

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E
DO MECANISMO DE AÇÃO DE NOVOS DERIVADOS DE 8-HIDROXIQUINOLINA**

ANGÉLICA ROCHA JOAQUIM

Porto Alegre, 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E
DO MECANISMO DE AÇÃO DE NOVOS DERIVADOS DE 8-HIDROXIQUINOLINA**

Tese apresentada por Angélica Rocha
Joaquim para a obtenção do TÍTULO DE
DOUTORA em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Fernandes de Andrade
Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria

Porto Alegre, 2022.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 26/08/2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Augusto Schrank

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Grace Gosmann

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Karine Rigon Zimmer

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

CIP - Catalogação na Publicação

Joaquim, Angélica Rocha

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA E DO MECANISMO DE AÇÃO DE NOVOS
DERIVADOS DE 8-HIDROXIQUINOLINA / Angélica Rocha
Joaquim. -- 2022.

290 f.

Orientador: Saulo Fernandes de Andrade.

Coorientador: Alexandre Meneghello Fuentefria.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2022.

1. Atividade antimicrobiana. 2. Candida sp.. 3.
Dermatófitos. 4. 8-Hidroxiquinolina. 5. Mycobacterium
tuberculosis. I. de Andrade, Saulo Fernandes, orient.
II. Fuentefria, Alexandre Meneghello, coorient. III.
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido no Pharmaceutical Synthesis Group, junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em parceria com o Laboratório de Pesquisa em Micologia Aplicada da UFRGS e a equipe do professor Pablo Machado (PUCRS). O autor recebeu bolsa de estudos da CAPES. Agradecemos ao CNPQ, à CAPES e FAPERGS pelo suporte financeiro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde e por me dar força e inspiração para trilhar o caminho da pesquisa.

São muitas pessoas que me fizeram chegar até aqui. E começo agradecendo à minha família, pois são a base de quem sou. À minha mãe, Ângela, por todo apoio durante esses anos de Universidade, por estar sempre ao meu lado, me ajudando, apoiando e por ser minha melhor amiga. Ao meu pai, Vilmar, pelo apoio e zelo, e que, mesmo à distância, sempre vibrou com minhas conquistas. Ao Elias, meu companheiro de vida e confidente, agradeço pela paciência, apoio e por toda dedicação em me acompanhar em todas as fases dessa tese e das conquistas anteriores também. Aos meus avós Maria, Assis, Nina (em memória) e Pedro, por serem presença doce em minha vida, e por terem grande participação na minha criação. Aos meus padrinhos Sílvia e Valdomiro, por me ajudarem sempre e por vibrarem por cada conquista minha. À minha afilhada Élen, por tornar meus dias mais felizes e significativos. Aos meus tios, primos, demais familiares. Especialmente aos primos Indiana, Éric e Maria, tios Deco e Karine, pela parceria de sempre e pelos bons momentos vividos juntos. A todos os meus amigos e amigas, especialmente à Graziela Lock e Graziela Rigo, por dividirem comigo os bons momentos do doutorado.

Agradeço ao meu grupo de pesquisa, o Pharmaceutical Synthesis Group, PHARSG. À Débora Rocha, meu “estereoisômero”, por toda ajuda durante a minha trajetória na Universidade, pela amizade de longa data, e por dividir comigo todos os momentos vividos no laboratório e também fora dele. À Marcela Lopes (Marcelinha), que é meu “anjo da guarda” no laboratório, agradeço pela ajuda e participação ativa em todos os capítulos dessa tese, por toda a amizade durante esses anos, e por sempre ter as palavras certas quando eu mais preciso. À Mariana Gionbelli, pela amizade e pela fundamental parceria durante a realização dos experimentos. À Isadora Fortes, por ser uma amiga tão especial, parceira e cuidadosa comigo e com todos do grupo. À Thaís Fernandes e Carol Gentz pelos momentos divertidos e por estarem sempre disponíveis para ajudar e dar uma palavra amiga. Ao Maycon de Cesare e aos colegas do Laboratório de Síntese Orgânica e Fitoquímica, LaFiS, pela ajuda em muitos momentos.

AGRADECIMENTOS (conclusão)

Agradeço aos meus orientadores, que foram absolutamente fundamentais e que são grandes exemplos para mim. Ao meu orientador, professor Saulo Andrade, pela ajuda, pelo apoio, por sempre acreditar em mim e por todas as oportunidades a mim confiadas durante a minha pós-graduação, pela amizade e por me ensinar tantos valores que sempre me fazem crescer. Ao professor Alexandre Fuentesfria, meu coorientador, por me incentivar e por ser uma pessoa sempre aberta a discutir e a ter ideias brilhantes.

Agradeço também aos demais mestres que foram fundamentais nessa trajetória. À professora Amélia Henriques e à Rafaela Marin, que me introduziram no mundo da pesquisa em 2010. Aos professores Francisco dos Santos, Andreza Martins, Tiana Tasca, Simone Gnoatto, Aline Zimmer, Grace Gosmann, Pablo Machado e Lorane Melim, por terem importante participação durante minha pós-graduação, com discussões enriquecedoras e ensinamentos. À coordenação do PPGCF, em especial, à professora Letícia Koester, pela dedicação e disponibilidade de sempre.

Agradeço às colegas do Laboratório de Pesquisa em Micologia Aplicada, LPMA, especialmente à Luana Bazana, Paula Reginatto, Bruna Pippi, Gabriela Machado e Taís Kaminski, pela ajuda e parceria durante a minha pós-graduação. Aos demais colaboradores da PUCRS, UNIFAP, Instituto Federal Catarinense, que tornaram possível o desenvolvimento desta tese. Agradeço também às técnicas Inélia Franskoviaki, Joyce Martins e Gabriela Wentz, pela ajuda de sempre.

RESUMO

Na busca de novos hits para o desenvolvimento de fármacos, o núcleo 8-hidroxiquinolina merece destaque por permitir diversas modificações estruturais levando à formação de derivados bioativos. O objetivo deste trabalho é planejar, sintetizar e caracterizar novos derivados da 8-hidroxiquinolina e avaliar a atividade antifúngica contra *Candida* sp. e fungos dermatófitos, além da atividade antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis*. Além disso, o mecanismo de ação antimicrobiana dos derivados mais promissores é investigado. O presente trabalho contribui com quatro Capítulos para a área de desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, sendo dois Capítulos já publicados na forma de artigos científicos (um artigo de revisão e um experimental) e outros dois Capítulos referentes a artigos experimentais que serão submetidos. Quatro rotas sintéticas, de duas a seis etapas, foram utilizadas para a obtenção dos novos compostos. Para a síntese da série de derivados 8-metoxi ou 8-hidroxiquinolina-5-cloro-7-amilamina, foi necessário a proteção da posição 8 do clioquinol, seguida da reação de Buchwald-Hartwig e, por fim, desproteção da posição 8. Para a síntese de sulfonamidas na posição 5, a 8-hidroxiquinolina sofreu reação de clorossulfonação, seguida da substituição por amina apropriada. A estratégia de hibridação molecular foi aplicada para o planejamento de sulfonilureias na posição 5 e derivados 7-pirimidiniltriazólicos. O derivado contendo uma sulfonilureia na posição 5 foi preparado através de metilação da 8-hidroxiquinolina, clorossulfonação, reação com amina apropriada, hidrólise, formação de sulfonil isocianato e reação com amina apropriada. A síntese de um derivado 7-pirimidiniltriazólico iniciou com a proteção do clioquinol, seguida da reação de Buchwald-Hartwig, seguida de substituição nucleofílica aromática para a formação do intermediário azido, seguida de *click chemistry* e, por fim, desproteção da posição 8. Esse trabalho contribui para a área de química orgânica, através da padronização de duas metodologias de síntese para a obtenção de sulfonilureias derivadas de 8-hidroxiquinolina. Além disso, até onde sabemos, a síntese de derivados de 8-hidroxiquinolina, utilizando a reação de Buchwald-Hartwig, é inédita. Ao todo, 30 produtos finais foram sintetizados, purificados e caracterizados, apresentando rendimentos globais variando de 5 a 81%.

RESUMO (conclusão)

Dentre os compostos sintetizados, **5h** (derivado 7-pirimidinilamino) foi o mais ativo contra células fúngicas (CIM: 4 µg/mL), mas não apresentou atividade contra *M. tuberculosis* na maior concentração testada. Este derivado apresentou baixa citotoxicidade em leucócitos e baixa irritabilidade em modelos *ex vivo*. Além disso, o mecanismo de ação antifúngica de **5h** pode estar relacionado à sua capacidade quelante. Três derivados 7-amilamino substituídos foram os mais promissores na avaliação anti- *M. tuberculosis* (CIM: 10 µg/mL), além de serem identificados como inibidores da enoil-(proteína transportadora de acil) redutase de *M. tuberculosis* (*MtInhA*), com CI_{50} na faixa micromolar baixa. Até onde sabemos, esse é o primeiro estudo que reporta esse alvo molecular microbiano para 8-hidroxiquinolinas. Sulfonamidas *N*-substituídas na posição 5 contendo uma cadeia propílica também apresentaram resultados interessantes contra *M. tuberculosis*, mas não foram inibidoras de *MtInhA*. Os resultados deste estudo confirmam que os derivados de 8-hidroxiquinolina são potenciais novos *hits* para o desenvolvimento de novos antimicrobianos. Além disso, esse trabalho contribui para a identificação de um novo alvo molecular para 8-hidroxiquinolinas antimicrobianas.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana; *Candida* sp.; dermatófitos; 8-hidroxiquinolina; *Mycobacterium tuberculosis*; *MtInhA*.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS AND EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND OF THE MECHANISM OF ACTION OF NEW 8-HYDROXYQUINOLINE DERIVATIVES

In the search of novel hits for drug development, the 8-hydroxyquinoline core deserves to be highlighted for allowing several structural changes leading to bioactive derivatives. The purpose of this study is to design, synthesize and characterize 8-hydroxyquinoline derivatives and to evaluate their antifungal activity against *Candida* sp. and dermatophytes, in addition to antibacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*. Furthermore, the mechanism of antimicrobial action of the most active derivatives is investigated. This work contributes with four Chapters for the field of development of novel antimicrobial agents, being two Chapters already published in the form of scientific articles (one review article and one experimental article) and two other Chapters referring to experimental articles that will be submitted. Four synthetic routes, of two to six steps, were used to obtain the novel compounds. For the synthesis of 8-methoxy or 8-hydroxyquinoline-5-chloro-7-arylamine derivatives, it was necessary to protect position 8 of the cloroquinol, followed by Buchwald-Hartwig reaction and, finally, deprotection of the 8-position. For the synthesis of 5-sulfonamides, chlorosulfonation of the 8-hydroxyquinoline and substitution by an appropriate amine were carried out. The molecular hybridization strategy was applied to design the 5-sulfonylurea and 7-pyrimidinyltriazole compounds. The derivative containing a sulfonylurea at position 5 was prepared by methylation of 8-hydroxyquinoline, chlorosulfonation, reaction with an appropriate amine, hydrolysis, sulfonyl isocyanate formation, and reaction with appropriate amine. The synthesis of the 7-pyrimidinyltriazole derivative started with protection of the 8-hydroxyl, followed by Buchwald-Hartwig reaction, nucleophilic aromatic substitution (to obtain the azido intermediate), click chemistry and, finally, deprotection of position 8. This work contributes to the field of organic chemistry, through the development of two synthesis methodologies for obtaining sulfonylureas derived from 8-hydroxyquinoline. Furthermore, to the best of our knowledge, the synthesis of 8-hydroxyquinoline derivatives using the Buchwald-Hartwig reaction is unprecedented. 30 final products were synthesized, purified and characterized, with overall yields ranging from 5 to 81%.

ABSTRACT (conclusion)

Among all the synthesized compounds, **5h** (a 7-pyrimidinylamino derivative) was the most active against fungal cells (MIC: 4 µg/mL), but it showed no activity against *M. tuberculosis* in the highest tested concentration. This derivative has presented low cytotoxicity in leukocytes and low irritability in *ex vivo* models. Moreover, the mechanism of antifungal action of **5h** may be related to its chelating capacity. Three substituted 7-aryl amino derivatives were the most promising compounds in the anti-TB evaluation (MIC: 10 µg/mL), in addition to being identified as *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-acyl carrier protein reductase (*MtInhA*) inhibitors, with IC₅₀ in the low micromolar range. To the best of our knowledge, it is the first study that reports this microbial molecular target for 8-hydroxyquinolines. Sulfonamides in position 5 substituted by a propyl chain also presented interesting results against *M. tuberculosis*, without inhibitory activity against *MtInhA*. The results of this study confirm that the 8-hydroxyquinoline derivatives are potential novel hits for the development of new antimicrobials. Moreover, this work contributes for the identification of a new molecular target for antimicrobial 8-hydroxyquinolines.

Keywords: antimicrobial activity; *Candida* sp.; dermatophytes; 8-hydroxyquinoline; *Mycobacterium tuberculosis*; *MtInhA*.

