

Universidade Federal de Minas Gerais
Programa de Pós Graduação em Farmacologia

Milciades Atilio Villalba

Reposicionamento de fármacos para
tratamento de doenças infecciosas
bacterianas

Belo Horizonte
2015

Milciades Atilio Villalba

Reposicionamento de fármacos para tratamento de doenças infecciosas bacterianas

Monografia apresentada ao curso de Especialização em Farmacologia do Programa de Pós-graduação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel de Assis Santos

Coorientador: Noelly de Queiroz Ribeiro

Belo Horizonte

2015

043

Villalba, Milciades Atilio.

Reposicionamento de fármacos para tratamento de doenças infecciosas bacterianas [manuscrito] / Milciades Atilio Villalba. - 2015.

31 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Daniel de Assis Santos. Co-orientadora: Noelly de Queiroz Ribeiro.

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Farmacologia do Programa de Pós-Graduação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Farmacologia.

1. Bacterioses - Teses. 2. Reposicionamento de fármacos. 3. Uso off-label. 4. Farmacologia - Teses. I. Santos, Daniel de Assis. II. Ribeiro, Noelly de Queiroz. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 615

"REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS INFECCIOSAS"

MILCIADES ATÍLIO VILLALBA

Monografia de Especialização defendida e aprovada, no dia 14 de julho de 2015, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Isabela da Costa César

PROFA. ISABELA DA COSTA CÉSAR
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Juliana Ribeiro Alves dos Santos

DRA. JULIANA RIBEIRO ALVES DOS SANTOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Rodrigo Assunção de Holanda

DR. RODRIGO ASSUMÇÃO DE HOLANDA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Daniel de Assis Santos

PROF. DANIEL DE ASSIS SANTOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ORIENTADOR

Curso de Especialização em Farmacologia

Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 14 de julho de 2015

Agradecimentos

Agradeço a Deus ter me dado saúde e possibilidades de fazer este curso, minha esposa Maria Imaculada pela paciência e compreensão, a minha mãe por acreditar em mim, aos parentes que sempre estão dando uma palavra de força aos professores pela doação de conhecimento

RESUMO

Nos últimos anos, o número de infecções invasivas bacterianas aumentou consideravelmente em todo o mundo. Esse fato atrelado ao complexo diagnóstico e a disponibilidade relativamente baixa de fármacos eficazes para o tratamento, constitui uma grande ameaça para toda a população. Assim, o desenvolvimento de novas terapias eficazes ao tratamento de doenças bacterianas é necessário. Contudo, a produção de um novo medicamento é um processo demorado e de alto custo. E muitas vezes o sucesso final e validação da pesquisa nunca são garantidos. Nesse contexto, o reposicionamento de fármacos surge como uma interessante alternativa. Desse modo, os medicamentos podem ser ministrados como agentes únicos ou como adjuvantes em combinação com as drogas comumente prescritas. Outras abordagens que vem sendo discutidas são as técnicas *in silico*, na qual a busca por novas terapias e moléculas ganham um apoio computacional, e o uso *off-label* de medicamentos, na qual o fármaco é ministrado de maneira diferente da quem vem preconizada na bula. Diante disso, o objetivo do trabalho foi fazer uma abordagem nos estudos que envolvem o reposicionamento de fármacos como uma nova proposta para o estabelecimento de novas terapias antibacterianas.

Palavras-chaves: doenças bacterianas, reposicionamento de fármacos, *off-label*.

ABSTRACT

In recent years, the number of invasive bacterial infections has considerably risen throughout the world. This fact combined with the complex diagnosis and relatively low availability of effective drugs constitutes a great threat to the entire population. Likewise, the development of new and effective therapies for the treatment of bacterial diseases is necessary. However, the production of a new medication is a slow and expensive process, and often the final success and validation of research is never guaranteed. Consequently, drug repositioning can be an interesting alternative. In this way, medications can be administered either as unique agents or as adjuvants in combination with commonly prescribed drugs. Other approaches that are being discussed are *in silico* techniques, in which the search for new therapies and molecules has computational support, and the use of *off-label* medications, in which the drug is administered in a different manner than recommended by the manufacturer's instructions. Thus, the objective of this work was to study new approaches making use of drug repositioning as a way to establish new anti-bacterial therapies.

Key words: bacterial disease, drug repositioning, *off-label*.

Key words: Repositioning, new old drugs and new uses
microbiology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Postulado de Robert Koch.....	4
Figura 2: Morfologia bacteriana.....	7
Figura 3: Rearranjos bacterianos formados pelos cocos e bacilos.....	7
Figura 4: Rearranjos característicos.....	8
Figura 5: Características das paredes celulares.....	9

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	2
2.1 Objetivos geral.....	2
2.2 Objetivo específico.....	2
3. Revisão da literatura.....	3
3.1 Histórico.	3
3.2 Origem de drogas no começo do século XX.....	5
3.3 Estruturas bacterianas.....	6
3.4 Mecanismo de Ação dos Antibióticos.....	10
3.5 Mecanismo de resistência associados a outros antimicrobianos.....	12
3.6 Reposicionamentos de fármacos.....	13
3.7 Uso <i>Off Label</i>	15
3.8 Dificuldades da técnica - reposicionamento de fármacos.....	17
4. Discussão.	18
5. Conclusão.	21
6. Referências Bibliográficas.	22

1. INTRODUÇÃO

A incidência mundial de infecções invasivas causadas por bactérias aumentou significativamente nos últimos anos. Esse fato atrelado ao complexo diagnóstico e a disponibilidade relativamente baixa de fármacos eficazes para o tratamento, constitui uma grande ameaça para toda a população (PADHY, *et al.* 2011; DA SILVA, 2013; PRATES *et al.*, 2013).

Uma alternativa que tem surgido para acelerar o processo de validação de novas terapias é o reposicionamento de fármacos. Esse conceito consiste na utilização de fármacos já estabelecidos para o tratamento de novas doenças. Esse processo visa principalmente à redução de custos e velocidade de desenvolvimento para a validação de um novo medicamento (CHONG, 2007; CALIXTO e SILVA, 2014).

A bioinformática aliada com novas tecnologias e programas computacionais de simulação biológica é uma importante ferramenta que pode auxiliar na validação de novas terapias. Contudo, questões burocráticas, como normas de patentes e imposições financeiras por parte de indústrias farmacêuticas, precisam ser revistas e avaliadas, para que o reposicionamento de fármacos possa realmente ser uma alternativa para o estabelecimento de novos medicamentos, além de ser uma importante aliada no combate a doenças infecciosas graves, principalmente em países subdesenvolvidos (CHONG, 2007; CALIXTO e SILVA, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Esse trabalho tem como objetivo geral fazer um levantamento sobre o tema: Reposicionamento de fármacos no tratamento de doenças bacterianas.

