

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
Faculdade de Farmácia  
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Seleção de moléculas visando o reposicionamento de fármacos com potencial ação  
sobre o biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*

Hernando Salles Rosa

Porto Alegre, Dezembro de 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
Faculdade de Farmácia  
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Seleção de moléculas visando o reposicionamento de fármacos com potencial ação  
sobre o biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*

Hernando Salles Rosa

Prof. Dr. Alexandre José Macedo  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danielle Trentin

Porto Alegre, Dezembro de 2013.

“... So throw off the bowlines.  
Sail away from the safe harbor.  
Catch the trade winds in your sails.  
Explore.  
Dream.  
Discover.”  
Mark Twain.

## Resumo

*Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa formadora de biofilme que está associada a uma variedade de infecções nosocomiais, sendo encontrada em infecções relacionadas ao uso de implantes médicos e em ulcerações variadas, além de ser o patógeno mais comum em pacientes com fibrose cística. O biofilme representa um estilo de vida microbiano no qual células bacterianas aderem a superfícies e formam comunidades microbianas envoltas por uma matriz extracelular, sendo este um importante fator para o desenvolvimento de infecções crônicas. Diversos trabalhos reportam o envolvimento de moléculas sinalizadoras autoindutoras na formação e na manutenção de biofilmes, em um fenômeno de comunicação bacteriano conhecido como *Quorum Sensing* (QS). A busca por compostos capazes de inibir a formação ou de estimular a erradicação de biofilmes de *P. aeruginosa* é de extremo interesse à clínica, de maneira a permitir que estas infecções sejam eliminadas com o auxílio do sistema imunológico do hospedeiro e/ou por facilitar a ação de agentes antimicrobianos tradicionais. Este trabalho apresenta uma revisão da literatura sobre moléculas não antimicrobianas com conhecida ação sobre a formação de biofilme de *P. aeruginosa*. A partir desta revisão, cinco características estruturais comuns entre estas moléculas foram identificadas e serviram de protótipo para a seleção de 251 moléculas (aproximadamente 4%) dentre 5930 substâncias presentes no livro *Martindale: The complete Drug Reference*. Dentro do conceito de reposicionamento de fármacos, abordagem que tende a reduzir o tempo e os custos relacionados ao processo de pesquisa e desenvolvimento de fármacos, este estudo servirá como guia para próximos trabalhos experimentais que serão desenvolvidos no grupo de pesquisa de Biofilmes e Diversidade Microbiana da Faculdade de Farmácia desta Universidade, indicando compostos com potencial ação antibiofilme de *P. aeruginosa*.

## Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative, biofilm forming bacteria associated to a variety of acute and chronic nosocomial infections, commonly found in medical implants, ulcerations and known as being the main pathogen on Cistic Fibrosis patients. The development of chronic and persistent infections is associated with the formation of biofilms, a bacterial life style in which those cells attach to surfaces and form communities surrounded by an extracellular matrix. Quorum sensing is the capacity of bacteria in a medium to communicate through the production and recognition of autoinducer molecules. In this context, the search for substances capable of inhibiting the formation or stimulating the dispersal of *P. aeruginosa* biofilm is an important development point in today's research for novel ways of combating the various pathologies associated with the bacteria, by allowing those infections to be properly eliminated by the host's immune system and/or by facilitating the action of tradicional antimicrobial agents. This work consists in a revision of published articles about non-antimicrobial molecules with known action against the formation of *P. aeruginosa* biofilm. From this revision, five common structural characteristics were identified and used as scaffolds for the selection of 251 molecules (roughly 4%) among the 5930 substances related on the book *Martindale: The complete Drug Reference*. Considering the idea of drug repurposing, a methodology that aims to reduce the high cost and development time associated with the research of new drugs, this study will be used as a guide on future experimental projects to be developed by the Biofilmes e Diversidade Biológica research group from Universidade de Farmácia of Universidade Federal do Rio Grande do Sul, in the search of compounds with potential action against *P. aeruginosa* biofilm.

Obrigado,

Aos meus orientadores, pela confiança e conhecimento transmitido,

A todos que, cada um a seu jeito e em seu momento, me acompanharam nesses anos,

Aos meus pais, por tudo.

## Sumário

1. Introdução.....	8
1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	8
1.2. Biofilme: conceito e formação.....	8
1.3. Importância clínica.....	10
1.4. <i>Quorum Sensing</i> .....	11
1.4.1. Conceito.....	11
1.4.2. <i>Quorum Sensing</i> em <i>P. aeruginosa</i> .....	11
1.5. Reposicionamento de Fármacos.....	13
2. Objetivos.....	14
2.1. Objetivos gerais.....	14
2.2. Objetivos específicos.....	14
3. Metodologia.....	15
4. Resultados e Discussão.....	18
4.1. Resultados gerais.....	18
4.2. Enxofre ligado a cadeia linear.....	19
4.3. Enxofre ligado a anel aromático.....	21
4.4. Lactonas.....	23
4.5. Halogênios ligados a anel aromático.....	26
4.5.1. Bromo.....	28
4.5.2. Flúor.....	30
5. Conclusões.....	32
6. Referências.....	34
7. Anexos.....	38

## 1. Introdução

### 1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa presente em uma grande variedade de ambientes. Sua capacidade de utilizar variadas fontes de carbono e de energia, e de sobreviver em uma grande faixa de temperaturas (4-42°C) contribuem para que ela se encontre presente de maneira frequente tanto em ambientes naturais, por exemplo solo e água, como também em ambientes artificiais, como em hospitais [1]. A capacidade de sobrevivência de *P. aeruginosa* nas superfícies hospitalares contribui para que este micro-organismo seja o agente etiológico de uma ampla variedade de infecções nosocomiais, tanto agudas quanto crônicas [2]. Esta bactéria é encontrada em infecções relacionadas ao uso de implantes médicos e em ulcerações variadas, além de ser o patógeno mais comum em pacientes com fibrose cística [3].

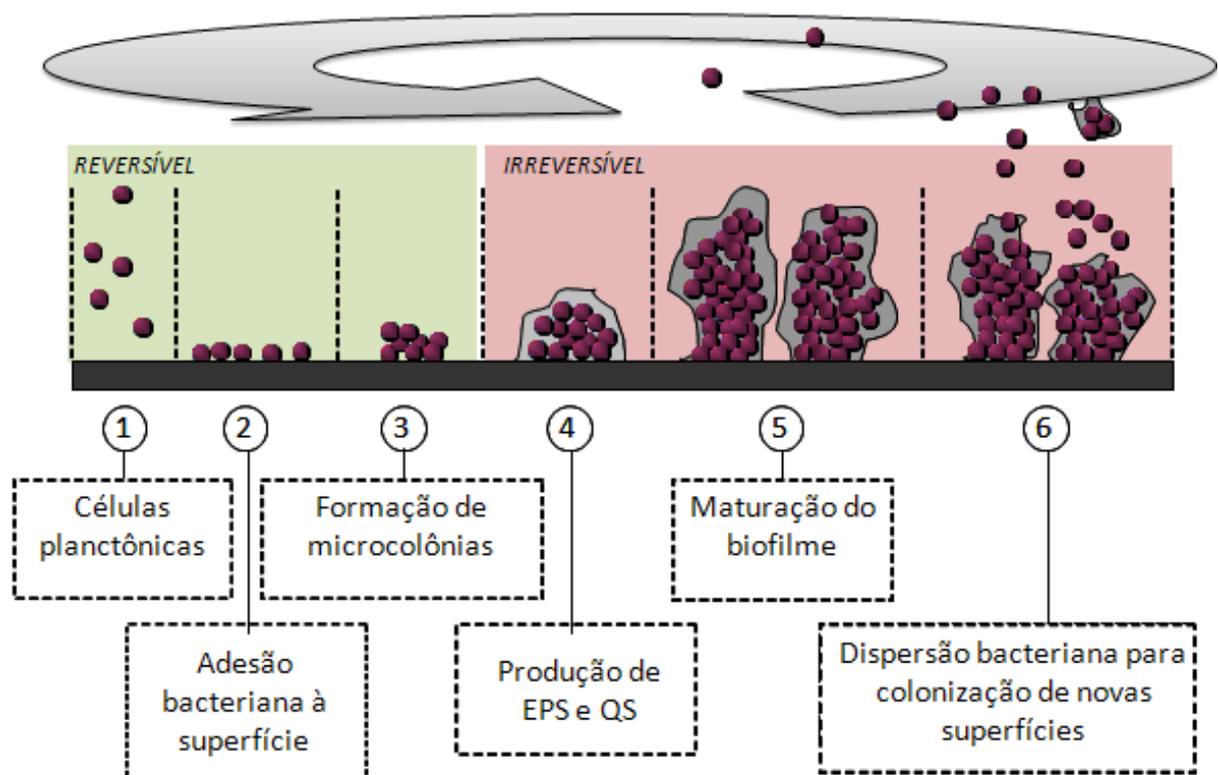
### 1.2. Biofilme: conceito e formação

Bactérias possuem dois estados de vida básicos: (i) estado planctônico ou de vida livre, caracterizado por células solitárias com alta motilidade, livres no meio e com capacidade de proliferação, e (ii) estado sésil ou biofilme, no qual ocorre a adesão destas bactérias a uma superfície e a formação de uma comunidade com características de um organismo pseudomulticelular, sendo caracterizada principalmente pela sua resistência à ação dos sistema imune e aos agentes antimicrobianos [4].

A adesão da célula bacteriana a uma superfície é a primeira etapa na formação do biofilme. Esta pode ocorrer sobre superfícies abióticas, como por exemplo, plásticos e metais utilizados em cateteres e implantes, sendo mediada por interações físico-químicas não específicas, ou sobre superfícies bióticas, como células e tecidos animais, situação no qual interações específicas ligante-receptor são as responsáveis pela adesão [5].

Em *P. aeruginosa* a adesão inicial a superfícies bióticas é mediada principalmente por pili tipo IV e flagelos [6]. Ocorre então a formação de microcolônias, nas quais há aumento na produção e detecção de substâncias sinalizadoras autoindutoras, envolvidas na regulação da formação do biofilme. Com o aumento da densidade de células bacterianas, ocorre o acúmulo desses sinais, o

que leva a indução da transcrição de genes que regulam funções como motilidade, virulência e a produção da matriz exopolissacarídica (EPS) [7,8]. A produção da EPS fortalece a ligação dos agregados bacterianos às superfícies, caracterizando então o biofilme maduro [9]. O biofilme maduro apresenta-se como uma estrutura com forma de “cogumelo”, com uma base chata de adesão a superfície, um corpo ou talo mais afilado e um “chapéu”, sendo permeado por canais que tem como função o fornecimento de água e nutrientes para as células no interior do biofilme, assim como a remoção de restos metabólitos [10,11]. Os biofilmes apresentam a capacidade de se dispersar em situações como a alteração na disponibilidade de fontes de carbono, devido ao alto fluxo do meio, a abrasão física ou mesmo como uma programação celular para virulência. Pode ocorrer a dispersão de bactérias com um fenótipo típico de bactérias sésseis [9] ou de bactérias planctônicas [12], as quais podem colonizar novas superfícies [13]. A figura 1 ilustra este processo.



**Figura 1:** Estágios de desenvolvimento do biofilme (adaptado de [14], sob permissão)

A formação de biofilme é um importante fator na persistência de infecções bacterianas e, portanto, no desenvolvimento de infecções crônicas. Os biofilmes

apresentam uma excepcional resistência aos antibacterianos, tolerando exposições a concentrações até 1000 vezes maiores que as mesmas bactérias em seu estado planctônico [15]. Fatores como a diminuição da atividade metabólica, a produção da matriz extracelular que dificulta tanto a penetração de compostos agressores como o reconhecimento da infecção pelo sistema imune, assim como a expressão aumentada de enzimas de degradação de substâncias antibacterianas estão entre alguns dos mecanismos que conferem a resistência apresentada pelo biofilme [7,13]. Ainda, biofilmes proporcionam um ambiente ideal para a troca de DNA extracromossomal (plasmídeos). Existem evidências de que ocorre maior troca de plasmídeos entre bactérias na forma de biofilme do que no estado planctônico, possivelmente devido à proximidade das células no biofilme [9,16]. Considerando-se que plasmídeos carregam diversos genes de resistência a inúmeros agentes antibacterianos, a formação de biofilme pode ser considerada como um facilitador da disseminação de resistência a agentes antibacterianos [17].

### 1.3. Importância clínica

Acredita-se que 80% das infecções humanas estejam associadas a biofilmes microbianos, os quais agem como reservatórios de micro-organismos viáveis mesmo após ação do sistema imunológico saudável ou de substâncias antimicrobianas [18].

A fibrose cística é considerada o modelo “clássico” de infecções associadas a biofilme. Nela, o biofilme de *P. aeruginosa* se estabelece no pulmão dos pacientes, onde mesmo após agressivas antibioticoterapias não há eliminação da infecção, levando à progressiva piora da capacidade respiratória do paciente causada pela escarificação do pulmão e ao óbito prematuro [19].