LISTA DE FIGURAS

1 Exemplos de fármacos utilizados no tratamento de infecções causadas por <i>Candida</i> sp.	42
2 Exemplos de fármacos utilizados no tratamento de dermatofitoses	43
3 Fármacos antifúngicos aprovados pelo FDA nos últimos dez anos	44
4 Fármacos utilizados no protocolo básico do tratamento da tuberculose no Brasil (fármacos de primeira linha)	47
5 Fármacos de segunda linha utilizados no tratamento da tuberculose (adaptado de Brasil, 2019)	49
6 Fármacos anti- <i>M. tuberculosis</i> aprovados pelo FDA nos últimos dez anos. Destaque para o núcleo quinolínico da bedaquilina	50
7 Estrutura dos derivados do clioquinol avaliados contra fungos patogênicos	54
8 Estrutura das 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas previamente sintetizadas	55
9 Representação simplificada da reação catalisada pela InhA	56
10 Estrutura tridimensional da InhA de <i>M. tuberculosis</i> (A) (PBD ID: 2NV6); aproximação do aduto de isoniazida-NAD com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo (B)	57
11 Ativação da isoniazida e formação do aduto	58
12 Síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada simplificada	59
13 Estrutura tridimensional da AHAS de <i>S. cerevisiae</i> (A) (PBD ID: 1N0H); ênfase para a interação do inibidor clorimuron etil com os resíduos de aminoácidos do alvo molecular (B)	59
14 Estrutura química de inibidores da AHAS. A) Representantes de sulfonilureias herbicidas. Em destaque, o grupamento pirimidinilureia. B) Estrutura do PB. Em destaque, o anel 4,6-dimetoxipirimidina	61

15 Interações intermoleculares entre AHAS de <i>S. cerevisiae</i> e clorimuron etil (A) ou piritiobaque (B)	62
16 Mecanismo sugerido da reação de Buchwald-Hartwig para a formação da ligação C-N	247
17 Planejamento de síntese de derivados 7-substituídos	248
18 Tentativas de síntese de novos derivados 7-amilamino substituídos	249
19 Mecanismo sugerido de reação de desproteção da metila	249
20 Espectro de RMN ¹H do derivado 4i (CDCl₃, 400 MHz). Destaque para a região de hidrogênios aromáticos e o HN	250
21 Espectro de RMN ¹³C do derivado 4i (CDCl₃, 100 MHz	251
22 Mapa de contornos de COSY ¹H-¹H do derivado 4i (CDCl₃, 400 MHz)	251
23 Mapa de contornos de HSQC ¹H-¹³C do derivado 4i (CDCl₃)	252
24 Mapa de contornos de HMBC ¹H-¹³C do derivado 4i (CDCl₃)	253
25 Planejamento de novas 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas para avaliação da atividade antimicobacteriana	254
26 Planejamento de novos híbridos moleculares de 8-hidroxiquinolina	255
27 Planejamento de síntese dos derivados híbridos moleculares 5-sulfonamida-7-amilamina-8-hidroxiquinolina	256
28 Rota adaptada para a obtenção de híbridos 5-sulfonamida-7-amilamina-8-hidroxiquinolina	257
29 Planejamento de síntese de derivados da nitroxolina	258
30 Mecanismo sugerido da reação de formação do grupamento sulfonilureia via isocianato. A) Reação na ausência de base. B) Reação na presença de trietilamina em excesso	260

31 Mecanismo sugerido da reação de formação do grupamento sulfonilureia via sulfonil isocianato	261
32 Formas tautoméricas do azido-tetrazol	262
33 Representação da etapa de <i>click chemistry</i>	263
34 Espectro expandido de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do intermediário 25	266
35 Espectro expandido de RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do intermediário 25	266
36 Mapa de contornos de COSY ¹H-¹H do intermediário 25 (CDCl₃, 400 MHz)	267
37 Mapa de contornos de HSQC ¹H-¹³C do intermediário 25 (CDCl₃, 400 MHz)	268
38 Mapa de contornos de HMBC ¹H-¹³C de 25 (CDCl₃, 400 MHz)	269

Figuras do Capítulo I:

I.1 8-Hydroxyquinoline (1a) and drugs derived from this nucleus. 1b: Clioquinol; 1c: Nitroxoline	70
I.2 8-Hydroxy-5-quinolinesulfonic acids (2a-d), 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamides (3a-m) and their activity range	73
I.3 8-Hydroxyquinoline-5-triazoles and their antifungal activity range (MIC values)	74
I.4 8-Hydroxyquinoline-5-diazenyl compounds and their antimicrobial activity range (MIC values)	75
I.5 8HQs with different substituents at position 5 linked by a methylene spacer and their antibacterial activity range (MIC values)	76
I.6 Main highlights of SAR in this section (antifungal activity)	77
I.7 Main highlights of SAR in this section (antibacterial activity)	77
I.8 Examples of 8HQ derivatives containing a five-member heterocycle linked to position 8 by a methylene and their antimicrobial activity range	79

I.9 Examples of 8HQ derivatives containing a triazine at position 8 and their antimicrobial activity range (MIC values)	80
I.10 Examples of 8HQ derivatives containing a coumarin or 1-aza coumarin at position 8 and their antimicrobial activity range (MIC values)	81
I.11 Examples of 8HQ derivatives containing an aryl group or substituted esters at position 8, and their antimicrobial activity range (MIC values)	82
I.12 8HQ derivatives containing an alkyl chain at position 8 and their antifungal activity range (MIC values)	83
I.13 Main highlights of SAR in this section (antifungal activity)	84
I.14 Main highlights of SAR in this section (antibacterial activity)	85
I.15 Examples of 8HQ derivatives containing an aromatic ring at position 2 and their activity range (MIC values)	86
I.16 Examples of styrylquinolines and their antimicrobial activity	87
I.17 Examples of 8HQ derivatives containing an amine, saturated heterocycle or aliphatic chains with or without heteroatoms as substituents of the position 2 and their activity range	88
I.18 8-HQs containing an aldehyde or carboxylic acid at position 2 and their antibacterial activity range (MIC values)	88
I.19 Examples of 8HQ derivatives containing a carbonyl at position 2 and their activity range	90
I.20 Main highlights of SAR in this section (antibacterial activity)	91
I.21 Main highlights of SAR in this section (antimycobacterial activity)	92
I.22 Main highlights of SAR in this section (antifungal activity)	92
I.23 8HQs with substitutions at position 3 and their activity range (MIC values)	93
I.24 Main highlights of SAR in this section (antibacterial activity)	94

I.25 Examples of 8HQ derivatives containing saturated heterocycles at position 7 and their activity range	96
I.26 8HQ derivatives containing aromatic rings at position 7 and their antibacterial activity	97
I.27 Examples of 8HQ derivatives containing fused cycles between the positions 7 and 8 and their activity range	99
I.28 8HQs containing fused cycles between positions 2 and 3 and their antifungal activity range (MIC)	100
I.29 Main highlights of SAR in this section (antibacterial activity)	100
I.30 Examples of 8HQs and glycosyde derivatives and their antimicrobial activity range (MIC)	101
I.31 Examples of bis-quinolines and their antimicrobial activity range (MIC)	102
I.32 Examples of quinoline derivatives with substitutions at the pyridine ring and their antimicrobial activity range (MIC values)	103
I.33 Examples of 8-sulfonamide quinoline derivatives and their anti- <i>S. uberis</i> activity in presence of ZnSO ₄ (50 μM)	103
I.34 Future directions for the design of novel 8HQ derivatives	105

Figuras do Capítulo II:

II.1 Structure of 8-hydroxyquinoline 1, clioquinol (5-chloro-7-iodo-8-hydroxyquinoline) 2, and 5-chloro-7-iodo-8-methoxyquinoline 3	135
II.2 Effect of compound 5h on human leukocytes	140
II.3 Effect of compound 5b and 5c on human leukocytes	140
II.4 Log plot of killing kinetics of compound 5h against <i>C. tropicalis</i> (ATCC 750)	141
II.5 Histopathological evaluation of porcine cells treated with compound 5h at 100 (1) and 400 (2) times magnification	142

SI.1	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4c	157
SI.2	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4c	157
SI.3	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4e	158
SI.4	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4e	158
SI.5	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4f	159
SI.6	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4f	159
SI.7	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4g	160
SI.8	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4g	160
SI.9	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5c	161
SI.10	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5c	161
SI.11	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5e	162
SI.12	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5e	162
SI.13	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5f	163
SI.14	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5f	163
SI.15	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5g	164
SI.16	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5g	164
SI.17	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 6	165
SI.18	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 6	165
SI.19	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7	166
SI.20	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7	166
SI.21	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>₆ of compound 5i	167

SI.22 ¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 5i	167
---	-----

Figuras do Capítulo III:

III.1 Chemical structures of 8HQ derivatives clioquinol and 8-hydroxy-5-quinolinesulfonic acid	173
---	-----

III.2 Structure-activity relationships of new antimycobacterial 8-hydroxyquiolines	179
--	-----

SII.1 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7b	191
--	-----

SII.2 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7b	191
---	-----

SII.3 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7e	192
--	-----

SII.4 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7e	192
---	-----

SII.5 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7f	193
--	-----

SII.6 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7f	193
---	-----

SII.7 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7g	194
--	-----

SII.8 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7g	194
---	-----

SII.9 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7h	195
--	-----

SII.10 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7h	195
--	-----

SII.11 ¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 7i	196
---	-----

SII.12 ¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 7i	196
--	-----

SII.13 ¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 7k	197
---	-----

SII.14 ¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 7k	197
--	-----

SII.15 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7o	198
---	-----

SII.16 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 7o	198
--	-----

SII.17 ¹H NMR spectrum in CD₃COCD₃ of compound 7p	199
---	-----

SII.18 ^{13}C NMR spectrum in CD_3COCD_3 of compound 7p	199
SII.18 ^1H NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 7r	200
SII.20 ^{13}C NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 7r	200
Figuras do capítulo IV:	
IV.1 Design of molecular hybrids of 8HQs (A or D) and general structure of herbicidal sulfonylureas (B) or PB (E)	205
IV.2 Intermolecular interactions between the HY7 and AHAS	208
IV.3 Sulfonylurea synthesis planning	209
SIII.1 ^1H NMR spectrum in CDCl_3 of 8-methoxyquinoline 7	229
SIII.2 ^{13}C NMR spectrum in CDCl_3 of 8-methoxyquinoline 7	229
SIII.3 ^1H NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 9	230
SIII.4 ^{13}C NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 9	230
SIII.5 ^1H NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 10	231
SIII.6 ^{13}C NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 10	231
SIII.7 ^1H NMR spectrum in CDCl_3 of compound 13a. Expansion of the N-H signal and aromatic signals	232
SIII.8 ^{13}C NMR spectrum in CDCl_3 of compound 13a	232
SIII.9 ^1H NMR spectrum in CDCl_3 of compound 13b	233
SIII.10 ^{13}C NMR spectrum in CDCl_3 of compound 13b	233
SIII.11 ^1H NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 14b	234
SIII.12 ^{13}C NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 14b	234
SIII.13 ^1H NMR spectrum in $\text{DMSO-}d_6$ of compound 15a	235

SIII.14	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 15a	235
SIII.15	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 15b	236
SIII.16	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound 15b	236
SIII.17	¹H NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound HY1	237
SIII.18	¹³C NMR spectrum in DMSO-<i>d</i>6 of compound HY1	237
SIII.19	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 17	238
SIII.20	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 17	238
SIII.21	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 18	239
SIII.22	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 18	239
SIII.23	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 19	240
SIII.24	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 19	240
SIII.25	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 22	241
SIII.26	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 22	241
SIII.27	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 23	242
SIII.28	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 23	242
SIII.29	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 24	243
SIII.30	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 24	243
SIII.31	¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 25	244
SIII.32	¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 25	244
SIII.33	¹H NMR spectrum in methanol-<i>d</i>4 of compound HY7	245
SII.34	Planned molecular hybrids (strategy 1)	246

SII.35 Planned molecular hybrids (strategy 2)	246
--	-----

LISTA DE ESQUEMAS

Esquemas do Capítulo II:

II.1 Preparation of novel 8-hydroxyquinoline derivatives137

II.2 Preparation of compound 5i137

Esquemas do Capítulo III:

III.1 Synthesis of CQ derivatives 5a-j174

III.2 Synthesis of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamides 7a-r175

III.3 Synthesis of derivatives 11a and 11b176

Esquemas do Capítulo IV:

IV.1 Synthesis of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamide 3210

IV.2 Preparation of key compound 10211

IV.3 Synthesis of ureas and coupling attempt212

IV.4 Preparation of sulfonylurea HY1213

IV.5 Designed synthesis route for strategy 2215

IV.6 Synthesis of molecular hybrid of 8HQ and PB216

LISTA DE TABELAS

1 Estudos do nosso grupo de pesquisa envolvendo o núcleo 8-hidroxiquinolina até o presente	51
2 Condições testadas para desproteção da 8-benzila	264
Tabelas do Capítulo I:	
I.1 Activity or activity range of some derivatives of each study	106
Tabelas do Capítulo II:	
II.1 Antifungal activity ($\mu\text{g mL}^{-1}$) of novel derivatives	139
II.2 Antifungal activity ($\mu\text{g mL}^{-1}$) of 5h in absence or presence of metal	143
II.3 Antifungal activity ($\mu\text{g mL}^{-1}$) of clioquinol in absence or presence of metal.....	144
Tabelas do Capítulo III:	
III.1 Activity of CQ derivatives against <i>M. tuberculosis</i> H37Rv ($\mu\text{g/mL}$)	177
III.2 Activity of 5-sufonamides against <i>M. tuberculosis</i> H37Rv ($\mu\text{g/mL}$)	178
III.3 Activity of reverse sulfonamides against <i>M. tuberculosis</i> H37Rv ($\mu\text{g/mL}$)	179
III.4 Inhibitory activity of 8HQ derivatives against <i>MtInhA</i> (IC_{50} , μM)	180
Tabelas do Capítulo IV:	
IV.1 Main results found in the molecular docking (strategy 1) for CE, HY1 and the most promising derivatives (HY2 and HY3)	207
IV.2 Main results found in the molecular docking (strategy 2) for PB, the simplified compounds HY4-HY6, and the most promising derivatives HY7-HY12	208
IV.3 Antifungal activity of the novel designed molecular hybrids against <i>C. albicans</i> isolates (MIC, $\mu\text{g/mL}$)	217