2.2 Objetivo específico

Foram realizadas pesquisas na base de dados Pub Med, Scielo e Google Acadêmico de trabalhos científicos que abordam o tema reposicionamento de fármacos relacionados a doenças bacterianas negligenciadas. Também foram revisadas publicações científicas pertinentes a essa temática, dando ênfase às publicações mais recentes.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico

Em meados de 1860, Pasteur refutou a teoria da geração espontânea a partir de um experimento controlado, que posteriormente levaria seu nome, pasteurização. Ele demonstrou que no ambiente existem micro-organismos que são responsáveis pela fermentação e contaminação de substratos, alimentos, homens e animais, destituindo até então a teoria da abiogênese (PELCZAR, 1996; DA SILVA 2013)

Em 1865, Pasteur associou o conhecimento do microscopista Agostino Bassi ao relacionar a doença do bicho da seda a um fungo, a “pebrina” como era chamada na época (logo após descobriu tratar-se de um protozoário). Pasteur desenvolveu um método para identificar a “pebrina” dos bichos-da-seda que estavam contaminados, e definiu o termo “contagio”. (FERREIRA, 1996; RODRIGUEZ, 2010).

A partir de conhecimentos da teoria do germe descritos por Pasteur 1860, Joseph Lister, aplicou o conhecimento em procedimentos cirúrgicos. Ele borrifava com ácido fenólico no ambiente e na ferida onde seria realizado o procedimento, e com esta prática reduzia a incidência de infecções e mortes por contaminação por micro-organismos. Sua técnica foi rapidamente adotada por outros cirurgiões. (BYNUM & BYNUM, 2007).

Com o somatório de conhecimentos da época, Robert Koch a comprovação destes seres microscópicos e a relação com o desencadeamento de infecções provocadas pelos mesmos. No ano de 1876, Koch isolou uma bactéria em forma de bastonete, o *Bacillus anthracis*, a partir do sangue coletado de um animal que sucumbiu por antraz. Ele conseguiu reproduzir o micro-organismo infeccioso, ao infectar animais sadios com o

sangue de animais doentes, e após isolar a mesma bactéria da amostra de sangue inicial. Esses mesmos passos são utilizados até hoje, e são conhecidos como postulado de Koch, onde se estabelece uma sequência de passos experimentais para correlacionar diretamente um micro-organismo específico a uma doença específica (FIGURA 1).



Figura 1- Postulado de Robert Koch. Fonte: <http://www.sindioses.org/escepticismo/mhistorica.html>

Um importante estudo foi atribuído às observações de Jenner, ao acompanhar um grupo de ordenhadeiras que relataram serem imunes à forma grave da varíola, pois já haviam contraído a forma branda da doença bovina. Após uma série de experiências, Jenner constatou que estes indivíduos mantinham-se refratários à varíola, mesmo quando inoculados com o vírus. A primeira experiência de Jenner foi à inoculação do vírus da varíola bovina em um menino sadio de oito anos, com o pus retirado de uma pústula de uma ordenhadora que sofria da doença. O garoto contraiu uma infecção extremamente benigna e, após dez dias, estava recuperado. Meses depois, Jenner voltou a inocular o mesmo vírus no garoto, e o mesmo não adoeceu, era a descoberta da vacina. (BARQUET, 1997; ROCHA, 2008). Anos mais tarde Pasteur batizou este processo como vacinação em homenagem do trabalho realizado por Jenner. Pasteur

utilizou o termo vacina para as culturas de micro-organismos não virulentos, usadas na inoculação preventiva. Após 200 anos deste irrefutável sucesso, a Organização Mundial da Saúde certificou na década de 80 a erradicação mundial da varíola (MIMS, 1998).

3.2 Origens de drogas no começo do século XX

Após a relação entre micro-organismos e doenças ter sido estabelecida, os estudos foram direcionados para a busca de substâncias que pudessem combater os micro-organismo patogênicos. A partir de 1930, a busca por novas drogas sintéticas foi acentuada. As primeiras drogas sintéticas foram desenvolvidas por Paul Ehrlich, que descobriu um agente quimioterápico chamado de *salvarsan*, um derivado de arsênico, efetivo contra a sífilis (EHRLICH, 1913; LLOYD, *et al.* 2005).

O primeiro antibiótico foi descoberto por Alexander Fleming, acidentalmente. Ao voltar das férias, Fleming observou que algumas culturas de *Staphylococcus* tinham sido contaminadas por um bolor, e que ao redor das colônias deste não havia mais bactérias. Com a ajuda de um colega, Fleming descobriu que o bolor era um fungo do gênero *Penicillium* spp, e que este produzia uma substância responsável pelo efeito bactericida, que eles deram o nome de penicilina. Esse fungo foi inicialmente identificado como *Penicillium notatum*, sendo mais tarde chamado de *Penicillium chrysogenum*. Nesta época, também surgiram as sulfonamidas provindas de corantes para tecidos, mas ao contrário do que se pensava na época, elas são bacteriostáticas e não bactericida (JONES, *et al.* 1954; ANDRADE, 1998).

Após a descoberta da penicilina, várias outras classes de antibióticos sintéticos e semissintéticos foram descobertas. Hoje o grande desafio para formulações de novas drogas, consiste em minimizar os possíveis efeitos colaterais no paciente. Além disso, o

surgimento de novas linhagens mutantes de microrganismos resistentes aos antibióticos é outra problemática a ser enfrentada (MOURA 2007; CABRAL, 2008).

Assim, a busca por alternativas ou novas estratégias terapêuticas perante o aumento da resistência aos antimicrobianos, é de extrema importância. Para isso, a associação com diferentes áreas como a imunologia e biologia molecular são importantes para otimizar o avanço das pesquisas e aplicações práticas em todos os setores da microbiologia (MEGID NETO, 2007; OLIVEIRA, *et al.* 2012).

3.3 Estruturas Bacterianas

As bactérias são organismos unicelulares procariota com tamanho microscópico, medindo cerca de 0,5 a 1µm de diâmetro. São desprovidas de envoltório nuclear, onde o material genético- DNA está disperso no citoplasma. Possuem uma parede polissacarídica que envolve todo o citoplasma. Sua reprodução é assexuada, e acontece por fissão binária, processo no qual ocorre duplicação do DNA com posterior divisão em duas células (TORTORA, *et al.* 2012)

Morfologicamente, existem vários tipos de bactérias e suas formas e arranjos, variam dependendo do gênero e das condições em que elas se encontram. Sempre se apresentam nas suas formas básicas: cocos, bacilos, espirilos e vibrios; Esses arranjos podem ser visualizados na FIGURA 2 (CARVALHO, 2010).