*P. aeruginosa* também está associada a feridas crônicas, onde a presença de biofilme parece retardar ou impedir a cicatrização do ferimento [20]. Além disso, um número cada vez maior de infecções variadas está sendo associado a biofilmes, como infecções do trato urinário, endocardites, e infecções envolvendo cateteres e implantes em geral [21,22].

O estabelecimento de biofilmes dificulta a erradicação da infecção e exige o uso de antimicrobianos de última linha, o que proporciona maior pressão para o desenvolvimento de resistência bacteriana. Apesar do uso de antibioticoterapia agressiva, muitas vezes os resultados continuam sendo insatisfatórios [13].

## 1.4. Quorum Sensing

### 1.4.1. Conceito

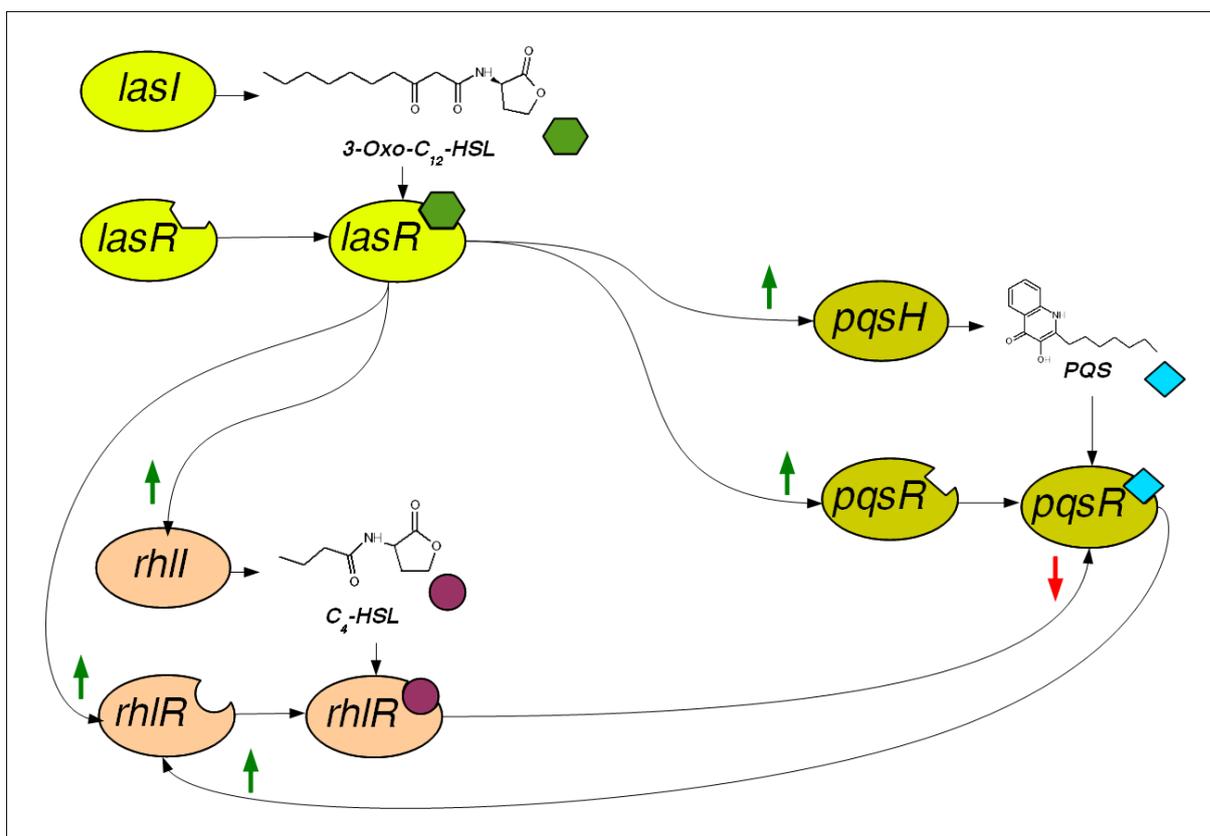
As primeiras evidências modernas da existência de comunicação entre bactérias, até então tidas como seres estritamente autônomos, têm origem na observação de que a bioluminescência produzida pela bactéria *Vibrio fischeri* é regulada pela produção de moléculas sinalizadoras identificadas como autoindutores [23]. Estas moléculas são liberadas no meio por uma população bacteriana em crescimento e regulam a transcrição de diversos genes específicos, sendo no caso da *V. fischeri*, genes que codificam diversas enzimas, dentre elas a luciferase, responsável pela emissão de luz. O fenômeno de comunicação entre células foi chamado de *Quorum Sensing* (QS) [23].

O sistema QS está associado principalmente à regulação da transcrição de fatores de virulência e diversos trabalhos reportam o envolvimento deste sistema na indução da formação de biofilmes e na manutenção dos mesmos [7,8,12,13]. Desta forma, a inibição do sistema de comunicação bacteriano representa um alvo atrativo para o combate de infecções bacterianas formadoras de biofilme sem envolver efeito bactericida ou bacteriostático, de maneira a diminuir a pressão seletiva sobre o desenvolvimento de resistência aos mecanismos de combate a infecções tradicionalmente utilizados na terapêutica [24].

### 1.4.2. Quorum Sensing em *P. aeruginosa*

Três sistemas de QS são descritos em *P. aeruginosa* até o momento: os sistemas *las* e *rhl*, análogos ao sistema *lux* de *V. fischeri*, que utilizam como sinalizadores, as homoserina lactonas (HSL) 3-Oxo-C<sub>12</sub>-HSL e C<sub>4</sub>-HSL, respectivamente, e, o sistema *Pseudomonas Quinolone Signal* (PQS), um mecanismo específico do gênero *Pseudomonas*, que utiliza como sinalizador a 2-heptil-3-hidroxi-4-quinolona [25,26,27]. Os sistemas *las* e *rhl* são compostos por duas proteínas cada, *lasI* e *LasR* e *rhlI* e *rhlR*, respectivamente, sendo as proteínas *lasI* responsável pela síntese do sinalizador 3-Oxo-C<sub>12</sub>-HSL e a proteína *rhlI* pela síntese do sinalizador C<sub>4</sub>-HSL, enquanto que *lasR* e *rhlR* são proteínas regulatórias ligantes dos sinalizadores produzidos pelo seus próprios sistemas. Já o sistema PQS apresenta maior número de genes envolvidos na produção de seu sinalizador e variados mecanismos de regulação interna. O sistema *las* é responsável pelo controle do sistema *rhl*, com o sistema PQS intercalado entre esses, gerando um

complexo mecanismo de regulação (Figura 2) [28].



**Figura 2:** Relações de regulação entre os três diferentes sistemas de QS de *P. aeruginosa*. Setas verdes indicam ativação, setas vermelhas indicam inibição. Esta figura exemplifica a complexidade dos sistemas de regulação de QS.

A regulação da produção de ramnolípideos, moléculas capazes de lisar de maneira muito eficiente neutrófilos e macrófagos, e a produção de DNA extracelular (eDNA), o qual forma uma camada de proteção aniônica na matriz do biofilme, protegendo-o de antibacterianos carregados positivamente, como os aminoglicosídeos e os peptídeos antimicrobianos, são propriedades dos sistemas QS e estão associadas a resistência intrínseca dos biofilmes [28,29,30].

Estudos *in vitro* demonstraram que biofilmes formados por variedades mutantes de *P. aeruginosa* com genes do sistema QS removidos apresentam maior suscetibilidade a ação fagocítica de leucócitos [31]. Esses resultados são suportados também por experimentos *in vivo* em camundongos, indicando que apesar do QS não ser estritamente necessário para a formação de biofilme em *P. aeruginosa*, este sistema apresenta grande importância com relação à arquitetura dos biofilmes [31,32]. Assim, variedades mutantes incapazes de produzir ramnolípideos formam estruturas mais homogêneas e planas, enquanto que variantes com diminuição na

produção de eDNA formam biofilmes com a arquitetura normal, porém aparentemente mais instáveis. [31,33].

### 1.5. Reposicionamento de Fármacos

A pesquisa e o desenvolvimento de fármacos constituem um processo lento e oneroso. Desta forma, novas abordagens que propõem a redução os custos e que agilizam este processo vêm se tornando tendência na indústria farmacêutica. O reposicionamento de fármacos é uma dessas alternativas, o qual visa a utilização de substâncias com determinada atividade farmacológica para o tratamento de outras doenças ou para novos fins. Esses compostos podem ser: (i) fármacos já em uso aprovado na terapêutica, (ii) produtos que não conseguiram apresentar a eficácia adequada ao objetivo inicialmente proposto nos estágios finais clínicos, porém sem problemas de segurança, (iii) substâncias que tiveram o seu desenvolvimento interrompido por razões comerciais ou que (iv) já tiveram suas patentes expiradas [34].

A literatura descreve vários exemplos de sucesso do reposicionamento de fármacos, dentre eles, a talidomida que originalmente foi desenvolvida para o tratamento de enjôos e é atualmente indicada para o tratamento do mieloma múltiplo e da hanseníase, bem como o sildenafil, desenvolvido para disfunções cardíacas e hoje utilizado principalmente para o tratamento de disfunção erétil [35].

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivos gerais

Selecionar compostos que encontram-se disponíveis na terapêutica ou que são de interesse terapêutico baseado na similaridade química com estruturas que apresentam conhecida ação sobre a formação ou a erradicação de biofilmes de *P. aeruginosa*. Este estudo está apoiado no conceito de reposicionamento de fármacos, o qual enfoca a utilização destes compostos em finalidades diferentes das quais eles foram originalmente desenvolvidos.

### 2.2. Objetivos específicos

- Realizar levantamento na literatura para a identificação de estruturas de compostos com conhecida ação inibidora da formação e/ou erradicadora de biofilme de *P. aeruginosa*;

- Identificar nestas estruturas com atividade antibiofilme características constitucionais químicas protótipos;

- Selecionar, entre as 5930 moléculas apresentadas no livro *Martindale: The Complete Drug Reference*, compostos contendo as estruturas químicas prototípicas para a criação de uma base de substâncias com potencial ação antibiofilme.

### 3. Metodologia

Um levantamento foi realizado no sistema de busca de artigos científicos indexados do serviço *PubMed* por trabalhos contendo informações acerca de moléculas com ação inibitória sobre a formação e/ou ativadoras da erradicação de biofilmes de *P. aeruginosa*. Uma busca com a chave “(*pseudomonas*[*Title*]) AND *biofilm*[*Title*]” localizou 572 artigos. Foram selecionados os trabalhos relevantes ao projeto de acordo com os seguintes critérios:

1. Presença de moléculas quimicamente caracterizadas de pequeno tamanho (excluindo-se assim principalmente polissacarídeos e proteínas) com ação sobre biofilme de *P. aeruginosa*;
2. Ausência com comprovação científica de ação bactericida ou bacteriostática dessas moléculas frente à *P. aeruginosa*;
3. Ausência de investigação de atividade bactericida ou bacteriostática dessas sobre *P. aeruginosa*;