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

8HQ	8-Hidroxiquinolina
8-OH (OH-8)	8-Hidroxila
ACP	Proteína transportadora de acil
Ala	Alanina
AHAS	Acetohidroxiácido sintase
ALS	Acetolactato sintase
ANOVA	Análise de Variância
Ar	Arila
Arg	Arginina
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BBr ₃	Tribrometo de boro
BCAA	Aminoácidos de cadeia ramificada
BCG	Vacina Bacille Calmette-Guerin
bd	Dupleto largo
Bn	Benzila
Boc ₂ O	Dicarbonato de di-terc-butila
bs	Simpleto largo
CBM (<i>MBC</i>)	Concentração Bactericida Mínima
CE	Clorimuron etil
CFM (<i>MFC</i>)	Concentração Fungicida Mínima
CMEB (<i>MBEC</i>)	Concentração Mínima de Erradicação de Biofilmes
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CD ₃ COCD ₃	Acetona deuterada
CH ₃ I	<i>Iodometano</i>
CI ₅₀ (<i>IC₅₀</i>)	Concentração que inibe 50% das células ou alvo avaliado. Concentração do inibidor necessária para reduzir a velocidade enzimática em 50%.
CI ₈₀ (<i>IC₈₀</i>)	80% de redução de crescimento (ou mais) em comparação com o controle

CI ₉₀ (<i>IC</i> ₉₀)	90% de redução de crescimento (ou mais) em comparação com o controle
CIM ₅₀ (MIC ₅₀)	Concentração Inibitória Mínima de 50% das cepas avaliadas.
CLSI	<i>Clinical Laboratory and Standards Institute</i>
COSY	Espectroscopia de correlação ¹ H- ¹ H
COVID-19	Doença do Coronavírus 2019
CQ	<i>Clioquinol</i> (5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinolina)
Cs ₂ CO ₃	Carbonato de césio
d	Dupleto
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octano
dd	Dupleto duplo
DD-CoA	2- <i>Trans</i> -dodecenoil-coenzima A
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMAP	4-(Dimetilamino)piridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EC	Código de classificação da enzima
ESI	Ionização por electrospray
EtOAc	Acetato de etila
FAD	Flavina-adenina dinucleotídeo
FAS	Ácidos graxos sintase
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HET-CAM	Teste da Membrana Corioalantoide do Ovo de Galinha
HMBC	Correlação de Ligações Múltiplas Heteronuclear
HRMS	Espectrometria de Massas de Alta Resolução
HSO ₃ Cl	Ácido clorossulfônico
HSQC	Espectroscopia de Coerência Quântica Única Heteronuclear
Hz	<i>Hertz</i>
InhA	Enoil-(proteína transportadora de acil) redutase
IS	Índice de irritação
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar

Leu	Leucina
Lys	Lisina
LptA	Proteína do Sistema de Exportação de Lipopolissacarídeos
m	Multiplete
MDR-TB	<i>M. tuberculosis</i> multirresistente
Met	Metionina
MetAP	Metionina aminopeptidase
MH ⁺	Quase-molecular ion
MHz	<i>Megahertz</i>
MOM	Metoximetil éter
mp	Ponto de fusão
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina
MRSE	<i>Staphylococcus epidermidis</i> resistente à metilina
m/z	Razão massa/carga
NADH	Nicotinamida-adenina dinucleotídeo
NaH	Hidreto de sódio
NBS	<i>N</i> -Bromossuccinimida
NC	Controle negativo
ND	Não determinado
NI	Não irritante
NX	Nitroxolina
p	Probabilidade de significância
PB	Piritiobaque
PBS	Salina tamponada com fosfato
PC	Controle positivo
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PDB	Protein Data Bank
Pd-C	Paládio em carvão
Pd(Oac) ₂	Acetato de paládio
PG	Grupo protetor
pH	Potencial de hidrogênio
Ph	Fenila

Phe	Fenilalanina
PK/PD	Farmacocinética/ farmacodinâmica
Py	Piridina
ppm	Partes por milhão
Pro	Prolina
q	Quarteto
qt	Quinteto
REMA	Ensaio de Microplaca de Redução da Resazurina
RMN (<i>NMR</i>)	Ressonância Magnética Nuclear
RMSD	Raiz quadrada do desvio quadrático médio
RNA	Ácido ribonucleico
s	Simpleto
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave
DAS	Ágar Sabouraud dextrose
SMON	Neuropatia Mielo Óptica Subaguda
sp	Espécies do gênero
spp	Espécies do gênero
sx	Sexteto
t	Tripleto
T3S	Sistema de Secreção do Tipo III
t.a. (r.t.)	Temperatura ambiente
TB	Tuberculose
TFA	Ácido trifluoroacético
ThDP	Tiamina difosfato
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
Trp	Triptofano
Tyr	Tirosina
UFC (<i>CFU</i>)	Unidades Formadoras de Colônia
UHPLC-QTOF/MS	<i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-Of-Flight Mass Spectrometry</i>
Val	Valina

VRE	Enterococo resistente à vancomicina
Xantphos	4,5-Bis(difenilfosfina)-9,9-dimetilxanteno
YopH	Tirosina Fosfatase Secretada
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	35
ESTADO DA ARTE.....	39
OBJETIVOS.....	63
Capítulo I. ARTIGO: Novel antimicrobial 8-hydroxyquinoline-based agents: current development, structure-activity relationships and perspectives.....	65
Abstract.....	68
Introduction.....	69
Structural changes at the 8-hydroxyquinoline core.....	70
Conclusions.....	104
References.....	118
Capítulo II. ARTIGO: New 8-hydroxyquinoline derivatives highlight the potential of this class for treatment of fungal infections.....	131
Abstract.....	134
Introduction.....	135
Results and discussion.....	136
Experimental.....	145
Conclusions.....	151
References.....	152
Supplementary Material I.....	157
Capítulo III. ARTIGO: Discovery of 8-hydroxyquinolines as inhibitors of the <i>Mycobacterium tuberculosis</i> enoyl-acyl carrier protein reductase (<i>MtInhA</i>).....	169
Abstract.....	171
Introduction.....	172
Results and discussion.....	173
Conclusion.....	181
Materials and Methods.....	181
References.....	187
Supplementary Material II.....	191

Capítulo IV. ARTIGO: Design and synthesis of novel molecular hybrids of 8-hydroxyquinoline and acetohydroxyacid synthase inhibitors.....	201
Abstract.....	203
Introduction.....	204
Results and discussion.....	205
Conclusion.....	218
Experimental section.....	218
References.....	226
Supplementary Material III.....	229
DISCUSSÃO.....	247
CONCLUSÕES.....	273
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	275
ANEXO 1.....	289

1. INTRODUÇÃO

Fungos patogênicos e oportunistas são uma importante causa de infecções que variam quanto à incidência e à patologia. Nesse cenário, o gênero *Candida* sp. destaca-se por compreender agentes etiológicos de diferentes tipos de micoses (cutâneas, mucocutâneas e sistêmicas) (Santos et al., 2018). Além disso, é um grupo de fungos frequentemente isolado na clínica e apresenta altas taxas de morbimortalidade, quando associado a infecções invasivas (Santos et al., 2018; Poissy et al., 2020). Outro importante grupo é o de fungos filamentosos dermatófitos, que causam micoses cutâneas com elevada frequência na população em geral, afetando a qualidade de vida dos pacientes, sendo micoses de difícil tratamento (Khurana et al., 2019).

Apesar do grande impacto na saúde e qualidade de vida da população, as infecções fúngicas vêm sendo negligenciadas em relação a inovações no diagnóstico e tratamento (Rodrigues e Albuquerque, 2018). Isso porque os recursos financeiros direcionados ao combate às micoses são, geralmente, inferiores aos recursos destinados a outras infecções com índices de mortalidade semelhantes (Rodrigues e Albuquerque, 2018). Além disso, vacinas para infecções fúngicas ainda não estão disponíveis, apesar dos avanços e esforços de grupos de pesquisa (Oliveira et al., 2021). Logo, pesquisas relacionadas à busca de novos fármacos antifúngicos são necessárias e fundamentais.

Existem poucas classes de fármacos antifúngicos disponíveis para a terapia, sendo as equinocandinas a última classe descoberta e aprovada (em 2002), considerada uma inovação relacionada ao mecanismo de ação (Onishi et al., 2000; fda.gov). Nos últimos dez anos, alguns novos agentes antifúngicos foram aprovados pelo FDA. No entanto, esses fármacos apresentam o mecanismo de ação relacionado ao mecanismo dos clássicos azólicos ou equinocandinas e, conseqüentemente, limitações semelhantes (fda.gov).

Outro microrganismo patogênico de grande importância clínica é *Mycobacterium tuberculosis*, responsável pela maioria de casos de tuberculose no mundo (WHO, 2021). A tuberculose pulmonar é uma doença infecciosa latente (assintomática) ou ativa (sintomática) em que o indivíduo pode apresentar tosse persistente (com a

presença ou não de sangue), perda de peso e febre (Cadena et al., 2017). Segundo a Organização Mundial da Saúde, o Brasil está entre os 30 países no mundo com maior número de casos de tuberculose (WHO, 2021).

O protocolo básico para o tratamento da tuberculose envolve fármacos descobertos nas décadas de 1950 e 1960 (Chakraborty e Rhee, 2015; Cumming et al., 2021), o que demonstra a grande importância de maiores investimentos na busca de novas alternativas terapêuticas. A necessidade do desenvolvimento de novos agentes para o tratamento da tuberculose também reside nas limitações apresentadas pelas terapias atualmente disponíveis, tais como efeitos adversos e longo tempo de tratamento (Cumming et al., 2021).

Outra limitação apresentada na terapia antimicrobiana é a resistência aos fármacos antimicrobianos, tanto para infecções fúngicas, quanto para infecções bacterianas, como a tuberculose (Fuentefria et al., 2018; Khawbung et al., 2021). Embora essas infecções sejam causadas por microrganismos diferentes, apresentam em comum o fato de serem infecções de difícil tratamento, o que pode levar à desistência do paciente e conseqüentemente, à resistência adquirida do microrganismo (Cumming et al., 2021). Além disso, existem microrganismos que são intrinsecamente resistentes a determinados fármacos antimicrobianos ou a determinada classe de agentes antimicrobianos (Sanglard, 2016). Esse cenário reforça a necessidade de uma maior atenção à busca de novos fármacos para o tratamento de infecções fúngicas e da tuberculose. O estudo de alvos moleculares em microrganismos também tem grande importância por ampliar possibilidades no processo de desenvolvimento de novos antimicrobianos.

O núcleo 8-hidroxiquinolina (8HQ) é uma alternativa interessante para o desenvolvimento de novos fármacos e vem sendo estudado por nosso grupo de pesquisa. Nessa tese, exploramos modificações estruturais nas posições 5 e 7 do núcleo, a fim de encontrar novos *hits* para o desenvolvimento de antimicrobianos. O clioquinol é um derivado da 8HQ com elevada atividade antifúngica e que apresenta um átomo de iodo na posição 7 do núcleo (Pippi et al., 2017). Isso não é usual em moléculas bioativas, pois pode conferir toxicidade, além de elevada hidrofobicidade (Joaquim et al., 2021b). Por isso, testamos a hipótese de que a substituição do 7-iodo por um grupo 7-amilamino substituído pode conferir maior variabilidade estrutural e melhores propriedades para moléculas bioativas, visando atividade antifúngica e

antimicobacteriana. Além disso, também ampliamos nossa quimioteca de 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas, a fim de avaliar a atividade antimicobacteriana. Os derivados mais ativos contra *M. tuberculosis* foram também testados contra a enzima enoil-(proteína transportadora de acil) redutase de *M. tuberculosis* (*MtInhA*), que é um alvo molecular importante para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da tuberculose (Banerjee et al. 1994). Por fim, também desenvolvemos um capítulo voltado para a hibridação molecular entre o núcleo 8HQ e inibidores da acetohidroxiácido sintase (AHAS), um alvo molecular ainda pouco explorado para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos (Pue e Guddat, 2014).

2. ESTADO DA ARTE

2.1. Infecções fúngicas e tuberculose

2.1.1. Infecções fúngicas

As infecções fúngicas são um grave problema de saúde pública. É estimado que, cerca de 1,5 milhões de pessoas no mundo vão a óbito anualmente por estas infecções (Cornely et al., 2017) e, no Brasil, cerca de 3,8 milhões de pessoas sofrem com essas doenças (Giacomazzi et al., 2017). Fungos patogênicos podem causar micoses superficiais, que se restringem ao estrato córneo e pelos (Veasey et al., 2017), além de micoses cutâneas que invadem o tecido queratinizado. Apesar de serem de baixa gravidade, estas infecções afetam a qualidade de vida e autoestima dos pacientes, além do tratamento ter um longo tempo de duração, associado a um alto custo (Narang et al., 2019). Já as micoses mucocutâneas afetam mucosas de alguns órgãos e geralmente são associadas a *Candida* sp. (Okada et al., 2016). As micoses subcutâneas ocorrem, geralmente, em regiões tropicais, e iniciam por uma lesão na pele e consequente inoculação do agente infeccioso na camada subcutânea (La Hoz e Baddley, 2012). As infecções fúngicas sistêmicas são causadas pela inalação de formas assexuadas de fungos dimórficos e podem acometer tanto indivíduos imunocompetentes quanto imunodeprimidos. Estas micoses são endêmicas nas Américas, África e sudeste da Ásia, sendo muitas vezes consideradas doenças negligenciadas (Queiroz-Telles et al., 2017). Já as micoses oportunistas são um grave problema para pacientes imunodeprimidos (Poissy et al., 2020).