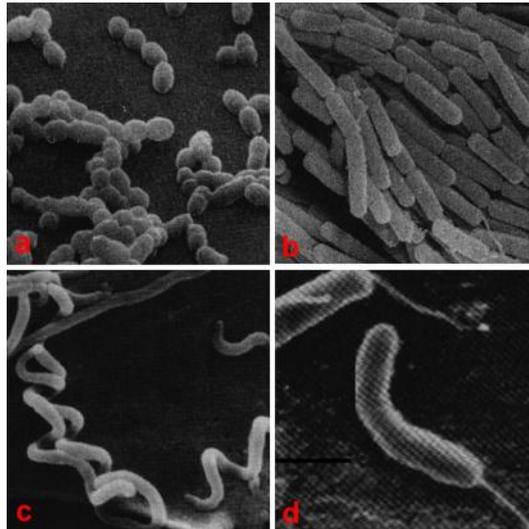


Figura 2- Morfologia bacteriana: a: cocos; b: bacilos; c: espiroquetas; d: Vibriões. Fonte: <http://materiais.dbio.uevora.pt/jaraujo/biocel/celulas.procariticas.htm>

Cocos são geralmente arredondados e quando se dividem podem permanecer unidos uns aos outros, o que os classificam em diplococos, pois permanecem aos pares após a divisão. Estreptococos é o arranjo no qual após a divisão, origina-se uma estrutura em forma de cadeia. Estafilococos é o arranjo originado pela divisão em múltiplos planos levando a uma configuração no formato de cacho de uva. Finalmente, as sarcinas são as que se dividem em três planos, permanecendo unidas em formato de cubo (FIGURA 3) (NASCIMENTO; 2010).

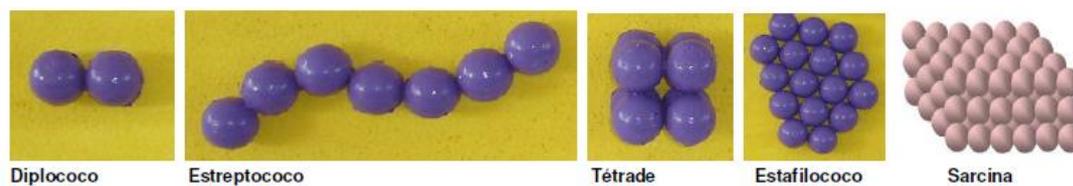


Figura 3- Rearranjos bacterianos formados pelos cocos e bacilos. Diplococo, Estreptococo, Tétrade Estafilococo. Fonte: NASCIMENTO, 2010.

Os bacilos possuem o formato de bastonetes, curtos ou longos. Os exemplos mais comuns de bactérias que possuem esse arranjo são: *Escherichia spp*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp*, *Clostridium spp*, *Rhizobium spp*, *Nitrosomonas spp*, *Nitrobacter spp*, *Xanthomonas spp*. Os bacilos apresentam apenas um plano de divisão, os quais formam os arranjos: diplobacilo - aos pares e; estreptobacilo - com três ou mais células (FIGURA 4). Além destes arranjos, alguns bacilos se apresentam em forma de letra chinesa e paliçada (*Corynebacterium spp*). Muitos também não formam arranjos característicos, permanecendo isolados.

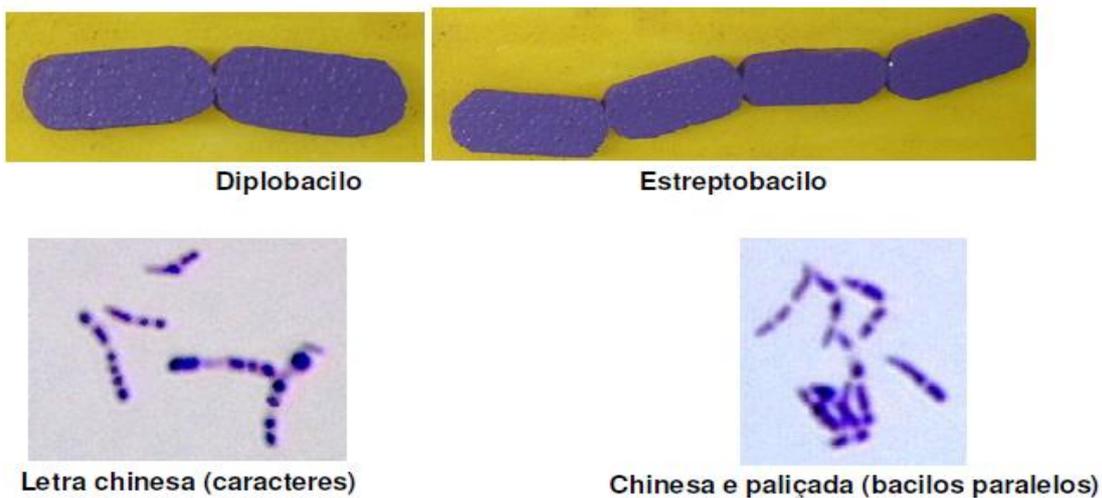


Figura 4- Arranjos característicos. Diplobacilos, estreptobacilo, letra chinesa e chinesa e paliçada. Fonte: NASCIMENTO, 2010.

As formas espiraladas compreendem: vibrião - bacilos curvos em forma de vírgula (*Vibrio cholerae*); espirilo - bastonete rígido de forma helicoidal; e espiroquetas: - também helicoidal, porém com várias espirais e flexíveis. Os espiroquetídeos dividem-se ao meio e não formam arranjos característicos (FIGURA 1).

As bactérias possuem uma parede celular que confere características importantes a esses micro-organismos. Sua composição química é variável, o que determina a existência de diferentes grupos de bactérias, na qual são classificadas em Gram positivas, Gram negativas e bacilo álcool ácido resistente (BAAR) (WOODS, 2007; TORTORA et al. 2012) (FIGURA 5).

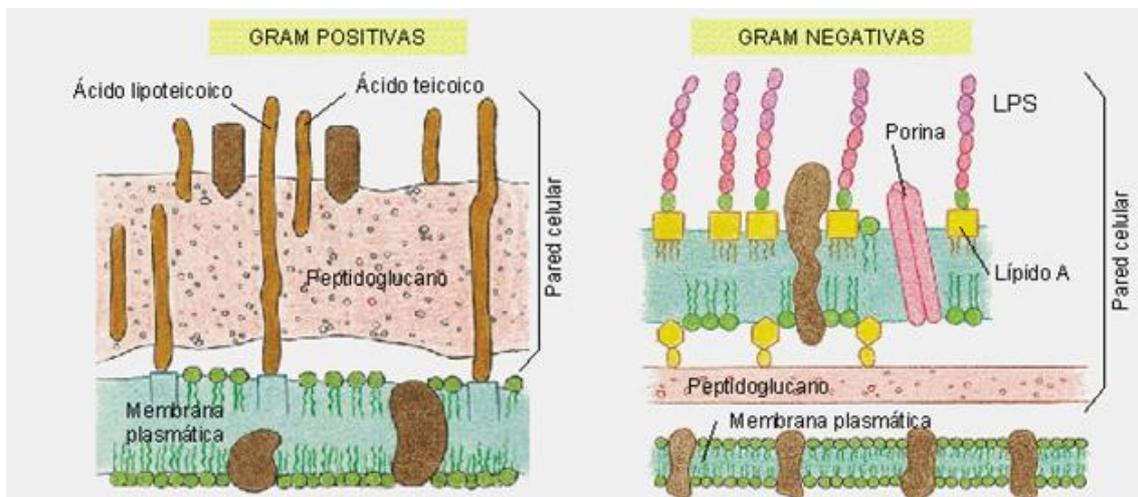


Figura 5- Características das paredes celulares, classificação em gram. positivo e gram. negativo. Fonte: Tortora, 2012.

