

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

Rachel Wykowski

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CLIOQUINOL E DA
NITROXOLINA: UMA REVISÃO DE ESCOPO**

Porto Alegre

2022

Rachel Wykowski

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CLIOQUINOL E DA NITROXOLINA: UMA
REVISÃO DE ESCOPO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre(a) em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Orientador(a): Prof. Dr. Saulo Fernandes de Andrade

Coorientador(a): Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria

Porto Alegre

2022

Wykowski, Rachel
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CLIOQUINOL E DA
NITROXOLINA: UMA REVISÃO DE ESCOPO / Rachel Wykowski.
-- 2022.
96f.
Orientador: Saulo Fernandes de Andrade.

Coorientador: Alexandre Meneghello Fuentefria.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Microbiologia. 2. Clioquinol. 3. Nitroxolina. 4. Antimicrobianos. 5. Revisão. I. Fernandes de Andrade, Saulo, orient. II. Meneghello Fuentefria, Alexandre, coorient. III. Título.

“Viver não consiste apenas em respirar, mas em fazer.”

Mao Tsé-Tung

AGRADECIMENTOS

Grandes objetivos nunca são conquistados por um indivíduo sozinho. Por isso, quero agradecer:

Acima de tudo, a Deus, pela superação de todos os obstáculos que se interpuseram no meu caminho.

Aos meus orientadores o Prof. Dr. Saulo Fernandes de Andrade e o Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentesfria pela extrema dedicação e paciência.

Ao meu marido Adilson Enio Pierog e à minha sogra Clessi Pierog pelo apoio incondicional.

À minha finada mãe, Severina Perondi, pelo apoio material e emocional enquanto foi presente. Que possa partilhar dessa conquista de onde estiver.

À bibliotecária Viviane Castanho, da Faculdade de Medicina da UFRGS, pelos filtros de pesquisa.

Às médicas, Dra. Elizabeth Lorguecio Collares e Dra. Liselotte Menke Barea pelo controle das minhas crises de migrânea.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ou Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) pela concessão da bolsa.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CLIOQUINOL E DA NITROXOLINA: UMA REVISÃO DE ESCOPO¹

Autor: Rachel Wykowski

Orientador(a): Prof. Dr. Saulo Fernandes de Andrade

Coorientador(a): Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria

RESUMO

Clioquinol e nitroxolina, dois fármacos com numerosas propriedades farmacológicas latentes, lançados ao desuso durante muitas décadas; o primeiro, considerado perigoso, devido a contraindicações mal compreendidas na época do seu surgimento, o segundo, considerado ineficaz, quanto à sua ação antibacteriana, por conta de conhecimentos farmacológicos e farmacocinéticos incipientes no seu tempo, o que dificultou a correta definição de uma janela terapêutica satisfatória. O passar dos anos trouxe a incrementação de conhecimentos nas áreas da química farmacêutica, da biologia molecular e da genética e junto com esse advento, uma nova oportunidade desses fármacos serem explorados em todo o seu potencial, no que diz respeito à sua ação antimicrobiana. Considerando tal cenário, essa revisão contempla a trajetória do clioquinol e da nitroxolina, desde a época do seu surgimento, até os dias atuais, enfatizando os novos estudos que indicam a possibilidade de reintrodução para casos específicos e o aumento de escopo destes compostos como antimicrobianos.

¹Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (xx p.) fevereiro, 2022.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CLIOQUINOL AND NITROXOLIN: A SCOPING REVIEW¹

Author: Rachel Wykowski

Advisor: Prof. Dr. Saulo Fernandes de Andrade

Co-Advisor: Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria

ABSTRACT

Clioquinol and nitroxolin, two drugs with numerous latent pharmacological properties, thrown into disuse for many decades; the first, considered dangerous due to contraindications poorly understood at the time of its appearance, the second, considered ineffective, as to its antibacterial action, due to incipient pharmacological and pharmacokinetic knowledge at the time, which hindered the correct definition of a satisfactory therapeutic window. The passing of the years brought the increment of knowledge in the areas of pharmaceutical chemistry, molecular biology and genetics, and along with this advent, a new opportunity for these drugs to be explored to their full potential, with regard to their antimicrobial action. Considering such a scenario, this review contemplates the trajectory of clioquinol and nitroxolin, from the time of their emergence to the present day, emphasizing the new studies that indicate the possibility of reintroduction for specific cases and the increased scope of these compounds as antimicrobials.

¹Master of Science Thesis in Agricultural and Environmental Microbiology – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (xx p.) month, 2022.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E CIGLAS	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 Clioquinol	4
3.2 Nitroxolina	7
4. MÉTODOS	9
4.1 Fontes de Dados	9
4.2 Filtros de Pesquisa	9
4.2.1 Pubmed	9
4.2.2 Embase	9
4.2.3 Web of Science	9
4.3 Critérios de Inclusão	9
4.4 Critérios de Exclusão	10
4.5 Seleção dos Artigos	10
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5.1 Clioquinol	12
5.1.1 Atividade antifúngica	12
5.1.2 Atividade antibacteriana	29
5.1.3 Atividade antiparasitária	35
5.1.4 Atividade antiviral	44
5.1.5 Atividade antipriônica?	46

5.1.6	Dados toxicológicos para o clioquinol	46
5.2	Nitroxolina	48
5.2.1	Atividade antifúngica	48
5.2.2	Atividade antibacteriana	51
5.2.3	Atividade antiparasitária	68
5.2.4	Atividade antiviral	70
5.3	Clioquinol e nitroxolina: uma comparação	72
7.	CONCLUSÃO	73
8.	REFERÊNCIAS	74

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	15
Tabela 2	31
Tabela 3	38
Tabela 4	45
Tabela 5	50
Tabela 6	54
Tabela 7	69
Tabela 8	71

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1	4
Figura 2	5
Figura 3	7
Figura 4	11

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Análise de Componentes Principais
AMB	Anfotericina B
BraMMT	Alvos Moleculares Brasileiros de Malária
CC ₅₀	Concentração Citotóxica 50%
CE ₅₀	Concentração Eficaz para 50% do Efeito Máximo
CI ₅₀	Concentração Inibitória para 50% das Células
CIF	Concentração Inibitória Fracionada
CLIO	Clioquinol
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
CMA	Concentração Mínima Antibiofilme
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CMEB	Concentração Mínima para Erradicação de Biofilme
CMF	Concentração Mínima Fungicida
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CMIB	Concentração Mínima Inibitória de Biofilmes
CMIP	Concentração Mínima Inibitória das Células Planctônicas
CMIS	Concentração Mínima Inibitória das Células Sésseis
CUB	Cinética Urinária Bactericida
COVID-19	<i>Coronavirus Disease</i>
DEDTC	Dietilditiocarbamato de Sódio
DIU	Dispositivo Intra-Uterino
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTPA	Ácido Dietilenotriaminopentacético
EDDA	Ácido Etilenodiaminodiacético
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
ELISA	Teste de Enzimaimunoensaio
EUCAST	Comitê Europeu de Testagem de Susceptibilidade Antimicrobiana
HET-CAM	<i>Hen's Egg Test-Chorio Allantoic Membrane</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IFB	Inibição da Formação de Biofilmes (%)

MALDI-TOF	Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz - Tempo de Voo
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio
PDB	Banco de Dados de Proteínas
PHEN	1,10 Fenantrolina
POSA	Posaconazol
RBC ₅₀	Concentração Inibitória sobre 50% das Células Vermelhas do Sangue
RCP	Reação em Cadeia da Polimerase
RCP-TR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
RNA	Ácido Ribonucleico
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda
SCAF	Separador Celular Ativado por Fluorescência
TIU	Título Inibitório Urinário
TPEN	N,N,N',N'-tetrakis(2-piridil-metil) etano-1,2-diamina
TUB	Título Urinário Bactericida
UFC	Unidade Formadora de Colônia
VEJ	Vírus da Encefalite Japonesa
WHO	<i>World Health Organization</i>
XTT	[2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfonil)-2H-tetrazólio]

1. INTRODUÇÃO

A resistência microbiana é uma abordagem constante nas duas últimas décadas, uma vez que a prescrição indiscriminada de antimicrobianos forneceu pressão seletiva ao meio ambiente o bastante para favorecer o surgimento de cepas resistentes tanto de fungos quanto de bactérias. Dessa forma, antimicrobianos clássicos (micafungina, fluconazol, anfotericina B, doxicilina, sulfametoxazol e azitromicina) aos quais a humanidade tem recorrido com segurança no combate a infecções, passaram a mostrar-se parcialmente ou completamente ineficazes, dependendo do patógeno a ser eliminado. Soma-se a esse fato, o agravante de que, embora são substâncias aprovadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA), tais antimicrobianos sempre trouxeram, em seu emprego, reações adversas. O referido contexto pode ter se agravado nos últimos dois anos, com a pandemia de infecção pelo Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda (SARS-CoV2). O cenário de colapso de sistemas de saúde ao redor do mundo agravou o uso excessivo antimicrobianos e de combinações de antimicrobianos, os quais demandavam estudos clínicos frente ao vírus causador da COVID-19. Essa prática foi adotada por vários países, em uma tentativa de fornecer uma saída rápida ao colapso dos seus serviços de saúde, gerado pela alta demanda de internações decorrentes da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS). Entretanto, tais ações corroboraram com o agravamento de quadros de infecções nosocomiais, uma vez que aumentaram a pressão seletiva sobre os microrganismos de ambientes hospitalares.

Tendo em vista o referido contexto, é o momento de explorar novas moléculas com atividade antimicrobiana, que ofereçam a segurança em seu emprego, não apenas em termos de eficácia frente a patógenos, mas em termos de baixas reações adversas aos pacientes. Em alguns casos, os pesquisadores têm optado por trabalhar de maneiras diferentes com fármacos que foram esquecidos durante décadas pela indústria farmacêutica, como o clioquinol e a nitroxolina, o primeiro, temido no passado, devido a uma grave reação adversa, chegando a sair da prática clínica, uma vez que não se conhecia os mecanismos por trás da toxicidade do composto; a segunda subestimada quanto à sua atividade antimicrobiana, por conta dos conhecimentos farmacodinâmicos e farmacocinéticos incipientes na época da sua descoberta. Esses compostos estão subutilizados, porém, avanços na área da química, biologia molecular e da genética permitiram uma melhor elucidação dos fatores por trás da ocorrência de efeitos indesejados relacionados ao uso de

medicamentos, bem como a definição de uma correta janela terapêutica, na qual o fármaco exibisse atividade satisfatória com a mínima toxicidade ao organismo.

Considerando todos os fatores anteriormente abordados, a presente revisão traz as principais novidades que abrem perspectiva para reposicionamento e expansão de escopo dos fármacos clioquinol e nitroxolina quanto sua atividade antimicrobiana, evidenciadas por trabalhos registrados na literatura nos últimos dez anos, bem como os principais achados concernentes a cada trabalho elencado.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Fornecer informações atualizadas acerca da atividade antimicrobiana do clioquinol e da nitroxolina, bem como perspectivas na área da pesquisa para esses dois compostos.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Tabela artigos oriundos da literatura dos anos de 2012-2021, tratando da atividade antimicrobiana do clioquinol e da nitroxolina;

2.2.2 Apresentar os principais achados dos trabalhos tabelados, facilitando a comparação de resultados entre os diferentes estudos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Clioquinol

Apesar de suas versáteis propriedades farmacológicas (antiparasitário, antibacteriano, antifúngico, antiinflamatório, atenuante de doenças neurodegenerativas, antineoplásico), durante muitas décadas, o clioquinol (Figura 1) despertou receio quanto ao seu emprego clínico, devido a uma grave reação adversa comum decorrente do seu uso principalmente no Japão: a Neuropatia Mielo-Óptica Subaguda (SMON), descoberta no Japão, por volta do ano de 1958. Pacientes em tratamento com clioquinol queixavam-se de sintomas inespecíficos como dores no corpo, dormência, diarreia, dores abdominais, que logo culminavam em paralisia de diversas regiões do corpo e cegueira. Entretanto, todos apresentavam três notórios sintomas em comum: mancha verde na língua, urinas e fezes verdes, fator que levou a doença a receber a denominação Midori-no-madoguchi, *em japonês*, “Bilheteria Verde” (Kuru, 2021).

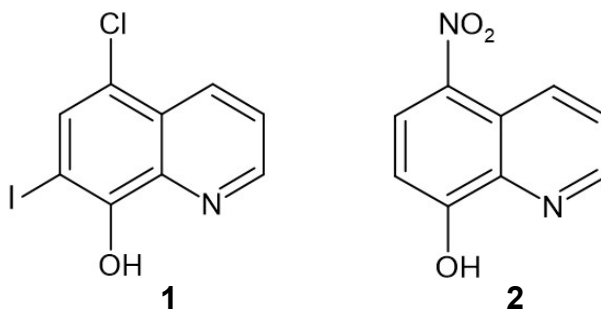


Figura 1. Estruturas químicas do clioquinol (1) e da nitroxolina (2).

Após pesquisadores japoneses reproduzirem a SMON (Figura 2) em cães, o que permitiu a avaliação dos danos causados ao cérebro, bem como a identificação do clioquinol na urina, a severa toxicidade do clioquinol foi amplamente reportada na comunidade científica e a substância caiu em desuso (Kuru, 2021).



Figura 2. Sinais característicos da SMON. À esquerda, coloração esverdeada na língua de paciente. À direita, urina de paciente apresentando coloração verde. Fonte: Konagaya (2015).

Entretanto, com o surgimento da biologia molecular e os avanços nas metodologias analíticas da química, esse contexto ganhou uma reviravolta em meados da década de noventa, pelas mãos do pesquisador australiano Ashley Bush. Ashley descobriu que as placas amilóides formadas no cérebro de pacientes com mal de Alzheimer eram originadas pelo acúmulo e deposição de metais pesados no cérebro, sobretudo, o cobre e o zinco. Conhecendo a propriedade do clioquinol como quelante de metais, o pesquisador decidiu empregar a substância em um modelo murino de Alzheimer, obtendo como resultado a redução das placas amilóides no cérebro dos ratos. Mesmo com os resultados demonstrados por Ashley Bush, o clioquinol ainda era encarado com ceticismo e receio por parte da comunidade científica. Apesar de toda essa descrença, Bush parecia convicto quanto ao potencial da substância na melhora da condição de pacientes com Alzheimer, foi então, que em 1997, na cidade de Melbourne, o pesquisador iniciou ensaios clínicos com o clioquinol frente à doença, obtendo a melhora da capacidade cognitiva de pacientes com Alzheimer a partir de 36 semanas de tratamento. Uma vez que a dosagem de clioquinol empregada nos ensaios era baixa e controlada, não ocorreram efeitos adversos associados ao uso da droga. Finalmente, o receio quanto ao emprego terapêutico do clioquinol começava a diminuir no meio acadêmico ainda que devido aos antecedentes os pesquisadores entendessem a importância do uso extremamente controlado do composto, dessa forma, mais ensaios clínicos surgiram ao redor do mundo empregando clioquinol frente à doença de Alzheimer (Perez, Sklar e Chigaev, 2019).

O advento da biologia molecular, da química medicinal, bem como da

genética, favoreceu estudos que buscavam desvendar os fatores e os mecanismos por trás da Neuropatia Mielo-Óptica Subaguda. Assim foi sugerido que os sintomas da SMON eram mais severos e poderiam ocorrer com maior frequência em pacientes que já tinham deficiência natural de zinco, pacientes anêmicos ou com tendência aumentada a anemias, pacientes com deficiência natural de vitamina B12, levando em conta a propriedade quelante do clioquinol (You, Zhang e Ran, 2020). Outra teoria por trás do desenvolvimento da SMON seria polimorfismos nos receptores neuronais ABCC4 e ABCC14 (Figura 3) que ocorreriam majoritariamente na população japonesa, provocando a deposição de cAMP na célula neuronal e a consequente morte do neurônio por apoptose (Perez, Sklar e Chigaeiev, 2019). Uma vez que haja fatores genéticos, ou condições particulares do organismo preponderantes à ocorrência de uma ação indesejada para determinado fármaco, é possível que este tipo de ocorrência não se trate de reação adversa comum ao medicamento, mas se trate de uma contraindicação. Em determinados casos, contraindicações podem ser identificadas e monitoradas mediante avaliação clínica criteriosa dos pacientes, bem como, realização de dosagem sanguínea de analitos, os quais forneçam um perfil do fármaco no organismo do paciente (Shankar, Palaian e Gulam, 2021). Desta maneira, averiguando-se a disposição genética ou a deficiência de determinados nutrientes para os eventos associados ao clioquinol, seria possível considerar o emprego no tratamento das doenças de Alzheimer, Parkinson e Huntington após aprovação em fases clínicas, bem como a reintrodução como antimicrobiano, preservando os pacientes susceptíveis aos efeitos adversos. (You *et al.*, 2018; Pippi *et al.*, 2019b; Mustazza *et al.*, 2020; Tavares *et al.*, 2020; Olaleye *et al.*, 2021).

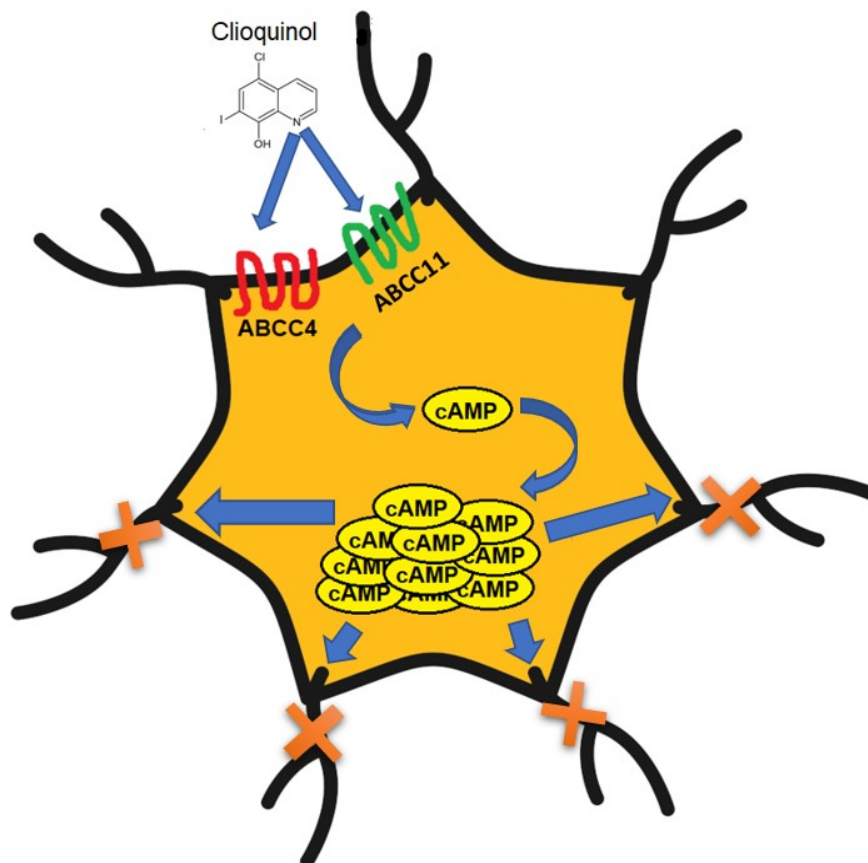


Figura 3. Interação do clioquinol com os receptores polimerizados ABCC4 e ABCC11 da célula neuronal. Fonte: autoria própria.