A pandemia da COVID-19 trouxe um novo cenário relacionado a infecções fúngicas. Esse tipo de coinfeção pode levar a complicações, aumento do tempo de internação, bem como aumento do risco de morte (Silva et al., 2021a). Infecções fúngicas em pacientes hospitalizados acometidos pelo SARS-CoV-2 têm sido reportadas em todo o mundo, destacando-se a candidíase invasiva, aspergilose pulmonar invasiva, pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, mucormicose e criptococose (Pemán et al., 2020). Fatores de risco para essas coinfeções incluem o uso de dispositivos em procedimentos invasivos, doença pulmonar prévia, uso de corticosteroides por tempo prolongado, entre outros (Ezeokoli et al., 2021).

Candida spp. têm grande importância médica, pois em todo o mundo, a candidíase é a infecção fúngica mais prevalente (Santos et al., 2018). Este agente

infecioso é responsável por causar tanto micoses cutâneas e de mucosas, até micoses sistêmicas e oportunistas. Trata-se de leveduras comensais que habitam a microbiota de indivíduos saudáveis, mas que podem tornar-se oportunistas dependendo do estado imunológico do indivíduo. Estes fungos possuem alta capacidade de adaptação ao ambiente, o que os tornam potencialmente perigosos (Santos et al., 2018). São cinco as espécies de *Candida* sp. mais frequentemente isoladas na clínica: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei* (Pappas et al., 2018). No cenário hospitalar, este gênero é responsável por elevados índices de mortalidade. Em se tratando de infecções invasivas, estima-se que a incidência de candidemia tem aumentado cerca de 50% ao ano em todo mundo (Poissy et al., 2020). A espécie emergente *Candida auris* preocupa a comunidade médica devido ao seu perfil de resistência a múltiplos fármacos. Essa levedura foi isolada pela primeira vez em 2009 no Japão, sendo atualmente registrada em diferentes continentes (Du et al., 2020). *C. auris* teve seu primeiro registro de isolamento no Brasil em 2020, em uma unidade hospitalar no estado da Bahia, em um paciente acometido pelo SARS-CoV-2 (Almeida et al., 2021).

As candidíases mucocutâneas podem afetar as mucosas orais e dos tratos genitais, urinários, gastrointestinais e respiratórios. Um exemplo é a candidíase vulvovaginal que acomete mulheres em idade fértil e pode apresentar complicações, como o caráter persistente por estar associada a fatores genéticos e outros fatores de risco (Gonçalves et al., 2016). Outro tipo de condição clínica associada a *Candida* sp. são as dermatomicoses. Apesar de, geralmente, não apresentarem grande risco à saúde, são as micoses mais frequentes em todo o mundo (Khurana et al., 2019). Estima-se que essas infecções afetam mais de 25% da população (Narang et al., 2019). O tempo de tratamento destas infecções costuma ser longo, já que são micoses persistentes (Scorzoni et al. 2017, Narang et al. 2019).

As dermatomicoses também podem ser causadas pelo grupo de fungos dermatófitos, grupo que compõe cerca de quarenta espécies, nem todas patogênicas (Ferguson e Fuller, 2017). Os gêneros *Trichophyton* sp. e *Microsporum* sp. são os mais frequentemente isolados na clínica, sendo *Trichophyton rubrum* a espécie mais prevalente em humanos e *Microsporum canis* a espécie com maior importância na clínica veterinária (Khurana et al., 2019). Por serem fungos filamentosos queratinofílicos, causam infecções no corpo (*tinea corporis*, que geralmente ocorre nos membros e no tronco), couro cabeludo (*tinea capitis*), unhas (*tinea unguium*, mais

conhecida como onicomicose), além das variações nas mãos, virilha e pés (Ferguson e Fuller, 2017).

Existem diferentes métodos diagnósticos de infecções fúngicas, que variam de acordo com a suspeita clínica e a área afetada. O exame direto a fresco pode ser útil em casos de micoses como as de unhas, pelos ou cabelos, candidíase vulvovaginal, por exemplo. É um método de baixo custo, rápido e de simples execução, permitindo a visualização de estruturas em análises microscópicas. A cultura permite o crescimento do fungo em um meio rico em nutrientes (comumente o meio ágar Sabouraud dextrose), sendo útil para a identificação macro e microscópica (Atzori et al. 2015). Existem meios de cultura que permitem a identificação de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*, inclusive (CHROMagar™ Candida) (Pfaller et al., 1996). Métodos imunológicos e moleculares podem ser utilizados quando a suspeita clínica ocorrer concomitante a um resultado de cultura negativo (Perfect, 2013). Um diagnóstico rápido e preciso é fundamental, pois permite a escolha do tratamento adequado.

O arsenal terapêutico disponível para o tratamento de doenças fúngicas é muito limitado. As infecções causadas por *Candida* sp. são tratadas (na sua grande maioria) pelos fármacos azólicos, que inibem a enzima lanosterol-14- α -desmetilase, levando à depleção de ergosterol de membrana plasmática fúngica, além do acúmulo de esteróis tóxicos (Pfaller e Castanheira, 2016, Sagatova et al., 2015). O uso indiscriminado de fluconazol (**Figura 1**), na ausência de identificação da espécie no diagnóstico, leva ao aumento da resistência adquirida, considerando que a susceptibilidade a este fármaco varia de acordo com a espécie de *Candida* sp. (Pfaller e Castanheira, 2016). Anfotericina B (da classe dos antibióticos poliênicos, **Figura 1**) é uma opção para o tratamento de infecções sistêmicas por *Candida* sp (Ben-Ami, 2018). No entanto, seu mecanismo de ação leva à elevada toxicidade da classe. Os antifúngicos poliênicos agem ligando-se ao ergosterol da membrana fúngica, criando poros e, conseqüentemente, causando o extravasamento de íons, desestabilizando a célula. Devido à semelhança ao ergosterol da membrana plasmática fúngica, o colesterol presente nas células dos túbulos renais acaba também sendo alvo da anfotericina B, levando à nefrotoxicidade dos pacientes (Palacios et al., 2011).

Outra classe de fármacos utilizada no tratamento de infecções por *Candida* sp. é a de equinocandinas, que são glicopeptídeos semissintéticos altamente potentes, utilizados no ambiente hospitalar (via parenteral) em infecções invasivas (Pfaller e

Castanheira, 2016; Emri et al., 2013). A classe apresenta um espectro de ação antifúngica restrito, porém pode ser utilizada contra isolados de *Candida* sp. resistentes aos azólicos (Emri et al., 2013). A grande vantagem desta classe, em relação a outros antifúngicos, é o alvo: as equinocandinas inibem o complexo enzimático (1-3) β -D-glicana sintase prejudicando a síntese da parede celular fúngica. Já que é ausente em células eucarióticas humanas, o alvo torna a classe seletiva, gerando poucos efeitos adversos. No entanto, o custo é a grande desvantagem das equinocandinas, já que são estruturas altamente complexas (a **Figura 1** traz o exemplo da anidulafungina) (Emri et al., 2013). Além disso, a resistência de *Candida* sp. a esta classe já é reportada (Pfaller e Castanheira, 2016).

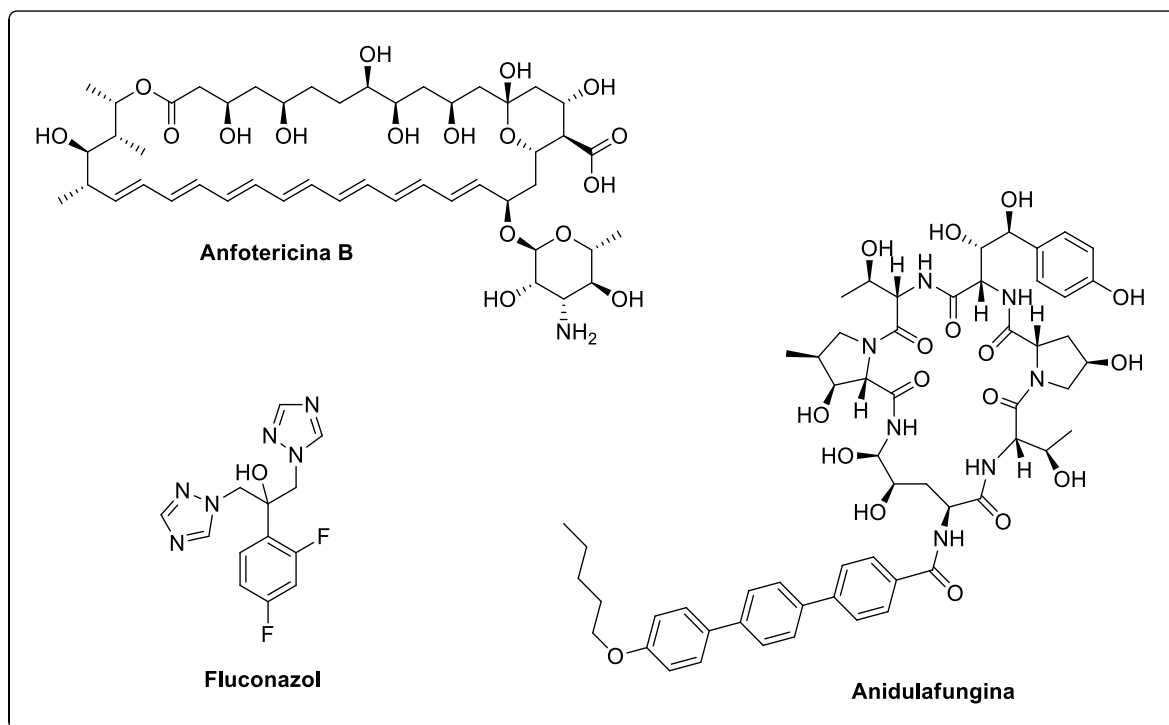


Figura 1. Exemplos de fármacos utilizados no tratamento de infecções causadas por *Candida* sp.

As dermatofitoses são tratadas, geralmente, pela via oral e tópica. Os antifúngicos azólicos são uma opção para o tratamento desse tipo de infecção e são administrados pela via oral ou tópica, dependendo do fármaco. Um exemplo de antifúngico azólico utilizado para o tratamento de dermatofitoses é o miconazol, administrado pela via tópica (**Figura 2**). Outros fármacos utilizados para o tratamento dessas infecções e que, assim como os azólicos, atuam na rota biossintética do

ergosterol, são a terbinafina e a amorolfina. A terbinafina inibe a enzima escaleno epoxidase, enzima inicial na rota biossintética do ergosterol. Já a amorolfina prejudica a síntese de ergosterol pela inibição de duas enzimas: a C-14-esterol redutase e a C-8-esterol isomerase (Khurana et al., 2019). Outras opções terapêuticas são ciclopirox e griseofulvina. Ciclopirox é um agente antifúngico utilizado pela via tópica e tem seu mecanismo de ação associado à quelação de íons metálicos trivalentes e consequente inibição de enzimas dependentes de metais (como peroxidase e catalase). Griseofulvina foi o primeiro agente antidermatofítico de uso sistêmico e age através da inibição da agregação de microtúbulos (Poojary, 2017). Uma limitação do tratamento antidermatofítico é o longo tempo de duração, que aumenta as chances de desistência por parte do paciente. Além disso, a resistência antimicrobiana tem sido relatada para muitos destes fármacos (Khurana et al., 2019).

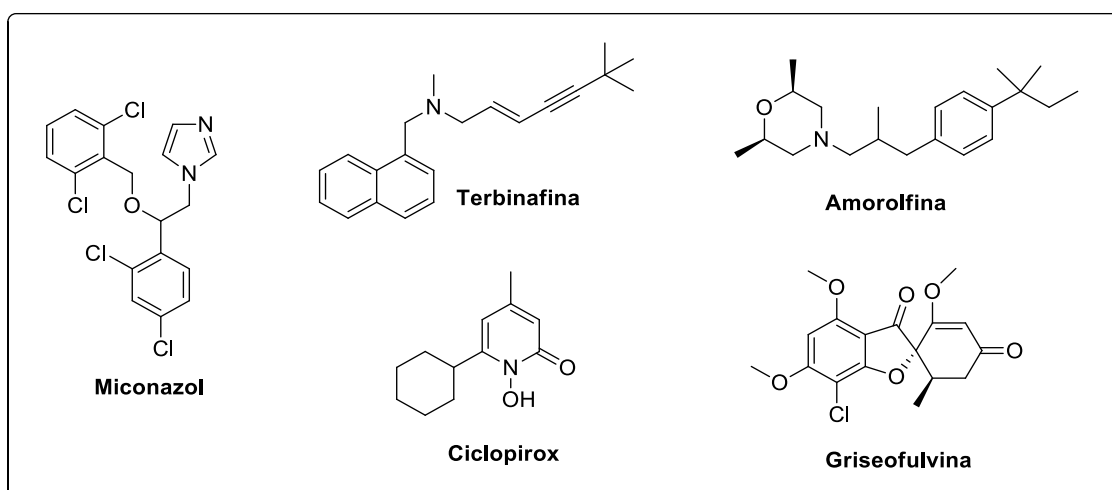


Figura 2. Exemplos de fármacos utilizados no tratamento de dermatofitoses.