A diferença na parede celular, entre os grupos de bactérias gram positivas e gram negativas, confere a esses micro-organismos diferenças no metabolismo, mecanismos de defesa e por consequência nas respostas aos antibióticos. Por isso, grande parte dos fármacos hoje utilizados na clínica, tem como mecanismo de ação a parede celular, por isso sendo muitas vezes específico para uma determinada classe de bactéria (CHOPRA et al., 2002; HARRIS & THORARENSEN, 2004.; FLUHR, et al., 2010).

Bactérias Gram positivas possuem paredes com várias camadas de peptideoglicano, composta por subunidades alternadas de N-acetilglicosamina e N-

acetilmurâmico, ácido tecóico e o ribonucleato de magnésio as quais conferem uma estrutura mais rígida a parede celular. Os principais cocos de relevância clínica são *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus* são Gram positiva, exceto *Neisseria*, e a *Bordetella*, entre outros. (FLUHR, *et al.* 2010; FERREIRA, 2010).

As bactérias Gram negativas apresentam paredes celulares mais complexas com uma camada mais fina de peptidoglicano, localizado no espaço periplasmático, que compreende o espaço entre a membrana externa e a membrana celular. A membrana externa é um lipopolissacarídeo, sendo a porção lipídica uma endotoxina comum a todas Gram negativas. A maioria dos bacilos de importância clínica (*Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Shigella*, *Pseudomonas* etc) são dessa classe, exceto os gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*. (MADIGAN, *et al.* , 2011; CABRAL, 2013)

As paredes das micobactérias têm por características a resistência ao ressecamento e a desidratação, por isso, sendo denominadas de Bactérias Ácido Álcool Resistentes. Suas paredes também são constituídas de peptidoglicano, porém revestidas pelo ácido micólico o que as tornam impermeáveis à entrada de corantes básicos. Por este motivo mostra-, elas são resistentes à descoloração depois de coradas pela fucsina de Zehl-Neelsen. (WOODS, 2007; MADIGAN, *et al.* , 2011; CABRAL, 2013).

3.4 Mecanismo de Ação dos Antibióticos

Conhecer os mecanismos de ação dos antibióticos e os seus possíveis alvos, contribui para uma maior eficácia do tratamento, além de minimizar o aumento da resistência bacteriana (ZAVASCKI *et al.*, 2010; CARVALHO, 2013).

Atualmente, diversos fármacos antibacterianos estão disponíveis para uso clínico. Os mais utilizados são o que possuem como mecanismo de ação a inibição da síntese da parede celular. Dentre os seus representantes, estão às penicilinas, ampicilina, cefalosporinas, bacitracina e vancomicina, que agem nas paredes celulares das bactérias inibindo a sua síntese, ocasionando a morte bacteriana. (FLUHR, *et al.* , 2010; CASSONE, *et al.* , 2010; FERREIRA, 2010).

Entre as principais das características das penicilinas estão o seu amplo espectro e sua boa absorção. Apesar disso, sua eficácia contra bactéria Gram negativa é reduzida, devido à dificuldade do fármaco em ultrapassar a sua membrana externa. As Cefalosporinas, segunda classe das penicilinas, são mais ativas contra bactéria Gram negativa, uma vez que elas penetram com maior facilidade a membrana externa. Outras penicilinas quimicamente modificadas têm baixa taxa de eliminação pelo paciente; diminuindo a frequência de administração dessas drogas. Antibacterianos como a meticiclina e a oxacilina não possuem atividade contra bactérias Gram-negativas, pois não atravessam a membrana celular, fator primordial para a ação antibiótica (BROWN, 2004; BUYNAK, 2004; FERREIRA, 2010).

Outro mecanismo bastante explorado consiste na desestruturação da membrana citoplasmática bacteriana, na qual a sua permeabilidade é alterada, permitindo assim uma difusão passiva entre o interior e exterior da célula (BROWN, 2004; BUYNAK, 2004; FERREIRA, 2010). Alguns antibióticos atuam na inibição da síntese de ácidos nucleicos, interferindo nos processos de síntese e replicação bacteriana. Estreptomicina, cloranfenicol e rifamicina são representantes dessa classe (PADHY, *et al.* 2011; CLARA, *et al.* ; 2014; SILVA, 2014). O Antagonismo metabólico é outro mecanismo de ação bastante explorado. Um representante dessa classe, a sulfa, compete na síntese do ácido fólico com o PABA, que é um importante precursor da síntese de purinas;

outro exemplo a ser citado e a do trimetoprim que bloqueia a síntese do tetrahydrofolato, inibindo a dihydrofolato reductase, levando assim a morte bacteriana (RONALD, 1997; GUIMARÃES, *et al* 2010; NASCIMENTO, 2010; CARVALHO, 2013).

3.5 Mecanismo de resistência associados a outros antimicrobianos

Os aminoglicosídeos vêm sendo utilizado em combinação com beta-lactâmicos de largo espectro, para tratar quadros bacterianos por bactérias Gram negativas. A modificação enzimática é o mecanismo mais comum de resistência aos aminoglicosídeos. Este tipo de mecanismo pode resultar em alto grau de resistência a estes agentes antimicrobianos. Os genes responsáveis por esta resistência encontram-se geralmente em plasmídios ou transposons (ZAVASCKI *et al*, 2010). Fluoroquinolonas as quinolonas ofereceram atividade frente à *Acinetobacter*, mas a resistência a esses antibióticos emergiu subseqüentemente de forma rápida em isolados clínicos (TOWNER *et al*, 2009). A resistência às fluoroquinolonas podem ser por alteração na estrutura das subunidades da DNA girase, geralmente por mutação em *gyrA* e/ou *parC*; por redução da permeabilidade da membrana externa ou por aumento das bombas de efluxo da célula. Uma mudança em um códon no gene *gyrA* está associada a resistência moderada as quinolonas, enquanto duas substituições nos genes *gyrA* e *parC* conferem resistência elevada (BERGOGNE-BÉRÉZIN; TOWNER, 2009).

3.6 Reposicionamento de fármacos

O desenvolvimento e validação de um novo fármaco é um processo demorado, oneroso e altamente burocrático. Além disso, o sucesso de sua produção final nunca é garantido.

Para ocorrer à introdução de um novo medicamento no mercado, diversas etapas são requeridas. De uma maneira geral, o processo se divide em quatro estágios principais: a descoberta de um novo composto (ou molécula), testes pré-clínicos, ensaios clínicos e finalmente a revisão por uma agência regulatória. O processo completo da descoberta leva em média 15 anos. Segundo dados da *Pharmaceutical Research and Manufactures of América*, apenas cinco a cada 10.000 novas entidades químicas identificadas conseguem transpor com sucesso esses dois primeiros estágios (KAITIN, 2009).

Toda essa problemática, tem impulsionado a indústria farmacêutica a explorar diferentes estratégias para o desenvolvimento de novos fármacos.