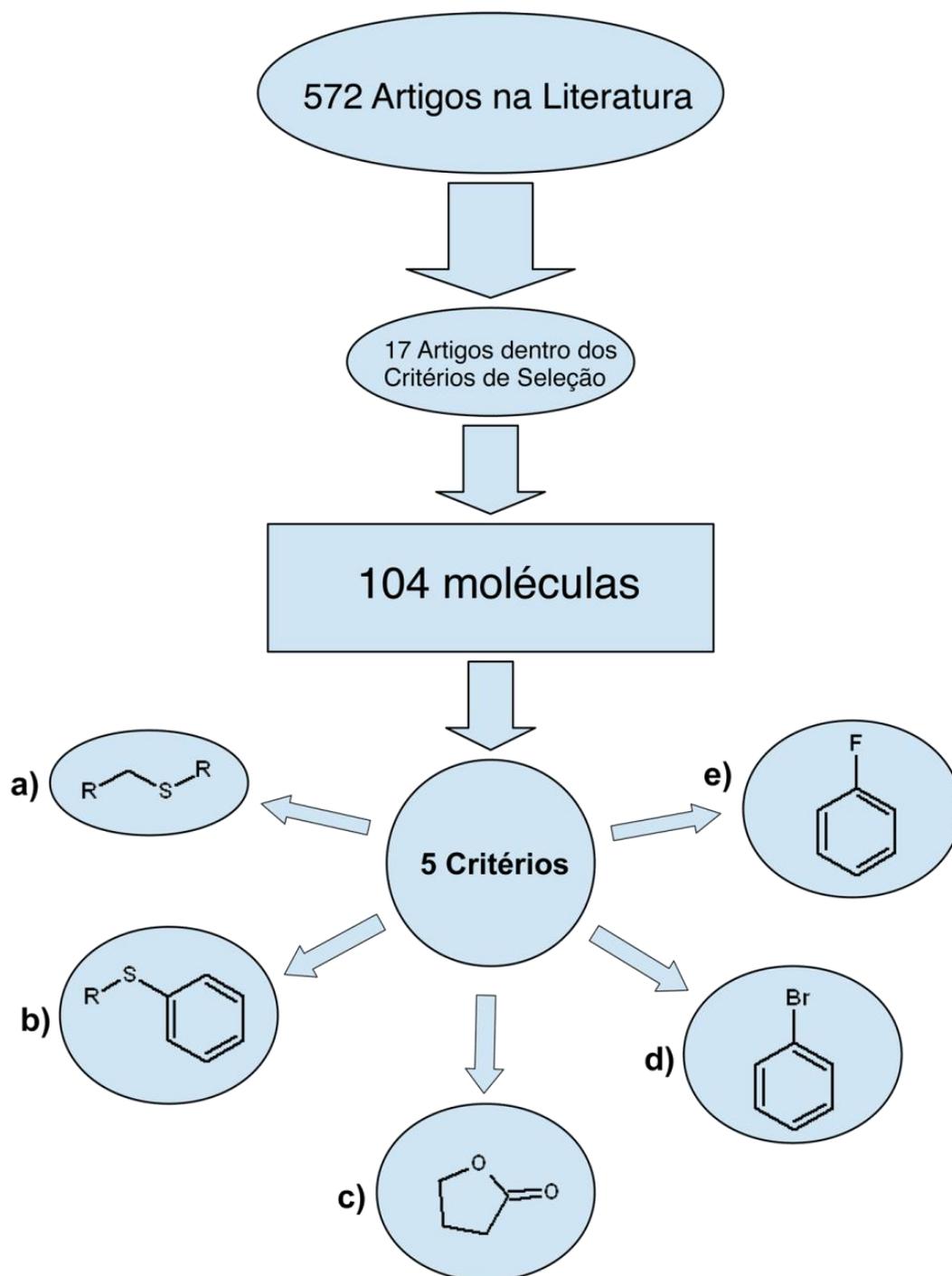
Dezessete artigos preencheram os pré-requisitos listados acima, apresentando um total de 104 estruturas químicas distintas. As moléculas foram investigadas quanto às características estruturais básicas mais comuns entre elas. Determinadas características constitucionais químicas, tais como anéis aromáticos, hidroxilas, átomos de nitrogênio ou oxigênio, não foram consideradas critérios de inclusão uma vez que são comumente encontrados em compostos orgânicos. Outras características constitucionais químicas observadas dentre as 104 estruturas encontradas na literatura foram selecionadas acordo com sua frequência como critérios de inclusão para este estudo, resultando na relação apresentada na tabela 1.

**Tabela 1:** Características estruturais avaliadas nos 104 compostos encontradas na literatura e que foram consideradas, num primeiro momento, como critérios de inclusão para este estudo.

Característica estrutural	Nº de moléculas
Anel aromático ligado a Nitrogênio	19
Lactonas	19
Anel aromático ligado a Halogênio	-
Fluor	3
Cloro	11
Bromo	11
Átomo de Enxofre	22

Estas características estruturais foram utilizadas como base para uma pesquisa de moléculas de relatado uso na terapêutica, em funções não antimicrobianas, assim como de compostos em uso na veterinária, dentre outras substâncias consideradas de interesse. Para esse fim foi utilizada a 37ª edição do livro *Martindale: The Complete Drug Reference*, obra de referência que compila informações de diversas farmacopeias nacionais e internacionais, como a USP, as Farmacopeias Britânica, Alemã, Japonesa e Brasileira, entre outras. Este livro apresenta 5930 monografias de fármacos em uso na terapêutica, assim como de produtos fitoterápicos, substâncias tóxicas e de fármacos não mais em uso na terapêutica ou que não foram aprovados nas fases finais de desenvolvimento, mas que são classificadas como de possível interesse. A escolha de pesquisar na literatura somente moléculas pequenas deve-se ao fato de moléculas grandes como imunoglobulinas, peptídeos e polissacarídeos não possuírem suas estruturas representadas neste livro.

Dentre as características estruturais identificadas como frequentes nas moléculas com ação sobre biofilme de *P. aeruginosa*, a presença de átomo de nitrogênio ligado a anel aromático e a presença de cloro ligado a anel aromático se mostraram muito frequente nas estruturas químicas apresentadas no *Martindale*, o que inviabiliza o seu uso como critério de seleção devido à baixa seletividade. Foram considerados adequados aos objetivos do trabalho os seguintes critérios de seleção: enxofre ligado covalentemente em cadeia linear, enxofre ligado covalentemente a anel aromático, presença de lactonas, presença de bromo ou flúor ligado a anel aromático (Figura 3).



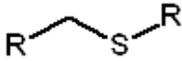
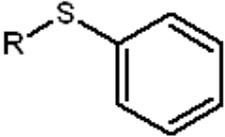
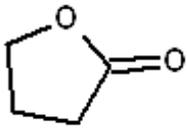
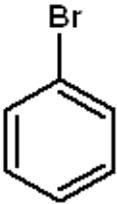
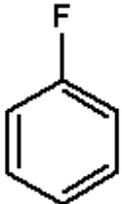
**Figura 3:** Fluxograma do processo de seleção de características estruturais. Foram considerados os seguintes critérios de inclusão: a) enxofre ligado covalentemente em cadeia linear, b) enxofre ligado covalentemente a anel aromático, c) presença de lactonas, d) presença de bromo ligado a anel aromático ou e) d) presença de flúor ligado a anel aromático.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Resultados gerais

De acordo com os critérios fixados, foram selecionadas 251 substâncias químicas, pertencentes a várias classes terapêuticas, no livro referência *Martindale*, conforme apresentado na tabela 2.

**Tabela 2:** Número de moléculas identificadas no *Martindale* de acordo com os critérios estruturais de inclusão.

Critérios de inclusão	Nº de moléculas identificadas	Definição
	45	Átomo de enxofre em cadeia linear fazendo somente duas ligações, sendo uma destas necessariamente com carbono.
	22	Átomo de enxofre ligado a anel aromático, fazendo somente duas ligações, sendo uma destas necessariamente a carbono.
	30	Anel heterocíclico sendo o heteroátomo oxigênio e este ligado a uma cetona presente no anel.
	35	Presença na molécula de átomo de bromo ligado a qualquer tipo de anel aromático.
	131	Presença na molécula de átomo de fluor ligado a qualquer tipo de anel aromático

Este total de 251 compostos é considerado um tamanho amostral adequado para um futuro trabalho de rastreamento (*screening*) de atividade sobre biofilme de *P. aeruginosa*. Cabe destacar que foram identificadas 12 moléculas contendo mais de um dos critérios estruturais selecionados. Essas substâncias foram contabilizadas em ambos os parâmetros e estão identificadas no anexo 1.

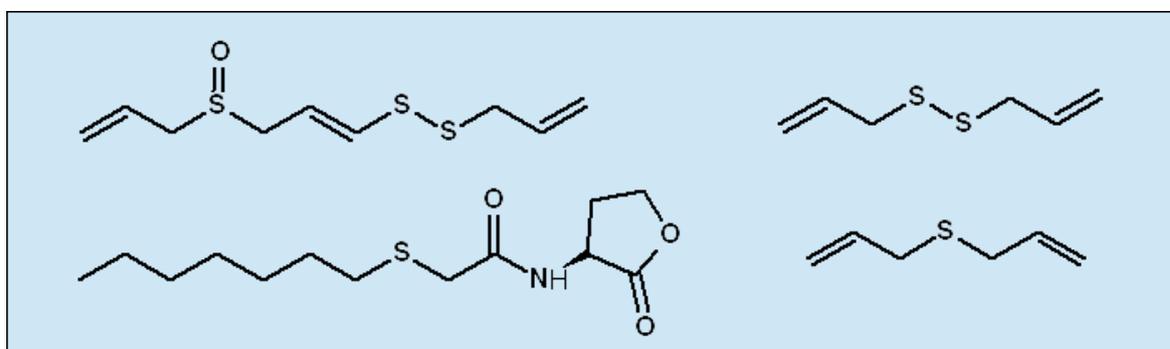
Cada um dos critérios de seleção, assim como os resultados pertinentes a estes, será discutido em mais profundidade a seguir.

#### 4.2. Enxofre ligado a cadeia linear

Dentre as 104 moléculas ação sobre biofilme de *P. aeruginosa* identificadas na literatura, 22 moléculas apresentam átomos de enxofre em sua composição.

O ajoene, assim como outras moléculas isoladas do alho (*Allium sativum*) que exibem ação inibitória do sistema QS de *P. aeruginosa*, apresenta cadeia linear contendo um ou mais átomos de enxofre com duas ligações covalentes (Figura 4) [36]. Estudos sugerem que o ajoene atua modulando a regulação da transcrição de *lasI* e *rhlI*, diminuindo a produção de ramnolipídeos e causando assim o enfraquecimento do biofilme e posterior eliminação do mesmo pelo sistema imunológico do hospedeiro [37].

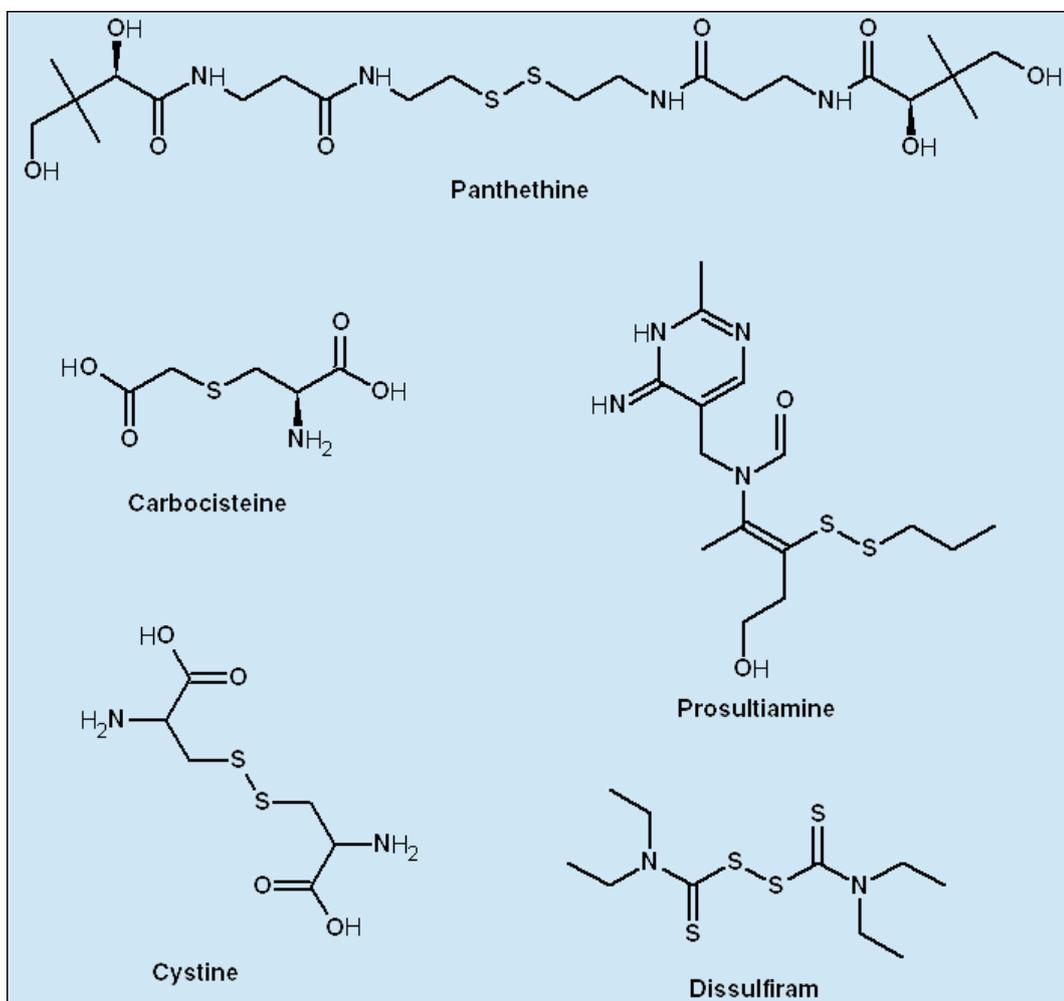
Essas moléculas, por estarem entre as mais estudadas no campo e por apresentarem algum grau de elucidação quanto a um de seus possíveis mecanismos de ação foram consideradas como importantes modelos na seleção de moléculas proposta por este trabalho (Figura 4).



**Figura 4:** Exemplos de moléculas utilizadas como protótipo para a seleção do parâmetro “enxofre ligado a cadeia linear”.