3.2 Nitroxolina

Menos polêmica e também menos explorada quanto a suas potenciais atividades antimicrobianas, tem-se a nitroxolina, conhecida por sua atividade bacteriostática contra *Escherichia coli*, um importante agente etiológico causador de infecções do trato urinário em pacientes hospitalizados (Sobke *et al.*, 2018). A nitroxolina foi empregada pela primeira vez em 1962, para tratamento e profilaxia de infecções agudas e recorrentes do trato urinário, causadas por *E. coli*, tanto de pacientes adultos quanto pediátricos. Entretanto, os conhecimentos incipientes de farmacologia e farmacotécnica da época dificultaram a definição de uma janela terapêutica adequada para uma ação antibacteriana eficaz da substância, bem como, ofuscaram a compreensão acerca de seu espectro de ação, fazendo com que o composto fosse equivocadamente utilizado frente a microrganismos a ele resistentes. A corroboração entre esses fatores levou ao rápido abandono da nitroxolina como antimicrobiano, embora a substância ainda permanecesse clinicamente ativa no leste europeu, em limitadas cidades da Alemanha, onde a taxa de resistência entre cepas

de *E.coli* permanecia baixa (Wijma *et al.*, 2018). As décadas que se seguiram foram de abuso de prescrição de antibióticos, sobretudo, dos bactericidas, promovendo uma grande pressão seletiva no meio ambiente, favorecendo o surgimento de cepas multirresistentes de bactérias, atualmente, conhecidas pela expressão “ESKAPE”: E= Enterobacteriaceae, *Enterococcus faecium*; S= *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*; K (ou C)= *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridioides difficile*; A= *Acinetobacter baumannii*; P= *Pseudomonas aeruginosa*; E= Enterobacteriaceae (Figura 4) – atualmente, principais alvos das companhias farmacêuticas na busca por novos antibióticos, assim como na busca por novos alvos moleculares (Giacomini *et al.*, 2021). Com as opções de antibióticos cada vez mais escassas frente a uma nova geração de bactérias resistentes, é possível revisitar e mesmo reposicionar classe de compostos que estavam esquecidas, pois juntamente à evolução dos microrganismos, vem a evolução humana em termos de conhecimento acerca de como interagem os fármacos com os organismos vivos e como tais compostos podem ser estruturalmente aprimorados, de modo a otimizar sua afinidade e sua seletividade com os alvos moleculares sobre os quais devem agir. Nesse cenário, surgem trabalhos como o de Cherdtrakulkiat *et al.* (2019), em que a nitroxolina é testada quanto à sua atividade antibacteriana frente a bactérias do temido gênero Enterobacteriaceae; e o ensaio de Fuchs *et al.* (2019) que empregou a nitroxolina frente à *Neisseria gonorrhoeae*. Há quem veja ainda mais longe o potencial antimicrobiano da nitroxolina, como Laurie *et al.* (2018), que revelaram a substância como um potente amebicida, testando-a frente ao patógeno *Balamuthia mandrillaris*; e Zhang *et al.* (2020), que determinou a atividade antiviral da nitroxolina frente ao vírus da encefalite japonesa (JEV). Na era da busca por novos antibióticos, espera-se que a nitroxolina, molécula pertencente a uma classe promissora de compostos, revele todo o seu potencial antimicrobiano à medida que estudos de aprofundamento forem sendo realizados elucidando seu escopo de atuação bem como as ações celulares e fatores moleculares envolvidos.

4. MÉTODOS

4.1 Fontes de Dados

A revisão de literatura fundamentou-se em busca nas bases de dados PubMed, Embase e Web of Science, por trabalhos tratando de ensaios *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*, relatos de casos, estudos retrospectivos e estudos observacionais reportando a eficácia antimicrobiana do clioquinol e da nitroxolina, datados entre os anos de 2012 a 2021, empregando-se os filtros de pesquisa descritos a seguir.

4.2 Filtros de Pesquisa

4.2.1 Pubmed

(Clioquinol[mh] OR Clioquinol[tw] OR 5-Chloro-7-iodo-8-quinolinol[tw] OR 5 Chloro 7 iodo 8 quinolinol[tw] OR Iodochloroxyquinoline[tw] OR Chloroiodoquine[tw] OR Iodochlorhydroxyquin[tw] OR nitroxolin*[tw] OR hydroxyquinoline moiety[tw]) AND (2012:2021[dp]) NOT (Neoplasms[mh] OR Alzheimer Disease[mh])

4.2.2 Embase

'clioquinol'/exp OR 'nitroxoline'/exp OR (Clioquinol OR '5-Chloro-7-iodo-8-quinolinol' OR '5 Chloro 7 iodo 8 quinolinol' OR Iodochloroxyquinoline OR Chloroiodoquine OR Iodochlorhydroxyquin OR nitroxolin* OR 'hydroxyquinoline moiety'):ti,ab,kw NOT 'neoplasm'/exp OR 'Alzheimer disease'/exp OR (Neoplasm* OR cancer* OR Alzheimer):ti,ab,kw

4.2.3 Web of Science

TS=(Clioquinol OR "5-Chloro-7-iodo-8-quinolinol" OR "5 Chloro 7 iodo 8 quinolinol" OR Iodochloroxyquinoline OR Chloroiodoquine OR Iodochlorhydroxyquin OR nitroxolin* OR "hydroxyquinoline moiety") NOT TS=(Neoplasm* OR cancer* OR Alzheimer) AND PY=(2012-2020)

4.3 Critérios de Inclusão

Foram incluídos na revisão de escopo:

1. Artigos tratando da atividade antimicrobiana *in vitro* para o clioquinol e/ou para a nitroxolina;

2. Análises retrospectivas e estudos observacionais tratando do emprego dos fármacos, como antimicrobianos, na prática clínica;

3. Estudos de mecanismo de ação antimicrobiana ou mecanismo de resistência microbiana para ambos os fármacos.

4.4 Critérios de Exclusão

Foram excluídos da revisão de escopo:

1. Revisões, capítulos de livros;

2. Artigos tratando fundamentalmente de derivados do clioquinol ou da nitroxolina, não das substâncias propriamente ditas;

3. Artigos tratando da atividade antineoplásica, antiparkinsoniana ou anti-Alzheimer das substâncias.

4.5 Seleção dos Artigos

Das buscas nas bases de dados PubMed, Embase e Web of Science, um total de 255 artigos foram encontrados, dos quais, após a aplicação dos critérios de exclusão, bem como a observância quanto aos critérios de inclusão, 44 artigos foram incluídos na revisão de escopo, conforme o fluxograma da Figura 5.

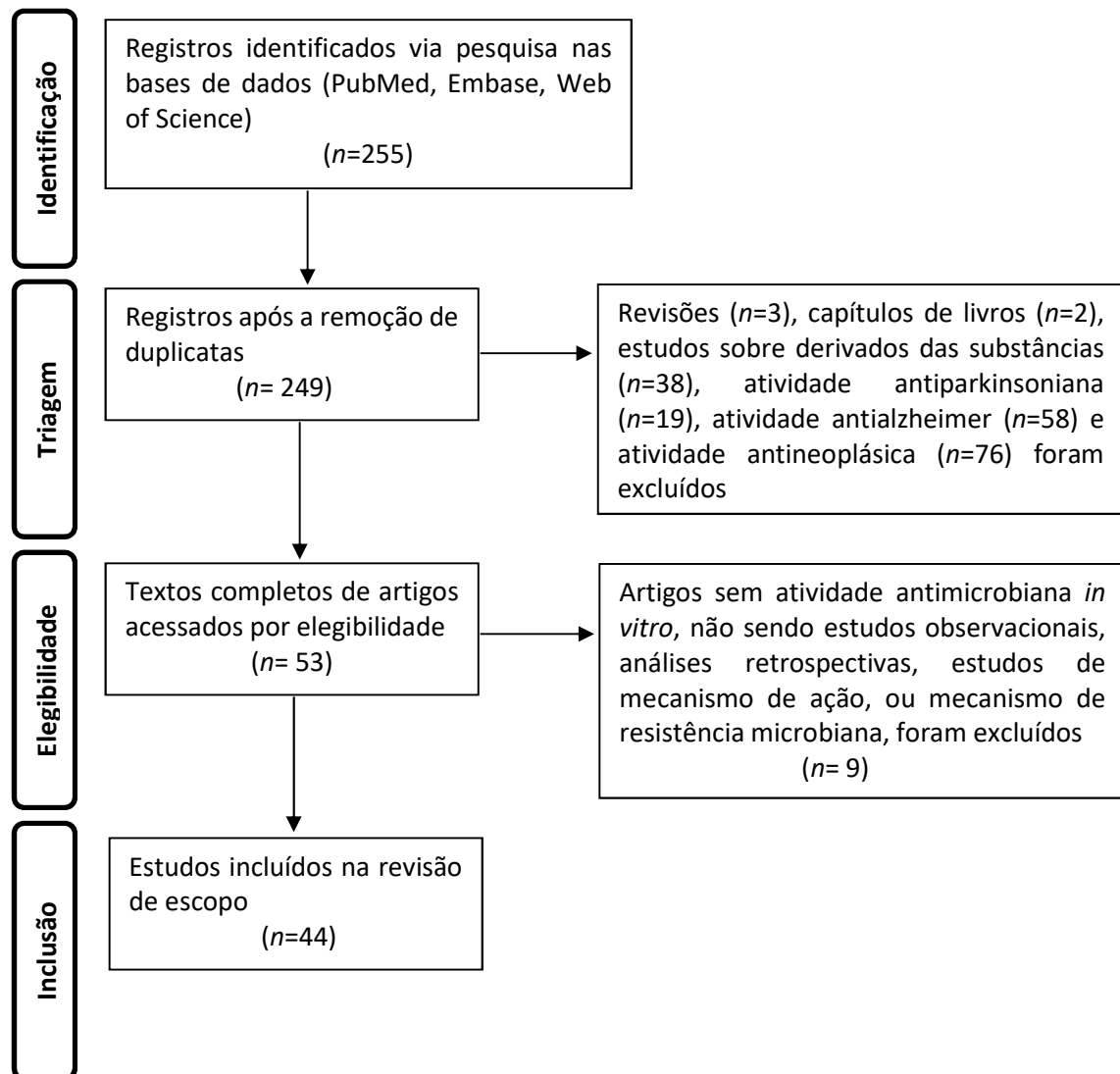


Figura 4. Fluxograma ilustrando a seleção de artigos e critérios de inclusão e exclusão para os trabalhos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Clioquinol

5.1.1 Atividade Antifúngica

Dentre as versáteis atividades do clioquinol, a mais reportada na literatura é a atividade antifúngica, constando de um total de 14 artigos oriundos das bases de dados previamente mencionadas. Tais referências, englobam trabalhos frente a espécies determinadas de fungos, como o de Alvarez & Sanhueza (2016) e Laskaris *et al.* (2016) e trabalhos que testaram a atividade do clioquinol frente a uma extensa variedade de fungos, como o de Leonardelli *et al.* (2019) e Pippi *et al.* (2019a).

Empregando reação em cadeia da polimerase (RCP) e microdiluição em caldo, Alvarez & Sanhueza (2016) encontraram ótima atividade para o clioquinol frente ao *Scedosporium dehoogii*, um fungo oportunista que habita os solos, com CMIs variáveis entre 0,5-1 µg/mL. Empregando técnicas semelhantes, Chaves *et al.* (2020) encontraram CMIs entre 0,5-2µg/mL para o clioquinol frente a espécies de *Fusarium*, o que também denota excelente atividade frente ao fungo. Somado a esse fato, a equipe de pesquisadores também encontrou ótima atividade antibiofilme para o clioquinol (CMA= 5-10µg/mL) frente às espécies de *Fusarium* isoladas. Ainda considerando ensaios *in vitro* com microdiluição, Laskaris *et al.* (2016) combinaram microdiluição em caldo com bioluminescência, encontrando ótima atividade para o clioquinol frente ao *Aspergillus fumigatus* (CMI= 6 mg/L). Yousfi *et al.* (2020) estudou o efeito do clioquinol sobre uma extensa variedade de espécies fúngicas (Tabela 1), as quais incluíram *Aspergillus calidoustus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*, obtendo uma taxa de inibição de crescimento de 73%, 71% e 75%, para cada fungo, respectivamente. Para as demais espécies de fungos, o intervalo de inibição de crescimento variou de 71-85%. Tais resultados corroboram com os encontrados por Laskaris *et al.* (2016), decorrentes do emprego do clioquinol frente a um modelo murino de aspergilose, em que a substância se mostrou completamente capaz em erradicar a infecção causada pelo fungo. O grupo Leonardelli *et al.* (2019), estudando distintas espécies de Mucorales (Tabela 1), obteve forte atividade antifúngica (CMI= 4 – 8µg/mL) para o clioquinol frente às espécies fúngicas abordadas.

Estudando diferentes espécies de *Candida*, Pippi *et al.* (2018) obteve excelente atividade antifúngica para o clioquinol (CMIP₅₀ de 0,031-0,5µg/mL) frente

às espécies contempladas do fungo (Tabela 1). Quanto à erradicação de biofilmes, o clioquinol mostrou-se melhor sucedido em erradicar biofilmes causados por *C. glabrata* (100%), seguido pela *C. tropicalis* (99.95%) e por *C. albicans* (97.92%). Em trabalhos subsequentes, o grupo de pesquisa também revelou o clioquinol como antifúngico capaz de inibir a formação das pseudohifas (em leveduras), e de inibir o crescimento das hifas em fungos filamentosos (por alteração de permeabilidade celular) (Pippi et al., 2019 a). O clioquinol também foi capaz de proteger moscas *Drosophila* da infecção por *C. albicans*, tornando a curva de sobrevivência dos animais expostos equiparada à do grupo controle não-infectado (Pippi et al., 2019 b). Ainda levando em conta espécies de *Candida*, Yan et al. (2018) combinando RCP com MALDI TOF-MS, estudou o efeito do clioquinol sobre o ciclo celular de *Candida albicans*, concluindo que a substância exerce efeito fungistático, inibindo o crescimento da célula fúngica na fase G2/M do seu ciclo celular. O grupo You, Zhang e Ran (2020) abordou a pouco explorada capacidade quelante de metais pesados do clioquinol e a influência dessa propriedade na atividade antifúngica da substância frente à parede celular de *C. albicans*, bem como frente a biofilmes formados pelo fungo. No estudo, o clioquinol lisou a membrana celular de *C. albicans* na concentração de 32µg/mL e na concentração de 5 µM, o clioquinol quelou íons de metais pesados (tabela 1), inibindo da célula fúngica, condição reversível com a adição exógena dos íons quelados.

Trabalhando com *Nannizzia gypsea*, *Microsporium canis* e espécies de *Trichophyton*, Costa et al. (2020) obteve forte atividade antifúngica para o clioquinol (CMI= 0,5-2µg/mL) e forte atividade fungicida, evidenciado pela redução de 99.9% nas unidades formadoras de colônias (UFCs). O grupo também alcançou 90% de viabilidade celular para o clioquinol frente a leucócitos humanos, um forte indício de baixa toxicidade ao organismo. Em um trabalho subsequente, os autores avaliaram combinações de clioquinol com terbinafina e ciclopirox, frente a modelos *ex vivo* de infecção por *Trichophyton rubrum* e *Microsporium canis*, em cascos de porco e pele de cachorro. No estudo, o clioquinol associado tanto à terbinafina quanto ao ciclopirox, foi eficaz em remover 100% das unidades formadoras de colônia (UFCs) formadas nos cascos de porco, bem como foi capaz de prevenir com eficácia a formação de biofilmes em pele de cachorro. Quanto à capacidade de causar irritação à pele, via método HET-CAM (membrana corioalantóica embrionária de ovos de galinhas), os pesquisadores obtiveram um índice de irritação para as combinações de antifúngicos

empregadas na faixa de 2,83-3,41, o que classifica tais associações como não-irritantes, somado ao fato de que os estudos de histopatologia efetuados na orelha de porco, revelaram ausência de lesões microscópicas decorrentes da aplicação das combinações de antifúngicos mencionadas (Costa et al., 2021). Ainda tratando-se de espécies de *Trichophyton*, Dunmade *et al.* (2012) trouxe à tona um relato de caso de rinosinusite fúngica por *T. mentagrophytes* em um paciente nigeriano indigente, da etnia lorubá, em que o clioquinol associado à flumetasona, administrado, semanalmente, por meio de lavagens introduzidas via antrostomia, foi capaz de erradicar completamente os sintomas da enfermidade, apresentados pelo paciente, em quatro meses de tratamento. É uma demonstração de eficácia da substância empregada na prática clínica, frente a um caso real de infecção em que, não apenas a evolução do quadro clínico pode ser observada, mas possíveis efeitos adversos decorrentes do tratamento.

Tabela 1. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antifúngica do clioquinol.