Desde 2012, somente quatro novos agentes antifúngicos foram aprovados pelo FDA (**Figura 3**) (fda.gov), sendo três azólicos e o ibrexafungerp. O luliconazol foi aprovado em 2013 para o tratamento de dermatofitoses, sendo utilizado em formulações tópicas. A principal vantagem deste fármaco é a elevada atividade contra fungos filamentosos, especialmente dermatófitos (valores de CIM na faixa nanomolar) (Scher et al. 2014). No ano seguinte, um novo fármaco para o tratamento de onicomicoses foi aprovado (o efinaconazol). Esse fármaco apresenta como vantagem a elevada penetração na unha, possivelmente ocasionada por sua baixa afinidade pela queratina (Lipner e Scher, 2015). O sulfato de isavuconazônio foi aprovado pelo FDA

em 2015 e pela ANVISA em 2019, para o tratamento da aspergilose e mucormucose, infecções de alta gravidade. Apresenta boa disponibilidade pela via oral e também pode ser administrado pela via intravenosa (ANVISA, 2021; Miceli e Kauffman, 2015; fda.gov). O ibrexafungerp foi aprovado pelo FDA mais recentemente (em 2021) para o tratamento de candidíase vulvovaginal. Seu mecanismo de ação é semelhante ao das equinocandinas: inibição da (1-3) β -D-glicana sintase com prejuízo à parede celular fúngica (Sobel et al., 2022; fda.gov). Apesar das vantagens apresentadas por esses novos agentes antifúngicos, eles atuam contra alvos já explorados. Logo, limitações relacionadas à resistência e a efeitos adversos podem ser semelhantes. Além disso, esses novos antifúngicos apresentam um ou mais centros assimétricos na sua estrutura, o que pode tornar os processos de síntese e/ou purificação, processos de elevado custo (Nguyen et al., 2006).

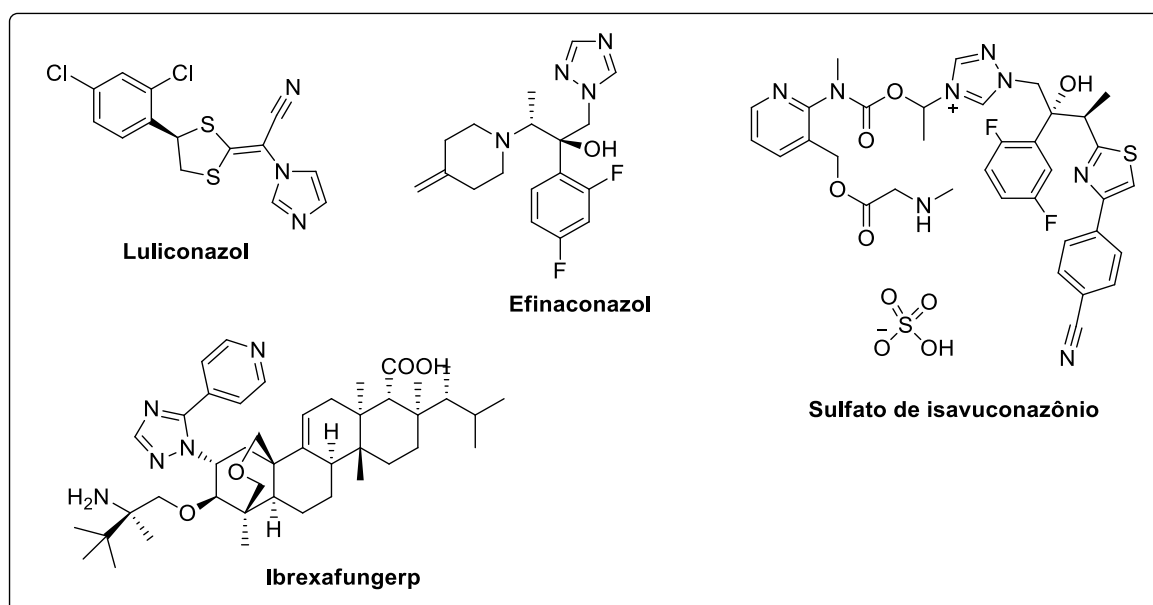


Figura 3. Fármacos antifúngicos aprovados pelo FDA nos últimos dez anos.

2.1.2. Tuberculose

Em relação a infecções bacterianas, a tuberculose merece destaque. Registros históricos reportam que essa doença data de milhares de anos. No entanto, somente em 1882 o bacilo de Koch foi isolado e investigado pelo cientista Robert Koch (Barberis et al., 2017). Considerada uma das principais doenças infecciosas letais, a tuberculose é causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*: *Mycobacterium tuberculosis* (espécie de maior prevalência), *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium*

africanum, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedi* e *Mycobacterium caprae* (Glaziou et al., 2018; Kanabalan et al., 2021). O bacilo de Koch é aeróbio e apresenta características que o diferenciam de outras bactérias (como as Gram-positivas e Gram-negativas), como uma parede celular contendo, além de peptidoglicano, lipídeos (ácidos micólicos) e polissacarídeos (arabinogalactano), além de ser álcool-ácido resistente. Essas características celulares são o principal motivo da baixa efetividade de muitos fármacos antimicrobianos contra a tuberculose, já que a parede celular do bacilo confere baixa permeabilidade (Brasil, 2019).

Estimativas recentes da Organização Mundial da Saúde são de que, a cada ano, cerca de 10 milhões de pessoas no mundo são acometidas por esta infecção (WHO, 2021). No Brasil, a faixa de incidência estimada é de 33,2 a 39,0 a cada 100 mil habitantes, sendo a região norte do país a de maior incidência, e a região nordeste a de maior mortalidade (Cortez et al., 2021). Um estudo recente reporta que foram notificados 716.971 casos de tuberculose no Brasil em um período de dez anos, estando relacionados a casos novos, recidiva, retomada de tratamento após abandono ou outros casos. O mesmo estudo reporta que a taxa de mortalidade associada a casos de tuberculose no país chegou a 2,2 óbitos a cada 100 mil habitantes no ano de 2015 (Cortez et al., 2021).

A tuberculose é transmitida por via aérea, através de bacilos expelidos por tosse, fala ou espirros. Acomete principalmente os pulmões, sendo chamada de tuberculose pulmonar (Ramirez-Lapausa et al., 2015). A tuberculose pulmonar ativa caracteriza-se por tosse persistente, com a presença ou ausência de sangue, além de febre, sudorese noturna e perda de peso. Em geral, o sintoma mais expressivo da tuberculose pulmonar é a tosse persistente (produtiva ou seca), o que leva o paciente às unidades de saúde. Segundo o Ministério da Saúde, apenas uma pequena parcela de pessoas infectadas desenvolve sintomas (cerca de 10%) que podem aparecer logo após a infecção ou ao longo da vida (Brasil, 2019). No entanto, a maioria dos casos de tuberculose é assintomática, chamada de tuberculose latente, que pode evoluir para a forma ativa ou não (Cadena et al., 2017). As formas extrapulmonares de tuberculose ocorrem em cerca de 25% dos casos (Ramirez-Lapausa et al., 2015), resumindo-se em tuberculose óssea, pleural, empiema pleural tuberculoso, tuberculose ganglionar periférica, meningoencefálica, pericárdica e tuberculoma (Brasil, 2019).

A relação entre infecções simultâneas por tuberculose e SARS-CoV-2 ainda é pouco estudada. No entanto, o estudo de Kumar et al. (2020) destaca a dificuldade na identificação de pacientes com essa coinfeção, pois os sintomas são semelhantes. Além disso, o tratamento por imunomoduladores em pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2 moderado ou grave pode ativar a tuberculose latente (Kumar et al., 2020). Já o trabalho de Chen et al. (2020) sugere que pacientes com tuberculose e infectados com o SARS-CoV-2 estão mais propensos a apresentarem a forma grave da doença viral. No entanto, o estudo admite a necessidade de confirmação em etapas posteriores (Chen et al., 2020).

Geralmente o diagnóstico da tuberculose pulmonar ativa é realizado por meio da coleta de escarro e exame direto (baciloscopia), com a identificação do bacilo álcool-ácido resistente pelo método de Ziehl-Nielsen. Outras amostras podem ser coletadas para exame direto no caso de tuberculose extrapulmonar (Glaziou et al., 2018, Brasil, 2019). O diagnóstico por exame direto é uma técnica de baixo custo, o que é uma grande vantagem. No entanto, apresenta baixa sensibilidade já que são necessários mais de 10.000 bacilos/mL para a detecção de um resultado positivo (Datta et al., 2017). Com uma maior sensibilidade, a cultura de *M. tuberculosis* também pode ser utilizada como método diagnóstico, além da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Independentemente da técnica utilizada para o diagnóstico, a qualidade de amostra coletada é importante para a sensibilidade, sendo interessante a coleta de mais de uma amostra por paciente (Datta et al., 2017). As formas extrapulmonares de tuberculose podem ser confundidas com outras doenças, como neoplasias, artrite reumatoide, toxoplasmose, além de infecções por fungos, bactérias ou outras micobactérias, sendo importante o diagnóstico diferencial com a pesquisa bacteriológica (Brasil, 2019).

Em relação à prevenção e tratamento, a tuberculose vem ganhando atenção desde o início da década de 1920 com o advento da vacina Bacille Calmette-Guerin (BCG), uma vacina atenuada derivada de *M. bovis*. A BCG é a única vacina disponível para a prevenção da doença em crianças, tendo sua eficácia reduzida com o passar dos anos (Fatima et al., 2020). O início da terapia da tuberculose data da década de 1940, sendo a estreptomicina um fármaco pioneiro. Esse fármaco, da classe dos antibióticos aminoglicosídeos, tem seu mecanismo de ação relacionado à inibição da síntese de proteínas bacterianas pela ligação à subunidade 30S ribossômica (Islam et al., 2017). Apesar da elevada atividade contra *M. tuberculosis*, estreptomicina

apresentou rapidamente casos de resistência. O tratamento combinado desse fármaco com o ácido *p*-amino salicílico foi realizado, reduzindo assim os casos de resistência microbiana. Posteriormente, a isoniazida foi introduzida no regime terapêutico, em combinação com estreptomicina e ácido *p*-amino salicílico (Mitchison e Davies, 2012). Na década de 1950 foi introduzida a pirazinamida com a finalidade de reduzir casos de resistência microbiana. Na década seguinte, o tratamento da tuberculose também contava com os fármacos rifampicina e etambutol (Mitchison e Davies, 2012). No Brasil, a introdução de etambutol no protocolo básico da tuberculose ocorreu somente em 2009, e a partir daí ocorreram ligeiras reduções da taxa de mortalidade pela doença (0,3% de redução entre 2009 e 2015) (Cortez et al., 2021).

Atualmente, no Brasil o protocolo básico de tratamento da tuberculose é dividido em duas fases que utilizam os chamados fármacos de primeira linha. A fase intensiva envolve um esquema terapêutico com duração de dois meses, e conta com quatro fármacos: rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol (**Figura 4**). A fase de manutenção envolve, em média, quatro meses de uso combinado de rifampicina e isoniazida (Brasil, 2019). Isoniazida e etambutol agem a nível de parede celular, por inibirem a síntese e o transporte de ácidos micólicos, respectivamente. Já a rifampicina liga-se à uma subunidade da RNA polimerase bacteriana impedindo a transcrição e, conseqüentemente, prejudicando a síntese proteica (Mitchison e Davies, 2012). A pirazinamida tem seu mecanismo de ação ainda em estudo. No entanto, sugere-se que este pró-fármaco seja ativado a ácido pirazinoico, que altera o potencial da membrana celular e conseqüentemente leva à morte do bacilo (Njire et al., 2016).

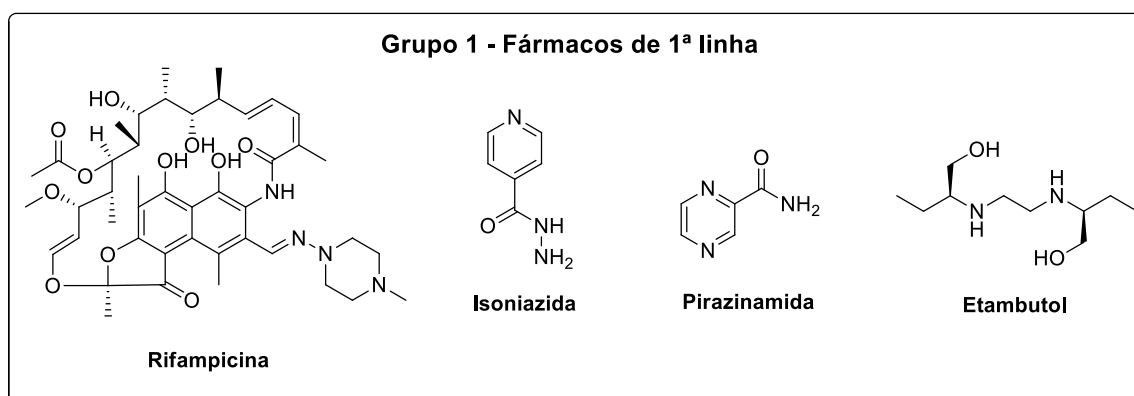


Figura 4. Fármacos utilizados no protocolo básico do tratamento da tuberculose no Brasil (fármacos de primeira linha).