Foram selecionadas 45 moléculas no livro *Martindale* que apresentam em sua estrutura enxofre em cadeia linear contendo duas ligações covalentes com dois

átomos distintos, sendo um desses obrigatoriamente carbono. Substâncias de uso no tratamento de problemas cardiovasculares, antitussígenos, descongestionantes, assim como substâncias da família do complexo B foram os grupos que mais apresentaram moléculas com essa característica estrutural. Uma vez que o sítio de ação dos protótipos dessa categoria ainda não está bem estabelecido na literatura, foram aceitas quaisquer moléculas apresentando a característica acima descrita, mesmo que a molécula apresente outros elementos estruturais, como a presença de anéis aromáticos ou de radicais variados, respeitada a presença do enxofre em cadeia linear com um total de duas ligações covalentes com dois outros átomos, sendo um destes necessariamente carbono (Figura 5).



**Figura 5:** Exemplos de moléculas selecionadas de acordo com o parâmetro “enxofre ligado a cadeia linear”.

Algumas das moléculas selecionadas estão representadas na figura 5, e a totalidade dessas, separadas por suas grandes classes terapêuticas, está listada na tabela 3. As moléculas na tabela estão identificadas pelo nome encontrado no

livro *Martindale: The Complete Drug Reference*, não tendo sido traduzidas para o português já que muitas dessas moléculas não possuem traduções estabelecidas.

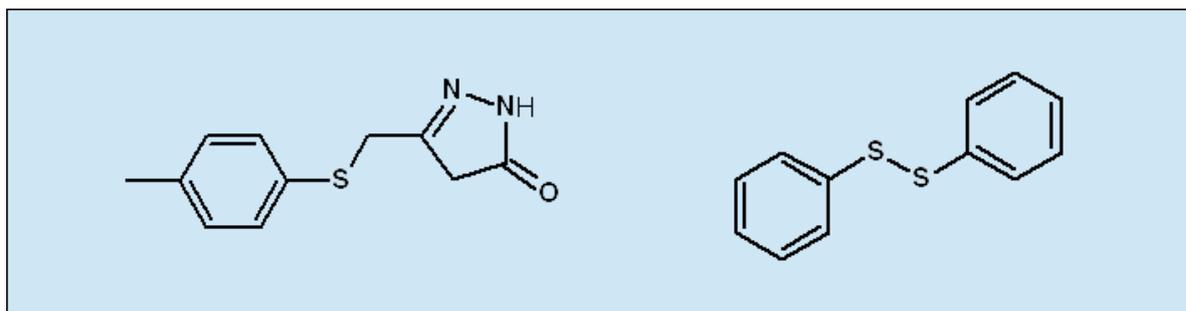
**Tabela 3:** Moléculas selecionadas no *Martindale* por conter “enxofre ligado em cadeia linear”.

<b>Antidemência</b>	<b>Antitussígenos e Descongestionantes</b>
Pyritinol	Fudosteine
<b>Antifúngicos</b>	Mecysteine Hydrochloride
Neticonazole	Methyl Dacysteine
Sulconazole	<b>Dermatológicos e Protetores Solares</b>
<b>Antineoplásicos</b>	Salnacedin
Romidepsin	<b>Gastrointestinais</b>
<b>Antiparkinsonianos</b>	Cimetidine
Pergolide	Niperotidine Hydrochloride
<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	Nizatidine
Captodiame Hydrochloride	Racecadotril
<b>Broncodilatadores e Antiasmáticos</b>	Ranitidine
Montelukast Sodium	<b>Nutrientes e Vitaminas</b>
Suplatast Tosilate	Cystine
<b>Cardiovasculares</b>	Acetiamine Hydrochloride
Altizide	Benfotiamine
Benzthiazide	Bisbentiamine
Cangrelor Tetrasodium	Fursultiamine
Captopril	Octotiamine
Docarpamine	Prosultiamine
Pantethine	<b>Obstetrícia</b>
Polythiazide	Atobisan
Zofenopril	<b>Pesticidas e Repelentes</b>
<b>Quelantes</b>	Methomyl
Methionine	<b>Variados</b>
<b>Corticosteróides</b>	Bucillamine
Tixocortol	Disulfiram
<b>Antitussígenos e Descongestionantes</b>	Ethanethiol
Acetylcysteine	Mercaptamine
Carbocysteine	Pentagastrin

#### 4.3. Enxofre ligado a anel aromático

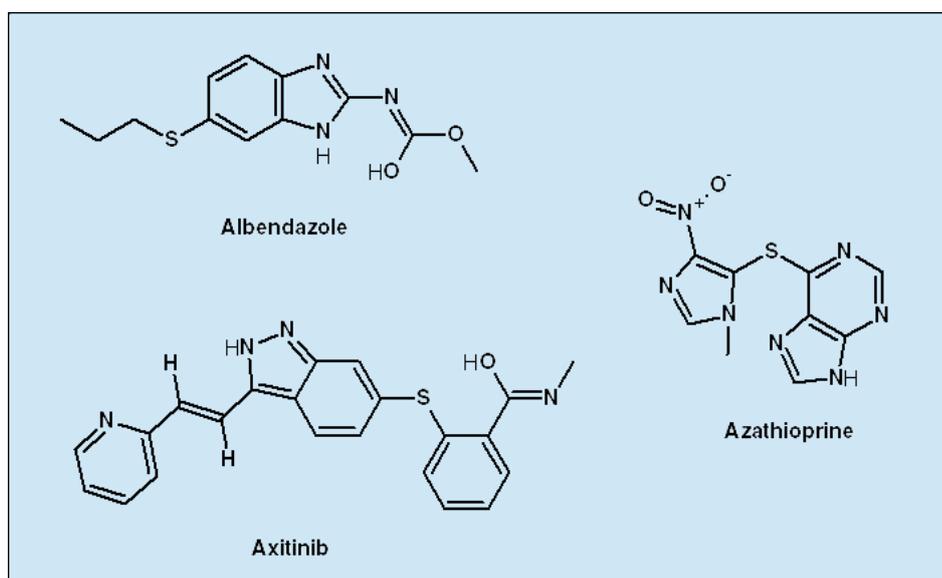
Dentre as 22 moléculas identificadas na literatura com ação antibiofilme de *P. aeruginosa* que apresentam estruturas com enxofre, um número menor delas apresenta o enxofre ligado a um anel aromático. Foi observado na literatura que substâncias contendo enxofre em cadeia linear associado a anéis aromáticos apresentam capacidade de inibir o sistema *las* de *Pseudomonas aeruginosa* [38].

Apesar de menos prevalente, a ausência de maior elucidação quanto a relações estrutura-atividade para essas substâncias, assim como a aparente importância de substâncias contendo enxofre como potenciais inibidores da formação de biofilme, foram razões utilizadas para a escolha deste como um parâmetro de seleção no trabalho (Figura 6).



**Figura 6:** Exemplo de moléculas utilizadas como protótipo para a seleção do parâmetro “enxofre ligado a anel aromático”.

Foram selecionados 22 compostos no livro *Martindale* contendo enxofre ligado covalentemente a anel aromático de qualquer tipo e possuindo somente duas ligações covalentes. Algumas das moléculas selecionadas estão representadas na Figura 7. Foram excluídas substâncias com radical  $\text{SO}_2$  ligado a anel aromático visto que, apesar de existirem moléculas na literatura com essa característica estrutural com ação sobre a formação de biofilmes de *P. aeruginosa*, esta é uma estrutura frequente entre as moléculas de interesse terapêutico e que assim não permitiria uma seleção adequada de moléculas dentro dos preceitos deste trabalho.



**Figura 7:** Exemplos de moléculas selecionadas de acordo com o parâmetro “enxofre ligado a anel aromático”.

Dentro da classe terapêutica de ação sobre o sistema cardiovascular foi encontrado o maior número de moléculas de acordo com este parâmetro, num total de 5, enquanto que entre os antifúngicos e antineoplásicos foram identificadas 3 moléculas em cada grupo. O restante das substâncias selecionadas está distribuída entre várias classes terapêuticas. Nota-se aqui novamente grande presença de substâncias de ação sobre o sistema cardiovascular devido à grande frequência de moléculas contendo átomos de enxofre nesta classe terapêutica. A totalidade dessas, agrupadas por suas classes terapêuticas está listada na Tabela 4.

**Tabela 4:** Moléculas selecionadas na terapêutica contendo Enxofre ligado em cadeia aromática.

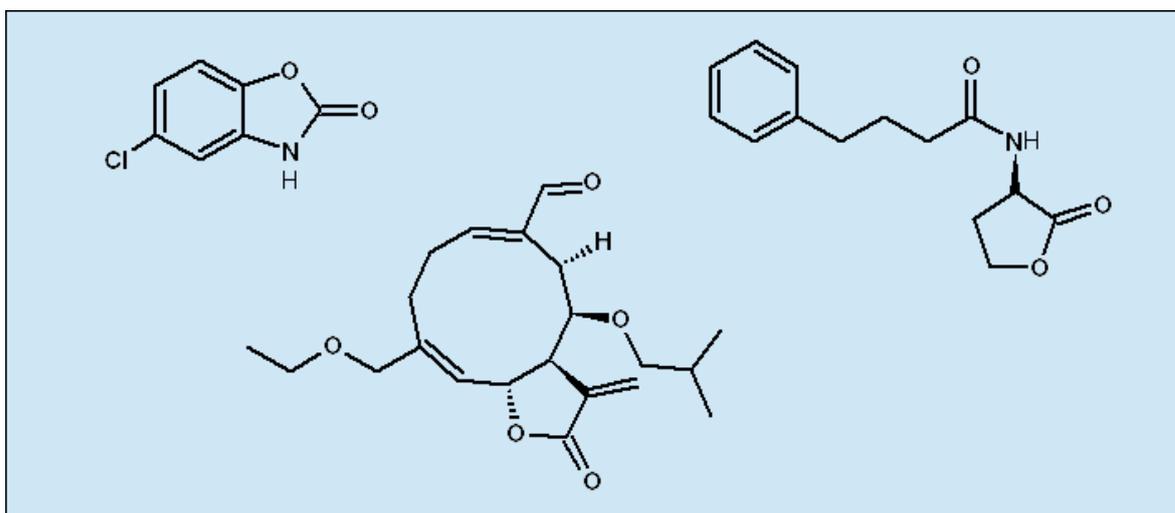
<b>Antihelmínticos</b>	<b>Modulação Óssea</b>
Albendazole Netobimin	Tiludronic Acid
<b>Antifúngicos</b>	<b>Broncodilatadores e Antiasmáticos</b>
Butoconazole	Tipelukast
<b>Antigota</b>	<b>Cardiovasculares</b>
Tisopurine	Arotinol Hydrochloride Cangrelor Tetrasodium
<b>Antihistaminicos</b>	Probucol Spironolactone
Tietilperazine	Ticagrelor Zofenopril
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Imunossupressores</b>
Axitinib Mercaptopurine Nolatrexed	Azatioprine
<b>Antivirais</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>
Nelfinavir Mesilate	Temefos
<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	<b>Variados</b>
Captodiame Hydrochloride	Azintamide Tibezonium Iodide

#### 4.4. Lactonas

Foram identificadas na literatura 26 moléculas contendo lactonas em sua composição com ação antibiofilme de *P. aeruginosa*.

Anel lactônico, definido como um anel heterocíclico contendo como heteroátomo um oxigênio, o qual se encontra ligado covalentemente a um carbono primário e a uma cetona, é a característica estrutural mais comum entre as moléculas identificadas pela literatura como inibidoras da formação e ativadoras da erradicação de biofilme de *P. aeruginosa*. Uma das possíveis razões para isso é que os dois principais sinalizadores do sistema QS de *P. aeruginosa*, o 3-Oxo-C<sub>12</sub>-

HSL e o C<sub>4</sub>-HSL contém lactonas como estrutura essencial para sua atividade, sendo esta importante na identificação receptor-ligante [27,28]. Estudos de relação estrutura-atividade para os sinalizadores indicaram que a conservação do anel com a substituição de seus radicais leva a formação de compostos tanto agonistas como antagonistas do sistema de QS em *P. aeruginosa*. Lactonas de origem natural, como algumas micotoxinas e lactonas sesquiterpênicas também já foram identificadas como substâncias inibidoras da formação de biofilme (Figura 8) [39,40].