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Costa <i>et al.</i> (2021)	<i>Trichophyton rubrum</i> <i>Microsporum canis</i>	<p>a) Avaliou-se a capacidade das combinações antifúngicas em promover irritação, via método HET-CAM (membrana corioalantóica embrionária de ovos de galinhas).</p> <p>b) Procedeu-se a avaliação histopatológica em orelhas de porco, de modo observar possível dano tecidual decorrente da aplicação das associações de antifúngicos.</p> <p>c) Preparou-se um modelo <i>ex vivo</i> de cascos de porco, infectados com <i>T. rubrum</i> de modo a avaliar a eficácia antifúngica das associações dos três compostos testes (dentre os quais, o clioquinol).</p> <p>d) De forma semelhante, um modelo <i>ex vivo</i> de pele de cachorro foi preparado de modo a se determinar a eficácia da combinação entre as substâncias testadas em proteger pele de origem veterinária da formação de biofilmes fúngicos (espécies previamente citadas) e removê-los.</p>	<p>a) O índice de irritação da combinação de clioquinol (0,125 µg/mL) + terbinafina (0,03125 µg/mL) foi 3,17; para a combinação de clioquinol (0,125 µg/mL) + ciclopirox (0,5 µg/mL) foi de 2,83; e para a combinação de clioquinol (0,125 µg/mL) + ciclopirox (0,250 µg/mL) + terbinafina (0,03125 µg/mL) foi de 3,41. Uma vez que todas as combinações exibiram índices de irritação inferiores a 5, todas foram classificadas como não-irritantes, de acordo com a metodologia empregada.</p> <p>b) Os estudos de histopatologia efetuados na orelha de porco, revelaram ausência de lesões microscópicas decorrentes da aplicação das combinações de antifúngicos mencionadas.</p> <p>c) As duplas combinações de antifúngicos mostraram-se suficientes para remover 100% das unidades formadoras de colônias (CFUs) formadas nos cascos de porco.</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Chaves et al. (2020)	<i>Fusarium proliferatum</i> <i>Fusarium falciforme</i> <i>Fusarium incarnatum</i> <i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium solani</i>	<p>a) Isolados clínicos de <i>Fusarium</i> foram obtidos a partir de pacientes com onicomicose ou ceratite fúngica e identificados por RCP (Reação em Cadeia da Polimerase).</p> <p>b) A suscetibilidade dos fungos (Concentração Mínima Inibitória - CMI) aos antifúngicos clioquinol, voriconazol, natamicina, terbinafina e ciclopirox olamina foi determinada usando o método da diluição em caldo.</p> <p>c) Avaliou-se a formação de biofilme em suspensões de conídeos, por método espectrofotométrico.</p> <p>d) Determinou-se a concentração mínima antibiofilme (CMA) e da concentração mínima para erradicação de biofilme (CMEB), por método de diluição em placas.</p> <p>e) Investigou-se a interação entre os antifúngicos usados no experimento frente à cada espécie de fungo mencionada.</p> <p>f) Avaliou-se a capacidade dos compostos em remover biofilmes, executando-se o ensaio checkerboard.</p> <p>g) Efetuou-se teste de hipoalergenicidade dos antifúngicos frente a ovos embrionados de galinha.</p> <p>h) Estudo de citotoxicidade: linfócitos e leucócitos de um voluntário de 18 anos sem uso crônico de medicação.</p> <p>i) A predição da toxicidade efetuada com uso dos programas: pkCSM®,</p>	<p>a) Trouxe à luz excelentes valores de inibição do crescimento fúngico (CMI= 0,5-2µg/mL) e valores antibiofilme (CMA= 5-10µg/mL) para o clioquinol frente às diferentes espécies de <i>Fusarium</i> isoladas.</p> <p>b) Revelou a eficaz sinergia entre o clioquinol e o voriconazol, bem como a segurança da associação, evidenciada no teste de hipoalergenicidade.</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		PreADMET®, Molinspiration Cheminformatics®, ChemIDPlus®, LAZAR Toxicity Predictions®.	
Costa <i>et al.</i> (2020)	<i>Nannizzia gypsea</i> <i>Microsporium canis</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<p>a) O estudo contou com 12 isolados dos fungos <i>N. gypsea</i>, <i>M. canis</i>, <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i>.</p> <p>b) As concentrações mínimas inibitórias (CMI) dos antifúngicos mencionados foram determinadas pelo método da microdiluição em caldo.</p> <p>c) A interação entre as três substâncias testadas foi avaliada usando o método checkerboard. Os experimentos foram realizados em triplicatas e incubados a 32°C por 5 dias.</p> <p>d) Ensaio Time-kill: utilização de cepa de <i>T. rubrum</i> (TRU47), evidenciando o efeito sinérgico para todas as combinações de antifúngicos testadas, em comparação a cada composto individualmente.</p> <p>e) Sequencialmente, as colônias fúngicas formadas foram contadas para averiguação efeito fungicida das combinações de substâncias.</p> <p>g) Ensaio de citotoxicidade: antifúngicos frente a leucócitos oriundos de um voluntário maior de 18 anos sem uso crônico de medicação. A perda da integridade da membrana dos leucócitos foi verificada com a coloração azul tripano.</p>	<p>a) O trabalho revela potente atividade antifúngica para o clioquinol (CMI= 0,5-2 µg/mL) e forte atividade fungicida (evidenciado pela redução de 99.9% nas CFU).</p> <p>b) O experimento também abordou a interação do clioquinol com outros fármacos antifúngicos o que contribui para a futura elucidação de demais combinações medicamentosas.</p> <p>c) O ensaio de citotoxicidade, tanto do clioquinol, isoladamente, quanto em associação a outros antifúngicos apontou viabilidade celular ≥ 90%, um forte indício de baixa toxicidade ao organismo, a ser confirmado por futuros ensaios <i>in vivo</i>.</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
You, Zhang e Ran (2020)	<i>Candida albicans</i>	<p>a) Determinou-se a CMI₅₀ e a CMI₁₀₀ para o clioquinol e outros antifúngicos, frente a uma cepa representativa de <i>C. albicans</i>, utilizando-se o método da microdiluição em caldo.</p> <p>b) Aferiu-se a concentração mínima fungicida (CMF) para o clioquinol frente à <i>C. albicans</i>, por meio do método da microdiluição em caldo e por inoculação em ágar Sabouraud Dextrose.</p> <p>c) Observou-se o efeito do clioquinol sobre a formação de biofilmes, com auxílio do ensaio de redução do XTT.</p> <p>d) Mediu-se as CMIs do clioquinol e da caspofungina (controle positivo) na presença e na ausência do sorbitol (0,8M) pelo método da microdiluição em caldo.</p> <p>e) Estudou-se o efeito do clioquinol sobre a membrana celular fúngica, empregando-se o ensaio do influxo de iodeto de propídio.</p> <p>f) Via método da microdiluição em caldo, analisou-se a capacidade do clioquinol em despolarizar a membrana da célula fúngica, bem como sua interação com o ergosterol da membrana celular.</p> <p>g) Por fim, avaliou-se a influência de íons metálicos sobre a atividade antifúngica do clioquinol.</p>	<p>a) Perfil de atuação do clioquinol frente à parede celular dos fungos, bem como sua atuação frente a biofilmes formados por <i>C. albicans</i>.</p> <p>b) Apresentou o clioquinol como capaz de lisar a membrana celular de <i>C. albicans</i> na concentração de 32µg/mL.</p> <p>c) Na concentração de 5 µM, o clioquinol revelou-se capaz de quelar os íons Fe³⁺, Fe²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺, inibindo, por esse mecanismo o crescimento da célula fúngica, embora essa condição pôde ser revertida pela adição exógena de tais íons.</p>
Yousfi <i>et al.</i>	<i>Aspergillus</i>	a) Procedeu-se uma busca na biblioteca Prestwick Chemical Library,	a) Nesse trabalho, o clioquinol exibiu um

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
(2020)	<i>calidoustus</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Lomentospora prolificans</i> <i>Lichtheimia corymbifera</i>	situada na França, de modo a localizar em seu banco de dados moléculas capazes de inibir o crescimento dos fungos selecionados. b) Os testes documentados na biblioteca foram realizados em dimetilssulfóxido (DMSO) a uma concentração de 10 mM para cada composto, de modo a se obter, via diluições seriadas a concentração final de 10 µM (0.5%) de cada substância testada em DMSO. c) Os inóculos fúngicos dos testes documentados foram todos preparados em meio RPMI-1640 e oriundos de isolados clínicos de diversos hospitais franceses. d) A determinação da taxa de inibição do crescimento fúngico, para cada composto estudado, frente a cada fungo selecionado, foi realizada por densitometria óptica, de acordo com o protocolo M38-A do CLSI.	intervalo de inibição do crescimento fúngico de 71-85%, frente a variedade de fungos sobre os quais foi testado.
Leonardelli et al. (2019)	<i>Rhizopus microsporus</i> <i>Rhizopus oryzae</i>	a) Vinte e cinco isolados foram testados, dentre esses, 18 de <i>R. microsporus</i> , 2 de <i>R. oryzae</i> , 1 de <i>M. circinelloides</i> , 1 de <i>L. corymbifera</i> , 1 de <i>C. bertholletiae</i> . b) Para controle de qualidade de susceptibilidade antifúngica, foi usada a	a) Amplo perfil de ação dos compostos estudados. b) Traz a pouca explorada propriedade quelante de metais pesados como mecanismo promissor

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>Syncephalast rum racemosum Mucor circinelloides Lichtheimia corymbifera Cunninghamella bertholletiae</i>	<p>cepa ATCC 22019 de <i>C. parapsilosis</i>.</p> <p>c) Isolados de Mucorales foram identificados por sequenciamento de espaçadores internos transcritos.</p> <p>d) O intervalo de concentração dos antifúngicos – anfotericina B (AMB), posaconazol (POSA) – bem como as CMI's de cada composto quelante de Zn – clioquinol (CLIO), 1,10 fenantrolina (PHEN), N,N,N',N'-tetrakis(2-piridil-metil) etano-1,2-diamina (TPEN) – foram determinados de acordo com o guia M38 do CLSI.</p> <p>e) Interações entre os antifúngicos e os compostos quelantes de Zn foram estudados pelo cálculo do índice de concentração inibitória fracionada (ICIF) usando protocolos modificados do CLSI para os métodos da microdiluição e do checkerboard.</p> <p>f) As faixas de concentração testadas nas placas de checkerboard foram 0,06 a 4 µg/mL para a AMB, 0,12 a 8 µg/mL para o POS e 0,03 a 16 µg/mL para o CLIO, a PHEN e o TPEN.</p>	<p>de ação antifúngica.</p> <p>c) O clioquinol apresentou valores satisfatórios de CMI (4 – 8 µg/mL) frente a maioria das cepas de fungo testadas.</p> <p>d) Promissora interação sinérgica entre posaconazol e clioquinol (sinergia de 24%), especialmente frente a <i>R. microsporus</i>.</p>
Pippi <i>et al.</i> (2019a)	<i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i>	a) Determinou-se as CMI's do clioquinol e de seus dois derivados (ácido 8-hidroxi-5-quinolinessulfônico e ácido 8-hidroxi-7-iodo-5-quinolinessulfônico), frente à <i>Candida</i> ssp. e a fungos dermatófitos, pelo método da microdiluição.	a) Ação das substâncias estudadas sobre a célula fúngica como um todo, considerando a atividade sobre a membrana celular dos fungos, bem como a capacidade desses compostos em

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>Candida krusei</i>	b) Avaliou-se o efeito do clioquinol e seus derivados citados sobre a integridade da parede celular fúngica, empregando-se o ensaio de proteção do sorbitol.	lisar tais células. Detectou alterações de morfologia provocadas nas células fúngicas pelos compostos estudados.
	<i>Candida parapsilosis</i>	c) Mediu-se o vazamento de conteúdo intracelular para uma cepa representativa de cada espécie de fungo estudada, por método espectrofotométrico.	b) Apresenta o clioquinol como antifúngico capaz de danificar a parede celular de fungos, atuando de modo a inibir a formação das pseudohifas (em leveduras), e inibindo o crescimento das hifas em fungos filamentosos (por alteração de permeabilidade celular).
	<i>Candida tropicalis</i>	d) Avaliou-se a capacidade do clioquinol e de seus derivados mencionados de complexar-se com o ergosterol da membrana celular fúngica, medindo-se as CMIs para cada substância na presença e na ausência de ergosterol.	
	<i>Microsporium canis</i>	e) Averiguou-se, por microscopia eletrônica de varredura, mudanças morfológicas em células de <i>T. mentagrophytes</i> e <i>M. canis</i> cujo crescimento foi exposto a concentrações de clioquinol e demais derivados, definidas pelo método da diluição em caldo.	
	<i>Microsporium gypseum</i>		
	<i>Trichophyllum mentagrophytes</i>		
	<i>Trichophyllum rubrum</i>		
Pippi <i>et al.</i> (2019b)	<i>Candida albicans</i>	a) Determinou-se a capacidade do clioquinol e seus derivados (ácido 8-hidroxi-5-quinolinessulfônico e ácido 8-hidroxi-7-iodo-5-quinolinessulfônico) de proteger moscas <i>Drosophila</i> Toll-deficientes (geneticamente imunodeprimidas) contra a infecção por <i>C. albicans</i> ,	a) Parâmetros farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos para as substâncias analisadas, frente a <i>Candida albicans</i> .

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		<p>plotando-se curvas de sobrevivência com o uso da análise de Kaplan-Meier.</p> <p>b) Aferiu-se a quantidade de células de <i>Candida</i> nos tecidos das moscas após 7 dias de infecção, usando-se o teste de Kruskal-Wallis.</p> <p>c) Realizou-se uma simulação de perfis farmacocinético e farmacodinâmico de atuação do clioquinol nas moscas, utilizando-se modelo de dois compartimentos, previamente adaptados de estudos em humanos, presentes na literatura, a partir do qual três regimes de dose oral foram simulados. As análises dessa etapa foram realizadas com o software Scientist v3.</p> <p>d) Utilizando-se ovos embrionados de galinha, realizou-se estudo de dosagem letal e dosagem máxima subletal nos embriões, para o clioquinol e seus dois derivados, observando-se a pulsação arterial, a frequência de abertura do bico e os movimentos dos embriões, por dois minutos.</p>	<p>b) Quanto à capacidade de proteger moscas <i>Drosophila</i> da infecção por <i>C. albicans</i>, o clioquinol revelou-se capaz de proteger completamente as moscas, uma vez que a curva de sobrevivência dos animais expostos equiparou-se a do grupo controle não-infectado.</p> <p>c) O clioquinol revelou-se não letal ao embrião de galinha a uma concentração de 1 mg/mL, dose também contemplada para o segundo derivado estudado.</p>
Pippi <i>et al.</i> (2018)	<i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida</i>	<p>a) Determinou-se as concentrações mínimas inibitórias das células planctônicas (CMIPs), para o clioquinol e dois derivados (ácido 8-hidroxi-5-quinolinessulfônico e ácido 8-hidroxi-7-iodo-5-quinolinessulfônico), frente a células planctônicas de <i>Candida</i>.</p> <p>b) Averiguou-se o percentual de inibição da formação de biofilmes (IBF) de</p>	<p>a) Perfil de ação do clioquinol e mais dois derivados frente a diversas espécies de <i>Candida</i>, nas distintas formas de vida do fungo: a de células planctônicas e de biofilmes.</p> <p>b) Quanto à ação frente células planctônicas de</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>krusei</i> <i>Candida</i> <i>parapsilosis</i> <i>Candida</i> <i>tropicalis</i>	<p><i>Candida</i> em microplacas contendo clioquinol e demais derivados.</p> <p>c) Células de <i>Candida</i> foram cultivadas em microplacas, de modo a permitir a formação de biofilmes. Os fungos foram, então, expostos ao clioquinol, bem como aos seus outros derivados.</p> <p>d) O efeito do clioquinol, bem como dos seus derivados sobre os biofilmes resultantes foi estimado usando-se o ensaio de redução do XTT [2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfonil)-2H-tetrazólio].</p> <p>e) Avaliou-se a capacidade do clioquinol e substâncias derivadas, em remover biofilmes formados por células de <i>Candida</i>, cultivadas em microplacas.</p> <p>g) DIUs (Dispositivos Intra-Uterinos), adotados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) Brasileiro foram expostos ao clioquinol e ao fluconazol, por 8h a 35 °C (semelhante às condições de ação de um creme vaginal), para averiguação da capacidade dos antifúngicos em remover biofilmes formados nesses dispositivos.</p>	<p><i>Candida</i>, o clioquinol exibiu excelente atividade, evidenciada pelos valores de CMIP₅₀ de 0,031-0,5 µg/mL e CMIP₉₀ de 0,063-1 µg/mL.</p> <p>c) Considerando o percentual de erradicação de biofilmes, o clioquinol teve melhor desempenho frente à <i>C. glabrata</i> (100%), seguido pela <i>C. tropicalis</i> (99,95%) e a <i>C. albicans</i> (97,92%).</p> <p>d) Frente a células sésseis de <i>Candida</i>, o clioquinol mostrou-se mais ativo contra <i>C. glabrata</i> e <i>C. parapsilosis</i>, evidenciado por valores de CMIS₅₀ (concentração mínima inibitória das células sésseis) de 4 µg/ml e CMIS₉₀ de 32µg/ml, para ambas as espécies.</p>
Yan et al. (2018)	<i>Candida albicans</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<p>a) Testou-se o efeito do clioquinol sobre células em crescimento de <i>C. albicans</i> e <i>S. cerevisiae</i>, plotando-se a curva de crescimento para ambas as espécies.</p> <p>b) Averiguou-se o efeito do clioquinol sobre a viabilidade celular em <i>S.</i></p>	<p>a) Atuação do clioquinol sobre o ciclo celular da levedura estudada, o que contribui fortemente para a consolidação do conhecimento acerca do mecanismo de ação do clioquinol sobre as</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		<p><i>cerevisiae</i>, empregando-se iodeto de propídio para auxiliar as análises por microscopia de fluorescência.</p> <p>c) Avaliou-se a influência do clioquinol sobre o ciclo celular de <i>S. cerevisiae</i>, empregando-se uma combinação de métodos envolvendo Separador Celular Ativado por Fluorescência, (SCAF), RCP e eletroforese em gel.</p> <p>d) Determinou-se a capacidade do clioquinol em alterar a expressão de proteínas diferenciais pelas células de <i>S. cerevisiae</i>, com emprego da tecnologia MALDI TOF-MS, comparando o perfil proteico das leveduras expostas à substância com o exibido para as células não tratadas da levedura (controle).</p> <p>e) Por fim, avaliou-se o efeito do clioquinol sobre a expressão do gene TDH3 em células de <i>S. cerevisiae</i>, em que o mRNA das células da levedura foi analisado com o uso da RCP-TR (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real).</p>	<p>células fúngicas.</p> <p>b) Revelou o clioquinol como agente fungistático, inibindo o crescimento da célula fúngica na fase G2/M do seu ciclo celular.</p>
You <i>et al.</i> (2018)	<i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida</i>	<p>a) Determinou-se a atividade do clioquinol a 3% e outros antifúngicos (terbinafina, cetoconazol, bifonazol, triancinolona acetona, econazol, nafitina, fluconazol) frente às diferentes espécies de fungos mencionadas, executando-se disco difusão em ágar, microdiluição e diluição em caldo para cada espécie de fungo estudada.</p>	<p>a) Ampla noção quanto ao espectro de ação do clioquinol, bem como dos demais antifúngicos abordados no trabalho.</p> <p>b) O clioquinol, na concentração de 3% mostrou-se capaz de inibir o crescimento da maioria dos</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>krusei</i>	b) Determinou-se a atividade antibacteriana do clioquinol a 3%, bem como	fungos frente ao qual foi testado. Para as
	<i>Candida</i>	para os demais antifúngicos testados no experimento, empregando-se as	espécies <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C.</i>
	<i>guilliermondii</i>	mesmas técnicas usadas para as análises de atividade antifúngica, cujos	<i>guilliermondii</i> , <i>F. solani</i> , <i>T. harzianum</i> , a atividade
	<i>Malassezia</i>	parâmetros foram adaptados para ensaios com bactérias. Os compostos	antifúngica do clioquinol mostrou-se superior a
	<i>furfur</i>	em questão foram, então, testados contra cepas representativas das	todos os demais antifúngicos analisados, nas
	<i>Malassezia</i>	bactérias: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Escherichia coli</i> ,	concentrações empregadas em formulações
	<i>globosa</i>	<i>Propionibacterium acnes</i> .	farmacêuticas.
	<i>Malassezia</i>		
	<i>sympodialis</i>		
	<i>Trichophytum</i>		
	<i>rubrum</i>		
	<i>Trichophytum</i>		
	<i>interdigitale</i>		
	<i>Microsporum</i>		
	<i>canis</i>		
	<i>Sporothrix</i>		
	<i>globosa</i>		
	<i>Fusarium</i>		
	<i>solani</i>		
	<i>Aspergillus</i>		

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>terreus</i> <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i>		
Alvarez & Sanhueza (2016)	<i>Scedosporiu m dehoogii</i>	<p>a) Obteve-se estruturas fúngicas a partir de 84 amostras de solo coletadas em 14 diferentes regiões do Chile;</p> <p>b) Extraíu-se DNA das colônias isoladas de fungo, com o mini kit E.Z.N.A.® Fungal DNA; RCP com Primer Thermal Cycler (Techne, UK) primers Cal1 e Cal2 para a região da calmodulina e primers Tub2F e Tub2R para o gene da β-tubulina, de sequências genômicas características de <i>S. dehoogii</i>.</p> <p>c) Procedeu-se a análise filogenética, com uso do método Parcimônia Máxima (PM).</p> <p>d) Realizou-se teste de susceptibilidade a antifúngicos, efetuado por microdiluição de fungos filamentosos protocolada do documento do CLSI (Instituto de padrões Clínicos e Laboratoriais) M38-A2.</p>	<p>a) Extensa variedade genética de cepas de <i>S. dehoogii</i> no teste para susceptibilidade <i>in vitro</i> a antifúngicos, no qual o clioquinol apresentou valores de CMI ($\mu\text{g/mL}$) entre 0,5-1. Portanto, o composto apresentou potência similar a dos fármacos azólicos (0,12-2 $\mu\text{g/mL}$) e superior a das equinocandinas (0,12-4 $\mu\text{g/mL}$).</p>
Laskaris et al. (2016)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<p>a) Três sucessivas diluições de solução de clioquinol para obtenção da concentração final de 0,5mM de clioquinol em 10% de DMSO.</p> <p>b) Conídios de uma cepa geneticamente modificada (a cepa 2/7/1) - contendo gene da enzima luciferase de <i>Photinus pyralis</i> - de <i>Aspergillus</i></p>	<p>a) Perfil abrangente do clioquinol, bem como de outros compostos quelantes, <i>in vivo</i>, empregando as substâncias frente a um modelo murino de aspergilose.</p>

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		<p><i>fumigatus</i> foram incubados por 7 dias em Ágar Malte 2% e posteriormente recuperados por vórtex em 0,01% de uma solução aquosa de Tween 20.</p> <p>c) Suspensão de conídios homogêneos obtida por filtração dos conídios recuperados em uma membrana de 40 µm de porosidade.</p> <p>d) Semeadura de 5x10⁴ conídios em uma placa de 24 poços.</p> <p>e) Teste de susceptibilidade na cepa 2/7/1 de <i>A. fumigatus</i> ao clioquinol e outros quelantes (EDTA, DEDTC, DTPA, EDDA, TPEN e fenantrolina), por detecção de bioluminescência, via sistema IVIS 100.</p> <p>f) Modelo murino de aspergilose pulmonar invasiva, monitorado por bioluminescência via sistema IVIS 100 em 165 ratos.</p> <p>g) Os experimentos realizados com os ratos dividiram-se entre:</p> <p>g.a) Extração e homogeneização dos pulmões de ratos mortos para determinação da concentração de IL-6 (mediador inflamatório);</p> <p>g.b) Administração intraperitoneal de clioquinol a 15 mg/Kg/dia e a 30 mg/Kg/dia, assim como de soluções preparadas com os demais quelantes empregados no trabalho.</p>	<p>b) Exploração da propriedade quelante de metais pesados do clioquinol (sobretudo, de Zn) como parte do seu mecanismo de ação antifúngica, o que ainda é pouco abordado por artigos sobre antimicrobianos.</p> <p>c) Ótima atividade para o clioquinol evidenciada pelos valores de CMI-0 e CMI-2 iguais a 6 mg/L (nesse artigo, sendo o CMI-0 o menor valor necessário para a redução de 95% na bioluminescência da hifa, enquanto o CMI-2, o menor valor para a redução de 50% na bioluminescência da hifa).</p>
Dunmade et al. (2012)	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	a) Paciente de 30 anos apresentando coriza é submetido a polipectomia bilateral nasal e à antrostomia meatal inferior, pelos quais os médicos encontram uma massa pálida, brilhante e materiais acinzentados tanto nas	a) Emprego do clioquinol na prática clínica contra a rinosinusite fúngica, um problema de saúde pública da Nigéria.