O longo tempo de terapia envolve um alto custo para o sistema de saúde, além de aumentar as chances de desistência do tratamento por parte do paciente. Outro problema emergente é a resistência bacteriana. Estima-se que, entre os anos 2009 e 2016 houve um aumento anual de 20% dos pacientes que apresentam *M. tuberculosis* multirresistente (MDR-TB, definido como cepa resistente a, ao menos isoniazida e rifampicina) (Lange et al., 2018). A resistência a antimicrobianos também ocorre nos casos de XDR-TB, definida como tuberculose extensivamente resistente. Nesse caso, o paciente apresenta cepa resistente à rifampicina, à isoniazida, a uma fluorquinolona e aos injetáveis de segunda linha (Brasil, 2019). Nos casos de tuberculose multi ou extensivamente resistente, o tratamento costuma contar com um maior número de fármacos (**Figura 5**) (podendo variar de acordo com o perfil de resistência), além de ser mais longo (no mínimo doze meses) e menos eficaz (Brasil, 2019).

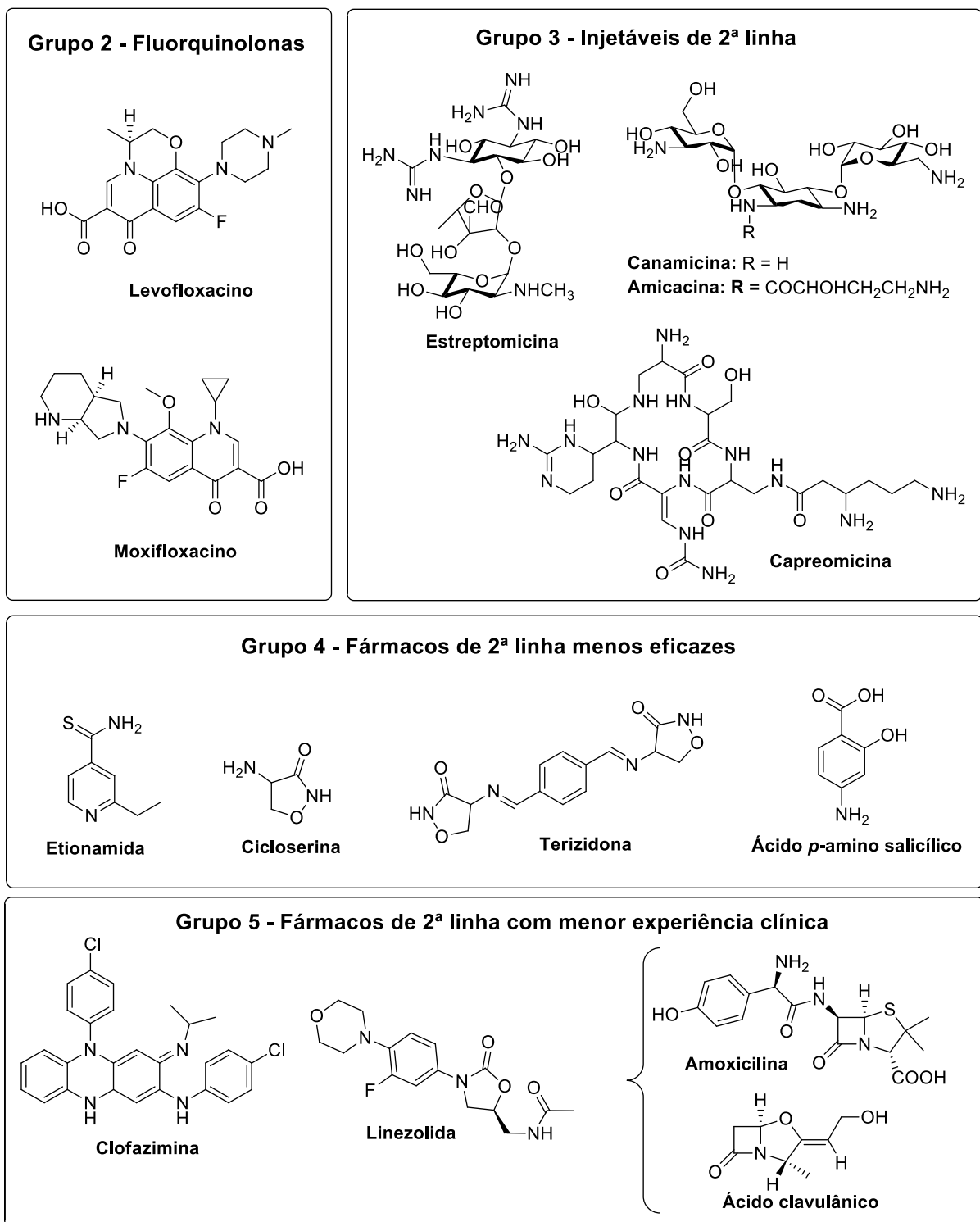


Figura 5. Fármacos de segunda linha utilizados no tratamento da tuberculose (adaptado de Brasil, 2019).

Desde 2012, somente dois novos fármacos foram aprovados pelo FDA para o tratamento da tuberculose multirresistente (**Figura 6**), sendo eles a bedaquilina (aprovada em 2012) e a pretomanida (aprovada em 2019) (fda.gov). A bedaquilina atua

contra um alvo pouco explorado, tendo como mecanismo de ação a inibição da bomba de prótons da ATP sintase, levando a um prejuízo na síntese de ATP. Esse fármaco apresenta um núcleo quinolínico em sua estrutura, além de dois centros quirais. A estereoquímica é importante para a atividade da bedaquilina, visto que o estereoisômero (*R,S*) é o mais ativo, com valores de CIM de 4 a 70 ng/mL, enquanto o estereoisômero (*S,R*) é o menos ativo, com valores de CIM de 0,35 a 8,8 µg/mL (Chakraborty e Rhee, 2015). Esse fármaco apresenta como vantagens uma possível redução de tempo de tratamento, além da elevada atividade anti- *M. tuberculosis* (MIC₅₀: 0,03 µg/mL). No entanto, uma desvantagem é a sua metabolização por enzimas do citocromo P450, o que aumenta o risco de interações medicamentosas (Matteelli et al. 2010). A pretomanida é um pró-fármaco e tem seu mecanismo de ação ainda em estudo. Sugere-se que a pretomanida atue na parede celular, pela inibição da biossíntese de ácidos micólicos, além de liberar óxido nítrico e prejudicar a homeostase de ATP (Manjunatha et al., 2009).

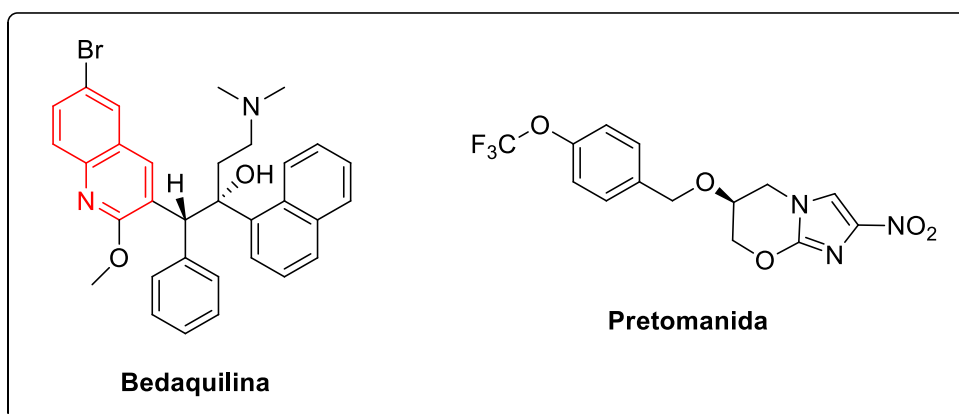


Figura 6. Fármacos anti- *M. tuberculosis* aprovados pelo FDA nos últimos dez anos. Destaque para o núcleo quinolínico da bedaquilina.

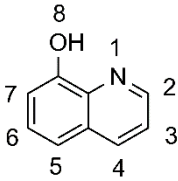
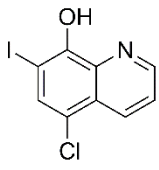
Considerando as limitações dos fármacos antifúngicos e para o tratamento da tuberculose já discutidas, é essencial a busca por novas alternativas terapêuticas, bem como o estudo de novos alvos moleculares. Além disso, são poucos os novos medicamentos sendo introduzidos no mercado, o que amplia ainda mais essa necessidade.

2.2. O núcleo 8-hidroxiquinolina

Uma alternativa interessante que vem sendo explorada por nosso grupo de pesquisa é o núcleo da 8-hidroxiquinolina (8HQ) (**Tabela 1**). Muitos estudos já demonstraram que este núcleo apresenta diversas atividades biológicas (Kos et al., 2019, Rbaa et al., 2019; Pippi et al., 2017), especialmente atividade antimicrobiana, o que é amplamente discutido no **Capítulo I** desse trabalho. Apesar da interessante atividade antimicrobiana do núcleo, o conhecimento de alvos moleculares microbianos ainda é limitado, sendo um campo a ser explorado.

A **Tabela 1** ilustra os estudos do nosso grupo de pesquisa, envolvendo o núcleo 8-hidroxiquinolina, publicados até o presente momento. Alguns desses estudos serão abordados a seguir com maior profundidade.

Tabela 1. Estudos do nosso grupo de pesquisa envolvendo o núcleo 8-hidroxiquinolina até o presente.

Molécula ou série	Investigação	Referência
8-Hidroxiquinolina 	Artigo de perspectiva/ revisão sobre relação estrutura-atividade e alvos moleculares microbianos de derivados do núcleo 8HQ.	Joaquim et al. (2021a)
Clioquinol 	Atividade antifúngica, irritabilidade em modelos <i>ex vivo</i> . Atividade contra biofilmes de <i>Candida</i> sp. em dispositivos intrauterinos. Mecanismo de ação antifúngica. Atividade antifúngica e toxicidade em modelos alternativos <i>in vivo</i> . Sinergismo com agentes antifúngicos contra fungos dermatófitos. Sinergismo com agentes antifúngicos contra biofilmes de <i>Fusarium</i> sp.	Pippi et al. (2017) Pippi et al. (2018) Pippi et al. (2019a) Pippi et al. (2019b) Costa et al. (2020) Chaves et al. (2020)

Ácidos sulfônicos



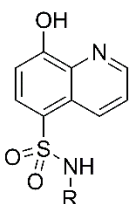
R = H ou I

Atividade antifúngica, irritabilidade em modelos *ex vivo*. Pippi et al. (2017)

Mecanismo de ação antifúngica. Pippi et al. (2019a)

Avaliação da atividade antifúngica e toxicidade em modelos alternativos *in vivo*. Pippi et al. (2019b)

5-Sulfonamidas

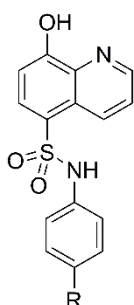


R = Fenil substituído, pirimidinil ou alquil.

Síntese da série de seis derivados e avaliação da atividade antifúngica e antibacteriana. Joaquim et al. (2019)

Avaliação da atividade anti-*Trichomonas vaginalis*. Rigo et al. (2022)

PH 151 e PH 153



R = Cl: PH 151

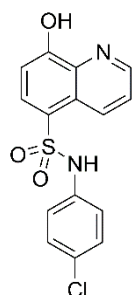
R = OCH₃: PH 153

Avaliação de citotoxicidade, irritabilidade e modelagem PK/PD. Joaquim et al. (2019)

Investigação preliminar do mecanismo de ação antifúngica. Pippi et al. (2020)

Avaliação da atividade antifúngica e toxicidade em modelos alternativos *in vivo*. Pippi et al. (2021)

PH 151

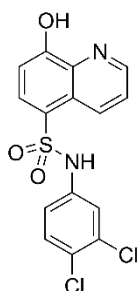


Produção e avaliação da atividade antifúngica de nanoformulação contendo o derivado. Pippi et al. (2020)

Avaliação da atividade contra biofilmes de *Candida* sp. em dispositivos hospitalares de hemodiálise. Rocha et al. (2021)

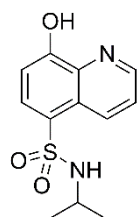
Avaliação da atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo* contra o fungo de videira *Ilyonectria liriodendri*. Souza et al. (2021)

PH 157



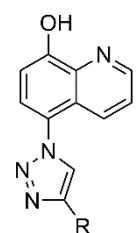
Avaliação da atividade e da Reginatto et al. (2021) formulação contendo o derivado contra biofilmes de *Candida* sp.

PH 152



Avaliação da atividade anti- Rigo et al. (2022) *Trichomonas vaginalis*, toxicidade *in vitro* e em modelo alternativo *in vivo*, sinergismo com íons metálicos, investigação preliminar do mecanismo de ação.

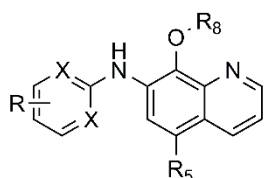
Triazois



R = H, fenil, fenil substituído, CH₂OH ou ciclohex-1-en-1-il.