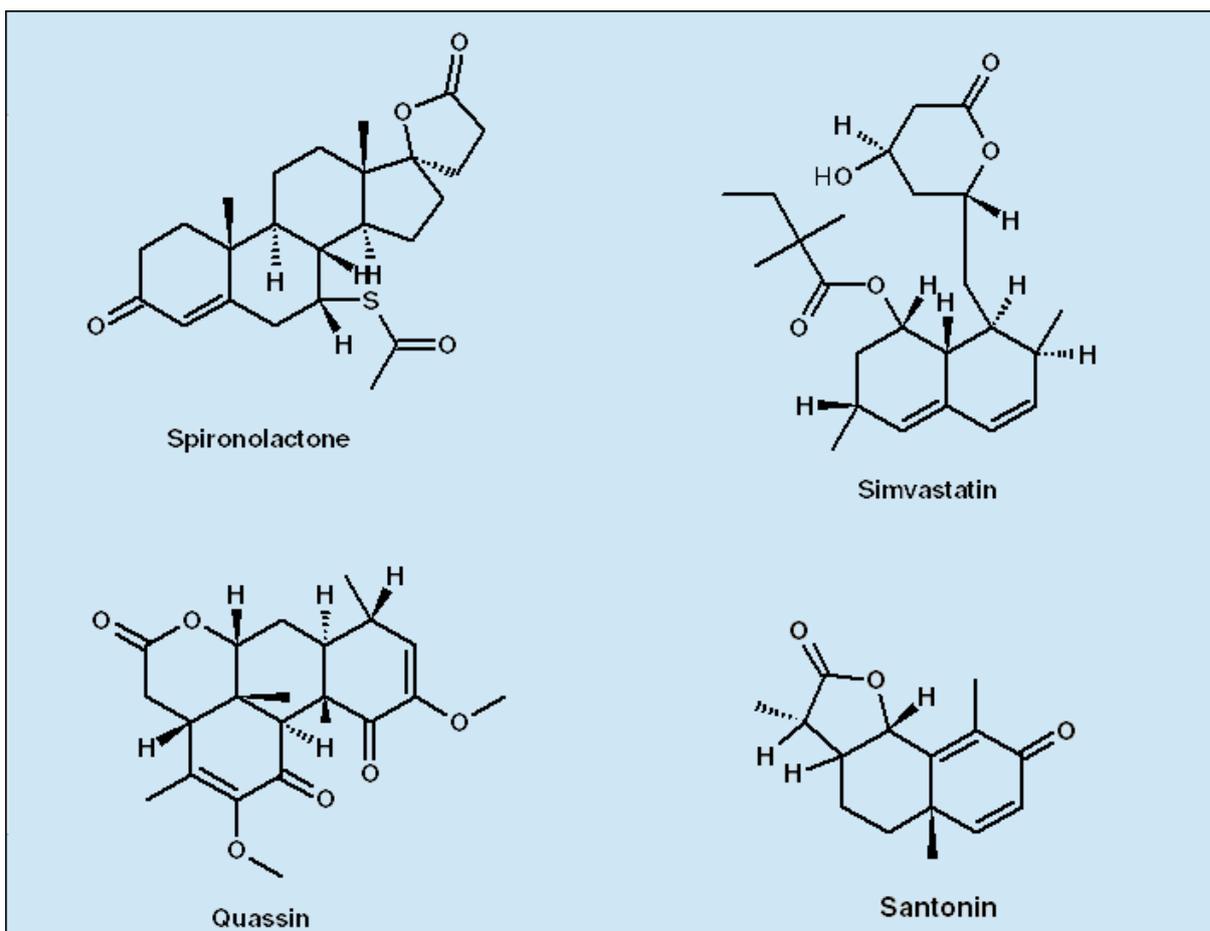


**Figura 8:** Exemplo de moléculas utilizadas como protótipo para a seleção do parâmetro "lactonas".

Também pode ser proposto que o anel lactônico interaja com os mecanismos de síntese e de transporte das HSL naturais, sendo estes outros possíveis mecanismos pelos quais essas substâncias teriam ação sobre os sistemas QS e consequentemente nos biofilmes.

Assim, considerando-se a relação estrutura-atividade já estabelecida na literatura e o fato de muitos produtos de origem natural utilizados na terapêutica apresentarem lactonas, esta foi escolhida como um dos critérios de seleção de moléculas.

Foram selecionados 30 compostos no livro *Martindale* contendo lactonas em sua estrutura. Nessa seleção foram incluídas moléculas com anéis saturados ou insaturados, com quaisquer radicais ligados a este, mesmo quando o anel lactônico encontra-se fundido a outro anel. Algumas das moléculas selecionadas estão representadas na Figura 9.



**Figura 9:** Exemplos de moléculas selecionadas de acordo com o parâmetro “lactonas”.

Entre os resultados, observa-se grande quantidade de substâncias utilizadas no tratamento de distúrbios cardiovasculares, assim como grande quantidade de produtos de origem natural, como o ácido micofenólico e substâncias majoritárias de produtos fitoterápicos, como os Scillirosídeos, a Kawaina, dentre outros. A totalidade dessas, separadas por suas grandes classes terapêuticas, está listada na Tabela 5.

**Tabela 5:** Moléculas selecionadas na terapêutica contendo lactonas.

<b>Antihelmínticos</b>	<b>Dermatológicos e Protetores solares</b>
Santonin	Trioxysalen
<b>Antihistamínicos</b>	<b>Imunosupressores</b>
Tritoqualine	Mycophenolic Acid
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>
Etoposide	Brodifacoum
Teniposide	Red Squill (Scilliroside)
Zinostatin	<b>Hormônios sexuais e Reguladores</b>
<b>Antiprotzoários</b>	Drospirenone
Furazolidone	<b>Variados</b>
<b>Cardiovasculares</b>	Andrographis (andrographolide)
Canrenone	Cantharidin
Dicoumarin	Coumarin
Eplerenone	Fluorescein
Ethyl Buscoumacetate	Hymecromone
Phenprocoumon	Kava (Kawain)
Simvastatin	Orlistat
Spirolactone	Quassia (Quassin)
<b>Antitussígenos e Descongestionantes</b>	Salvia Divinorum (Salvinorin A)
Noscapine	Visnadine
Talniflumate	

#### 4.5. Halogênios ligados a anel aromático

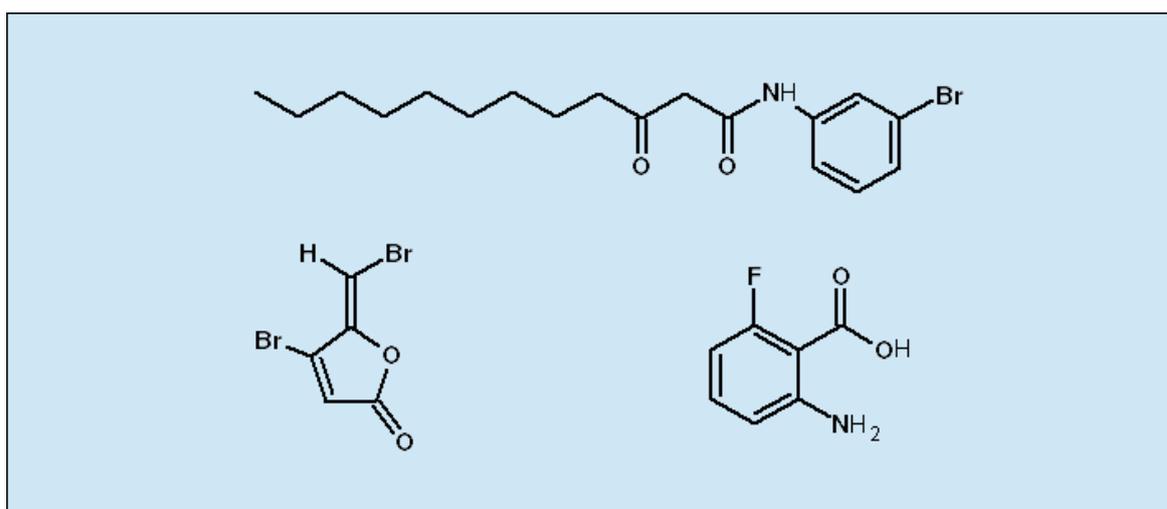
Foram identificados 25 compostos na literatura com ação sobre biofilme de *P. aeruginosa* contendo halogênios ligados a um anel aromático qualquer. Entre estes, 11 contendo cloro, 11 contendo bromo e 3 contendo flúor. De especial importância podem ser consideradas as furanonas halogenadas.

Em 1996 um estudo observou que furanonas halogenadas de origem natural possuíam ação inibitória do sistema QS [41]. Furanonas modificadas a partir dessas se tornaram a prova de conceito de que substâncias inibidoras do QS podiam ser utilizadas como adjuvantes na terapia antimicrobiana ao ser demonstrado que o composto C-30 aumenta a eliminação de infecções pulmonares por *P. aeruginosa*, em tratamento conjunto com tobramicina em modelo animal [42]. Estudos de análise de transcriptoma observaram que aproximadamente 80% dos genes cuja expressão foi inibida por esse composto estão relacionados ao QS, sendo 1/3 destes genes associados a fatores de virulência [42]. Foram propostas diversas hipóteses para explicar o efeito da furanona C-30 sobre a formação de biofilme, como a inibição de genes relacionados com o transporte dos sinalizadores 3-Oxo-C<sub>12</sub>-HSL e C<sub>4</sub>-HSL; a ação direta sobre os sistemas *las* e *rhl*; a inibição da síntese de precursores das

HSL [42]; assim como a inibição da transcrição do operon *phnAB*, associado as funções biosintéticas de PQS [43]. Trabalhos de análise estrutura-atividade do sinalizador 3-Oxo-C<sub>12</sub>-HSL mostraram que substâncias análogas que substituem o anel lactônico por anéis de 5 ou de 6 membros apresentam capacidade de agir como antagonistas dos receptores no sistema *las* [18].

Também é relatada na literatura ação de substâncias contendo flúor ligado a anéis aromáticos sobre o sistema *PQS*, o qual está associado a transcrição de um grande número de genes de virulência, justificando a busca de substâncias contendo esta característica estrutural [43].

Assim, compostos contendo anéis aromáticos variados ligados diretamente a um ou mais halogênios foram considerados um importante critério na seleção de moléculas neste trabalho, tanto no contexto dos mecanismos de ação das furanonas halogenadas quanto no de inibidores dos sistemas *las* e *PQS* (Figura 10).



**Figura 10:** Exemplo de moléculas utilizadas como protótipo para a seleção do parâmetro “halogênios ligados a anel aromático”.

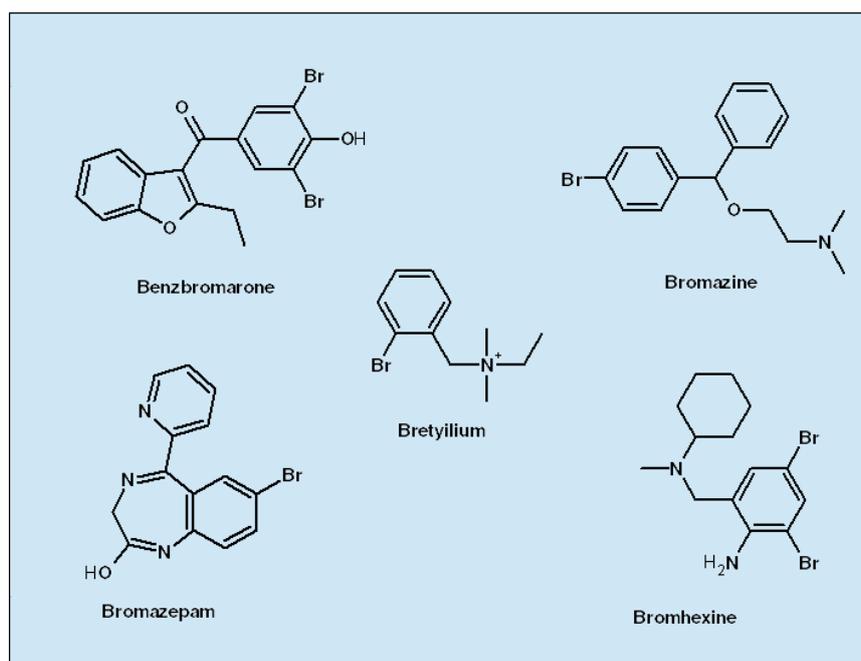
Compostos contendo bromo, além de apresentarem o maior número de estudos sobre a ação inibidora do QS entre os elementos halogenados, não são tão comuns na terapêutica, o que, juntamente com o exposto acima, tornou esse quesito um critério de inclusão para o trabalho. Por outro lado, substâncias contendo cloro são demasiadamente comuns nas estruturas de compostos encontrados no livro *Martindale*, ampliando muito o número de moléculas para a proposta do trabalho.

Considerando moléculas contendo flúor, apesar de somente 3 terem sido

identificadas com ação inibidora do QS (QS) na literatura, existe um grande número de substâncias em uso na terapêutica contendo este elemento. Ainda, as similaridades físico-químicas do flúor com o bromo, como eletronegatividade, número de ligações químicas possíveis e propriedades eletrônicas da última camada de valência, ambos pertencendo a família dos halogênios, tornaram grupo de estruturas contendo flúor de interesse, visto que compostos contendo flúor podem se apresentar como uma alternativa aos compostos contendo bromo, por apresentar possivelmente inferior toxicidade [22].