Tabela 1. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIFÚNGICO

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		<p>cavidades nasais quanto antral do paciente.</p> <p>c) É feito aspirado das cavidades nasais e antral do paciente e o material é submetido a estudos histopatológicos, os quais revelam infecção por <i>T. mentagrophytes</i>.</p> <p>d) O indivíduo é submetido ao tratamento convencional na região com 250mg diários de terbinafina por duas semanas, sem remissão dos sintomas.</p> <p>e) O paciente é, então, submetido ao tratamento experimental com a combinação de flumetasona e clioquinol, administrado, semanalmente, por meio de lavagens introduzidas via antrostomia.</p> <p>f) Após quatro meses de tratamento, o paciente apresentou remissão completa dos sintomas.</p>	<p>b) Visão global acerca do estudo e emprego da substância, estendida às regiões mais esquecidas do mundo, não reclusa apenas aos polos científicos mundiais.</p>

5.1.2 Atividade Antibacteriana

As buscas nas bases de dados Pubmed, Embase e Web of Science retornaram 6 artigos para a atividade antibacteriana do clioquinol, sendo, portanto, a segunda atividade mais reportada na literatura para a substância. Ao contrário do que se vê para os trabalhos tratando do clioquinol como antifúngico, nos estudos acerca da atividade antibacteriana da substância, notam-se ensaios focados em uma ou poucas espécies de bactérias e, geralmente, explorando mecanismos de resistência bacteriana ao clioquinol, como o trabalho de Blanco, Corona, e Martínez (2018), o qual explorou o efeito do clioquinol na expressão do gene *smeVWX* (codificante de bombas de efluxo e mecanismos de resistência) de *Stenotrophomonas maltophilia* (Tabela 2). Valendo-se da tecnologia Biolog Phenotype Microarrays (a qual combina sequenciamento do rRNA 16S bacteriano com MALDI-TOF), os pesquisadores concluíram que o mecanismo de indução de resistência bacteriana pelo clioquinol é cepa dependente, sendo o composto forte indutor de resistência em apenas uma das cepas estudadas (PBT02) de *S. maltophilia*. De maneira semelhante, tem-se o ensaio de Majumdar *et al.* (2013), o qual estudou o gene *rarA* em *Klebsiella pneumoniae*, codificante de numerosos mecanismos de resistência a múltiplos compostos antimicrobianos. Do experimento, os pesquisadores concluíram que o gene *rarA* confere, às bactérias portadoras, resistência ao clioquinol por aumento da expressão da óxido nítrico sintase, uma vez que o NO atua como atenuante endógeno da ação farmacológica do clioquinol.

Tendo em vista ensaios *in vitro*, Chan, Guo e Burrows (2020) avaliaram a eficácia da associação do clioquinol com a tiostreptona, apostando na capacidade quelante de metais pesados do primeiro composto para otimizar a atividade antibacteriana do segundo composto. Segundo os pesquisadores, o clioquinol, na concentração de 1µg/ml, junto à tiostreptona, inibiu de forma eficaz o crescimento do *A. baumannii*. Nessa mesma linha de estudo, tem-se Magallon *et al.* (2019) também enfatizando a capacidade do clioquinol, bem como da piritiona em complexar-se com íons como Zn⁺² e Cu⁺² como parte da sua atividade antibacteriana, encontrando para o composto uma excelente atividade (CMI= 1,5-2,0 µg/mL) frente às três cepas estudadas de *Acinetobacter baumannii*.

No âmbito das análises retrospectivas, Salah & Faergemann (2015) realizaram um estudo com prontuários de pacientes diagnosticados com dermatite atópica e impetiligo, no Departamento de Dermatologia do Sahlgrenska University

Hospital, apresentando o clioquinol empregado diretamente na prática clínica, no tratamento das referidas patologias (em associação com a betametasona na formulação tópica Betnovat®). Segundo os autores, o efeito sinérgico do composto anti-inflamatório e do composto antimicrobiano, é o que garante à associação Betnovat® o sucesso no tratamento da dermatite atópica e do impetigo. Por fim, tem-se um ensaio randomizado controlado mono-cego de Loock (2012), em que foram incluídos pacientes acima de 6 anos de idade, apresentando sintomas de otorrêia, diagnosticados com Otite Média Crônica, na Clínica Otológica do Hospital de Tygerberg, na África do Sul. No estudo, mesmo a Quadriderm® (betametasona, gentamicina, tolfanato e clioquinol) sendo considerada segunda linha de tratamento para pacientes com otite média crônica, essa se mostrou mais eficaz dentre as opções de tratamento testadas, sendo capaz de promover alívio dos sintomas apresentados pelos pacientes já na primeira aplicação no canal auricular.

Tabela 2. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antibacteriana do clioquinol.

CLIOQUINOL ANTIBACTERIANO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Chan, Guo e Burrows (2020)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii</i>	a) Avaliou-se a capacidade do clioquinol e dos outros antimicrobianos testados de formar complexos com ferro (por adição de FeCl ₃), os quais eram visualizados pela intensidade da coloração vermelha do meio reacional, cuja absorbância foi medida por espectroscopia. b) Por ensaio checkerboard 3D, verificou-se a capacidade do clioquinol, assim como demais antimicrobianos abordados, de sinergizar com a thioestreptona, frente a inóculos de <i>P. aeruginosa</i> e <i>A. baumannii</i> obtidos de isolados clínicos. O mesmo teste foi realizado frente a uma cepa mutante hiper-resistente de <i>P. aeruginosa</i> .	a) Trouxe uma proposta de otimização do perfil antimicrobiano de um composto natural (a tiostreptona), pela combinação com outras moléculas de eficácia e segurança já atestadas. b) Na concentração de 1 µg/mL o clioquinol apresentou forte sinergia com a tiostreptona, inibindo de forma eficaz o crescimento do <i>A. baumannii</i> .
Magallon et al. (2019)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	a) Procedeu-se o ensaio quanto à capacidade de acetilação enzimática por parte das cepas de <i>A. baumannii</i> , utilizando-se o ensaio de ligação ao papel fosfocelulose, com emprego de Acetil Coenzima A e amicacina como substrato para as reações. b) Efetuou-se o ensaio da taxa de inibição de crescimento, de Time-Kill para o clioquinol e a piritona, frente às três cepas de <i>A. baumannii</i> , mas em diferentes concentrações de amicacina, ionóforo e zinco adicionados ao meio reacional. c) Utilizando-se o Kit LIVE/DEAD da Molecular Probes para a determinação da Viabilidade Celular/Citotoxicidade procederam-se os ensaios de	a) Apresenta a capacidade do clioquinol, bem como da piritona em complexar-se com íons como Zn ⁺² e Cu ⁺² , considerando tal propriedade, parte do mecanismo de ação das substâncias. b) Segundo os resultados explicitados pelas curvas de ensaio Time-Kill, bem como de citotoxicidade para o clioquinol e a piritona frente às três cepas testadas de <i>A. baumannii</i> , ambos os compostos se mostraram excelentes candidatos como adjuvantes antimicrobianos na

Tabela 2. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIBACTERIANO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		citotoxicidade para as moléculas avaliadas (em diluições seriadas em DMSO) frente ao <i>A. baumannii</i> .	diminuição da resistência à amicacina. Tal efeito foi potencializado na presença de Zn ⁺² no meio reacional.
Blanco, Corona, e Martínez (2018)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	a) Efetuou-se a caracterização por RCP-TR das cepas PBT02, PBT03 e PBT10 de <i>S. maltophilia</i> , as quais são conhecidas por expressarem o gene <i>smeVWX</i> (codificante de bombas de efluxo e mecanismos de resistência da bactéria). b) Combinando-se o uso da tecnologia Biolog Phenotype Microarrays com a RCP-TR, avaliou-se a capacidade do clioquinol (e outros antimicrobianos) de induzir a expressão do gene <i>smeVWX</i> e conseqüentemente, de canais de efluxo.	a) Revelou que o mecanismo de indução de resistência bacteriana pelo clioquinol é cepa dependente, sendo o composto forte indutor de resistência em apenas uma das cepas estudadas (PBT02) de <i>S. maltophilia</i> .
Salah & Faergeman (2015)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus A</i> <i>Streptococcus B</i> <i>Streptococcus</i>	a) Análise retrospectiva comparativa efetuada em pacientes diagnosticados com dermatite atópica e impetigo, no Departamento de Dermatologia do Sahlgrenska University Hospital, os quais apresentaram swab de pele positivos para <i>S. aureus</i> e <i>Streptococcus</i> spp., no período de 2005 a 2011. b) Esses pacientes foram divididos em 4 grupos, os quais foram comparados em termos de idade, sexo, diagnóstico e escolha de tratamento antimicrobiano. Três grupos contaram com 100 pacientes e um	a) Emprego do clioquinol na prática clínica, no tratamento de dermatite atópica e impetigo (em associação com a betametasona) na formulação tópica Betnovat®, a qual mostrou-se a principal escolha de tratamento tópico para as referidas patologias. b) Segundo o estudo, o efeito sinérgico do

Tabela 2. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIBACTERIANO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	s C <i>Streptococcus</i> s G	grupo com 97 pacientes (obedecendo aos critérios de exclusão).	composto anti-inflamatório e do composto antimicrobiano, faz da formulação Betnovat® a escolha preferível no tratamento de dermatoses infectadas.
Majumdar <i>et al.</i> (2013)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<p>a) Trabalhou-se com duas cepas de <i>K. pneumoniae</i>: uma mutante deletéria para o gene <i>rarA</i> e outra contendo naturalmente o gene <i>rarA</i>.</p> <p>b) Por meio de RCP-TR confirmou-se a integridade do gene <i>rarA</i> para a cepa não deletéria.</p> <p>c) Procedeu-se a curva de crescimento para ambas as cepas de <i>K. pneumoniae</i> na presença de 1% e de 5% de Dodecil Sulfato de Sódio (DSS), e na presença de 60 µg/ml de clioquinol.</p> <p>d) Usou-se o sistema Biolog para a monitoração fenotípica do crescimento das duas cepas estudadas de <i>K. pneumoniae</i>, na presença do clioquinol, do SDS e de outros substratos.</p>	<p>a) Elucidou a regulação do gene <i>rarA</i>, presente em <i>K. pneumoniae</i>, <i>Enterobacter</i> e <i>Serratia proteamaculans</i>, o qual codifica numerosos mecanismos de resistência a múltiplas drogas antimicrobianas.</p> <p>b) Apresentou o possível mecanismo pelo qual o gene <i>rarA</i> confere, às bactérias portadoras, resistência ao clioquinol: aumento da expressão da óxido nítrico sintase, uma vez que o NO atua como atenuante endógeno da ação farmacológica do clioquinol.</p>
Loock (2012)	<i>Proteus ssp.</i> <i>Pseudomonas</i> s	a) O experimento consistiu em um ensaio randomizado controlado mono-cego, seguindo os guias do grupo CONSORT (http://www.consort-statement.org).	a) Mesmo a Quadriderm® sendo considerada segunda linha de tratamento para pacientes com otite média crônica, essa se mostrou mais eficaz

Tabela 2. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIBACTERIANO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<p>b) Foram incluídos no estudo pacientes acima de 6 anos de idade, com sintomas de otorréia, diagnosticados com Otite Média Crônica, na Clínica Otológica do Hospital de Tygerberg (África do Sul), sendo esses divididos em 3 grupos de 45 pacientes.</p> <p>c) A randomização foi gerada via programa de computador (<i>Randomisation.com</i>), por meio do qual o farmacêutico era orientado a dispensar envelopes numerados (contendo o tratamento), de acordo com a sequência randomizada gerada pelo computador. Obedecendo tal sequência, os enfermeiros administravam o tratamento contido em cada envelope aos participantes do estudo.</p> <p>d) Os tratamentos avaliados incluíram ácido acético 1%, ácido bórico (50g), Quadriderm® (pomada composta de valerato de betametasona, sulfato de gentamicina, tolnaftato e clioquinol).</p>	dentre as opções de tratamento testadas, sendo capaz de promover alívio dos sintomas apresentados pelos pacientes já na primeira aplicação no canal auricular.

5.1.3 Atividade Antiparasitária

A atividade antiparasitária do clioquinol retornou um total de 6 artigos das pesquisas nas bases de dados anteriormente citadas, sendo, portanto, tão reportada quanto a atividade antibacteriana do fármaco.

Dentre os estudos tratando da atividade antiparasitária do clioquinol, destacam-se o de Jong *et al.* (2014), que traz o emprego da substância frente à *Dientamoeba fragilis* (Tabela 3), protozoário o qual estima-se responsável pela maior parte dos casos de dores abdominais crônicas ou recorrentes em crianças em idade escolar, nos EUA e na Europa (Jong *et al.*, 2014). Em contrapartida, tem-se os estudos de Souza *et al.* (2019) e Tavares *et al.* (2018), acrescentando dados fundamentais acerca da atividade antiparasitária do clioquinol frente a diferentes espécies de *Leishmania*, conhecido agente etiológico de uma doença tropical negligenciada de extremo impacto na América Latina, quer pela severidade dos sintomas causados nos pacientes afetados, bem como pelo número de reservatórios vertebrados que o agente etiológico possui (Moya-Salazar *et al.*, 2021).

O estudo de Jong *et al.* (2014) consistiu de uma análise retrospectiva, revisando-se prontuários de pacientes admitidos em dois diferentes hospitais dos Países Baixos, os quais apresentavam dor abdominal crônica, um grupo, constando de pacientes admitidos no Hospital Jeroen Bosch, diagnosticados com infecção por *D. fragilis*, por reação em cadeia da polimerase (RCP) de amostras de fezes; já o grupo controle, constando de pacientes admitidos no Hospital Psiquiátrico de Herlaarhof, os quais também tiveram suas amostras fecais avaliadas por RCP para descarte de infecção por *D. fragilis*. Do trabalho, os autores concluíram que o clioquinol foi capaz de melhorar os sintomas de 62,5% dos pacientes tratados, assim como para 75% dos pacientes não foi detectado a presença de *D. fragilis* após o tratamento com o clioquinol. Embora esses resultados sejam promissores, o emprego do clioquinol frente à parasitoses ainda deve ser considerado com cautela, dados os efeitos adversos já conhecidos para a substância (Hunsel, Nieuwkoop e Stricker, 2017). Outro estudo retrospectivo foi o trabalho do grupo Schierenberg *et al.* (2018), o qual analisou prontuários de pacientes admitidos em diversos serviços de saúde dos Países Baixos com o diagnóstico de gastroenterite (cuja suspeita diagnóstica foi confirmada por RCP de amostras fecais). De acordo com os autores, em 5,3% dos casos de gastroenterites tratadas com o uso de antimicrobianos, o clioquinol apareceu associado ao emprego do metronidazol. Embora o clioquinol não esteja mais disponível para uso sistêmico,

ainda é utilizado em alguns países como a Holanda como medicamento manipulado no tratamento de amebíases e infecções por *Dientamoeba fragilis* seguindo rigorosas recomendações para prevenir a deposição de clioquinol no organismo dos pacientes (Hunsel, Nieuwkoop e Stricker, 2017).

Souza *et al.* (2019) averiguou a atividade antiparasitária do clioquinol frente à *Leishmania amazonensis* e à *Leishmania infantum*, encontrando excelentes atividades antileishmania *in vitro* (EC₅₀) (Tabela 3) frente a formas promastigotas de *L. amazonensis* ($2,41 \pm 0,28\mu\text{M}$) e de *L. infantum* ($0,38 \pm 0,13\mu\text{M}$), bem como frente às formas amastigotas axênicas dos parasitos ($1,03 \pm 0,22\mu\text{M}$, para *L. amazonensis*; $0,98 \pm 0,15\mu\text{M}$, para *L. infantum*). Os pesquisadores também determinaram alto índice de seletividade, quer para as formas promastigota (77,63) e amastigota axênica (270,16) de *L. amazonensis*, assim como para as formas promastigota (137,81) e amastigota axênica (168,0) de *L. infantum*. Em uma abordagem semelhante, Tavares *et al.* (2018) também encontrou fortes atividades antileishmania *in vitro* (EC₅₀) frente a formas promastigotas de *L. amazonensis* ($2,55 \pm 0,25\mu\text{g/mL}$) e de *L. infantum* ($1,44 \pm 0,35\mu\text{g/mL}$), bem como frente às formas amastigotas axênicas dos parasitos ($1,88 \pm 0,13\mu\text{g/mL}$, para *L. amazonensis*; $0,98 \pm 0,17\mu\text{g/mL}$, para *L. infantum*). O grupo ainda encontrou alta seletividade para o clioquinol quer para as formas promastigota (99,9) e amastigota axênica (135,6) de *L. amazonensis*, assim como para as formas promastigota (177,1) e amastigota axênica (260,1) de *L. infantum*. Diferentemente do estudo anterior, nesse trabalho, determinaram-se os percentuais de infecção de macrófagos murinos por células promastigotas pré-tratadas com clioquinol os quais variaram de $16,5\% \pm 3,5\%$ para *L. amazonenses* e de $19,8\% \pm 1,9\%$ *L. infantum*. Em um trabalho subsequente, Tavares *et al.* (2020) buscaram determinar a otimização da atividade antiparasitária do clioquinol, incluindo-se a substância em um sistema micelar Pluronic® F127. Nesse estudo, o grupo evidenciou produção maior de IL-4, IL-10 e IFN- γ por parte de animais infectados com *L. infantum*, os quais foram tratados com clioquinol, em comparação aos animais controle (os quais receberam solução salina) e os animais que receberam os micélios vazios. Incorporado ao sistema micelar Pluronic® F127, o clioquinol teve a maior atividade antileishmania (evidenciado pelas quantidades maiores de IL-4, IL-10 e IFN- γ produzidos pelos animais tratados) superior a todos os outros tratamentos administrados. Com o clioquinol incorporado ao sistema micelar, a quantidade de nitritos produzidas pelos

animais submetidos a essa forma de tratamento foi maior em relação à produção de nitrito pelos animais submetidos a outras formas de tratamento.