Nesse enfoque, o “reposicionamento de fármacos” tem surgido como uma nova abordagem para o estabelecimento de novas terapias. Esse conceito baseia-se na utilização de medicamentos já estabelecidos para o tratamento de novas doenças (CHONG, 2007; CALIXTO e SILVA, 2014). Essa metodologia diminui o tempo de pesquisa, estudos clínicos e consequentemente os gastos; visto que a farmacologia e toxicologia desses medicamentos já são conhecidas. Portanto, esse enfoque aumenta as possibilidades de encontrar novos fármacos em uso, para novas terapias (WILSON, 2006; JANNUZZI, 2012). Além disso, essa metodologia pode ser promissora para o tratamento de doenças negligenciadas, principalmente em países com baixo poder

econômico (ANDRES, 2000; O'CONNOR, 2005; CHIANG, 2009; RAWAL, 2007; PADHY, 2011).

Calixto e Silva (2014) realizaram um estudo para avaliar o reposicionamento de fármacos para o tratamento da hanseníase, uma enfermidade que afeta milhares de pessoas em diversas partes do mundo, e que é causada pela bactéria *Mycobacterium leprae*. Tradicionalmente, os medicamentos utilizados na terapêutica são rifampicina, clofazimina e dapsona. Contudo, os efeitos colaterais apresentados por esses fármacos e o crescente aumento da resistência bacteriana frente a esses medicamentos, diminuem muito a perspectiva de erradicação dessa doença. Sendo assim se faz necessário desenvolver medicamentos que sejam mais seletivos e menos tóxicos para os pacientes.

A ação antiviral da papaverina, um alcaloide encontrado em baixas concentrações na papoula, foi estudada pela equipe de Nokta (1993). O estudo *in vitro* demonstrou que a papaverina inibiu a replicação do citomegalovírus (CMV) e do sarampo, além do vírus da imunodeficiência humana (HIV). No caso do HIV, a papaverina inibiu em 99% a sua replicação. Essa ação antiviral da papaverina foi corroborada no estudo realizado por Reginaldo e colaboradores em 2014, que também demonstrou o seu efeito na replicação *in vitro* do vírus do sarampo, citomegalovírus, HIV, além do vírus causador da dengue.

A associação terapêutica de dois ou mais medicamentos também tem sido alvo de estudos no âmbito do reposicionamento de fármacos. Drusano et al., 2011, demonstrou que a associação *in vitro* de moxifloxacina e rifampicina é sinérgica contra *Mycobacterium tuberculosis*, levando a uma diminuição no tempo de tratamento.

A bioinformática também é uma aliada na busca e validação de novos fármacos. Através dessa técnica, foram testados *in silico* fármacos já aprovados para o tratamento de doenças infecciosas e não infecciosas. Nesses estudos, foram aprovadas dez drogas

com potencial de interferir no metabolismo *M. leprae*, sendo elas: Novobiocina, Gatifloxacina, Moxifloxacina, Dexrazoxana, Pefloxacina, Ciprofloxacina, Norfloxacina, Levofloxacina, Ofloxacina e Sparfloxacina. Todos esses fármacos atuam especificamente contra o DNA girase do *M. leprae*. Essa enzima é indispensável para síntese do DNA cromossomal. Esses estudos, demonstram que a utilização de softwares computacionais aliado ao conhecimento genômico podem contribuir de maneira relevante para o reposicionamento de novos fármacos. Nessa mesma perspectiva, Clara e colaboradores em 2014 publicaram que uma solução para acelerar a aprovação de fármacos já estabelecidos para novas etiologias, está na integração de conhecimentos clínicos e farmacológicos com tecnologias computacionais.

Assim, estratégia de reposicionamento tem surgido como uma ótima oportunidade para explorar o potencial da farmacopeia, devido a suas inúmeras vantagens que podem beneficiar os mais diversos setores, como públicos, privados bem como pacientes em todo o mundo. (ANDRES, 2000; O'CONNOR, 2005; RAWAL, 2007; CHIANG, 2009; PADHY, 2011).

3.7 Uso *Off Label*

O termo *off label* consiste na prescrição de um medicamento na ausência de estudos prévios, utilizando diferentes indicações terapêuticas e posologia, sem ter para isso liberação de agências reguladoras competentes, como a ANVISA no Brasil (ANVISA, 2005). A definição utilizada por Turner e colaboradores (1998), descreve que é considerado uso *off label* de um medicamento, a utilização de um fármaco para uma indicação terapêutica não descrita na bula, em relação à uma ou mais situações seguintes: dose, faixa etária, via de administração, contraindicação, e/ou frequência de uso (WANNMACHER, 2007; KAIRUZ, 2007; GAZARIAN, 2007; WHO, 2007).

Kairuz e colaboradores (2007) defendem esta prática, pois acreditam que essa metodologia possa somar resultados positivos, indicando novos caminhos para a pesquisa científica na padronização de indicações e dosagens. Como exemplo, ele descreve que qualquer medicamento reformulado em hospitais é um *off label*, pois a sua formulação original é que esta licenciada e não a sua diluição e ou associação (KAIRUZ et al, 2007; SANTOS, 2009).

No entanto, a prática no uso de *off label* pode acarretar aparecimento de reações adversas, além de falhas na terapêutica pela alteração e/ou adição de diferentes substâncias. Com isso, alterações na absorção gastrointestinais e modificações nas características físicas e químicas diferentes das que foram originalmente descritas e aprovadas, podem ocorrer. (KAIRUZ et al, 2007; SANTOS, 2009). A Organização Mundial da Saúde (OMS) exige legislações mais rigorosas pertinentes a esta prática. Tais medidas visam à proteção prévia dos pacientes antes de ter a confirmação da eficácia e segurança do tratamento, por meio de estudos e pesquisas autorizadas e comprovadas (OMS, 2007).

Para um fármaco utilizado como *off label* possa ser aprovado como fármaco reposicionado, diferentes estudos devem ser realizados, além de apresentar durante a pesquisa resultados satisfatórios e suficientemente fortes e consistentes. O perfil de segurança e eficácia devem ser confirmados, para a garantia do sucesso clínico nos pacientes que serão submetidos a esse tratamento (JEUNNE, 2013; PINHEIROS, 2014).

No Brasil, o registro de novos medicamentos e/ou novas prescrições para um fármaco já estabelecido, é concedido pela ANVISA, desde que sejam comprovadas a qualidade, a eficácia e a segurança do medicamento, sendo as duas últimas baseadas na avaliação de estudos clínicos realizados para testá-lo para essas indicações (BRASIL, 2005).

3.8 Dificuldades da técnica – reposicionamento de fármacos

O reposicionamento de fármacos é uma excelente opção para validação de novos tratamentos. Contudo, algumas dificuldades são encontradas nessa metodologia. Nos Estados Unidos, a patente de um medicamento é válida por 20 anos, podendo ser renovável por mais 20. Durante essa fase, apenas a detentora da patente poderá alterar ou inserir qualquer novo dado na bula do medicamento, como posologia, dosagem e mecanismo de ação (PADHY, *et al.* 2011).