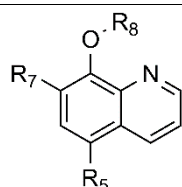
Síntese da série de cinco derivados Silva et al. (2021b) e avaliação da atividade antifúngica. Avaliação de citotoxicidade e mecanismo de ação dos derivados mais ativos.

Derivados 7-amilamina



X = CH ou N
R = Doadores ou retiradores de elétrons
R₅ = H ou Cl
R₈ = H ou CH₃

Síntese da série de vinte e um Joaquim et al. (2021b) derivados e avaliação da atividade antifúngica. Avaliação da citotoxicidade e irritabilidade dos derivados mais ativos, investigação preliminar do mecanismo de ação.



R₅ = NO₂ ou Cl
R₇ = H ou metoxifenilamino
R₈ = H ou CH₃

Atividade antibacteriana, Joaquim et al. (2022) citotoxicidade e sinergismo contra isolados de *Staphylococcus aureus*.

Recentemente nosso grupo identificou derivados de 8HQ como protótipos promissores para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos. O ácido 8-hidroxi-5-quinolinilsulfônico, o ácido 7-iodo-8-hidroxi-5-quinolinilsulfônico e o derivado 5-cloro-7-iodo-8-hidroxi-5-quinolinilsulfônico, também conhecido como clioquinol (**Tabela 1**), foram avaliados contra isolados de *Candida* sp. e dermatófitos, apresentando concentrações inibitórias mínimas (CIM) interessantes (entre 1 e 1024 µg/mL) (Pippi et al., 2017). O clioquinol foi o derivado mais ativo, com valores de CIM variando de 0,031 a 2 µg/mL. (Pippi et al., 2017). Este derivado já foi um fármaco utilizado por via oral para o tratamento e prevenção da amebíase intestinal (Mao e Schimmer, 2008). Devido à toxicidade do clioquinol, as suas formas farmacêuticas orais foram retiradas do mercado (Nakae et al., 1973). No entanto, muitos grupos de pesquisa estão buscando o reposicionamento do clioquinol, já que outras atividades biológicas para esta molécula estão sendo descobertas, e sua toxicidade vem sendo estudada (Arbiser et al., 1998; Helmuth, 2000; Ritchie et al., 2003; Nguyen et al., 2005).

Nosso grupo de pesquisa investigou também a atividade antifúngica de nove derivados do clioquinol apresentando substituições na posição 7 (**Figura 7**). Apesar da interessante atividade identificada (CIM de 2 a 64 µg/mL), apenas cinco substituintes no grupo 7-aramino foram explorados (Joaquim, 2018). Além disso, investigações biológicas mais aprofundadas não foram realizadas e são fundamentais, a fim de estudar aspectos como toxicidade, mecanismo de ação e farmacodinâmica. Isso será abordado com maior profundidade no **Capítulo II** deste trabalho, que trata da síntese e avaliação biológica de derivados do clioquinol.

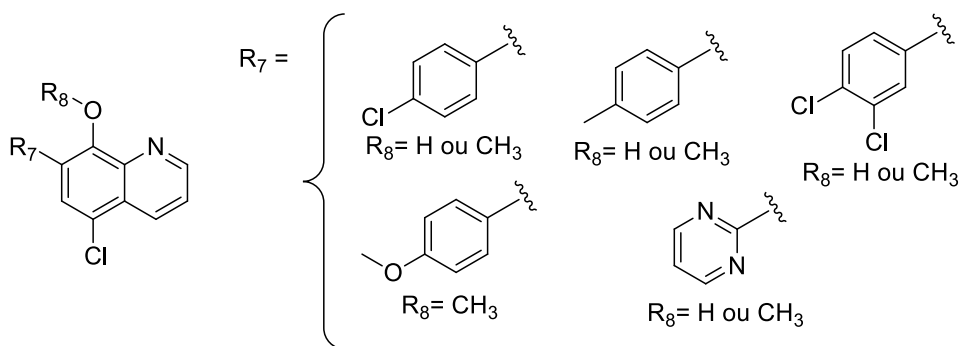


Figura 7. Estrutura dos derivados do clioquinol avaliados contra fungos patogênicos (Joaquim, 2018).

Dando continuidade ao trabalho de Pippi et al. (2017), nosso grupo sintetizou derivados 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas (**Figura 8**) que apresentaram atividade antifúngica. Os valores de CIM foram relevantes: de 3 a 240,6 μM (Joaquim et al., 2019). Dois destes derivados 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas (os derivados 4-Cl-fenila e 4-OCH₃-fenila substituídos) foram mais promissores e estão sendo estudados por grupos parceiros, já que apresentaram baixa citotoxicidade e irritabilidade (Joaquim et al., 2019).

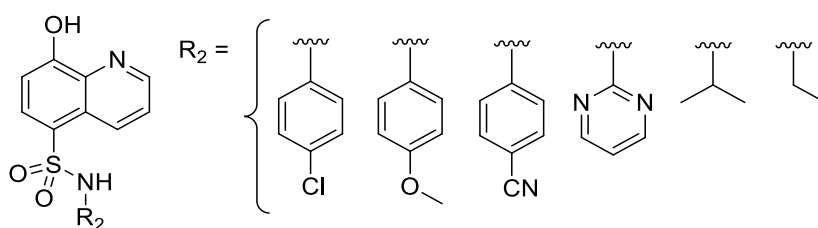


Figura 8. Estrutura das 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas previamente sintetizadas (Joaquim et al., 2019).

Os derivados 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamidas também apresentam atividade antibacteriana, especialmente contra cocos Gram-positivos, com valores de CIM entre 12,0 e 240,6 μM (Joaquim et al., 2019). Com base nestes resultados promissores, continuamos otimistas quanto ao desenvolvimento de novos derivados desta classe como possíveis candidatos a fármacos para o tratamento de infecções fúngicas e bacterianas.

Além da atividade antifúngica reportada por Pippi et al., (2017), o clioquinol também apresentou atividade contra *M. tuberculosis*, com valor CIM igual a 10 $\mu\text{g/mL}$ no estudo de Olaleye et al (2011). Neste contexto torna-se interessante a avaliação antimicobacteriana de novos derivados do clioquinol e 8HQ na busca de novas opções terapêuticas para o tratamento da tuberculose, o que é abordado no **Capítulo III** desse trabalho.

2.3. Alvos moleculares microbianos de interesse

A busca por novos candidatos a fármacos direcionados a alvos moleculares microbianos também é de grande interesse para nosso grupo de pesquisa, pois conhecer o mecanismo de ação de uma classe pode auxiliar o planejamento racional de fármacos. Por isso, essa subseção aborda dois alvos moleculares interessantes

para o desenvolvimento de novos agentes para o tratamento da tuberculose e de infecções fúngicas.

2.3.1. Enoil-(proteína transportadora de acil) redutase de *M. tuberculosis* (M_{tnhA})

A parede celular de micobactérias tem ganhado atenção na busca de novos fármacos para o tratamento da tuberculose, já que essa estrutura está relacionada à proteção celular, à baixa permeabilidade de fármacos e à virulência do microrganismo (Bhatt et al., 2007). Dentre os componentes da parede celular, destacam-se os ácidos micólicos, que são ácidos graxos de cadeia longa. Estudos sugerem que a síntese de ácidos micólicos ocorre no citoplasma da célula bacteriana e que uma proteína transportadora esteja envolvida no envio destes componentes até a parede celular (Grzegorzewicz et al., 2012, Varela et al., 2012). A biossíntese desses ácidos micólicos inicia com a participação de enzimas do complexo ácidos graxos sintase I (FAS I), que é responsável pela síntese de novo de ácidos graxos. A elongação de ácidos micólicos ocorre por meio da atuação de enzimas do complexo ácidos graxos sintase II (FAS II) (Hollas et al., 2015). Em humanos, apenas o complexo FAS I é necessário para a biossíntese de ácidos graxos, enquanto que as micobactérias dependem de FAS I e FAS II (Joshi et al., 2014). Logo, pesquisas envolvendo o complexo FAS II podem ser úteis para a descoberta de novos fármacos mais seletivos para microrganismos.

A enoil-(proteína transportadora de acil) redutase (InhA, EC 1.3.1.9) pertence ao FAS II e participa da etapa final de elongação de ácidos graxos. Essa enzima catalisa a reação de redução de um *trans*-enoil ligado à proteína transportadora de acil (ACP) (**Figura 9**), sendo essa reação dependente do cofator nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NADH) (Prasad et al., 2021).

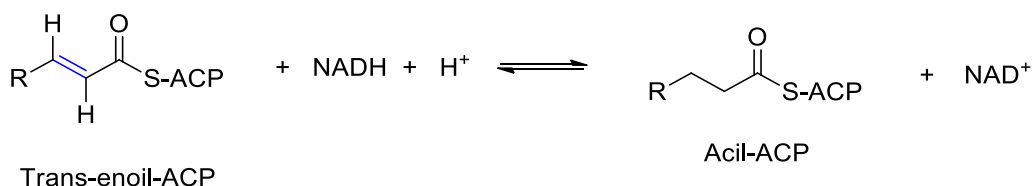


Figura 9. Representação simplificada da reação catalisada pela InhA (adaptado de Prasad et al., 2021).

A enoil-(proteína transportadora de acil) redutase de *M. tuberculosis* (*MtInhA*, **Figura 10**) é estudada desde a década de 1950, já que é o alvo molecular da isoniazida, um pró fármaco de primeira linha utilizado no tratamento da tuberculose (Banerjee et al. 1994). É uma enzima constituída de um tetrâmetro, com uma região de ligação ao NADH, um sítio ativo e uma região hidrofóbica. A região hidrofóbica é o sítio de ligação ao substrato e a inibidores. Esse bolso hidrofóbico está relacionado a resíduos de aminoácidos como Tyr, Phe, Met, Trp, Leu, Met e Pro. Sugere-se que os resíduos de aminoácidos do sítio de ligação ao substrato interagem com inibidores por meio de interações hidrofóbicas, com exceção de Tyr, que realiza ligações de hidrogênio (Prasad et al., 2021).

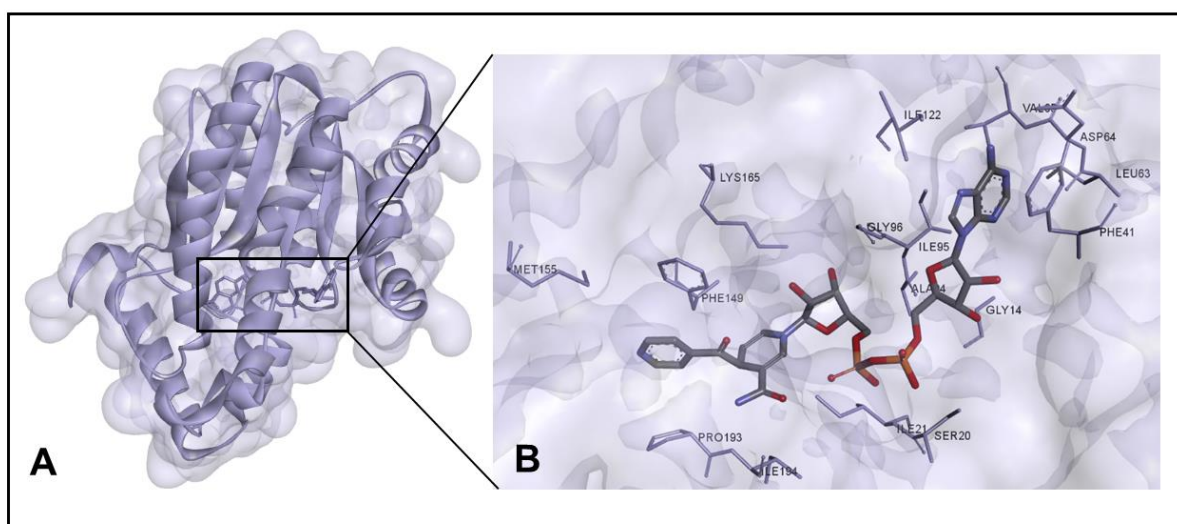


Figura 10. Estrutura tridimensional (monômero) da InhA de *M. tuberculosis* (A) (PBD ID: 2NV6); aproximação do aduto de isoniazida-NAD com resíduos de aminoácidos (B). Imagem gentilmente cedida por Isadora Serraglio Fortes. Estruturas geradas pelo software BIOVIA, Dassault Systèmes. Discovery Studio Modeling Environment. Versão 2020. San Diego: 2019.

Inibidores de *MtInhA* são classificados como diretos (não necessitam de ativação) e indiretos (necessitam de ativação). Diversas classes já foram reportadas como sendo inibidores diretos de *MtInhA*, tais como tiadiazóis, difenil éteres, carboxamidas, acetamidas, pirrois, triazóis, entre outros (Prasad et al., 2021). A isoniazida classifica-se como um inibidor indireto, pois sofre oxidação e ativação por uma catalase-peroxidase (Kat G) e, a seguir, liga-se ao NAD⁺ formando um aduto (**Figura 11**) (Jena et al., 2014; de Ávila et al., 2020). Um dos mecanismos de resistência à isoniazida,

adquirido por *M. tuberculosis*, está relacionado a mutações no gene que codifica Kat G, prejudicando a ativação do pró fármaco (Islam et al., 2017). Logo, pesquisas sugerem que a descoberta de inibidores diretos de *MtInhA* é interessante para o desenvolvimento de fármacos direcionados a cepas resistentes (Hollas et al., 2015).