Tabela 3. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antiparasitária do clioquinol.

CLIOQUINOL ANTIPARASITÁRIO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Tavares <i>et al.</i> (2020)	<i>Leishmania infantum</i>	<p>a) Ratos fêmeas BALB/c (n=60), infectados com formas promastigotas de <i>L. infantum</i>, por injeção subcutânea, foram divididos em cinco grupos. O grupo 1 (controle) recebeu solução salina por via subcutânea; o grupo 2 recebeu micélios Pluronic® F127 vazios; o grupo 3 recebeu miltefosina; o grupo 4 recebeu clioquinol; por fim, o grupo 5 recebeu clioquinol incorporado ao sistema micelar Pluronic® F127.</p> <p>b) Metade dos animais foram eutanasiados 15 dias após o tratamento, para a avaliação dos parâmetros parasitológicos e imunológicos.</p> <p>c) Investigou-se o parasitismo no baço, fígado, medula óssea dos animais pertencentes a cada um dos cinco grupos, pelo método da diluição.</p> <p>d) Avaliou-se a carga parasitária no baço dos animais por RCP-TR.</p> <p>e) Determinou-se o perfil de citocinas exibido pelas células T CD4+ e CD8+ dos animais pertencentes aos diferentes grupos, por citometria de fluxo.</p> <p>f) Quantificou-se o IgG1 e IgG2a anti-<i>L. infantum</i> produzidos pelos animais por ELISA de modo a determinar-se a resposta humoral nos animais.</p>	<p>a) O Clioquinol exibiu uma maior atividade antileishmania, evidenciada pelas quantidades maiores de IL-4, IL-10 e IFN-γ produzidos pelos animais tratados, em relação aos animais controle e os tratados apenas com micélios vazios.</p> <p>b) Incorporado ao sistema micelar Pluronic® F127, o clioquinol teve a maior atividade antileishmania (evidenciado pelas quantidades maiores de IL-4, IL-10 e IFN-γ produzidos pelos animais tratados) superior a todos os outros tratamentos administrados.</p> <p>c) As quantidades de nitritos produzidas pelos animais também foram maiores nos grupos tratados com clioquinol e com o composto incorporado ao sistema micelar, em relação aos outros tratamentos administrados no experimento.</p>
Nunes <i>et al.</i>	<i>Plasmodium</i>	a) Selecionou-se alvos moleculares, cujas estruturas tridimensionais foram	a) Apresentou o clioquinol como composto

Tabela 3. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIPARASITÁRIO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
(2019)	<i>falciparum</i>	<p>obtidas a partir da base PDB, digitando-se a palavra-chave “<i>Plasmodium falciparum</i>”.</p> <p>b) Por meio da plataforma TDR Targets, estudou-se a capacidade dos compostos avaliados em ligar-se com alta afinidade aos alvos moleculares de <i>P. falciparum</i> previamente selecionados.</p> <p>c) Por fim, analisou-se dados do banco BraMMT, a fim de obter-se uma lista de compostos antimaláricos aprovados pela World Health Organization (WHO). Com o auxílio do software OCTOPUS engine, realizou-se a predição dos corretos alvos moleculares para os compostos oriundos da base mencionada.</p>	<p>extremamente ativo e seletivo contra <i>P. falciparum in vitro</i>, com uma CI_{50} (Concentração Inibitória para 50% das Células) de $0,56 \mu\text{M}$ e um alto Índice de Seletividade (IS) de 178,6.</p> <p>b) A taxa de inibição cristalográfica de $-12,75 \text{ kcal/mol}$ sugere que o clioquinol também é um potencial inibidor de protease em <i>P. falciparum</i>.</p>
Souza <i>et al.</i> (2019)	<i>Leishmania amazonensis</i> <i>Leishmania infantum</i>	<p>a) Determinou-se a Concentração Eficaz para 50% do Efeito Máximo (CE_{50}) para o clioquinol e a anfotericina B frente a formas promastigotas e amastigotas axênicos de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>, via método do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio].</p> <p>b) Aferiu-se a citotoxicidade do clioquinol, bem como da anfotericina B frente a macrófagos murinos e a eritrócitos humanos, determinando-se a Concentração Citotóxica 50% (CC_{50}), bem como a Concentração Inibitória sobre 50% das Células Vermelhas do Sangue (RBC_{50}), para cada uma das substâncias.</p>	<p>a) O clioquinol apresentou excelentes atividades antileishmania <i>in vitro</i> (CE_{50}) frente a formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> ($2,41 \pm 0,28 \mu\text{M}$) e de <i>L. infantum</i> ($0,38 \pm 0,13 \mu\text{M}$), bem como frente às formas amastigotas axênicas dos parasitos ($1,03 \pm 0,22 \mu\text{M}$, para <i>L. amazonensis</i>; $0,98 \pm 0,15 \mu\text{M}$, para <i>L. infantum</i>).</p> <p>b) O clioquinol também exibiu baixa toxicidade frente a macrófagos murinos ($CC_{50} 148,94 \pm$</p>

Tabela 3. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIPARASITÁRIO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		<p>c) Avaliou-se a eficácia dos compostos estudados frente a macrófagos infectados com <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>, contando-se, por microscopia óptica, o número de formas amastigotas por célula infectada.</p> <p>d) Estudou-se a eficácia do clioquinol e da anfotericina B em ratos infectados subcutaneamente com formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i>.</p> <p>e) Investigou-se a resposta imune, tanto dos animais tratados com as substâncias teste, quanto do grupo controle positivo (injeção salina subcutânea), determinando-se a quantidade de IgG1 e IgG2a antileishmania em células do baço de ambos os grupos de animais.</p> <p>f) Avaliou-se a toxicidade orgânica das substâncias teste, via monitoramento das funções renal e hepática tanto dos animais tratados, quanto do grupo controle positivo.</p>	<p>10,12 µM) e frente a eritrócitos humanos (RBC₅₀ 1409,85 ± 64,35 µM), bem como alto índice de seletividade, quer para as formas promastigota (77,63) e amastigota axênica (270,16) de <i>L. amazonensis</i>, assim como para as formas promastigota (137,81) e amastigota axênica (168,0) de <i>L. infantum</i>.</p>
Schierenberg et al. (2018)	<i>Blastocystis hominis</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Dientamoeba fragilis</i>	<p>a) O trabalho contou com uma análise retrospectiva de dados de pacientes atendidos por clínicos gerais, em diversos serviços de atenção primária à saúde, dos Países Baixos, via Julius General Practitioner Network (JGPN), um sistema de registro eletrônico de prontuários adotado no país.</p> <p>b) Os pesquisadores realizaram uma busca por prontuários de pacientes diagnosticados com gastroenterite, cujo diagnóstico foi posteriormente</p>	<p>a) Intervenções terapêuticas empregadas na prática clínica e sua taxa de eficácia.</p> <p>b) Em 5,3% dos casos de gastroenterites tratadas com o uso de antimicrobianos, o clioquinol apareceu associado ao emprego do metronidazol.</p>

Tabela 3. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIPARASITÁRIO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> <i>Giardia</i> spp.	confirmado via diagnóstico molecular em exames de fezes, nos anos de 2013 a 2014. c) Foram coletadas informações de cada paciente como idade, gênero, número de atendimentos médicos por episódio, comorbidades, desordens imunossupressoras ou ocorrência de terapia imunossupressora. d) Por último, averiguou-se o tipo de terapia que foi administrada para cada paciente diagnosticado com gastroenterite, o qual constou de agentes antibióticos, antimicrobianos ou antiparasitários, tendo em conta a causa apontada pelo diagnóstico molecular de fezes e a gravidade do caso em questão.	
Tavares et al. (2018)	<i>Leishmania amazonensis</i> <i>Leishmania infantum</i>	a) Cepas representativas de <i>Leishmania amazonensis</i> e <i>Leishmania infantum</i> foram cultivadas em meio Schneider e posteriormente identificadas por microscopia óptica via coloração Giemsa. b) A inibição do crescimento in vitro de ambas as espécies do parasito foi avaliada na presença de clioquinol (0–20,0 µg/mL), quer para suas formas promastigotas e amastigotas axênicas, via método MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]. c) Aferiu-se a citotoxicidade do clioquinol, bem como da anfotericina B frente a macrófagos murinos e a eritrócitos humanos, determinando-se a	a) O clioquinol apresentou excelentes atividades antileishmania <i>in vitro</i> (CE ₅₀) frente a formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> (2,55 ± 0,25 µg/mL) e de <i>L. infantum</i> (1,44 ± 0,35 µg/mL), bem como frente às formas amastigotas axênicas dos parasitos (1,88 ± 0,13 µg/mL, para <i>L. amazonensis</i> ; 0,98 ± 0,17 µg/mL, para <i>L. infantum</i>). b) O clioquinol também exibiu baixa toxicidade

Tabela 3. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIPARASITÁRIO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		Concentração Citolóxica 50% (CC ₅₀), bem como a RBC ₅₀ (Concentração Inibitória sobre 50% das Células Vermelhas do Sangue), para cada uma das substâncias.	frente a macrófagos murinos (CC ₅₀ 254,90 ± 22,60 µg/mL) e frente a eritrócitos humanos (RBC ₅₀ 488,90 ± 19,50 µg/mL), bem como alto
		d) Avaliou-se a inibição da infecção em macrófagos murinos utilizando-se formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> pré-incubadas com clioquinol e anfotericina B.	índice de seletividade, quer para as formas promastigota (99,9) e amastigota axênica (135,6) de <i>L. amazonensis</i> , assim como para as formas
		e) Observou-se o efeito das substâncias testadas sobre a morfologia e o volume celular, bem como sobre a função mitocondrial de células promastigotas de <i>L. amasonensis</i> .	promastigota (177,1) e amastigota axênica (260,1) de <i>L. infantum</i> .
		f) Estudou-se a toxicidade <i>in vivo</i> do clioquinol em ratos BALB/c, monitorando-se as funções cardíaca, hepática e renal dos animais.	c) Os percentuais de infecção de macrófagos murinos por células promastigotas pré-tratadas com clioquinol de <i>L. amazonenses</i> e <i>L. infantum</i> foram 16,5% ± 3,5% e 19,8% ± 1,9%, respectivamente.
			d) Em uma dosagem subcutânea de 50 mg/kg/dia, durante 10 dias, o clioquinol não provocou alteração significativa das funções cardíaca, hepática e renal dos ratos BALBc testados.
Jong <i>et al.</i>	<i>Dientamoeba</i>	a) O trabalho consistiu de um estudo de análise retrospectiva, revisando-	a) O clioquinol foi capaz de melhorar os sintomas

Tabela 3. (Continuação)

CLIOQUINOL ANTIPARASITÁRIO			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
(2014)	<i>fragilis</i>	<p>se prontuários de pacientes admitidos em dois diferentes hospitais dos Países Baixos, os quais apresentavam dor abdominal crônica.</p> <p>b) De Abril de 2011 a Abril de 2013, um total de 132 pacientes com dor abdominal crônica, de 8 a 18 anos de idade, admitidos no Hospital Jeroen Bosch, foram diagnosticados com infecção por <i>D. fragilis</i>, por RCP de amostras de fezes.</p> <p>c) No grupo controle, incluiu-se 77 pacientes de 8-18 anos de idade, admitidos no Hospital Psiquiátrico de Herlaarhof, os quais também tiveram suas amostras fecais avaliadas por RCP (reação em cadeia da polimerase) para descarte de infecção por <i>D. fragilis</i>.</p> <p>d) No grupo positivo para <i>D. fragilis</i>, determinou-se a capacidade do metronidazol e do clioquinol em erradicar a infecção pelo parasito (avaliado por RCP das amostras fecais de pacientes).</p>	<p>de 62.5% dos pacientes tratados, assim como de erradicar por completo a infecção por <i>D. fragilis</i> (75% dos pacientes), dois meses após o tratamento ter sido finalizado.</p>

5.1.4 Atividade Antiviral

Em um contexto de pandemia por SARS-CoV-2, desde o ano de 2020, em que se acirrou a corrida por substâncias capazes de conter o avanço do vírus, surgem Olaleye *et al.* (2021), os quais ousaram aventurar-se em uma propriedade pouco explorada para o clioquinol: a antiviral. Os autores testaram o clioquinol e outros análogos frente à infecção por SARS-CoV-2 em células Vero E6, oriundas de macacos verdes africanos (Tabela 4), por método combinando luminescência com triagem de alto desempenho (HTS). O grupo também observou o efeito do clioquinol e de compostos análogos sobre a interação da proteína humana receptora ACE2 com a proteína receptora viral Spike, oriunda do SARS-CoV-2, utilizando-se ensaio ELISA modificado. No estudo, os pesquisadores encontraram potente atividade antiviral para o clioquinol, evidenciada pelo IC₅₀ de 12,62 µM, na triagem celular de alto desempenho, frente ao SARS-CoV-2. A substância ainda revelou-se capaz de inibir eficazmente a atividade exopeptidase da proteína receptora humana ACE2, evidenciado pelo valor IC₅₀ 5.36 µM. Não uma cura definitiva, tampouco uma "saída milagrosa", mas certamente uma substância promissora para ser investigada em modelos *in vivo* para tratamento de infecções por SARS-CoV-2 (OLALEYE et al., 2021).

Tabela 4. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antiviral do clioquinol.**CLIOQUINOL ANTIVIRAL**

Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Olaleye <i>et al.</i> (2021)	SARS-CoV-2	<p>a) Aferiu-se a eficácia do clioquinol e análogos frente à infecção por SARS-CoV-2 em células Vero E6, oriundas de macacos verdes africanos, por método combinando luminescência com triagem de alto desempenho (HTS).</p> <p>b) Avaliou-se o efeito citotóxico do Clioquinol e de seus derivados sobre células Vero E6, empregando-se Ensaio Luminescente de Viabilidade Celular Cell Tilter-Glo.</p> <p>c) Determinou-se o efeito do clioquinol e de substâncias derivadas sobre a atividade exopeptidase da proteína ACE2, empregando-se um ensaio fluorométrico adaptado.</p> <p>d) Observou-se o efeito do clioquinol e de compostos análogos sobre a interação da proteína humana receptora ACE2 com a proteína receptora viral Spike, oriunda do SARS-CoV-2, utilizando-se ensaio ELISA modificado.</p>	<p>a) O clioquinol exibiu potente atividade antiviral, evidenciada pela CI_{50} de 12,62 μM, na triagem celular de alto desempenho, frente ao SARS-CoV-2.</p> <p>b) No ensaio luminescente de viabilidade celular, o clioquinol apresentou $CC_{50} >30 \mu$M, bem como mínima viabilidade celular de 61,83%, denotando baixa citotoxicidade.</p> <p>c) O clioquinol também se mostrou capaz de inibir eficazmente a atividade exopeptidase da proteína receptora humana ACE2, evidenciado pelo valor CI_{50} 5,36 μM.</p>

5.1.5 Atividade Antipriônica?

As doenças priônicas incluem um grupo de doenças neurodegenerativas fatais, as quais afetam humanos e animais, sendo causadas por partículas proteicas infecciosas resistentes à inativação por muitos procedimentos que modificam ácidos nucleicos, partículas essas, conhecidas como "príons" (Mustazza et al., 2020). O grupo Mustazza et al. (2020) trouxe à luz uma série de dados concernentes a pequenas moléculas com atividade antipriônica, compostos esses capazes de aumentar a taxa de sobrevivência de modelos animais infectados com príons. Em um desses trabalhos, o clioquinol, aliado à sua capacidade quelante de Cu/Zn mostrou-se capaz de estender o tempo de sobrevivência de animais infectados com príons em 60% (Mustazza et al., 2020, p. 5453, apud Ponti et al., 2004, p. 307). Isso se deve ao fato de que as proteínas priônicas desempenham um importante papel no metabolismo do cobre, o qual também está relacionado à atividade superóxido dismutase. Os autores esperam com o estudo, estimular o surgimento de mais ensaios in vitro com novas moléculas que tenham atividade antipriônica, afinal, muitos são os tipos de príons e diversos são os seus sítios de ligação, o que faz com que poucos compostos chegam à fase de ensaios clínicos. O clioquinol apresentou boa atividade antipriônica em potencial, no estudo abordado. Espera-se no futuro, o surgimento de mais estudos para atividade antipriônica da substância e de seus derivados, na medida em que cresce o conhecimento acerca de alvos moleculares (mais precisamente, genes codificantes de proteínas priônicas em potencial) (Mustazza et al., 2020).

5.1.6 Dados Toxicológicos para o Clioquinol

Em meados dos anos de 1958 até 1970, pacientes japoneses eram acometidos pela Neuropatia Mielo-óptica Subaguda (SMON), uma doença que se iniciava pela dor abdominal e diarreia e terminava com degeneração dos nervos periféricos, levando a sérios comprometimentos da visão, da comunicação e da locomoção dos pacientes. Intoxicação com pesticidas, desordens metabólicas, deficiências de vitaminas, infecções bacterianas e virais, muitas eram as hipóteses de confundiam os médicos. Entretanto, descobriu-se que apenas pacientes fazendo uso do clioquinol desenvolviam a doença e, posteriormente, associou-se a capacidade do clioquinol em quelar metais pesados, como o Fe(III) como uma das possíveis causas por trás do desencadeamento da SMON (Perez, Sklar e Chigaeiev, 2019). Embora a

patofisiologia da SMON não esteja completamente elucidada (mesmo após quatro décadas de descontinuação do clioquinol no Japão), observou-se que os sintomas de SMON eram mais severos e ocorriam com maior frequência em pacientes com deficiência natural de zinco ou com deficiência natural de vitamina B12. Havendo condições fisiológicas e genéticas para a predisposição aos efeitos indesejados do clioquinol, poderia se utilizar o clioquinol com bastante cautela mediante monitoramento dos níveis séricos de íons metálicos e administração concomitante com antioxidantes desde que haja indicação das agências de vigilância sanitária neste sentido. (Leuci et al., 2020).

O estudo de Kawamura *et al.* (2014) buscou desvendar o mecanismo molecular por trás da neurotoxicidade do clioquinol, empregando a linhagem celular humana SH-SY5Y (neuroblastoma). As descobertas mais importantes obtidas pelos autores, foram: a) A indução de morte celular apoptótica, bem como o aumento intracelular de espécies reativas de oxigênio (ROS) promovidos pelo clioquinol; b) Inibição da atividade enzimática da superóxido-dismutase-1 (SOD1). Entretanto, em um mecanismo de feedback, a SOD1 exógena revelou-se capaz de reduzir a produção de ROS e otimizar a viabilidade de células tratadas com o clioquinol (Kawamura et al., 2014). Em uma abordagem semelhante, Kuru (2021) enfatizou as semelhanças entre a SMON e a mielopatia por deficiência de cobre, ressaltando que o cobre é o principal cofator da enzima superóxido-dismutase-1 (SOD1) e que o clioquinol, ao quelar o Cu, promoveria a deposição intracelular de Zn nas células neuronais. Somado a esse fator, o autor levanta a possibilidade de polimorfismo da enzima NADH quinona oxidorrredutase (NQO1) entre a população japonesa, o que, embora não se encontra completamente elucidado, explicaria o motivo pelo qual a SMON ocorreu praticamente apenas no Japão (Kuru, 2021). Fukui et al. (2015) observaram que na concentração de 1µM o clioquinol reduziu os níveis de histona acetilada, bem como de inibidores de histona deacetilase (HDAC), em células PC12. Em contrapartida, o clioquinol aumentou os níveis de alfa-tubulina acetilada, assim como de inibidor da HDAC, de modo a reduzir as mudanças morfológicas e a morte de células neuronais promovidas pela substância (Fukui et al., 2015).