Essa regra, muitas vezes, inibe o interesse e financiamento por pesquisas na área de reposicionamento, e quando isso acontece, normalmente o fármaco é utilizado como medicamento *off label* (PADHY, 2011; SMITH, 2011). Além disso, nos últimos anos, as diretrizes responsáveis pela regulamentação de fármacos tornaram-se mais rigorosas, e criaram novas exigências para validação de uso diferente da originalmente prescrita em bula (WASHINGTON, 2009; KAITIN, 2010)

4. DISCUSSÃO

O assunto reposicionamento de fármacos ainda é pouco discutido na academia científica, por isso, são poucos os artigos disponíveis relacionados a essa temática, principalmente quando envolve a área de microbiologia (KAITIN, 2010). Como consequência, as bases para descoberta de novas drogas são falhas. Embora a área microbiológica apresente muitas vezes um interesse relativamente menor do mercado financeiro, elas são de grande importância para a saúde pública mundial (CHONG, 2007).

Atualmente, além de cumprir todos os requisitos necessários e exigidos para validação de um novo fármaco, como segurança e eficiência, as empresas se confrontam com a questão econômica. Ou seja, muitas vezes, um fármaco reposicionado somente será aprovado, caso o retorno financeiro seja atraente para a empresa, mesmo que todos os benefícios para o paciente já sejam conhecidos (KAITIN, 2010).

A bioinformática pode ser uma grande aliada no desenvolvimento de novos fármacos e para busca de novos usos de medicamentos já estabelecidos. Uma abordagem na qual ela pode ser aplicada com sucesso é para estudos de cinética. Além disso, uma visão multidisciplinar que envolve bioinformática e os conhecimentos da interação patógeno – hospedeiro, poderá contribuir para a construção de modelos biológicos mais direcionados. Com isso, para testes *in vivo*, um menor número de animais (como camundongos e ratos) seria necessário (ADEREM, 2011). Contudo, a ausência de ferramentas computacionais de validação adequadas, que permitam aos pesquisadores identificar sítios farmacológicos e mecanismos de ação, tem diminuído as probabilidades de desenvolvimento bem sucedidas para novas terapêuticas. Por isso, os

dados demonstram as dificuldades para o estabelecimento e inserção no mercado de fármacos reposicionados (KAITIN, 2010).

Neste sentido, Laubenbacher defende a publicação de estudos em bancos virtuais. Assim, protocolos de pesquisa, ferramentas computacionais, dados genômicos e proteômicos são um dos exemplos que estariam disponíveis a comunidade científica. Entre alguns exemplos bem sucedidos dessas bases de estudo, estão pesquisas sobre o câncer, patógenos virais, *Mycobacterium tuberculosis*, e mais recentemente sobre a malária (LAUBENBACHER, 2009; LAW, 2013).

Contudo, métodos adicionais ainda precisam ser desenvolvidos para superar determinadas limitações. Uma vez que as drogas potenciais são identificadas através destas abordagens, devem ser tomadas medidas para validar a eficácia clínica do fármaco (OPREA, 2011). Alternativas viáveis devem ser levadas em consideração, pois frequentemente, os medicamentos utilizados em emergências e unidades de terapia intensiva são de uso *off label* para doses, vias de administração e faixa etária. E por não existir um respaldo oficial, a propensão ao erro no uso de medicamentos *off label* pode ser maior do que quando comparado com a medicação padronizada (KAUSHAL *et al*, 2004; DELL AERA *et al*, 2007; CADWELL, 2008).

Estes dados são corroborados por estudos do FDA, onde até o ano de 2003, somente de 20 a 30% dos fármacos eram aprovados e indicados para uso pediátrico. Essa falta de medicamento disponível ao público infantil direciona muitas vezes a prescrição de fármacos *off label*, e por esse motivo a preocupação das agências regulamentadoras é crescente (DICKET AL, 2003). Diante disso, sociedades médicas americanas e européias estão instituindo medidas para reavaliar e normatizar o uso de medicamentos em crianças (BOOTS *et al*, 2007; SANTOS, 2009).

Embora sejam conhecidas as dificuldades para validação de novo uso para medicamentos já estabelecidos, o reposicionamento de fármacos é uma excelente ferramenta que pode auxiliar no tratamento de enfermidades raras e doenças infecciosas. Sobretudo, com o aumento nos casos de resistência microbiana aos fármacos atualmente disponíveis e o surgimento de cepas mutantes, essa abordagem pode ser uma excelente aliada para o estabelecimento de novas terapias antimicrobianas (LAW, 2014).

5. CONCLUSÃO

Este trabalho teve o intuito de fazer uma abordagem sobre o reposicionamento de fármacos para o tratamento de doenças bacterianas, no entanto encontram-se poucos artigos científicos disponíveis na literatura. Assim, concluímos que novas pesquisas e abordagens nesse enfoque são importantes, pois o reposicionamento de fármacos aponta como uma ferramenta promissora para o estabelecimento de novas terapêuticas.

6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

- ADEREM, A; ADKINS, J. N; ANSONG, C; GALAGAN, J; KAISER, S; KORTH, M. J; LYNN LAW, G; MCDERMOTT, J. G; PROLL, S. C; ROSENBERGER, C; SCHOOLNIK, G; AND KATZE M. G; A Systems Biology Approach to Infectious Disease Research: Innovating the Pathogen-Host Research Paradigm; v2, 2011.
 - ANDRES, C.J; BRONSON, J.J; D'ANDREA, S.V; DESHPANDE, M.S; FALK, P.J; GRANT-YOUNG, K.A; *et al.* 4-Thiazolidinones: Novel inhibitors of the bacterial enzyme MurB. *Bioorg Med Chem Lett*, v.10:715-7, 2000.
 - ANDRADE, F.A.L; Bacteriófagos e sua aplicabilidade no controle de populações microbianas. Teses de especialização, p. 14; 2010.
 - ANAND, R; REED, C; FORLENZA, S; *et al*: Non-cytocidal natural variants of human immunodeficiency virus isolated from AIDS patients with neurological disorder. *Lancet* 2:234, 1987.
 - ANDRADE, S. F; Manual de terapêutica veterinária. 2. ed. São Paulo: Rocca, 1998.
 - ANVISA. Como a Anvisa Vê o Uso Off Label de Medicamentos. ANVISA 2005.
 - ASJO, B; ALBERT, J; KARLSSON, A; *et al*: Replicative capacity of human immunodeficiency virus from patients with varying severity of HIV infection. *Lancet* 2:660, 1986.
 - BARQUET, N; DOMINGO, P; Smallpox: the triumph over the most terrible of the ministers of death. *An Intern Med*,127(8):635-42, 1997.
-