#### 4.5.1. Bromo

Foram selecionados 35 compostos no livro *Martindale* contendo um ou mais átomos de bromo diretamente ligados covalentemente a anéis aromáticos, independentemente da quantidade de átomos de flúor ligados ao anel. Foram aceitas moléculas contendo qualquer tipo de anel aromático. Apesar da maioria das moléculas relatadas na literatura que possuem bromo em sua estrutura com ação inibidora de QS conterem anéis furanos, estas estruturas apresentam alta toxicidade, o que gera interesse na busca por alternativas menos tóxicas [42]. A substituição do anel furano por outro anel é uma alteração estrutural com possibilidade de suprir esse quesito. Algumas das moléculas selecionadas estão representadas na Figura 11



**Figura 11:** Exemplos de moléculas selecionadas de acordo com o parâmetro “bromo ligado a anel aromático”.

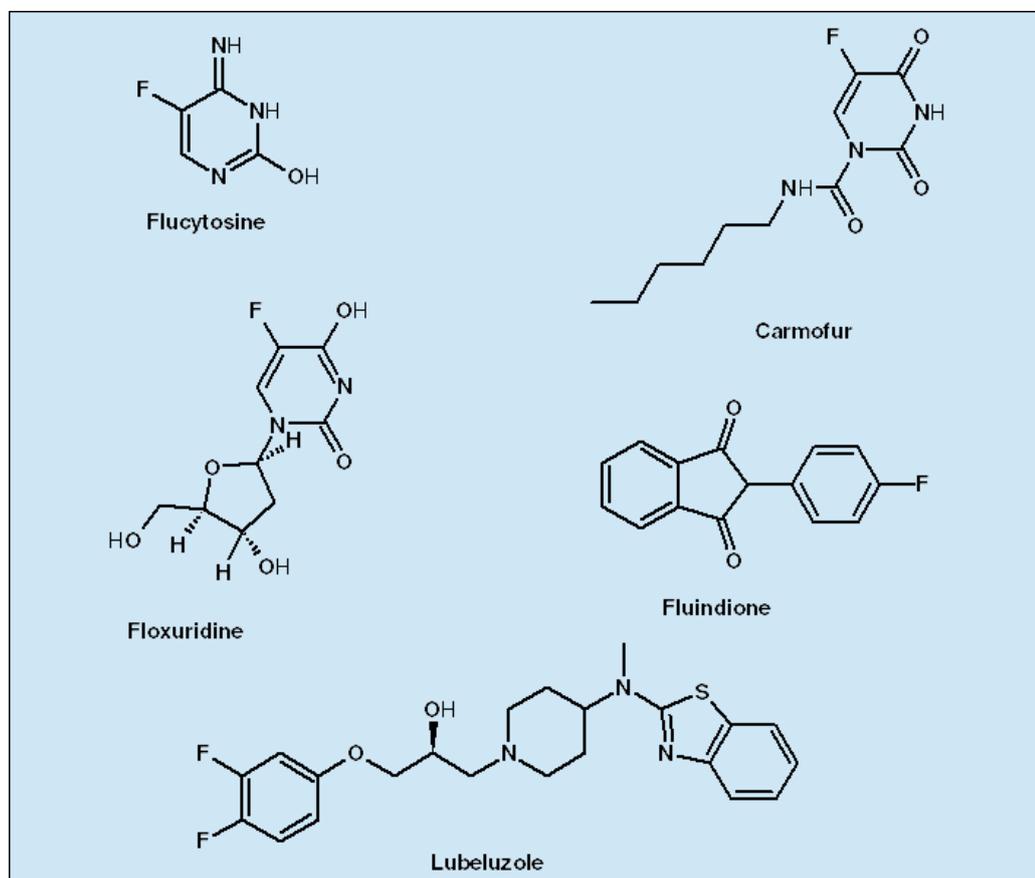
Considerando os compostos selecionados no *Martindale*, houve uma distribuição relativamente homogênea entre as classes terapêuticas, não havendo nenhuma dominante em termos de quantidade de moléculas identificadas. Entre antitussígenos e descongestionantes foram localizadas 4 substâncias, enquanto que ansiolíticos combinados com sedativos e hipnóticos, assim como anti-histamínicos, apresentaram 3 substâncias cada. Pesticidas e repelentes também contém 3 substâncias, porém são necessárias avaliações mais específicas dessas substâncias para confirmar sua presença na categoria de moléculas de interesse em vista de potencial toxicidade. A totalidade dessas, separadas por suas grandes classes terapêuticas, está listada na Tabela 6.

**Tabela 6:** Moléculas selecionadas no livro *Martindale* contendo “bromo ligado a anel aromático”.

<b>Antiinflamatórios</b>	<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>
Bromfenal	Haloxazolam
<b>Antihelmínticos</b>	Phenazepam
Bromofenofos	Romifidine
<b>Antifúngicos</b>	<b>Broncodilatadores e Antiasmáticos</b>
Bromochlorosalicylanihide	Ambroxol
<b>Tratamentos de Gota</b>	<b>Cardiovasculares</b>
Brenzbromarone	Bretylium Tosilate
<b>Antihistamínicos</b>	<b>Antitussígenos e Descongestionantes</b>
Bromazine	Bromhexine
Brompheniramine Maleate	Brovanexine Hydrochloride
Embramine Hydrochloride	Dembrexine
<b>Antineoplásicos</b>	Neltenexine
Broxuridine	<b>Gastrointestinais</b>
Vandetanib	Bromopride
<b>Antiparkinsonianos</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>
Bromocriptine	Brodifacoum
<b>Antiprotozoários</b>	Bromadiolone
Halofuginone Hydrobromide	Bromophos
Tilbroquinol	<b>Excipientes</b>
<b>Antivirais</b>	CI Vat Orange I
Etravirine	Eosin
<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	<b>Variados</b>
Bromazepam	Bibrocathol
Bromperidol	Nicergoline
Brotizolam	Pinaverium Bromide
	Sulfobromophthalein Sodium

#### 4.5.2. Flúor

Devido a sua grande frequência nas estruturas químicas em compostos de interesse da terapêutica, foram selecionadas 131 moléculas contendo flúor ligado a um anel aromático qualquer. Foram selecionadas somente moléculas contendo o átomo de flúor formando ligação covalente diretamente com o anel aromático, independentemente da quantidade de átomos de flúor ligados ao anel. Algumas das moléculas selecionadas estão representadas na Figura 12. Foram excluídas moléculas contendo radical  $CF_3$  como exclusiva fonte de flúor, visto que este grupamento possui características físico-químicas muito distintas do flúor ligado individualmente a carbono.



**Figura 12:** Exemplos de moléculas selecionadas de acordo com o parâmetro “flúor ligado a anel aromático”.

Moléculas dessa categoria foram especialmente comuns entre os ansiolíticos combinados com sedativos e hipnóticos, entre os corticosteróides, entre os medicamentos de uso cardiovascular e entre os antineoplásicos, classe na qual novamente se faz necessário estudo mais aprofundado para garantir que as

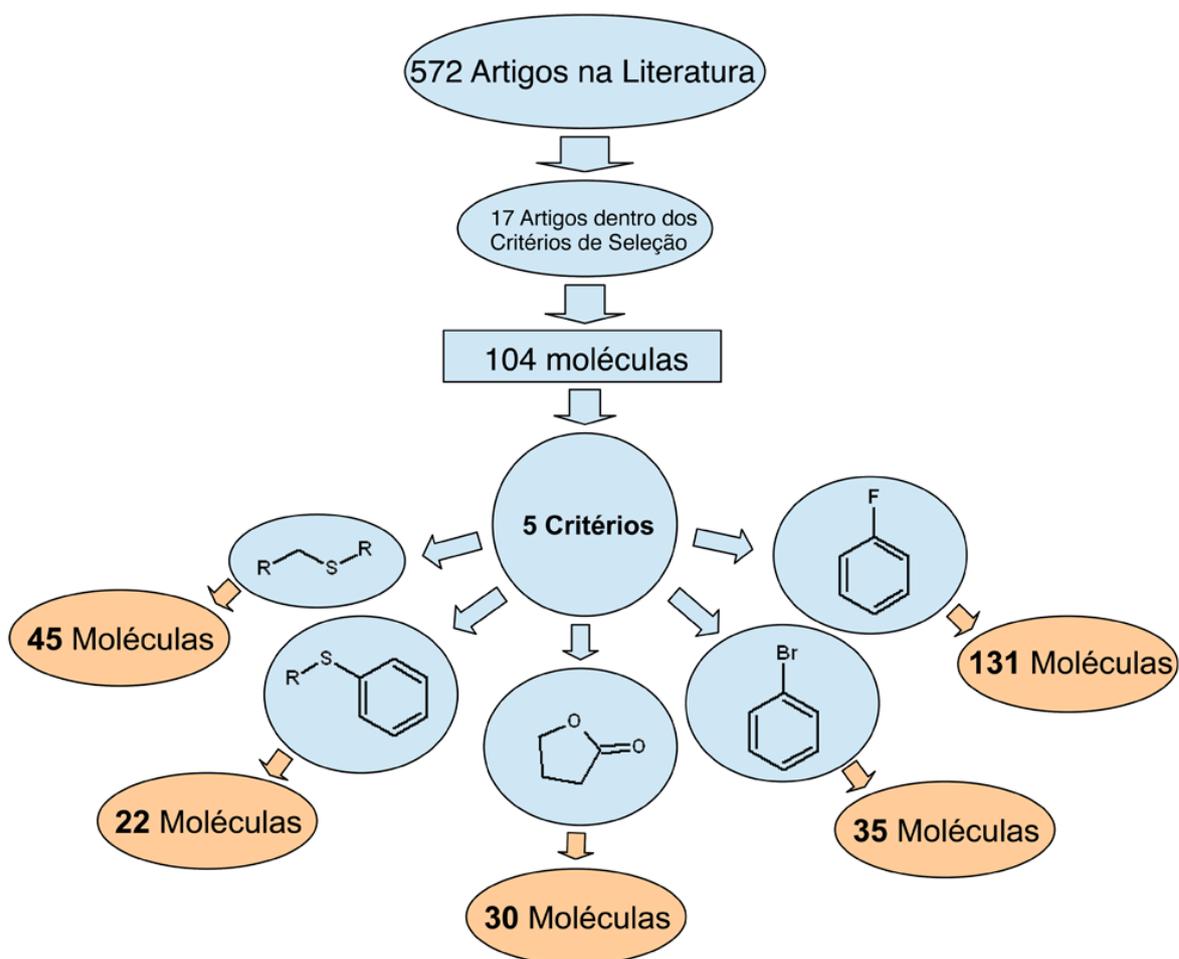
substâncias são de interesse para estudos posteriores devido a possível toxicidade. Antifúngicos e medicamentos para o tratamento de doenças do trato gastrointestinal também apresentaram quantidade levemente acima da média para dessas substâncias contendo flúor. A totalidade dessas, classificadas por classes terapêuticas, está listada na Tabela 7.

**Tabela 7:** Moléculas selecionadas o livro *Martindale* contendo “flúor ligado a anel aromático”.

<b>Antiinflamatório</b>	<b>Antineoplásicos</b>	<b>Cardiovasculares</b>
Diflunisal Flutirpine Flurbiprofen Lumiracoxib Sulindac	Tegafur Vandetanib	Prasugrel Hydrochloride Rosuvastatin Calcium Ticagrelor
<b>Antihelmínticos</b>	<b>Antivirais</b>	<b>Quelantes</b>
Flubendazole	Elvitegravir Emtricitabine Maraviroc Raltegravir	Flumazenil
<b>Antidemencia</b>	<b>Ansiolíticos, Sedativos, Hipnóticos</b>	<b>Corticosteróides</b>
Sabeluzole	Amperozide	Amcinonide
<b>Antidepressivos</b>	Azaperone	Desoximetasone
Citalopram Escitalopram Paroxetine	Benperidol Blonanserin Bromperidol Cinolazepam Droperidol	Diflorasone Diacetate Diflucortolone Difluprednate Fludrocortisone Fluocinolone Fluocinonide Fluocortin Butyl Flucortolone Fluorometholone Fluprednidene Fluticazone Formocortal Halcinonide Halometasone Isofluprepone Parametasone Triamcinolone Ulobetasol
<b>Antidiabéticos</b>	Ethyl Loflazepate	<b>Gastrointestinais</b>
Siglapatin	Fluanisone Fludiazepam Flunitrazepam Flurazepam Fluspirilene Haloperidol Haloxazolam Iloperidone Melperone Hydrochloride Midazolam	Aprepitant Casopitant Cisapride Fosaprepitant Mosapride Citrate Revaprazan
<b>Antiepiléticos</b>	Moperone Hydrochloride Paliperidone Penfluridol Pimozide Pipamperone Quazepam Risperidone Ritanserine Romifidine Sertindole Spiperone Timiperone Trifluoperidol Zolazepam	<b>Colírios e Tratamentos Oculares</b>
Retigabine Rufinamide		Brimonidine Tartrate
<b>Antifúngicos</b>	<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>
Fluconazole Flucytosine Flutrimazole Fosfluconazole Posaconazole Ravuconazole Voriconazole	Atorvastatin Calcium Ezetimibe Fluindione Fluvastatin Sodium Ketanserin Lidoflazine Lubeluzole Nevibolol	Cyfluthrin Diflubenzuron Fluazuron Flumethrin Lufenuron
<b>Antihistaminicos</b>		<b>Hormônios sexuais, Reguladores.</b>
Astemizole Flunarizine Hydrochloride Levocabastine Hydrochloride Mizolastine Niazaprine		Fluoximesterone
<b>Antienxaqueca</b>		<b>Estimulantes e Anorexígenos</b>
Telcagepant		Almitrine Dimesilate
<b>Antineoplásicos</b>		<b>Variados</b>
Bicatumamide Capecitabine Carmofur Lediranib Doxifluridine Exisulind Floxuridine Fludarabine Phosphate Fluorouracil Gefitinib Gencitabine Lapatinib Tosilate Claparib Plevitrexed		Laropiprant Lixivaptan Ramatroban

## 5. Conclusão

A partir de 572 encontrados na base de dados Pubmed com os seguintes termos “(*pseudomonas*[Title]) AND *biofilm*[Title]”, foram selecionados 17 artigos científicos que enfocam compostos não antimicrobianos com atividade antibiofilme de *P. aeruginosa*. Estes 17 artigos forneceram 104 estruturas químicas distintas, a partir das quais foram determinados 5 protótipos químicos que serviram como critérios para a busca de estruturas químicas de compostos na referência *Martidale*. Tendo em vista o conceito de reposicionamento de fármacos, o trabalho atingiu seu objetivo, identificando, dentre as 5930 substâncias presentes no livro, 251 moléculas (aproximadamente 4%) pertencentes a várias classes terapêuticas, que apresentam similaridades estruturais com as moléculas protótipos pré-estabelecidas.