Em uma análise retrospectiva de dados do Centro Holandês de Informação em Envenenamentos (DPCI), Van Velzen & De Vries (2017) revelaram que o órgão recebeu um total de 51 ocorrências, entre 2011 e 2015, tratando da exposição oral ao clioquinol. Entretanto, os pesquisadores averiguaram que 50 desses pacientes haviam

se intoxicado com a substância em decorrência de erros na administração do medicamento, sendo, a maioria desses pacientes ($n=25$), pertencentes à faixa etária de 0-4 anos, seguidos por pacientes entre 5-12 anos ($n=17$) e por adultos ($n=8$). Quanto à origem dos erros de medicação, averiguou-se que 32 casos foram causados por cuidadores/responsáveis pelo paciente, 7 casos foram causados pelos próprios pacientes, 6 casos foram causados por médicos 4 casos foram causados por farmacêuticos, e 1 caso pode ter sido causado por um médico ou um farmacêutico. O estudo postulou que os erros causados pelos próprios pacientes ou responsáveis, deveram-se à administração de superdosagens, em alguns casos, cerca de dez vezes maior do que a dosagem recomendada; enquanto que os erros causados pelos médicos ou farmacêuticos foram originados por erros na dose prescrita ou na leitura do rótulo. Dos 51 pacientes atendidos pelo DPCI, 7 pacientes apresentaram sinais de neurotoxicidade (tontura, disartria). Por fim, o trabalho conclui que muitos dos casos de intoxicação com clioquinol decorrem de superdosagens e que para prevenir efeitos adversos graves, como a neurotoxicidade, é necessário um trabalho atencioso por parte de profissionais da saúde em instruírem pacientes e cuidadores acerca da forma correta de tomar o medicamento, bem como uma atuação efetiva de farmacêuticos de modo a evitar erros de prescrição (Van Velzen e De Vries, 2017).

5.2 Nitroxolina

5.2.1 Atividade Antifúngica

Candida auris é uma espécie emergente que rapidamente vem se espalhando ao redor do mundo, causando muitas infecções nosocomiais e trazendo um dilema trabalhoso a médicos, no que tange a resistência a múltiplos antifúngicos. Dentro desse contexto, Fuchs *et al.* (2021) realizaram o teste de susceptibilidade de 35 isolados fúngicos de *C. auris* à nitroxolina e mais 4 antifúngicos (fluconazol, voriconazol, anfotericina B e anidulafungina) empregados para comparação (Tabela 5). No estudo, os autores encontraram CMI para a nitroxolina na faixa de 0,125 a 1mg/L, o que denota excelente atividade antifúngica da nitroxolina frente às cepas de *C. auris* empregadas, as quais exibiram resistência a vários antifúngicos.

Outro estudo a abordar a atividade antifúngica da nitroxolina foi o de Cherdtrakulkiat *et al.* (2016), em que a CMI da nitroxolina foi determinada frente a *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*, obtendo-se o valor de 42,07 μ M para ambas espécies de fungos (um indicativo de moderada atividade antifúngica). Uma

comparação dos resultados obtidos por Fuchs *et al.* (2021) com os exibidos por Cherdtrakulkiat *et al.* (2016) permite inferir, portanto, que a atividade antifúngica da nitroxolina é espécie-dependente. Em adição, o fato de a nitroxolina ser um fármaco aprovado pela FDA (Food and Drugs Administration) facilitará futuros ensaios clínicos com uso da substância para manejo de infecção ou colonização do trato urinário não apenas por *C. auris*, mas por outras espécies de fungos (Fuchs *et al.*, 2021).

Tabela 5. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antifúngica da nitroxolina.

NITROXOLINA ANTIFÚNGICA			
Referência	Espécies(s)	Metodologia	Achados
Fuchs <i>et al.</i> (2021)	<i>Candida auris</i>	<p>a) Determinou-se a susceptibilidade de 35 isolados clínicos de <i>C. auris</i> frente à nitroxolina, ao fluconazol, ao voriconazol, à anfotericina B e à anidulafungina, via método da microdiluição preconizado pela EUCAST.</p> <p>b) De forma semelhante, determinou-se a susceptibilidade dos isolados de <i>C. auris</i> frente à nitroxolina e demais 4 antifúngicos, via método da disco difusão.</p>	<p>a) Atividade antifúngica cepa-dependente para a nitroxolina.</p> <p>b) A nitroxolina apresentou uma boa atividade antifúngica frente aos diferentes isolados de <i>C. auris</i> (CMI= 0.125-1 mg/L).</p>
Cherdtrakul kiat <i>et al.</i> (2016)	<i>Candida albicans</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<p>a) Determinou-se a atividade antimicrobiana da nitroxolina e de oito derivados da 8-hidroxiquinolina, frente aos microrganismos previamente mencionados, utilizando-se o método da diluição em ágar.</p> <p>b) Procedeu-se o ensaio do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) de modo averiguar a atividade antioxidante da nitroxolina e demais compostos testados.</p> <p>c) Efetuou-se o ensaio de citotoxicidade para a nitroxolina e demais substâncias estudadas empregando-se o método de redução do MTT (brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio).</p>	<p>a) A nitroxolina também apresentou boa atividade antifúngica, evidenciado pelo valor de CMI= 42,07 μM tanto para <i>C. albicans</i> quanto para <i>S. cerevisiae</i>.</p>

5.2.2 Atividade Antibacteriana

Diferentemente do ocorrido para o cloiquinol, a atividade melhor reportada na literatura para a nitroxolina foi a atividade antibacteriana, constando de um total de 14 artigos oriundos das bases de dados Pubmed, Embase e Web of Science. Porém, de forma semelhante ao ocorrido para a atividade antifúngica do cloiquinol, os artigos tratando da atividade antibacteriana da nitroxolina dividem-se em artigos focados em um ou poucos microrganismos, como o de Ancuta, Gorea e Avram (2016), o de Fuchs *et al.* (2019) e o de Kresken e Körber-Irrgang (2013), bem como artigos investigando o espectro de ação da substância frente a diversos microrganismos, como o de Cherdtrakulkiat *et al.* (2016) e Kudera *et al.* (2020).

Empregando o método da microdiluição em caldo, Abouelhassan *et al.* (2017) mediram as concentrações inibitórias mínimas (CMI) frente a distintas espécies de bactérias (Tabela 6) e, valendo-se do dispositivo de Calgary, posteriormente aferiram a concentração mínima para a erradicação de biofilme (CMEB). Os autores encontraram uma atividade antibacteriana de amplo espectro para a nitroxolina, com CMI de 4,69-6,25 μM para *A. baumannii*, 12,5 μM para *E. coli*, 9,38-25 μM para *S. aureus*, 18,8 μM para *S. epidermidis*. Quanto à erradicação de biofilmes, a nitroxolina foi mais ativa contra biofilmes de *A. baumannii* (CMEB= 46,9-62,5 μM) e *E. coli* (MBEC= 62,5 μM), do que para biofilmes formados pelas demais espécies bacterianas. Em um estudo semelhante, Cherdtrakulkiat *et al.* (2016) obteve os CMI de 42,07 μM para *S. aureus* e *S. epidermidis*, 21,03 μM para *Escherichia coli*, e 84,14 μM para *Pseudomonas aeruginosa*, bem como para *Klebsiella pneumoniae*. Em abordagem semelhante, Cherdtrakulkiat *et al.* (2019) investigou o efeito da presença de íons metálicos sobre a atividade antimicrobiana da nitroxolina. Os autores concluíram que Cu^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} causaram redução de atividade, enquanto Ca^{2+} , Mg^{2+} e Mn^{2+} não exerceram efeito sobre a atividade antibacteriana do composto. Em adição, o grupo encontrou um valor de $\text{CMI}_{50} = 42,07 \mu\text{M}$ para a nitroxolina frente à uma cepa multirresistente de *E. coli*. Em um trabalho que determinou CMI da nitroxolina frente a bactérias produtoras de carbapenemases, Fuchs e Hamprecht (2019) obtiveram valores de CMI entre 2-8mg/L para *E. coli*, entre 2-32mg/L para *K. pneumoniae* e entre 8-16mg/L para *P. mirabilis*. Para as demais espécies bacterianas empregadas no estudo (Tabela 6), o CMI variou entre 1-32mg/L. Wagenlehner *et al.* (2013) realizaram um estudo comparativo, envolvendo pacientes admitidos por infecção urinária em um

hospital de Munique (Alemanha) e pacientes saudáveis, os quais receberam nitroxolina a uma concentração de 200mg diários, de modo a testar a eficácia terapêutica do composto frente às espécies bacterianas isoladas da urina dos pacientes (Tabela 6). No trabalho, a nitroxolina apresentou valores de CMI de 2-4 mg/L para *E. coli*, de 4mg/L para *K. pneumoniae* e de 8mg/L para *P. mirabilis* e *S. saprophyticus*. Kresken e Körber-Irrgang (2013) determinou a atividade *in vitro* da nitroxolina frente a 499 isolados de *E.coli*, oriundos de amostras de urina provenientes de diferentes hospitais alemães. No estudo, a nitroxolina apresentou um perfil de atividade constante entre as diferentes cepas isoladas de *E. coli*, evidenciado pelo CMI₅₀=2mg/L e pelo CMI₉₀=4mg/L. Kudara *et al.* (2020) avaliou os CMIs da nitroxolina frente a cepas representativas de 17 espécies bacterianas (Tabela 6), via método da microdiluição em caldo. Os autores obtiveram fortes atividades inibidoras de crescimento bacteriano (CMIs = 2–4 µg/mL) contra *B. cereus*, *Clostridium spp.*, *E. coli*, e *S. flexneri*. Principe *et al.* (2020) determinaram a CMI para a nitroxolina frente às espécies bacterianas mencionadas na Tabela 6, utilizando-se o método da microdiluição em caldo. Em adição, os pesquisadores testaram a substância frente a larvas de *Galleria mellonella*, de modo a aferir a toxicidade do composto no modelo animal. Como resultados, o grupo obteve valores de CMI de 1-4mg/L para todas as espécies bacterianas, exceto para *K. pneumoniae*, contra a qual o teste de disco-difusão acusou inatividade. Inoculada em larvas de *G. mellonella*, na concentração de 128mg/L a nitroxolina não resultou em aumento na densidade de hemócitos, em relação ao controle larval, o que denota baixa toxicidade. Somado a esse resultado, nitroxolina apresentou intrínseca atividade antibacteriana *in vivo*, aumentando o tempo de sobrevivência das larvas (exceto quando infectadas com *K. pneumoniae*) para além de 120 horas. Sobke *et al.* (2018) realizou o teste de susceptibilidade à nitroxolina, frente às cepas representativas das espécies bacterianas mencionadas na Tabela 6, combinando a metodologia do sistema VITEK®2 com dupla disco-difusão. Entre cepas suscetíveis das bactérias estudadas, a nitroxolina apresentou CMIs na faixa de 1–32mg/L para *E. coli*, 2–32mg/L para *K. pneumoniae*, 1–16mg/L para *S. aureus* e 4–32mg/L para *E. faecium*. Já para cepas resistentes, esses valores foram de 2–64mg/L para *E. coli* e para *K. pneumoniae*, 1–16mg/L para *S. aureus* e 4–32mg/L para *E. faecium*. Em um relato de caso, Hof e Juretschke (2018) testaram, por disco difusão, a susceptibilidade da *Klebsiella pneumoniae* e do *Proteus mirabilis*, os quais haviam sido isolados de um paciente de 68 anos de idade, que havia contraído

colonização retal por bactérias multirresistentes. No trabalho, o antibiograma mostrou que a nitroxolina foi a única substância ativa contra ambos os patógenos. Valentine-King *et al.* (2019) determinou a CMI para a nitroxolina e demais compostos teste frente às espécies bacterianas listadas na Tabela 6, empregando-se o método da microdiluição em caldo e o método da diluição em ágar. No trabalho a nitroxolina mostrou-se mais eficaz contra espécies de *Ureaplasma* spp., frente às quais apresentou valores de CMI₅₀= 3,13µM e CMI₉₀= 6,25µM. Considerando as espécies de *Mycoplasma*, a nitroxolina apresentou valores de CMI ≤12,5µM. Em adição, a nitroxolina demonstrou efeito bactericida contra *U. parvum* (CMB= 6,25µM), enquanto demonstrou efeito bacteriostático para *U. urealyticum* (CMB= 25µM) (Valentine-King *et al.*, 2019).

Trabalhando com *Staphylococcus aureus*, Ancuta, Gorea e Avram (2016) empregaram discos de cerâmica impregnados com nitroxolina frente ao microorganismo (método de disco difusão). Dessa forma, os discos impregnados com nitroxolina causaram um halo de inibição >30mm, efeito que permaneceu mesmo 24 horas após a retirada dos discos da placa de Petri contendo *S. aureus*, o que demonstra forte atividade antimicrobiana.

Em um ensaio com *Neisseria gonorrhoeae*, Fuchs *et al.* (2019) coletaram isolados clínicos entre 2015 e 2018 em dois centros médicos alemães, Cologne e Bonn. Dentre esses isolados, selecionou-se aqueles com elevada resistência à penicilina. Os autores obtiveram alta atividade antimicrobiana para a nitroxolina frente à *N. gonorrhoeae*, o que se evidencia pelos valores de CMI= 0,125-4mg/L.

Li *et al.* (2019), trabalhando com *Bartonella henselae* obteve excelente atividade antibacteriana para a nitroxolina frente ao patógeno, com CMI na faixa de 0,31-0,63µg/mL. Em um ensaio de viabilidade celular, após a exposição à nitroxolina, restaram apenas 6% de células viáveis de *B. henselae*, confirmadas pelos autores com a utilização de RCP.

Tabela 6. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antibacteriana da nitroxolina.

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Kudera <i>et al.</i> (2020)	<i>Bacillus cereus</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Salmonella Enteritidis</i> <i>Salmonella Typhimurium</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Bifidobacteriu</i>	a) Avaliou-se as CMI's da nitroxolina e dos demais compostos teste frente a cepas representativas das bactérias previamente citadas, pelo método da microdiluição em caldo. b) Procedeu-se o ensaio de citotoxicidade, de modo a analisar a atividade antiproliferativa da nitroxolina e demais substâncias estudadas frente a linhagens normais e frente a linhagens cancerosas de células humanas intestinais, com a utilização do método do brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT). c) Efetuou-se o ensaio da toxicidade seletiva, a fim de determinar-se quais substâncias seriam seletivas frente às cepas diarreio gênicas e frente às cepas probióticas de bactérias. Por ensaio semelhante, avaliou-se quais compostos seriam seletivos contra linhagens normais e linhagens cancerosas de células humanas intestinais. d) Por fim, averiguou-se a correlação entre atividades biológicas e estruturas químicas dos compostos testados, via método da Análise de Componentes Principais (ACP).	a) A nitroxolina exibiu moderada a forte atividade inibitória contra todas as bactérias diarreio gênicas (\bar{x} -CMI= 12±10 µg/mL). O composto também exibiu forte atividade inibitória contra <i>B. cereus</i> , espécies de <i>Clostridium</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. flexneri</i> (CMI's= 2-4 µg/mL).

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>m</i>		
	<i>adolescentis</i>		
	<i>Bifidobacteriu</i>		
	<i>m animalis</i>		
	<i>spp. lactis</i>		
	<i>Bifidobacteriu</i>		
	<i>m bifidum</i>		
	<i>Bifidobacteriu</i>		
	<i>m breve</i>		
	<i>Bifidobacteriu</i>		
	<i>m longum</i>		
	<i>Lactobacillus</i>		
	<i>casei</i>		
	<i>Lactobacillus</i>		
	<i>reuteri</i>		
	<i>Lactobacillus</i>		
	<i>rhamnosus</i>		
Principe et al. (2020)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	a) Determinou-se as CMI's para a nitroxolina e demais quelantes de zinco avaliados, frente às espécies bacterianas mencionadas, utilizando-se o	a) A nitroxolina apresentou valores de CMI de 1 a 4mg/L para todas as espécies bacterianas,

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Chryseobacterium indologenes</i> <i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	<p>método da microdiluição em caldo.</p> <p>b) Por método de disco-difusão duplo qualitativo, avaliou-se a interação entre meropenem e os quelantes de zinco testados (entre eles, a nitroxolina).</p> <p>c) Interações positivas, apontadas no método de disco-difusão, foram detalhadamente investigadas via ensaio checkerboard.</p> <p>d) Efetuou-se ensaio time-kill realizado em caldo Müller-Hinton cátion ajustado (MHCA), empregando-se 0.5xCMi de cada quelante com atividade sinérgica evidenciada pelo ensaio checkerboard.</p> <p>e) Inoculou-se larvas de sexto estágio de <i>Galleria mellonella</i>, por injeção de suspensões bacterianas com seringa de insulina na região da pro-pata esquerda.</p> <p>f) De forma semelhante, determinou-se a toxicidade dos compostos teste frente às larvas de <i>G. mellonella</i>, injetando nos animais, determinadas concentrações das substâncias.</p> <p>g) Por fim, avaliou-se a capacidade das substâncias quelantes de zinco em erradicar infecções bacterianas induzidas nas larvas de <i>G. mellonella</i>, determinando-se a viabilidade das larvas 120 horas após o experimento.</p>	<p>exceto para <i>K. pneumoniae</i>, contra a qual o teste de disco-difusão acusou inatividade.</p> <p>b) Inoculada em larvas de <i>G. mellonella</i>, na concentração de 128mg/L a nitroxolina não resultou em aumento na densidade de hemócitos, em relação ao controle larval, o que denota baixa toxicidade.</p> <p>c) A nitroxolina apresentou intrínseca atividade antibacteriana <i>in vivo</i>, aumentando o tempo de sobrevivência das larvas (exceto quando infectadas com <i>K. pneumoniae</i>) para além de 120 horas.</p>
Cherdtrakul	<i>Escherichia</i>	a) A atividade antimicrobiana da nitroxolina e de dois análogos da 8-	a) A nitroxolina, dentre todos os compostos

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
kiat <i>et al.</i> (2019)	<i>E. coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Providencia rettgeri</i>	<p>hidroxiquinolina foi determinada frente a 56 isolados das espécies bacterianas citadas, pelo método da microdiluição, preconizado pelo Instituto de Padrões Clínicos Laboratoriais (CLSI).</p> <p>b) Pelo mesmo método a concentração mínima bactericida (CMB) foi determinada para a nitroxolina, bem como para os derivados da 8-hidroxiquinolina frente a cepas representativas das espécies bacterianas mencionadas.</p> <p>c) Também pelo método da microdiluição, preconizado pelo CLSI, a atividade da nitroxolina e dos demais compostos avaliados foi determinada na presença de íons metálicos (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+} e Fe^{3+}).</p>	<p>testados foi a que apresentou a maior atividade antibacteriana frente às espécies de bactérias do experimento, apresentando CMI's na faixa de 21,03-84,14 μM</p> <p>b) Contra cepa multirresistente de <i>E. coli</i>, a nitroxolina apresentou valor de $\text{CMI}_{50} = 42,07 \mu\text{M}$.</p>
Fuchs <i>et al.</i> (2019)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<p>a) Isolados clínicos de <i>N. gonorrhoeae</i> foram coletados entre 2015 e 2018 em dois centros médicos alemães, Cologne e Bonn. Dentre esses isolados, selecionou-se aqueles com CMI's elevadas para penicilina ($\text{CMI} \geq 0,125 \text{ mg/L}$), resultando num total de 27 isolados selecionados.</p> <p>b) Determinou-se a CMI para a penicilina e a cefotaxima frente aos isolados clínicos, por gradiente de difusão em ágar (ágar chocolate). A susceptibilidade dos isolados de <i>N. gonorrhoeae</i> aos antimicrobianos foi interpretada com base nos pontos de corte clínicos da EUCAST.</p> <p>c) A atividade da nitrofurantoína e do mecilinam frente à <i>N. gonorrhoeae</i> foi</p>	<p>a) As CMI's da nitroxolina frente às diferentes cepas de <i>N. gonorrhoeae</i> variaram de 0,125-4 mg/L.</p>

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		determinada por ambos os métodos da diluição em ágar e do disco-difusão em ágar.	
Fuchs e Hamprecht (2019)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Raoultella ornithinolytica</i>	a) Caracterizou-se as carbapenemases produzidas pelas espécies bacterianas isoladas (citadas previamente), via imunocromatografia. b) Determinou-se as CMI's do meropenem, imipenem e do ertapenem, frente às espécies bacterianas empregadas por gradiente de difusão em ágar, usando-se fitas de teste de CMI. c) Por fim, determinou-se a CMI da nitroxolina frente a cepas representativas das bactérias mencionadas, pelo método da diluição em ágar.	a) Por envolver várias espécies de bactérias, fornece ampla noção acerca do espectro de ação da substância testada. c) A nitroxolina apresentou valores de CMI na faixa de 1-32 mg/L frente às cepas representativas das espécies bacterianas testadas, o que denota uma ótima atividade antibacteriana de amplo espectro.

