesso em: 20 jun. 2019. DOI: 10.1055/s-0030-1250736.

WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**, Alemanha, v. 2, n. 3, p. 97-110. 2009. Disponível

em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19211237>>. Acesso em: 02 jul. 2019. DOI: 10.1016/j.phymed.2008.12.018.

WILSON, T. A.; KARAJANNIS, M. A.; HARTER, D. H. Glioblastoma multiforme: State of the art and future therapeutics. **Surg. Neurol. Int.**, Estados Unidos, v. 5, n. 64, mai., 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24991467>>. Acesso em: 18 abr. 2019. DOI: 10.4103/2152-7806.132138.

WHO. **Global action plan on antimicrobial resistance**. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/en>>. Acesso em: 19 jun 2018.

YANG, Y. ZHANG, Z.; LI, S. et al. Synergy effects of herb extracts: pharmacokinetics and pharmacodynamic basis. **Fitoterapia**, China, v. 92, p. 133-47, out., 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24177191>>. Acesso em: 19 jun. 2019. DOI: 10.1016/j.fitote.2013.10.010.

YOUNIS, W., SHANKAR, T., SELEEM, M. Repurposing non-antimicrobial drugs and clinical molecules to treat bacterial infections. **Curr. Pharm. Des.**, Estados Unidos, v. 21, n. 28, p. 4106-4111, jan., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25961308>>. Acesso em: 05 out. 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, mai., 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28685814>>. Acesso em: 1 out. 2018. DOI: 10.1111/bph.13895.

ANEXO A – NORMAS PARA AUTORES DO PERIÓDICO “*JOURNAL OF CHEMOTHERAPY*”

Sobre o Jornal

Journal of Chemotherapy é um periódico internacional publicado por pares que publica pesquisa original de alta qualidade. Aceita os seguintes tipos de artigo: artigos de revisão, trabalhos de pesquisa originais, relatos de caso, comunicações breves, cartas para o editor.

Instruções para os autores

Trabalhos de pesquisa originais

Deve ser escrito com os seguintes elementos na seguinte ordem: página de título; resumo; palavras-chave; introdução do texto principal, materiais e métodos, resultados, discussão; reconhecimentos; declaração de interesse; referências; apêndices (conforme apropriado); tabela (s) com legenda (s) (em páginas individuais); figuras; legendas de figuras (como uma lista).

Não deve conter mais de 9000 palavras, inclusive do resumo, tabelas, referências, legendas de figuras.

Deve conter um resumo não estruturado de 150 palavras.

Deve conter entre 6 e 8 palavras-chave.

Artigos sobre tópicos antimicrobianos ou anticâncer são aceitos.

Diretrizes de estilo

Guia de layout rápido Taylor & Francis

Estas diretrizes gerais de layout do artigo ajudarão você a formatar seu manuscrito para que ele esteja pronto para você enviá-lo para um periódico da Taylor & Francis.

Se o seu artigo for aceito para publicação, o manuscrito será formatado e formatado no estilo correto para o periódico.

Guia de layout do artigo

Fonte: Times New Roman, 12 pontos, espaçamento de linha dupla. Use margens de pelo menos 2,5 cm (ou 1 polegada).

Título: use negrito para o título do seu artigo, com uma letra maiúscula inicial para quaisquer nomes próprios.

Resumo: Indicar o parágrafo resumo com um cabeçalho ou reduzindo o tamanho da fonte. Verifique se a revista requer um resumo estruturado, lendo as instruções para autores. As instruções para os autores também podem dar limites de palavras para o seu resumo.

Palavras-chave: forneça palavras-chave para ajudar os leitores a encontrar seu artigo. Se as instruções para os autores não derem um número de palavras-chave para fornecer, por favor, dê cinco ou seis.

Cabeçalhos: Por favor, indique o nível dos títulos das seções em seu artigo:

1. Os cabeçalhos de primeiro nível (por exemplo, Introdução, Conclusão) devem estar em negrito, com uma letra inicial maiúscula para quaisquer nomes próprios.
2. Os cabeçalhos de segundo nível devem estar em negrito e itálico, com uma letra maiúscula inicial para quaisquer nomes próprios.
3. Os títulos de terceiro nível devem estar em itálico, com uma letra maiúscula inicial para quaisquer nomes próprios.
4. Os títulos de quarto nível devem estar em negrito e itálico, no início de um parágrafo. O texto segue imediatamente após um ponto final (ponto cheio) ou outro sinal de pontuação.
5. As rubricas de quinto nível devem estar em itálico, no início de um parágrafo. O texto segue imediatamente após um ponto final (ponto cheio) ou outro sinal de pontuação.

Tabelas e figuras: Indique no texto onde as tabelas e figuras devem aparecer, por exemplo, inserindo [Tabela 1 aqui perto]. Você deve fornecer as tabelas reais no final do texto ou em um arquivo separado e os números reais como arquivos separados. Você pode encontrar detalhes da preferência do Editor do periódico nas Instruções para autores ou na orientação sobre o sistema de envio. Assegure-se de ter permissão para usar quaisquer tabelas ou figuras que você esteja reproduzindo de outra fonte.

Por favor, tome conhecimento do conselho neste site sobre a obtenção de permissão para material de terceiros, preparação de obras de arte e tabelas.

Exemplo de como redigir as referências

Cao B, Tan TT, Poon E, Wang JT, Kumar S, Liam CH, et al. Consensus statement on the management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia in Asia. *Clin Respir J*. 2015;9:129–142.

Formatação

Os trabalhos podem ser enviados em formatos Word ou LaTeX. As figuras devem ser salvas separadamente do texto.