**Figura 13:** Fluxograma do processo de seleção de moléculas protótipo, identificação de características estruturais chave e seleção dos resultados.

Esses dados servirão como guia para próximos trabalhos experimentais que serão desenvolvidos no grupo de pesquisa de Biofilmes e Diversidade Microbiana da Faculdade de Farmácia desta Universidade, indicando compostos com potencial ação antibiofilme de *P. aeruginosa*, principalmente para os compostos já amplamente utilizados na clínica médica e que possuem os critérios de segurança e toxicidade melhor estabelecidos.

Neste sentido poderá ser atribuída, futuramente, uma nova indicação de uso para um composto com utilização já estabelecida ou que nunca atingiu as etapas finais de desenvolvimento por motivos variados, abordagem que diminuirá algumas etapas do processo de pesquisa e desenvolvimento e, desta forma, o tempo e os recursos financeiros envolvidos.

## 6. Referências

1. HASSET, J.D.; CUPPOLETTI, J.; TRAPNELL, B.; LYMAR, S.V.; ROWE, J.J.; YOON, S.S.; HILLIARD, G.M.; PARVATIYAR, K.; KAMANI, M.C.; WOZNIAK, D.J.; HWANG, S.H.; MCDERMOTT, T.R., OCHSNER, U.A. Anaerobic metabolism and quorum sensing by *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in chronically infected cystic fibrosis airways: rethinking antibiotic treatment strategies and drug targets, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.54, n.12, p.1425-1443, 2002.
2. OBRITSCH, M.D.; FISH, D.N.; MACLAREN R.; JUNG, R. Nosocomial infections due to multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology and treatment options. *Pharmacotherapy*, v.25, n.10, p.1353–1364, 2005.
3. KOCH, C.; HOIBY, N. Pathogenesis of cystic fibrosis. *Lancet*, v.341, n.8852, p.1065–1069, 1993.
4. COSTERTON, J.W.; GEESEY, G.G.; CHENG, K.J. How bacteria stick. *Scientific American*, v.238, p.86-95, 1978.
5. DUNNE, W.M. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clinical Microbiology Reviews*, v.15, p.55-166, 2002.
6. O'TOOLE, G.A.; KOLTER, R. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol. Microbiol.* v.30, n.2, p.295–304, 1998.
7. DAVIES, D.G; PARSEK, M.R.; PEARSON, J.P.; IGLEWSKI, B.H.; COSTERTON, J.W.; GREENBERG, E.P. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, v.280, p.295-298, 1998.
8. BJARNSHOLT, T.; GIVSKOV, M. The role of quorum sensing in the pathogenicity of the cunning aggressor *Pseudomonas aeruginosa*. *Anal. Bioanal. Chem.* , v. 387, p. 409-414, 2007.
9. DONLAN, R.M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerg. Infect. Dis.*, v.8, n.9, p.881-890, 2002.
10. KLAUSEN, M.; HEYDORN, A.; RAGAS, P.; LAMBERTSEN, L.; AAES-JORGENSEN, A.; MOLIN, S.; TOLKER-NIELSEN, T. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol. Microbiol.*, v.48, p.1511-1524, 2003.
11. HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J.W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.*, v.2, p.95-108, 2004.
12. GILBERT, P.; EVANS, D.J.; BROWN, M.R.W.; Formation and dispersal of bacterial biofilms in vivo and in situ. *J Appl Bacteriol Symposium Supplement*, v.74, p. 67S-78S, 1993.

13. HARMSSEN, H.; YANG, L.; PAMP, S.J.; TOLKER-NIELSEN, T. An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance and dispersal. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, v.59, p.253-268, 2010.
14. TRETER, J.; MACEDO, A.J. Catheters: a suitable surface for biofilm formation. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, v.2, n.3, p.835-842, 2011.
15. DAVIES, D. Understanding biofilm resistance to antimicrobial agents. *Nat. Rev. Drug Discovery*, v.2, p.114-122, 2003.
16. EHLERS, L.J.; BOUWER, E.J. RP4 Plasmid transfer among species of *Pseudomonas* in a biofilm reactor. *Water Sci. Technol.*, v.7, p-163-171, 1999.
17. MAH, T.F.; O'TOOLE, G.A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.*, v.9, n.1, p.34-39, 2001.
18. NIH: National Institutes of Health [Internet]. Disponível em: <http://grants.nih.gov/grants/guide/pa-files/PA-03-047.html>. Acesso em: 28/10/2013
19. BJARNSHOLT, T.; JENSEN, P.Ø.; FIANDACA, M.J.; PEDERSEN, J.; HANSEN, C.R.; ANDERSEN, C.B.; PRESSLER, T.; GIVSKOV, M.; HØIBY, N. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr. Pulmonol.*, v.44, n.6, p.547-558. 2009.
20. FAZLI, M.; BJARNSHOLT, T.; KIRKETERP-MØLLER, K.; JØRGENSEN, B.; ANDERSEN, A.S.; KROGFELT, K.A.; GIVSKOV, M.; TOLKER-NIELSEN, T. Nonrandom distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in chronic wounds. *J. Clin. Microbiol.*, v.47, n.12, p.4084-4089, 2009.
21. DONLAN, R.M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.15, p.167-193, 2002.
22. HØIBY, N.; CIOFU, O.; JOHANSEN, H.K.; SONG, Z.J.; MOSER, C.; JENSEN, P.O.; MOLIN, S.; GIVSKOV, M.; TOLKER-NIELSEN, T.; BJARNSHOLT, T. The clinical impact of bacterial biofilms. *International Journal of Oral Sciences*, v.3, p.55-65, 2011.
23. NEALSON, K.H.; PLATT, T.; HASTINGS, J.W. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J. Bacteriol.*, v.104, n.1, p.313-322, 1970.
24. RASMUSSEN, T.B.; GIVSKOV, M. Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, v.152, n.4, p.865-904, 2006.
25. PEARSON, J.P.; GRAY, K.M.; PASSADOR, L.; TUCKER, K.D.; EBERHARD, A.; IGLEWSKI, B.H.; GREENBERG, E.P. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, v.91, n.1, p.197-201, 1994.

26. PEARSON, J.P.; PASSADOR, L.; IGLEWSKI, B.H.; GREENBERG, E.P. A second N-acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, v.92, n.5, p.1490–1494, 1995.
27. PESCI, E.C.; MILBANK, J.B.; PEARSON, J.P.; MCKNIGHT, S.; KENDE, A.S.; GREENBERG, E.P.; IGLEWSKI, B.H. Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, v.96, n.20, p.11229–11234, 1999.
28. JAKOBSEN, T.H.; BJARNSHOLT, T.; JENSEN, P.Ø.; GIVSKOV, M.; HØIBY, N. Targeting quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: current and emerging inhibitors. *Future Microbiol.*, v.8, n.7, p.901-921, 2013.
29. JENSEN, P.Ø.; BJARNSHOLT, T.; PHIPPS, R.; RASMUSSEN, T.B.; CALUM, H.; CHRISTOPHERSEN, L.; MOSER, C.; WILLIAMS, P.; PRESSLER, T.; GIVSKOV, M.; HØIBY, N. Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, v.153, n.5, p.1329–1338, 2007.
30. RAMPHAL, R.; LHERMITTE, M.; FILLIAT, M.; ROUSSEL, P. The binding of anti-pseudomonal antibiotics to macromolecules from cystic fibrosis sputum. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.22, n.4, p.483–490, 1988.
31. BJARNSHOLT, T.; JENSEN, P.Ø.; BURMØLLE, M.; HENTZER, M.; HAAGENSEN, J.A.; HOUGEN, H.P.; CALUM, H.; MADSEN, K.G.; MOSER, C.; MOLLIN, S.; HØIBY, N.; GIVSKOV, M. *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxide and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiology*, v.151, n.2, p.373–383, 2005.
32. CHRISTENSEN, L.D.; MOSER, C.; JENSEN, P.Ø.; RASMUSSEN, T.B.; CHRISTOPHERSEN, L.; KJELLEBERG, S.; KUMAR, N.; HØIBY, N.; GIVSKOV, M.; BJARNSHOLT, T. Impact of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing on biofilm persistence in an *in vivo* intraperitoneal foreign-body infection model. *Microbiology*, v.153, n.7, p.2312–2320, 2007.
33. DAVEY, M.E.; CAIAZZA, N.C.; O'TOOLE, G.A. Rhamnolipid surfactant production affects biofilm architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J. Bacteriol.*, v.185, n.3, p.1027–1036, 2003.
34. SLEIGH, S.H.; BARTON, C.L. Repurposing Strategies for Therapeutics. *Pharm. Med.*, v.24, n.3, p.151-159, 2010.
35. SWAMIDASS, S.J. Mining small-molecule screens to repurpose drugs. *Brief Bioinform*, v.12, n.4, p.327-335, 2011.
36. PERSSON, T.; HANSEN, T. H.; RASMUSSEN, T. B.; SKINDERSØ, M. E.; GIVSKOV, M.; NIELSEN, J. Rational design and synthesis of new quorum sensing inhibitors derived from acylated homoserine lactones and natural products from garlic. *Org. Biomol. Chem.*, v.3, p.253-262, 2005.

37. JAKOBSEN, T.H.; VAN GENNIP, M.; PHIPPS, R.K.; SHANMUGHAM, M.S.; CHRISTENSEN, L.D.; ALHEDE, M.; SKINDERSOE, M.E.; RASMUSSEN, T.B.; FRIEDRICH, K.; UTHE, F.; JENSEN, P.Ø.; MOSER, C.; NIELSEN, K.F.; EBERL, L.; LARSEN, T.O.; TANNER, D.; HØIBY, N.; BJARNSHOLT, T.; GIVSKOV, M. Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by quorum sensing. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.56, n.5, p.2314–2325, 2012.
38. CADY, N.C.; MCKEAN, K.A.; BEHNKE, J.; KUBEC, R.; MOSIER, A.P.; KASPER, S.H.; BURZ, D.S.; MUSAH, R.A. Inhibition of Biofilm Formation, Quorum Sensing and Infection in *Pseudomonas aeruginosa* by Natural Products-Inspired Organosulfur Compounds. *PIOs One*, v.7, n.6, e38492, 2012.
39. RASMUSSEN, T.B.; SKINDERSOE, M. E.; BJARNSHOLT, T.; PHIPPS, R. K.; CHRISTENSEN, K. B.; JENSEN, P. Ø.; ANDERSEN, J. B.; KOCH, B.; LARSEN, T. O.; HENTZER, M.; EBERL, L.; HØIBY, N.; GIVSKOV, M. Identity and effects of quorum-sensing inhibitors produced by *Penicillium* species. *Microbiology*, v. 151, p.1325-1340, 2005.
40. GARO, E.; ELDRIDGE, G. R.; GOERING, M. G.; PULCINI, E. D.; HAMILTON, M. A.; COSTERTON, J. W.; JAMES, G. A. Asiatic acid and corosolic acid enhance the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.51, p.1813-1817, 2007.
41. GIVSKOV, M.; DE NYS, R.; MANEFIELD, M.; GRAM, L.; MAXIMILIEN, R.; EBERL, L.; MOLIN, S.; STEINBERG, P.D.; KJELLEBERG, S. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. *J. Bacteriol.*, v.178, n.22, p.6618–6622, 1996.
42. HENTZER, M.; WU, H.; ANDERSEN, J.B.; RIEDEL, K.; RASMUSSEN, T.B.; BAGGE, N.; KUMAR, N.; SCHEMBRI, M.A.; SONG, Z.; KRISTOFFERSEN, P.; MANEFIELD, M.; COSTERTON, J.W.; MOLIN, S.; EBERL, L.; STEINBERG, P.; KJELLEBERG, S.; HØIBY, N.; GIVSKOV, M. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *Embo J.*, v.22, n.15, p.3803–3815, 2003.
43. LESIC, B.; LÉPINE, F.; DÉZIEL, E.; ZHANG, J.; ZHANG, Q.; PADFIELD, K.; CASTONGUAY, M.H.; MILOT, S.; STACHEL, S.; TZIKA, A.A.; TOMPKINS, R.G.; RAHME, L.G.; Inhibitors of pathogen intercellular signals as selective anti-infective compounds. *PLoS Pathog.*, v.3, n.9, p.1229–1239, 2007.