- BOOTS I; SUKHAI R.N; KLEIN R.H; *et al.* Stimulation Programs for Pediatric Drug Reserch – Do Children Really Benefit? *European Journal of Pediatrics*, v.166, n. 8, p.849 - 55, 2007.
- BYARUGABA, D.K; A view on antimicrobial resistance in developing ;countries and responsible risks factors. *International Journal of Antimicrobial Agents*. v. 24, p 105- 110, 2004.
- FERREIRA, B. L. A.; COMPOSTOS SINTÉTICOS: IDENTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA NA PERSPECTIVA DE FORMAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS, 2010. BYNUM, W.F; BYNUM, H; *Dictionary of Medical Biography*; London: Greenwood Press, 2007.
- CADWELL, S.M; Pediatric Medication Safety in the Emergency Department. *Journal ofEmergency Nursing*, v. 34, n. 4, p. 375 – 7, 2008.
- CHAMBERS, H.F; SANDE, M.A; *Antimicrobial Agents*, Goodman & Gilman’s *The Farmacological Basis of Therapeutics*, Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG eds, cap. 43, pg. 1029, 1996.
- CHONG C.R; SULLIVAN, D.J. Jr; New uses for old drugs. *Nature*; 448:645-6, 2007.
- CHIANG, A.P; BUTTE, A.J; Systematic evaluation of drug-disease relationships to identify leads for novel drug uses. *Clin Pharmacol Ther*; 86:507-10, 2009.
- CHONG, C.R; SULLIVAN, D.J. Jr; New uses for old drugs. *Nature*. Aug 9.2007 448:645. PubMed: 17687303, 2007.
- CHOPRA, I; HESSE, L; O’NEIL, L.A.J; Exploiting current understanding of antibiotic action for discovery of new drugs. *Symp Ser Soc Appl Microbiol*. 31: 4-15, 2002.

- COSTERTON, J.W.Z; LEWANDOSKI, D.E; CALDWELL, D.R; KORBER and LAPPIN-SCOTT, H.M; Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49: 11-745, 1995.
- DA SILVA, J.M.I; Teses de doutorado, Caracterização morfológica de micobacterias não tuberculosas ambientais por ensaios neutrograficos, 2013.
- DELEO, F.R; CHAMBERS, H.F.J; Reemergence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *Clin Invest.* 119:2464- 74, 2009.
- DELL AERA M., GASBARRO A.R., PADOVANO M. *et al.* Unlicensed and Off-Label Use of Medices at a Neonatology Clinic in Italy. *Pharmacy World & Science*, v. 29, n. 4, p.361-7, 2007.
- DICK A.; KEADY S.; MOHAMED F. *et al.* Use of Unlicensed and Off-Label Medications in Paediatric Gastroenterology with a Review of the Commonly Used Formularies in theUK. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, v. 17, p. 571-75, 2003.
- DRUSANO, G. L; SGAMBATI, N; EICHAS, A; BROWN,D; KULAWY,R; LOUIE, E. A; Effect of Administration of Moxifloxacin plus Rifampin against *Mycobacterium Tuberculosis* for 7 of 7 Days versus 5 of 7 Days in an *In Vitro* Pharmacodynamic System.” *mBio* 2.4, 2011.
- DUEÑAS, G.A; GARCÍA, L.P; HERRERA, L.A; MEDINA, F.J.L; GONZÁLEZ, F.A; CANDELARIA, M; The prince and the pauper. A tale of anticancer targeted agents. *Mol Cancer*;7:82, 2008.
- FDA Amendments Act. Pub. L. No. 110-85, 121 Stat. 823.
- FERREIRA, R.R; MARTINS, R. A; Os estudos de Pasteur sobre os bicho da seda e a gênese da teoria microbiana das doenças, *Perspicillum* 9.p 75- 113, 1996.

- FLUHR, J.W; DEGITZ, K; Antibiotics, azelaic acid and benzoyl peroxide in topical acne therapy. *J Dtsch Dermatol Ges.* 1:24-30, 2010.
 - GI, M; JEONG, J; LEE, K; LEE, K.-M; TOYOFUKU, M; YONG, D. E; CHOI, J. Y; A Drug-Repositioning Screening Identifies Pentetic Acid as a Potential Therapeutic Agent for Suppressing the Elastase-Mediated Virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(12), 7205–7214, 2014.
 - GOODRIDGE, L.D; Bacteriophage biocontrol of plant pathogens: fact or fiction?; *TRENDS in Biotechnology.*, v.22, n. 8, 2004.
 - HARRIS, C. R; THORARENSEN, A; Advances in the discovery of novel antibacterial agents during the year. *Curr Med Chem.* 11: 2213-43, 2004.
 - HEEMSKERK, J; Screening existing drugs for neurodegeneration: The National Institute of Neurologic Disorders and Stroke (NINDS) model. *Retina.* PubMed: 16374338. 25:S56. Dec, 2005.
 - JAIN, A; ROY, I; GUPTA, M.K; KUMAR, M; AGARWAL, S.K; Prevalence of extended spectrum beta-lactamase-producing gram-negative bacteria in septicemic neonates in a tertiary care hospital. *J Med Microbiol*;52:421-5, 2003.
 - JENKINS, J; WASHINGTON, DC; American Course on Drug Development and Regulatory Sciences; Development of Drugs in the Safety Environment Post FDAAA. Sep 30, 2009.
 - JONES, L.M; BOOTH, N.H; McDONALD, L.E; *Farmacologia e terapêutica veterinária.* 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1954.
-

- JEUNNEL LE, C; BILLON, N; DANDON, A; and participants of round table N° 3 of Giens XXVIII. Off-label Prescriptions: how to Identify Them, Frame Them, Announce Them and Monitor Them in Practice?; *Thérapie* Juillet-Août; 68 (4): 233–239, 2013.
 - KAIRUZ, T; GARGIULO, D; BUNT, C; GARG, S; Quality, Safety and Efficacy in the “Off Label” Use of Medicines. *Current Drug Safety*, v. 2, n. 1, p. 89 – 95, 2007.
 - KEATING, G.M; LYSENG-WILLIAMSON, K.A; Tolcapone: a review of its use in the management of Parkinson’s disease. *CNS Drugs* 19: 165–184, 2005.
 - KAITIN, K.I; Editor. Best R&D Practices of Top Pharma/Biotech Performers. Vol. vol. 4. Boston: Tufts Center for the Study of Drug Development R&D Management Report; Oct, 2009.
 - KAITIN, K.I; Deconstructing the Drug Development Process: The New Face of Innovation. *Clin Pharmacol Ther.* March; 87(3): 356–361. doi:10.1038/clpt.2009.293, 2010.
 - KAITIN, K.I; *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. Drug Discovery & Development. Volume 87, Issue 3, pages 356–361, March, 2010.
 - KAUSHAL, R.; JAGGI, T.; WALSH, K.; FORTESCUE, E.; BATES, D. Pediatric Medication Errors: What Do We Know? What Gaps Remain? *Ambulatory Pediatrics*, v. 4, n. 1, p. 73 – 81, 2004.
 - LAW, G. L; TISONCIK-GOA, J; KORTHA, M.J; and Michael G. KATZEA, G; Drug repurposing: a better approach for infectious disease drug discovery? *Curr Opin Immunol*; 25(5): 588–59, 2014.
-