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Li <i>et al.</i> (2019)	<i>Bartonella henselae</i>	<p>a) Determinou-se a curva de crescimento da <i>B. henselae</i> em uma fase estacionária consistente de meio Schneider modificado, empregando-se RCP-TR com coloração SYBR Green.</p> <p>b) Realizou-se ensaio da viabilidade das células de <i>B. henselae</i>, coradas por SYBR Green em fase estacionária, após a exposição a fármacos aprovados pelo FDA, entre os quais, a nitroxolina, com utilização da RCP-TR.</p> <p>c) Efetuou-se o ensaio de exposição a fármacos, ressuspendendo-se a fase estacionária de <i>B. henselae</i> (5 dias após o ensaio de viabilidade), em Eppendorf, adicionando-se as substâncias teste e recuperando as células viáveis por centrifugação. Após, as células resultantes foram semeadas em placas de ágar sangue para contagem.</p> <p>d) De forma semelhante, realizando-se a ressuspensão das células de <i>B. henselae</i> (5 dias após o ensaio de viabilidade) e as recuperando por centrifugação, determinou-se a CMI para a nitroxolina e demais compostos testes, via método da microdiluição.</p>	<p>a) Após exposição da fase estacionária de <i>B. henselae</i> à nitroxolina, restaram 6% de células viáveis confirmadas por RCP (Reação em Cadeia da Polimerase).</p> <p>b) A CMI na faixa de 0,31-0,63 µg/mL confirma que a nitroxolina tem alta potência contra <i>B. henselae</i>.</p>
Valentine-King <i>et al.</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>	<p>a) Determinou-se a CMI para a nitroxolina e demais compostos teste frente às espécies bacterianas anteriormente citadas, empregando-se o método</p>	<p>a) A nitroxolina mostrou-se mais eficaz contra espécies de <i>Ureaplasma</i> spp., frente às quais</p>

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
(2019)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Mycoplasma genitalium</i>	da microdiluição em caldo e o método da diluição em ágar. b) De forma semelhante, avaliou-se a concentração bactericida mínima (CBM) para a nitroxolina e demais compostos teste frente às espécies bacterianas empregadas, utilizando-se o método da microtitulação.	apresentou valores de CMI ₅₀ = 3,13 µM e CMI ₉₀ = 6,25 µM. Considerando as espécies de <i>Mycoplasma</i> , a nitroxolina apresentou valores de CMI ≤ 12,5 µM. b) A nitroxolina demonstrou efeito bactericida contra <i>U. parvum</i> (CBM= 6,25 µM), enquanto demonstrou efeito bacteriostático para <i>U. urealyticum</i> (CBM= 25 µM).
Hof e Juretschke (2018)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i>	a) Relato de caso: paciente de 68 anos de idade com multi-morbididades contraiu colonização retal por bactérias multirresistentes. b) Após um acesso de tosse, o paciente desenvolveu dificuldade para engolir, sendo, então, admitido no departamento de pneumologia do hospital. Nas imagens de raio-X, entretanto, não foram constatados sinais de pneumonia por aspiração. c) A avaliação clínica forneceu evidências de uma infecção sintomática do trato urinário, suportada pelos sinais de turbidez na urina, proteinúria e leucocitose massiva desencadeados por um cateter residente. d) O exame microbiológico da urina de jato médio revelou a presença de duas bactérias: <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Proteus mirabilis</i> . A	a) Desempenho da substância avaliada diretamente na prática clínica, em seus parâmetros farmacológicos e toxicológicos (reações adversas, caso ocorram). b) O antibiograma demonstrou que a nitroxolina foi a única substância ativa contra ambos patógenos.

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		susceptibilidade para ambos os microrganismos foi determinada pelo teste de disco difusão.	
Sobke <i>et al.</i> (2018)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	a) Efetuou-se o teste de susceptibilidade à nitroxolina e demais compostos estudados, frente às cepas representativas das espécies bacterianas mencionadas, combinando a metodologia do sistema VITEK®2 com dupla disco-difusão. b) Por disco-difusão também se efetuou o ensaio de susceptibilidade das espécies bacterianas a nitroxolina e nitrofurantoína. c) Determinou-se a CMI para a nitroxolina e a nitrofurantoína, frente às espécies bacterianas citadas, por método da microdiluição em caldo, conforme preconizado pela EUCAST. d) Também por método da microdiluição em caldo, avaliou-se a concentração bactericida mínima (CBM) para a nitrofurantoína e a nitroxolina frente à <i>E. coli</i> , ao <i>P. mirabilis</i> e ao <i>E. faecalis</i> . e) Efetuou-se o ensaio de Time-kill para a nitrofurantoína e a nitroxolina frente à <i>E. coli</i> , ao <i>P. mirabilis</i> e ao <i>E. faecalis</i> , empregando-se as concentrações de 10, 50 and 200 mg/L dos compostos para cada espécie bacteriana, respectivamente.	a) Entre cepas suscetíveis das bactérias mencionadas, a nitroxolina apresentou CMIs na faixa de 1-32 mg/L, enquanto para cepas resistentes, esse valor variou de 2-64 mg/L. b) Quanto ao ensaio time-kill, a nitroxolina foi capaz de reduzir o número de células viáveis das cepas representativas das diferentes espécies de bactérias em uma magnitude de ≤ 2 log, na concentração de 10 mg/L. c) Na urina artificial, as CMIs da nitroxolina variaram de 0,25-2 mg/L em faixas de pH entre 5,5 a 7,5, frente à <i>E. coli</i> .

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Abouelhassan <i>et al.</i> (2017)	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Escherichia coli</i>	a) Determinou-se a concentração mínima inibitória (CMI) para a nitroxolina frente às diferentes cepas de bactérias patogênicas estudadas, empregando-se o método da microdiluição em caldo. b) Utilizando-se o dispositivo Calgary, aferiu-se a concentração mínima para erradicação de biofilme (CMEB) da nitroxolina, frente às diferentes espécies bacterianas anteriormente mencionadas. c) Observou-se a capacidade da nitroxolina em remover biofilmes das diferentes espécies bacterianas estudadas, formados sobre fragmentos de pele de porco (modelo <i>ex vivo</i>). d) Efetuou-se o ensaio de cinética de morte celular estacionária MRSA-2 para a nitroxolina frente às espécies bacterianas citadas. e) Mensurou-se a concentração mínima inibitória de biofilmes (MBIC) para a nitroxolina frente às diferentes espécies bacterianas avaliadas empregando-se o dispositivo Calgary.	a) A nitroxolina demonstrou atividade antibacteriana de amplo espectro, apresentando CMIs de 4,69-6,25 μM para <i>A. baumannii</i> , 12,5 μM para <i>E. coli</i> , 9,38-25 μM para <i>S. aureus</i> , 18,8 μM para <i>S. epidermidis</i> . b) Quanto à erradicação de biofilmes, a nitroxolina foi mais ativa contra biofilmes de <i>A. baumannii</i> (CMEB= 46,9-62,5 μM) e <i>E. coli</i> (CMEB= 62,5 μM), do que para biofilmes formados pelas demais espécies bacterianas. c) Em um modelo <i>ex vivo</i> de infecção de feridas por biofilmes bacterianos (com fragmentos de pele de porco), a nitroxolina reduziu a viabilidade de biofilmes formados por <i>A. baumannii</i> , por <i>E. coli</i> , assim como por <i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> , com uma taxa de 99% de morte de células viáveis do biofilme.
Cherdtrakulkiat <i>et al.</i>	<i>Escherichia coli</i>	a) Determinou-se a atividade antimicrobiana da nitroxolina e de oito derivados da 8-hidroxiquinolina, frente aos microrganismos previamente	a) A nitroxolina apresentou boa atividade antimicrobiana, evidenciada por valores de CMI

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
(2016)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Salmonella</i> Typhimurium <i>Salmonella</i> Choleraesuis <i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Shigella</i> <i>dysenteriae</i> <i>Morganella</i> <i>morganii</i> <i>Citrobacter</i> <i>freundii</i> <i>Plesiomonas</i> <i>shigelloides</i> <i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i>	mencionados, utilizando-se o método da diluição em ágar. b) Procedeu-se o ensaio do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) de modo averiguar a atividade antioxidante da nitroxolina e demais compostos testados. c) Efetuou-se o ensaio de citotoxicidade para a nitroxolina e demais substâncias estudadas empregando-se o método de redução do MTT (brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio).	entre 5,26-84,14 μM , sendo esses valores dependentes da espécie e da cepa de microrganismo testado. b) A nitroxolina exibiu baixa citotoxicidade, o que reflete no valor de $\text{CC}_{50} = 88,14 \pm 2,11 \mu\text{M}$.

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>Pseudomona</i>		
	<i>s aeruginosa</i>		
	<i>Pseudomona</i>		
	<i>s stutzeri</i>		
	<i>Shewanella</i>		
	<i>putrefaciens</i>		
	<i>Achromobact</i>		
	<i>er</i>		
	<i>xylooxidans</i>		
	<i>Staphylococc</i>		
	<i>us aureus</i>		
	<i>Staphylococc</i>		
	<i>us</i>		
	<i>epidermidis</i>		
	<i>Micrococcus</i>		
	<i>luteus</i>		
	<i>Enterococcus</i>		
	<i>faecalis</i>		
	<i>Corynebacter</i>		
	<i>ium</i>		

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
	<i>diphtheriae</i>		
	<i>Bacillus</i>		
	<i>subtilis</i>		
	<i>Listeria</i>		
	<i>monocytogenes</i>		
	<i>Bacillus</i>		
	<i>cereus</i>		
Ancuta, Gorea Avram (2016)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<p>a) Preparou-se discos de cerâmica, procedendo-se sequencialmente, sua caracterização quanto à forma e porosidade, via difração de raios X.</p> <p>b) Efetuou-se a impregnação dos discos de cerâmica com nitroxolina e íons de prata.</p> <p>c) Incubou-se os discos de cerâmica junto a culturas de <i>Staphylococcus aureus</i>, a 37°C por 24 horas, de modo avaliar-se a atividade antibacteriana dos compostos impregnados pela medida do halo de inibição resultante (método de difusão em disco).</p>	<p>a) Os discos impregnados com nitroxolina causaram um halo de inibição > 30 mm, efeito que permaneceu mesmo 24 horas após a retirada dos discos da placa de Petri contendo <i>S. aureus</i>, o que demonstra forte atividade antimicrobiana.</p>
Kresken e Körber-	<i>Escherichia coli</i>	<p>a) Determinou-se a atividade <i>in vitro</i> da nitroxolina frente a 499 isolados de <i>E. coli</i>, oriundos de amostras de urina provenientes de diferentes hospitais</p>	<p>a) A nitroxolina apresentou um perfil de atividade constante entre as diferentes cepas isoladas de</p>

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Irrgang (2013)		<p>alemães.</p> <p>b) Efetutou-se a confirmação de espécie (RCP) e procedeu-se a realização do teste de susceptibilidade em um laboratório central (Antiinfectives Intelligence).</p> <p>c) As CMI's para a nitroxolina e demais compostos testados foram determinados pelo método da microdiluição em caldo, conforme preconizado pela Organização Internacional de Padronização (ISO).</p>	<p><i>E. coli</i>, evidenciado pela CMI₅₀= 2 mg/L e pela CMI₉₀= 4 mg/L.</p>
Wagenlehn er et al. (2013)	<p><i>Escherichia coli</i></p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p> <p><i>Proteus mirabilis</i></p> <p><i>Staphylococcus saprophyticus</i></p>	<p>a) Seis voluntários de um hospital de Munique (Alemanha) receberam 250 mg em dose única de nitroxolina, ou 200 mg de trimetropina, de modo a terem determinados seus títulos inibitórios urinários (TIUs) e seus títulos urinários bactericidas (TUB). Três voluntários saudáveis receberam 250 mg de nitroxolina três vezes ao dia de modo a terem sua cinética urinária bactericida (CUB) determinada.</p> <p>b) As CMI's da nitroxolina e da trimetoprina foram determinados pelo método da microdiluição em caldo, frente a cepas representativas das espécies bacterianas anteriormente mencionadas.</p> <p>c) O TIU e o TUB dos voluntários foram determinado via método da microdiluição. O CUB foi determinado por combinação de microfiltração da urina dos voluntários, com plaqueamento do filtro obtido do procedimento</p>	<p>a) A nitroxolina apresentou valor de CMI entre 2 e 8 mg/L, frente às cepas representativas das diferentes espécies de bactérias mencionadas, o que denota alta atividade antibacteriana.</p> <p>b) Os autores mencionaram que não houve eventos adversos relacionados aos medicamentos administrados aos voluntários participantes do estudo.</p>

Tabela 6. (Continuação)

NITROXOLINA ANTIBACTERIANA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
		em ágar Columbia a 37°C por 18 a 20 horas, para a posterior contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs). d) Por fim, as concentrações urinárias, bem como as análises de metabólitos, foram efetuadas por cromatografia líquida e cromatografia de massas.	

5.2.3 Atividade Antiparasitária

Trabalhando com *Balamuthia mandrillaris*, um patógeno de vida livre que ocasionalmente causa infecção fatal no sistema nervoso central, Laurie *et al.* (2018) realizou uma varredura de compostos aprovados clinicamente (um total de 2.177, dentre esses, a nitroxolina) frente a trofozoítos do parasito (Tabela 7). No estudo, a nitroxolina apresentou concentração inibitória $IC_{50} = 4,77\mu M$ frente a suspensões de trofozoítos de *B. mandrillaris*, o que denota boa atividade antiamebiana. Frente a tecido cerebral infectado, previamente coletado de um paciente (com a devida autorização e supervisão do departamento de ética do hospital), a nitroxolina foi capaz de eliminar completamente os trofozoítos de *B. mandrillaris*, não causando dano às células hospedeiras.

A encefalite amebiana granulomatosa (EAG), causada pela *Balamuthia mandrillaris*, é uma patologia rara, fatal e que não possui um tratamento estabelecido, sendo comum pacientes receberem tratamentos experimentais extremamente agressivos, daí a importância, ressaltada pelos autores, da busca por novos compostos antiamebianos, com alta eficácia e baixos efeitos colaterais (Laurie *et al.*, 2018).

Tabela 7. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antiparasitária da nitroxolina.

NITROXOLINA ANTIPARASITÁRIA			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Laurie <i>et al.</i> (2018)	<i>Balamuthia mandrillaris</i>	<p>a) Realizou-se uma varredura de compostos aprovados clinicamente (um total de 2.177, dentre esses, a nitroxolina) frente a trofozoítos de <i>B. mandrillaris</i>.</p> <p>b) O percentual de inibição de tais compostos frente à <i>B. mandrillaris</i> foi calculado por ensaio de luminescência CellTiter-Glo R.</p> <p>c) Uma varredura secundária foi realizada de modo a encontrar compostos hit cuja dose-resposta foi determinada frente a trofozoítos de <i>B. mandrillaris</i>, a fibroblastos humanos HFF-1 e a células de neuroglioma humano H4, também por luminescência CellTiter-Glo R.</p> <p>d) Realizou-se um ensaio de dose-resposta, com 90 compostos (dentre os quais, a nitroxolina), frente a suspensões de trofozoítos de <i>B. mandrillaris</i>, e células humanas da linhagem HFF-1 (fibroblasto), H4 (glial), U87 (glial), HEK-293T (rim), and Hep-G2 (fígado), em placas de 96 poços.</p> <p>e) Efetuou-se ensaios de recrudescência de <i>B. mandrillaris</i>, via método da concentração mínima amebicida de trofozoítos, especialmente adaptado para esse estudo.</p> <p>f) Infectou-se tecido cerebral, oriundo de paciente hospitalar, com <i>B. mandrillaris</i>, de modo a averiguar a eficácia na nitroxolina em um modelo de infecção.</p>	<p>a) A nitroxolina apresentou concentração inibitória $CI_{50} = 4,77 \mu M$ frente a suspensões de trofozoítos de <i>B. mandrillaris</i>, tendo portando boa atividade antiamebiana.</p> <p>b) No modelo <i>ex vivo</i>, a nitroxolina foi capaz de eliminar completamente os trofozoítos de <i>B. mandrillaris</i> do tecido cerebral infectado, não causando danos às células hospedeiras.</p>

5.2.4 Atividade Antiviral

Dentro da pouco explorada atividade antiviral, Zhang *et al.* (2020) trabalhou com o Vírus da Encefalite Japonesa (VEJ), criando um clone do DNA do capsídeo viral, codificando um gene repórter eGFP, contendo uma sequência codificadora de uma proteína fluorescente, de modo auxiliar os autores a monitorarem a carga viral em células C6/36 de *Aedes albopictus* infectadas com o VEJ. Como resultado, os autores encontraram alta atividade antiviral para a nitroxolina (Tabela 8), frente ao vírus da encefalite japonesa (VEJ), denotada pelo $EC_{50}=2,482\mu\text{M}$. Os autores ainda encontraram boa atividade antineoplásica frente a linhagem de células humanas de hepatoma (Huh7), o que é evidenciado pelo valor de $CC_{50}= 9,294\mu\text{M}$.

O vírus da encefalite japonesa (JEV) é um vírus veiculado por mosquitos que pertence ao gênero *Flavivirus*, o mesmo de outros importantes patógenos humanos, como o vírus da febre amarela, o vírus do Oeste do Nilo e o Vírus da Dengue. A doença não possui um tratamento clinicamente aprovado, sendo a vacina, a única forma de prevenção, daí a importância, ressaltada pelos autores, da identificação de compostos aprovados pelo FDA, os quais possuam atividade frente ao vírus (Zhang *et al.*, 2020).

Infelizmente não foi possível discorrer sobre a toxicologia da nitroxolina, devido à escassez de artigos na literatura abordando o tema dentro do atual contexto de emergência da substância.