## 7. Anexos

**Tabela 7.1:** Moléculas contendo mais de um parâmetro estrutural entre os selecionados

<b>Molécula</b>	<b>Pág.</b>
Romidepsin	848
Vandetanib	859
Bromperidol	1068
Captodiamine Hydrochloride	1070
Haloxazolam	1105
Phenazepam	1123
Romifidine	1134
Cangrelor Tetrasodium	1364
Spirolactone	1536
Zofenopril	1573
Brodifacoum	2183
Bromadiolone	2184

**Tabela 7.2:** Moléculas selecionadas contendo “enxofre ligado em cadeia linear” incluindo sua localização no livro *Martindale: The Complete Drug Reference*.

<b>Antidemência</b>	<b>Pág.</b>	<b>Antitussígenos e Descongestionantes</b>	<b>Pág.</b>
Pyritinol	399	Fudosteine	1700
<b>Antifúngicos</b>	<b>Pág.</b>	Mecysteine HCl.	1704
Neticonazole	590	Methyl Dacysteine	1704
Sulconazole	594	<b>Dermatológicos e Protetores Solares</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pág.</b>	Salnacedin	1755
Romidepsin	848	<b>Gastrointestinais</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antiparkinsonianos</b>	<b>Pág.</b>	Cimetidine	1866
Pergolide	897	Niperotidine HCl.	1904
<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	<b>Pág.</b>	Nizatidine	1904
Captodiamine Hydrochloride	1070	Racecadotril	1920
<b>Broncodilatadores e Antiasmáticos</b>	<b>Pág.</b>	Ranitidine	1920
Montelukast Sodium	1240	<b>Nutrientes e Vitaminas</b>	<b>Pág.</b>
Suplatast Tosilate	1253	Cystine	2004
<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pág.</b>	Acetiamine Hydrochloride	2136
Altizide	1331	Benfotiamine	2136
Benzthiazide	1348	Bisbentiamine	2136
Cangrelor Tetrasodium	1364	Fursultiamine	2137
Captopril	1364	Octotiamine	2137
Docarpamine	1400	Prosultiamine	2137
Pantethine	1499	<b>Drogas Obstétricas</b>	<b>Pág.</b>
Polythiazide	1508	Atobisan	2167
Zofenopril	1573	<b>Pesticidas e Repelentes</b>	<b>Pág.</b>
<b>Quelantes</b>	<b>Pág.</b>	Methomyl	2194
Methionine	1591	<b>Variados</b>	<b>Pág.</b>
<b>Corticosteróides</b>	<b>Pág.</b>	Bucillamine	2485
Tixocortol	1683	Disulfiram	2515
<b>Antitussígenos e Descongestionantes</b>	<b>Pág.</b>	Ethanethiol	2520
Acetylcysteine	1687	Mercaptamine	2567
Carbocysteine	1692	Pentagastrin	2596
Erdosteine	1699	Thiram	2638

**Tabela 7.3:** Moléculas selecionadas na contendo “enxofre ligado em cadeia aromática” incluindo sua localização no livro *Martindale: The Complete Drug Reference*.

<b>Antihelmínticos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Modulação Óssea</b>	<b>Pág.</b>
Albendazole	146	Tiludronic Acid	1218
Netobimin	159	<b>Broncodilatadores e Antiasmáticos</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antifúngicos</b>	<b>Pág.</b>	Tipelukast	1264
Butoconazole	574	<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antigota</b>	<b>Pág.</b>	Arotinol Hydrochloride	1340
Tisopurine	609	Cangrelor Tetrasodium	1364
<b>Antihistaminicos</b>	<b>Pág.</b>	Probucol	1511
Tietilperazine	643	Spironolactone	1536
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pág.</b>	Ticagrelor	1548
Axitinib	746	Zofenopril	1573
Mercaptopurine	816	<b>Imunosupressores</b>	<b>Pág.</b>
Nolatrexed	831	Azatioprine	1977
<b>Antivirais</b>	<b>Pág.</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>	<b>Pág.</b>
Nelfinavir Mesilate	991	Temefos	2199
<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Variados</b>	<b>Pág.</b>
Captodiame HCl.	1070	Azintamide	2475
		Tibezonium Iodide	2639

**Tabela 7.4:** Moléculas selecionadas contendo “lactonas” incluindo sua localização no livro *Martindale: The Complete Drug Reference*.

<b>Antihelmínticos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Dermatológicos e Protetores Solares</b>	<b>Pág.</b>
Santonin	164	Trioxysalen	1762
<b>Antihistaminicos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Imunosupressores</b>	<b>Pág.</b>
Tritoqualine	649	Mycophenolic Acid	1996
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>	<b>Pág.</b>
Etoposide	486	Brodifacoum	2183
Teniposide	859	Red Squill (Scilliroside)	2199
Zinostatin	874	<b>Hormônios Sexuais e Reguladores</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antiprotozoários</b>	<b>Pág.</b>	Drospirenone	2301
Furazolidone	921	<b>Variados</b>	<b>Pág.</b>
<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pág.</b>	Andrographolide	2469
Canrenone	1364	Cantharidin	2492
Dicoumarin	1386	Coumarin	2507
Eplerenone	1408	Fluorescein	2525
Ethyl Buscoumacetate	1413	Hymecromone	2546
Phenprocoumon	1504	Kava (Kawain)	2552
Simvastatin	1526	Orlistat	2588
Spironolactone	1536	Quassia (Quassin)	2610
<b>Antitussig+Descongest.</b>	<b>Pág.</b>	Salvinorin A	2617
Noscapine	1706	Visnadine	2653
Talniflumate	1713		

**Tabela 7.5:** Moléculas selecionadas contendo “bromo ligado a anel aromático” incluindo sua localização no livro *Martindale: The Complete Drug Reference*.

<b>Antiinflamatório</b>	<b>Pág.</b>	<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	<b>Pág.</b>
Bromfenal	29	Haloxazolam	1105
<b>Antihelmínticos</b>	<b>Pág.</b>	Phenazepam	1123
Bromofenofos	149	Romifidine	1134
<b>Antifúngicos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Broncodilatadores e Antiasmáticos</b>	<b>Pág.</b>
Bromochlorosalicylanihide	574	Ambroxol	1226
<b>Antigota</b>	<b>Pág.</b>	<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pág.</b>
Brenzbromarone	603	Bretylum Tosilate	1361
<b>Antihistaminicos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Antitussígenos e Descongest</b>	<b>Pág.</b>
Bromazine	619	Bromhexine	1691
Brompheniramine Maleate	619	Brovanexine HCl.	1692
Embramine Hydrochloride	630	Dembrexine	1694
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pág.</b>	Neltenexine	1705
Broxuridine	754	<b>Gastrointestinais</b>	<b>Pág.</b>
Vandetanib	859	Bromopride	1863
<b>Antiparkinsonianos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Pesticidas e Repelentes</b>	<b>Pág.</b>
Bromocriptine	882	Brodifacoum	2183
<b>Antiprotozoários</b>	<b>Pág.</b>	Bromadiolone	2184
Halofuginone HBr	921	Bromophos	2184
Tilbroquinol	936	<b>Excipientes</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antivirais</b>	<b>Pág.</b>	CI Vat Orange I	2215
Etravirine	964	Eosin	2220
<b>Ansiolíticos, Sedativos e Hipnóticos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Variados</b>	<b>Pág.</b>
Bromazepam	1067	Bibrocathol	2480
Bromperidol	1068	Nicergoline	2581
Brotizolam	1068	Pinaverium Bromide	2600
		Sulfobromophtalein Na	2630

**Tabela 7.6.** Moléculas selecionadas contendo “flúor ligado a anel aromático” incluindo sua localização no livro *Martindale: The Complete Drug Reference*.

<b>Antiinflamatório</b>	<b>Pág.</b>	<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pág.</b>	<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pág.</b>
Diflunisal	49	Tegafur	856	Prasugrel Hydrochloride	1508
Flutirpine	63	Vandetanib	866	Rosuvastatin Calcium	1524
Flurbiprofen	63	<b>Antivirais</b>	<b>Pág.</b>	Ticagrelor	1548
Lumiracoxib	81	Elvitegravir	964	<b>Quelantes</b>	<b>Pág.</b>
Sulindac	131	Emtricitabine	964	Flumazenil	1585
<b>Antihelmínticos</b>	<b>Pág.</b>	Maraviroc	990	<b>Corticosteróides</b>	<b>Pág.</b>
Flubendazole	152	Raltegravir	997	Amcinonide	1654
<b>Antidemencia</b>	<b>Pág.</b>	<b>Ansiolíticos, Sedativos, Hipnóticos</b>	<b>Pág.</b>	Desoximetasona	1664
Sabeluzole	400	Amperozide	1065	Diflorasone Diacetate	1667
<b>Antidepressivos</b>	<b>Pág.</b>	Azaperone	1066	Diflucortolone	1668
Citalopram	416	Benperidol	1067	Difluprednate	1668
Escitalopram	421	Blonanserin	1067	Fludrocortisone	1669
Paroxetine	445	Bromperidol	1068	Fluocinolone	1670
<b>Antidiabéticos</b>	<b>Pág.</b>	Cinolazepam	1080	Fluocinonide	1670
Siglaptin	501	Droperidol	1098	Fluocortin Butyl	1671
<b>Antiepiléticos</b>	<b>Pág.</b>	Ethyl Loflazepate	1099	Flucortolone	1671
Retigabine	548	Fluanisone	1100	Fluorometholone	1671
Rufinamide	548	Fludiazepam	1100	Fluprednenede	1671
<b>Antifúngicos</b>	<b>Pág.</b>	Flunitrazepam	1100	Fluticazone	1672
Fluconazole	578	Flurazepam	1103	Formocortal	1673
Flucytosine	580	Fluspirilene	1103	Halcinonide	1673
Flutrimazole	581	Haloperidol	1104	Halometasone	1674
Fosfluconazole	581	Haloxazolam	1105	Isofluprepone	1676
Posaconazole	592	Iloperidone	1106	Parametasone	1680
Ravunazole	593	Melperone HCl.	1110	Triamcinolone	1683
Voriconazole	597	Midazolam	1112	Ulobetasol	1685
<b>Antihistaminicos</b>	<b>Pág.</b>	Moperone HCl.	1116	<b>Gastrointestinais</b>	<b>Pág.</b>
Astemizole	617	Paliperidone	1120	Aprepitant	1857
Flunarizine HCl	631	Penfluridol	1121	Casopitant	1865
Levocabastine HCl	634	Pimozide	1124	Cisapride	1871
Mizolastine	637	Pipamperone	1125	Fosaprepitant	1882
Niazaprine	638	Quazepam	1128	Mosapride Citrate	1904
<b>Antiexaueca</b>	<b>Pág.</b>	Risperidone	1130	Revaprazan	1923
Telcagepant	682	Ritanserine	1133	<b>Colírios e Tratamentos Oculares</b>	<b>Pág.</b>
<b>Antineoplásicos</b>	<b>Pág.</b>	Romifidine	1134	Brimonidine Tartrate	2040
Bicatulamide	750	Sertindole	1134	<b>Pesticidas e Repelentes</b>	<b>Pág.</b>
Capecitabine	756	Spiperone	1135	Cyfluthrin	2186
Carmofur	759	Timiperone	1139	Diflubenzuron	2189
Lediranib	761	Trifluperidol	1142	Fluazuron	2192
Doxifluridine	779	Zolazepam	1144	Flumethrin	2192
Exisulind	789	<b>Cardiovasculares</b>	<b>Pág.</b>	Lufenuron	2194
Floxuridine	789	Atorvastatin Calcium	1341	<b>Hormônios sexuais e Reguladores</b>	<b>Pág.</b>
Fludarabine P.	790	Ezetimibe	1413	Fluoximesterone	2310
Fluorouracil	791	Fluindione	1419	<b>Estimulantes. e Anorexígenos</b>	<b>Pág.</b>
Gefitinib	796	Fluvastatin Sodium	1419	Almitrine Dimesilate	2349
Gencitabine	797	Ketanserin	1451	<b>Variados</b>	<b>Pág.</b>
Lapatinib Tosilate	810	Lidoflazine	1456	Laropiprant	2555
Claparib	832	Lubeluzole	1462	Lixivaptan	2559
Plevitrexed	841	Nevibolol	1479	Ramatroban	2610
Sunitib Maleate	851	Pitavastatin	1507	Senicapoc	2620