- LAUBENBACHER, R.V; HOWER, A; JARRAH, S.V; TORTI, V; SHULAEV, P; MENDES, F.M; TORTI, AND AKMAN, S; A systems biology view of cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 1796:129 –139, 2009.
- LANDERSDORFER C.B; KINZIG M; HENNIG F.F; BULITTA J.B; HOLZGRABE U; DRUSANO G.L; SÖRGEL F; GUSINDE J; Penetration of moxifloxacin into bone evaluated by Monte Carlo simulation. *Medline*, id: mdl-19223648; *Antimicrob Agents Chemother*; 53(5): 2074-81, 2009.
- MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M; PARKER, J; *Microbiologia de Brpck*. 10 ed. São Paulo, Pretice Hall, 2004.
- MEADOWS, M. Drug Research and Children. *FDA Consumer Magazine* 2003.
- MIMS, C; *Medical Microbiology*. 2nd edition. Mosby, 1998.
- MOURA, J.P; GIR, E; Conhecimento dos profissionais de enfermagem referente à resistência bacteriana a múltiplas drogas. *Acta Paulista de Enfermagem*. 20(3):351- 6, 2007.
- NASCIMENTO, J.S; *Biologia de microrganismos*. In. GUERRA, R.A.T; (Org.). *Cadernos CB Virtual* 4. João Pessoa: UFPB; v.4, p.233-306, 2010.
- NOKTA, M; ALBRECHT, T; POLLARD, R; Papaverine hydrochloride: effects on HIV replication and T-lymphocyte cell function. *Immunopharmacology*. Sep-Oct;26(2):181-5, 1993.
- O'CONNOR, K.A; ROTH, B.L; Finding new tricks for old drugs: An efficient route for public-sector drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*; 4:1005-14, 2005.OMS. Promover la Seguridad de los Medicamentos para Niños. OMS 2007.

- OPREA, T.I; BAUMAN, J.E; BOLOGA, C.G; BURANDA, T; CHIGAEV, A; EDWARDS, B.S; JARVIK, J.W; GRESHAM, H.D; HAYNES, M.K; HJELL, E. B; et al. Drug repurposing from an academic perspective. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*. PubMed; 8:61–69, 2011.
 - PADHY, B.M; GUPTA, Y.K; Drug re-investigating existing drugs for new therapeutic indications. *J Postgrad Med*; 57: 153-60, 2011.
 - PANDOLFINI, C; BONATI, M; European Paediatric Research and children's Therapeutic Needs. A Trial Review. *Acta Paediatrica*, v. 97, n.1, p. 1232 – 37, 2008.
 - PELCZAR, J.M.J; CHAN, E.C.S; KRIEG, N.R; *Microbiologia: Conceitos e aplicações*. São Paulo, Makron Books, 1996.
 - PENDLETON, J.N; GORMAN, S.P; GILMORE, B.F; 2013. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* PubMed, 11:297–308. .10.1586/eri.13.12, 2013.
 - PINHEIRO, P. R; Results from the 2012-2013 paediatric national survey on off-label drug use in children in Spain, 2014.
 - PITOUT, J. D. D; HOSSAIN, A; AND HANSON, N.D; Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M- β -Lactamases Produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Journal of Clinical Microbiology*. vol. 42 no. 12 5715-5721, 2004.
 - O'SULLIVAN, D.M; HINDS, J; BUTCHER, P.D; GILLESPIE, S.H; MCHUGH, T.D; *Mycobacterium tuberculosis* DNA repair in response to subinhibitory concentrations of ciprofloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.* PubMed, 62:1199–1202, 2008.
-

- RAWAL, R.K; KUMAR, A; SIDDIQUI, M.I; KATTI, S.B; Molecular docking studies on 4-thiazolidinones as HIV-1 RT inhibitors. *J Mol Model*; 13:155-61, 2007.
 - REAUME, A.G; Drug repurposing Drug repurposing through nonhypothesis driven phenotypic screening. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*. Volume 8, Issues 3–4, Winter 2011, p85–88, 2011.
 - REGINALDO, F. P. S; Naturais Reposicionamento *in silico* e *in vitro* do alcaloide cloridrato de papaverina, 2014.
 - RODRIGUES, S. P; Galtier, Pasteur e Roux: estudos sobre a raiva (1879-1885) Teses de mestrado, 2010.
 - ROCHA, G; Lições da História Edward Jenner (1749-1823) o “pai” da vacinação; *Saúde Infantil*. 30 (2). 87-87, 2008.
 - SANTOS, L. dos. Medicamentos potencialmente perigosos, não aprovados e de uso *off label* em prescrições pediátricas de um hospital universitário. 14 f. Dissertação Mestrado Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
 - SLAWEK, J; CAR, H; BONIKOWSKI, M; BOGUCKI, A; KOZIOROWKI, D; POTULSKA-CHROMIK, A; RUDZINSKA, M; Are botulinum toxin type A preparations really the same medication? A comparison of three botulinum toxin. *Neurol Neurochir Pol*. 44: 43-64, 2010.
 - SMITH, R. B; Repositioned drugs: integrating intellectual property and regulatory strategies. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies* .v 8 n 3-4, 2011.
 - SMITH, R.B; Repositioned drugs: integrating intellectual property and regulatory strategies; *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies* Vol. 8, No. 3–4, 2011.
-

- STEVEN, H. & LOESSMER, M., J., Application of bacteriophages for detection and control of food borne pathogens. *Appl. Microbiol Biotechnol.* v. 76, p. 513-519, 2007.
 - SÜTTERLIN, S; EDQUIST, P; LINUS SANDEGREN, L; ADLER, M; THOMAS TÄNGDÉN, T; DROBNI, M; OLSEN, B; AND MELHUS, Å; Silver Resistance Genes Are Overrepresented among *Escherichia coli* Isolates with CTX-M Production; *Applied and Environmental Microbiology* vol. 80 no. 226863-6869, 2014.
 - TELLO, A; AUSTIN, B; TELFER T.C; Selective pressure of antibiotic pollution on bacteria of importance to public health. *Environ. Health Perspect.* [PubMed](#)120:1100–1106. .10.1289, 2012.
 - TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; Case C, L; *Microbiologia* 10 ed, 2012.
 - WEINER M; et al.; Effects of rifampin and multidrug resistance gene polymorphism on concentrations of moxifloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* [PubMed](#) 51:2861–2866, 2007.
 - WILSON, J.F; Alterations in processes and priorities needed for new drug development. *Ann Intern Med*;145: 793-6, 2006.
 - YOON, M.Y; LEE, K.M; PARK, Y; YOON; S.S; 2011. Contribution of cell elongation to the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* during anaerobic respiration. [PubMed](#); *PLoS One* 6:e16105. .10.1371, 2011.
-

SITES PESQUISADOS

- Fonte: <http://www.ccms.saude.gov.br/revolta/pdf/M7.pdf>
 - Fonte: <http://materiais.dbio.uevora.pt/jaraujo/biocel/celulas.procarioticas.htm>
 - Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>.
 - Fonte:
http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241563437_spa.pdf.
 - Fonte: <http://www.fda.gov/cder/pediatric>.
 - Fonte: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3132875/>
 - Fonte: <http://www.niaid.nih.gov/labsandresources/resources/sb/Pages/default.aspx>
-