Tabela 8. Principais achados pertinentes aos estudos de atividade antiviral da nitroxolina.

NITROXOLINA ANTIVIRAL			
Referência	Espécie(s)	Metodologia	Achados
Zhang <i>et al.</i> (2020)	Vírus da Encefalite Japonesa (VEJ)	<p>a) Construiu-se um clone do DNA do capsídeo viral do vírus da encefalite japonesa (VEJ), codificando um gene repórter eGFP, contendo uma sequência codificadora de uma proteína fluorescente.</p> <p>b) Testou-se a estabilidade do gene eGFP-VEJ produzido frente a células C6/36 de <i>Aedes albopictus</i>, por microscopia de fluorescência.</p> <p>c) Os ensaios de avaliação de atividade antiviral foram realizados incubando-se células C6/36, infectadas com gene eGFP-VEJ com o composto teste NITD008 e demais substâncias (entre elas, a nitroxolina), de modo que a carga viral era monitorada por microscopia de fluorescência.</p>	a) A nitroxolina exibiu alta atividade antiviral, frente ao vírus da encefalite japonesa (VEJ), denotada pelo CE ₅₀ = 2,482 µM.

5.3 Clioquinol e nitroxolina: uma comparação

Embora a atividade antifúngica seja a mais reportada na literatura para o clioquinol, assim como a atividade antibacteriana para a nitroxolina, deve-se ter o cuidado em não confundir ação popular com ação preponderante, ou seja, afirmar que um fármaco é mais ativo como antifúngico, enquanto outro, como antibacteriano. Afinal, Olaleye *et al.* (2021) e Tavares *et al.* (2020) encontraram tão boa atividade antiviral e antiparasitária para o clioquinol, assim como Costa *et al.* (2021) e Pippi *et al.* (2018) reportaram a excelente atividade antifúngica para o fármaco. Apenas, por enquanto, a atividade antiviral e a atividade antiparasitária não são tão exploradas para o clioquinol quanto a atividade antifúngica. De forma semelhante, para a nitroxolina, Zhang *et al.* (2020) e Laurie *et al.* (2018) provaram que o fármaco possui tão boa ação antiviral e antiparasitária quanto Cherdtrakulkiat *et al.* (2016) e Kudera *et al.* (2020) provaram sua conhecida atividade antibacteriana. Tratando-se da atividade antiviral da nitroxolina, o resultado encontrado por Zhang *et al.* (2020) ($CE_{50}=2,482\mu M$) chegou a superar o resultado encontrado por Olaleye *et al.* (2021) para atividade antiviral do clioquinol ($CI_{50}=12,62\mu M$). Recentemente, Fuchs *et al.* (2021) encontraram excelente atividade antifúngica para a nitroxolina frente a isolados de *Candida auris*, com CMI (Concentrações Mínimas Inibitórias) entre 0,125 e 1mg/L, um importantíssimo passo na, até então, inexplorada atividade para a substância.

6. CONCLUSÃO

A presente revisão trouxe à luz a atividade antimicrobiana de amplo espectro para o clioquinol e para a nitroxolina, bem como a ampliação do escopo de ambos os fármacos como antiparasitários e antivirais, além da sua ação antibiofilme. Organizando as informações oriundas de cada referência na forma de tabelas, o trabalho constitui-se num guia conciso de modo a orientar futuros estudos de pesquisadores da respectiva área acadêmica, auxiliando na decisão sobre qual substância e com qual espécie de microrganismo trabalhar. Somados a esses fatores, a comparação entre os achados referentes aos estudos tabelados permite concluir que ambos os fármacos detêm extenso potencial antimicrobiano latente. Entretanto, para a correta compreensão e exploração desse potencial, é necessário o surgimento de mais trabalhos explorando as atividades menos abordadas para o clioquinol e para a nitroxolina. Também se faz necessário um estudo mais detalhado acerca do mecanismo de ação, bem como do perfil toxicológico dos fármacos, os quais ainda carecem da devida elucidação, apesar de ambos os fármacos serem antigos.

Como perspectiva para o clioquinol e a nitroxolina, tem-se o futuro retorno desses fármacos à prática clínica, dentro de um emprego cauteloso e controlado, respeitando as recomendações propostas pelos órgãos sanitários vigentes a cada país.

7. REFERÊNCIAS

ABOUELHASSAN, Yasmineen *et al.* Nitroxoline: a broad-spectrum biofilm-eradicating agent against pathogenic bacteria. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 247–251, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.10.017>.

ALVAREZ, Eduardo; SANHUEZA, Camila. *Scedosporium dehoogii*, un nuevo reporte de Chile: filogenia y perfiles de sensibilidad a antifúngicos clásicos y a nuevas moléculas con potencial antifúngico. **Revista Iberoamericana de Micología**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 224–229, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.03.007>.

ANCUTA, Danistean; GOREA, Maria; AVRAM, Alexandra. **Antimicrobial activity of ceramic disks loaded with silver ions and nitroxoline Bacteriology and Bacterial zoonoses View project Vaccines View project**. [S. l.: s. n.], 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/305618803>.

AQUINO, Marcella; ROSNER, Greg. **Systemic Contact Dermatitis**. [S. l.]: Humana Press Inc., 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12016-018-8686-z>.

BENVENISTI-ZAROM, Luna; CHEN, Jing; REGAN, Raymond F. The oxidative neurotoxicity of clioquinol. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 49, n. 5, p. 687–694, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.04.023>.

BLANCO, P; CORONA, F; MARTÍNEZ, J L. Biolog Phenotype Microarray Is a Tool for the Identification of Multidrug Resistance Efflux Pump Inducers. [s. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC>.

CHAN, Derek C K; GUO, Irene; BURROWS, Lori L. **Forging New Antibiotic Combinations under Iron-Limiting Conditions**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10>.

CHAVES, Magda Antunes *et al.* Synergistic association of clioquinol with antifungal drugs against biofilm forms of clinical *Fusarium* isolates. **Mycoses**, [s. l.], v. 63, n. 10,

p. 1069–1082, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.13142>.

CHERDTRAKULKIAT, Rungrot *et al.* Derivatives (halogen, nitro and amino) of 8-hydroxyquinoline with highly potent antimicrobial and antioxidant activities. **Biochemistry and Biophysics Reports**, [s. l.], v. 6, p. 135–141, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.03.014>.

CHERDTRAKULKIAT, Rungrot *et al.* Nitroxoline: A potent antimicrobial agent against multidrug resistant Enterobacteriaceae. **EXCLI Journal**, [s. l.], v. 18, p. 445–453, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.17179/excli2019-1378>.

CIANCIO, Jose I.R. *et al.* Profound vitamin D deficiency in four siblings with Imerslund-Grasbeck syndrome with homozygous CUBN mutation. **JIMD Reports**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 43–47, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmd2.12072>.

CIMOLAI, Nevio. **Clioquinol for Otomycosis: A Lesser Understood Antimicrobial**. [S. l.]: Lippincott Williams and Wilkins, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000002513>.

COSTA, Bárbara da *et al.* Evaluation of activity and toxicity of combining clioquinol with ciclopirox and terbinafine in alternative models of dermatophytosis. **Mycoses**, [s. l.], v. 64, n. 7, p. 727–733, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.13276>.

COSTA, Bárbara da *et al.* *In vitro* antidermatophytic synergism of double and triple combination of clioquinol with ciclopirox and terbinafine. **Mycoses**, [s. l.], v. 63, n. 9, p. 993–1001, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.13127>.

DUNMADE, Adekunle D. *et al.* Intra-antral application of an anti-fungal agent for recurrent maxillary fungal rhinosinusitis: A case report. **Journal of Medical Case Reports**, [s. l.], v. 6, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1752-1947-6-245>.

FUCHS, Frieder *et al.* Antifungal activity of nitroxoline against *Candida auris* isolates. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 27, n. 11, p. 1697.e7-1697.e10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.06.035>.

FUCHS, Frieder *et al.* *In vitro* activity of mecillinam and nitroxoline against neisseria gonorrhoeae – re-purposing old antibiotics in the multi-drug resistance era. **Journal of Medical Microbiology**, [s. l.], v. 68, n. 7, p. 991–995, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001014>.

FUCHS, Frieder; HAMPRECHT, Axel. Susceptibility of carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) to nitroxoline. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 74, n. 10, p. 2934–2937, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkz275>.

FUKUI, Takao *et al.* Histone deacetylase inhibitor attenuates neurotoxicity of clioquinol in PC12 cells. **Toxicology**, [S.L.], v. 331, p. 112-118, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2015.01.013>.

GIACOMINI, E. *et al.* Evidence of antibiotic resistance from population-based studies: A narrative review. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. 14, p. 849–858, 2021.

HOF, Herbert; JURETSCHKE, C. Nitroxoline: an option for the treatment of urinary tract infection with multi-resistant uropathogenic bacteria. **Infection**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 493–495, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s15010-018-1253-y>.

JOAQUIM, Angélica Rocha *et al.* New 8-hydroxyquinoline derivatives highlight the potential of this class for treatment of fungal infections. **New Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 38, p. 18158–18170, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d0nj06188c>.

JONG, Marin J. *et al.* *Dientamoeba fragilis* and chronic abdominal pain in children: A case-control study. **Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition**, [s. l.], v. 99, n. 12, p. 1109–1113, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/archdischild-2014-305942>.

KAWAMURA, Kazuyuki *et al.* Superoxide dismutase as a target of clioquinol-induced neurotoxicity. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 452, n. 1, p. 181-185, set. 2014. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.067>.

KONAGAYA, Masaaki. [SMON: toxicity of clioquinol and the *status quo*]. **Brain and Nerve**. vol. 67, n. 1, p. 49-62, 2015. Japanese. doi: 10.11477/mf.1416200086. PMID: 25585435.

KRESKEN, Michael; KÖRBER-IRRGANG, Barbara. *In Vitro* Activity of Nitroxoline against *Escherichia coli* Urine Isolates from Outpatient Departments in Germany. [s. l.], v. 58, n. 11, p. 7019–7020, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.03946-14>.

KUDERA, Tomas *et al.* *In Vitro* Selective Growth-Inhibitory Activities of Phytochemicals , Synthetic Phytochemical Analogs , and Antibiotics against Diarrheagenic / Probiotic Bacteria and Cancer / Normal Intestinal Cells. [s. l.], p. 1–17.

KURU, Satoshi. Fifty years after the identification of the cause of SMON. **Clinical Neurology**, [s. l.], v. 61, n. 2, p. 109–114, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5692/clinicalneurolog.cn-001500>.

LASKARIS, Paris *et al.* Administration of zinc chelators improves survival of mice infected with *Aspergillus fumigatus* both in monotherapy and in combination with caspofungin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 60, n. 10, p. 5631–5639, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.00324-16>.

LAURIE, Matthew T *et al.* Functional Assessment of 2,177 U.S. and International Drugs Identifies the Quinoline Nitroxoline as a Potent Amoebicidal Agent against the Pathogen *Balamuthia mandrillaris*. [s. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mBio>.

LEONARDELLI, Florencia *et al.* *In vitro* activity of combinations of zinc chelators with amphotericin B and posaconazole against six Mucorales species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 63, n. 5, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.00266-19>.

LEUCI, Rosalba *et al.* Importance of Biometals as Targets in Medicinal Chemistry: an overview about the role of zinc (ii) chelating agents. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 4118, 15 jun. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/app10124118>.

LI, Tingting *et al.* Identification of FDA-approved drugs with activity against stationary phase *Bartonella henselae*. **Antibiotics**, [s. l.], v. 8, n. 2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics8020050>.

LOMBARDI, Andrew; OUANOUNOU, Aviv. **Fungal infections in dentistry: Clinical presentations, diagnosis, and treatment alternatives**. [S. l.]: Mosby Inc., 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2020.08.011>.

LOOCK, J W. **A randomised controlled trial of active chronic otitis media comparing courses of eardrops versus one-off topical treatments suitable for primary, secondary and tertiary healthcare settings**. [S. l.: s. n.], [s. d.]. Disponível em: <http://www.consort-statement.org>.

MAGALLON, Jesus *et al.* Restoration of susceptibility to amikacin by 8-hydroxyquinoline analogs complexed to zinc. [s. l.], p. 1–11, 2019.

MAJUMDAR, Shyamasree *et al.* Elucidating the regulon of multidrug resistance regulator *rarA* in *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 57, n. 4, p. 1603–1609, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.01998-12>.

MANCUSO, Giuseppe *et al.* **Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens**. [S. l.]: MDPI, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>.

MOYA-SALAZAR, Jeel *et al.* Cutaneous Leishmaniasis Associated with the Level of Poverty of the Andean Rural Population: a five-year single-center study. **Electronic Journal Of General Medicine**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 1-7, 10 nov. 2021. Modestum Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.29333/ejgm/11335>.

MUSTAZZA, Carlo *et al.* Small Molecules with Anti-Prion Activity. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 27, n. 33, p. 5446–5479, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0929867326666190927121744>.

NUNES, Renata Rachide *et al.* Brazilian malaria molecular targets (BraMMT): Selected receptors for virtual high-throughput screening experiments. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 114, n. 2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0074-02760180465>.

OLALEYE, Omonike A. *et al.* Discovery of Clioquinol and analogues as novel inhibitors of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 infection, ACE2 and ACE2 - Spike protein interaction *in vitro*. **Heliyon**, [s. l.], v. 7, n. 3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06426>.

OLIVERI, Valentina; VECCHIO, Graziella. **8-Hydroxyquinolines in medicinal chemistry: A structural perspective**. [S. l.]: Elsevier Masson SAS, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.05.007>.

PEREZ, Dominique R.; SKLAR, Larry A.; CHIGAEV, Alexandre. Clioquinol: To harm or heal. **Pharmacology and Therapeutics**, [s. l.], v. 199, p. 155–163, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.03.009>.

PIPPI, Bruna *et al.* Clioquinol is a promising preventive morphological switching compound in the treatment of *Candida* infections linked to the use of intrauterine devices. **Journal of Medical Microbiology**, [s. l.], v. 67, n. 11, p. 1655–1663, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000850>.

PIPPI, Bruna *et al.* New insights into the mechanism of antifungal action of 8-hydroxyquinolines. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 41–48, 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.07.017>.

PIPPI, Bruna *et al.* Oral clioquinol is effective in the treatment of a fly model of *Candida* systemic infection. **Mycoses**, [s. l.], v. 62, n. 5, p. 475–481, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.12888>.

PRINCIPE, Luigi *et al.* Zinc Chelators as Carbapenem Adjuvants for Metallo- β -Lactamase-Producing Bacteria: *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation. **Microbial Drug Resistance**, [s. l.], v. 26, n. 10, p. 1133–1143, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0037>.

SALAH, Louai A.; FAERGEMANN, Jan. A retrospective analysis of skin bacterial colonisation, susceptibility and resistance in atopic dermatitis and impetigo patients. **Acta Dermato-Venereologica**, [s. l.], v. 95, n. 5, p. 532–535, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2340/00015555-1996>.

SCHIERENBERG, Alwin *et al.* Antibiotic treatment of gastroenteritis in primary care. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 207–213, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dky385>.

SEGALA, Francesco Vladimiro *et al.* **Impact of sars-cov-2 epidemic on antimicrobial resistance: a literature review**. [S. l.]: MDPI, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13112110>.

SHANKAR, Pathiyil Ravi; PALAIAN, Subish; GULAM, Shabaz Mohiuddin. Hydroxychloroquine and Chloroquine in Prophylaxis and Treatment of COVID-19: What Is Known? **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, vol. 13, n. 1, p.4–10, 2021. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_404_20.

SOBKE, A. *et al.* Empirical treatment of lower urinary tract infections in the face of spreading multidrug resistance: *in vitro* study on the effectiveness of nitroxoline. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s. l.], v. 51, n. 2, p. 213–220, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.10.010>.

SOUSA, Jessica K.T. *et al.* A chloroquinoline derivate presents effective *in vitro* and *in vivo* antileishmanial activity against Leishmania species that cause tegumentary and visceral leishmaniasis. **Parasitology International**, [s. l.], v. 73, n. June, p. 101966, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101966>.

TAVARES, Grasielle de Sousa Vieira *et al.* Antileishmanial Activity, Cytotoxicity and Mechanism of Action of Clioquinol Against *Leishmania infantum* and *Leishmania amazonensis* Species. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, [s. l.], v. 123, n. 3, p. 236–246, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/bcpt.12990>.

TAVARES, Grasielle S.V. *et al.* A clioquinol-containing Pluronic®F127 polymeric micelle system is effective in the treatment of visceral leishmaniasis in a murine model. **Parasite**, [s. l.], v. 27, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/parasite/2020027>.

VALENTINE-KING, Marissa A *et al.* **Turning the Tide against Antibiotic Resistance by Evaluating Novel, Halogenated Phenazine, Quinoline, and NH125 Compounds against Ureaplasma Species Clinical Isolates and Mycoplasma Type Strains.** [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10>.

VAN HUNSEL, Florence. **[Clioquinol use for *Dientamoeba fragilis* infections is questionable] Pharmacovigilance of herbals at the Dutch Pharmacovigilance Centre View project Explorative (statistical) methods in pharmacovigilance View project.** [S. l.: s. n.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/319750926>.

VAN KALLEVEEN, Michael W. *et al.* *Dientamoeba fragilis* in children: a systematic review on diagnostic considerations and efficacy of treatment. **Expert Review of Gastroenterology and Hepatology**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 231–242, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17474124.2020.1739520>.

VAN VELZEN, Agnes G.; VRIES, Irma de. Nearly all cases of clioquinol intoxication result from medication errors. **Clinical Toxicology**: 37th International Congress of the European Association of Poisons Centers and Clinical Toxicologists (EAPCCT) 16–19 May 2017, Basel, Switzerland, [S.L.], v. 55, n. 5, p. 371-544, 13 abr. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15563650.2017.1309792>.

WAGENLEHNER, Florian M.E. *et al.* Urinary concentrations and antibacterial activities of nitroxoline at 250 milligrams versus trimethoprim at 200 milligrams against uropathogens in healthy volunteers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s.

.l.], v. 58, n. 2, p. 713–721, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.02147-13>.

WIJMA, Rixt A. *et al.* Review of the pharmacokinetic properties of nitrofurantoin and nitroxoline. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 73, n. 11, p. 2916–2926, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dky255>.

YAMAGUCHI, Yuko *et al.* Elevated Plasma Growth and Differentiation Factor 15 Predicts Incident Anemia in Older Adults Aged 60 Years and Older. **The Journals of Gerontology: Series A**, [s. l.], v. XX, n. Xx, p. 1–6, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/gerona/glaa324>.

YAN, Chongjia *et al.* Clioquinol induces G2/M cell cycle arrest through the up-regulation of TDH3 in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 214, n. May, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.006>.

YOU, Z. *et al.* Clioquinol, an alternative antimicrobial agent against common pathogenic microbe. **Journal de Mycologie Medicale**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 492–501, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.03.007>.

YOU, Zimeng; ZHANG, Chaoliang; RAN, Yuping. The effects of clioquinol in morphogenesis, cell membrane and ion homeostasis in *Candida albicans*. **BMC Microbiology**, [s. l.], v. 20, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01850-3>.

YOUSFI, Hanane *et al.* Identification of repositionable drugs with novel antimycotic activity by screening the Prestwick Chemical Library against emerging invasive moulds. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [s. l.], v. 21, p. 314–317, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.01.002>.

ZHANG, Zhe-ruì *et al.* Generation and characterization of Japanese encephalitis virus expressing GFP reporter gene for high throughput drug screening. [s. l.], v. 182, n. March, p. 1–10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104884>.