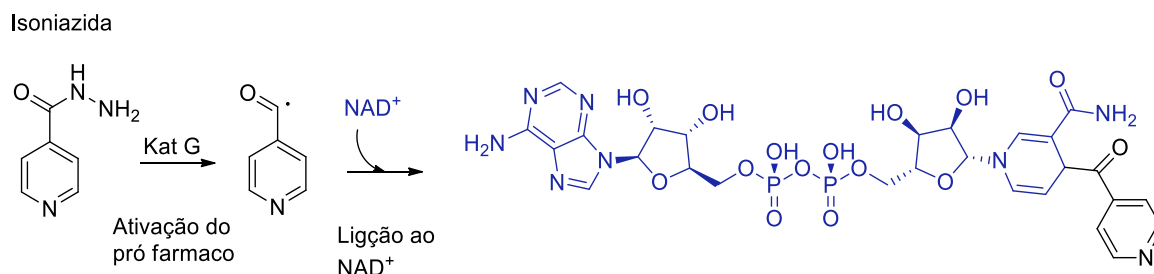


Figura 11. Ativação da isoniazida e formação do aduto (adaptado de Hoagland et al., 2016).

Dada a importância da *MtInhA* para o desenvolvimento de fármacos antimicrobianos, nosso grupo de pesquisa tem interesse em desenvolver novos protótipos de inibidores desse alvo molecular, o que também será abordado no **Capítulo III** desse trabalho.

2.3.2. Acetohidroxiácido sintase (AHAS) fúngica

A acetohidroxiácido sintase (AHAS, EC 2.2.1.6), também conhecida como acetolactato sintase (ALS), é a enzima responsável pela primeira etapa da via biossintética dos aminoácidos de cadeia ramificada, aminoácidos essenciais para a síntese de proteínas em microrganismos e plantas (Lee et al., 2013). Inicialmente, a AHAS catalisa uma etapa de descarboxilação do piruvato. A seguir, ela participa da condensação do intermediário descarboxilado com outra molécula de piruvato (levando à formação de 2-acetolactato) ou com uma molécula de 2-cetobutirato (levando à formação de 2-ceto-2-hidroxi-butirato). Após subseqüentes etapas sintéticas, ocorre a formação de leucina, isoleucina e valina (**Figura 12**) (Duggleby et al., 2008; Pue e Guddat, 2014). Em leveduras, essa via biossintética ocorre na mitocôndria, onde estão localizadas a AHAS e as outras enzimas necessárias (Ryan e Kohlhaw, 1974).

A AHAS de *Saccharomyces cerevisiae*, modelo da enzima fúngica mais estudado, até onde sabemos, é um dímero, em que cada unidade é composta por um sítio ativo e um sítio regulatório (**Figura 13**). Além disso, ela possui três cofatores:

tiamina difosfato (ThDP), Mg^{2+} e flavina-adenina dinucleotídeo (FAD). O cofator ThDP tem papel fundamental para a catálise enzimática, sendo o seu ancoramento realizado com o auxílio do íon Mg^{2+} . Já o cofator FAD não parece ter sua função bem esclarecida para a atividade catalítica da AHAS (Duggleby et al., 2008).

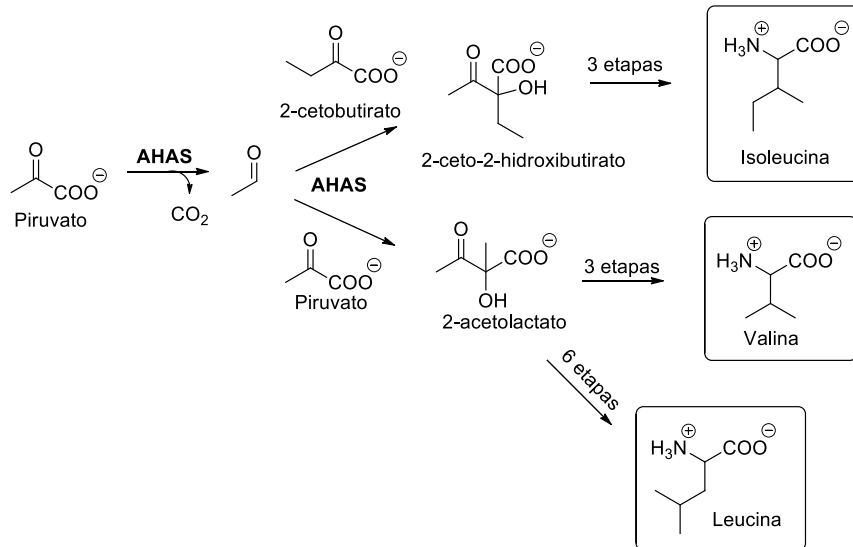
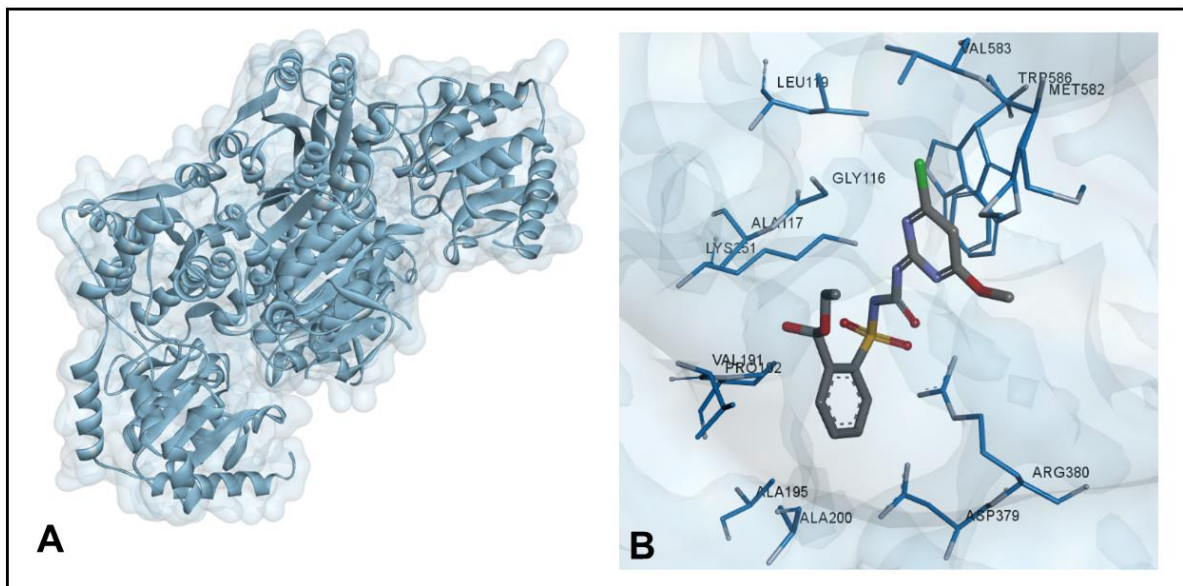


Figura 12. Síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada simplificada.

Adaptado de Duggleby et al. (2008) e Pue e Guddat (2014).



Recentemente a AHAS tem ganhado atenção como um alvo promissor para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, pois foi demonstrado que a ausência dessa enzima em *C. albicans* resultou na atenuação de sua virulência (Kingsbury e McCusker, 2010). Interessantemente, a rota biossintética dos aminoácidos de cadeia ramificada é ausente em animais, sendo necessário obter esses aminoácidos através da dieta, o que viabiliza a AHAS como um possível alvo no planejamento de novos agentes antifúngicos com elevada seletividade (Pue e Guddat, 2014; Lonhienne et al., 2020).

Para o planejamento de novos análogos da 8HQ, também utilizamos como estratégia a hibridação molecular, que se baseia na combinação de duas ou mais porções farmacofóricas, de diferentes substâncias bioativas, gerando assim, um novo composto híbrido. Esse composto pode apresentar melhores características de afinidade e eficácia comparado aos protótipos, podendo resultar em substâncias com modo de ação dual e efeitos adversos reduzidos (Viegas-Junior et al., 2007). Dessa forma, planejamos para o desenvolvimento do **Capítulo IV**, híbridos moleculares contendo o núcleo 8HQ e farmacóforos presentes em inibidores da enzima AHAS.

Os herbicidas da classe sulfonilureias (**A, Figura 14**) foram descobertos na década de 1970. Anos mais tarde, na década de 1980, seu alvo molecular foi identificado como sendo a AHAS (Pue e Guddat, 2014). Outro herbicida inibidor da AHAS é o piritiobaque (PB) (**B, Figura 14**), sendo descoberto mais recentemente que as sulfonilureias, com publicações iniciais na década de 1990 e um primeiro registro obtido em 1995. Esse herbicida é um derivado do ácido pirimidiniltiobenzóico e é utilizado para o controle de ervas daninhas em plantações de algodão (McCourt e Duggleby, 2006).

No estudo de Lee et al. (2013), os herbicidas sulfonilureias apresentaram atividade antifúngica interessante contra *C. albicans*, com valores de CIM₅₀ variando de 2 a 62 µM (Lee et al., 2013). Em um estudo mais recente, os herbicidas clorimuron etil e bensulfuron metil apresentaram relevante atividade contra *C. auris*, com valores de CIM variando de 0,391 a 3,13 µM. No mesmo estudo, a sulfonilureia bensulfuron metil foi ativa contra biofilmes de *C. auris* (Agnew-Francis et al., 2020). Esses achados são de grande importância, considerando o perfil de resistência dessa espécie fúngica (Cortegiani et al., 2018). O estudo de Wu et al. (2019) identificou uma atividade antifúngica modesta do piritiobaque contra a AHAS de *C. albicans* (40% de inibição a 100 µM). Nesse mesmo estudo, o valor da CIM desse herbicida contra *C. albicans* foi

superior a 100 µg/mL. Esses resultados indicam que modificações estruturais do piritiobaque são necessárias, a fim de se obter um novo *hit*.

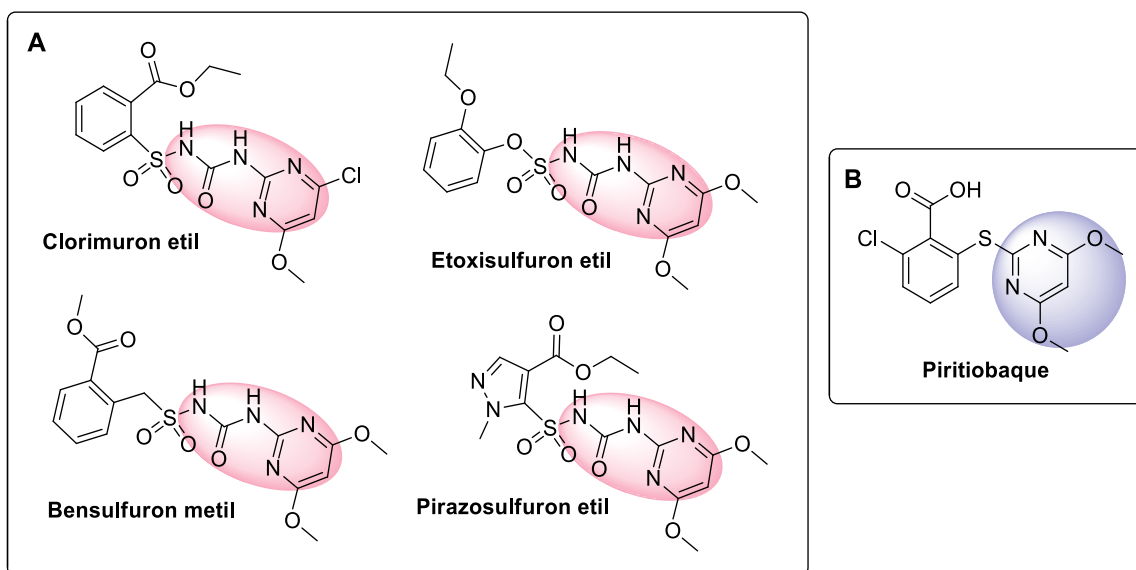


Figura 14. Estrutura química de inibidores da AHAS. **A)** Representantes de sulfonilureias herbicidas. Em destaque, o grupamento pirimidinilureia. **B)** Estrutura do PB. Em destaque, o anel 4,6-dimetoxipirimidina.

Interessantemente, as sulfonilureias herbicidas parecem atuar como inibidores alostéricos da AHAS, ligando-se a uma subunidade regulatória. As modificações estruturais promovidas pelo inibidor impedem a chegada do substrato no sítio ativo da enzima (Pue e Guddat, 2014). As interações intermoleculares que ocorrem entre os aminoácidos do sítio regulatório da AHAS de *S. cerevisiae* (ScAHAS) e o clorimuron etil estão representadas na **Figura 15**. A pirimidina do clorimuron etil forma interações fortes do tipo *Pi-Pi stacking* com o grupo indol do Trp586. O aminoácido Arg380 interage com oxigênio da sulfonilureia, o oxigênio substituinte da pirimidina, e o nitrogênio da pirimidina por ligações de hidrogênio. Lys251 interage com um dos oxigênios do grupo sulfonil por ligações de hidrogênio (Lee et al., 2013; Pue e Guddat, 2014). Dessa forma, justifica-se a manutenção dessas interações mais fortes com o alvo, e a substituição do fenil-éster (que interage com o alvo por interações hidrofóbicas), pelo farmacóforo 8-hidroxiquinolina, aplicando a estratégia de hibridação molecular.

Em relação às principais interações que ocorrem entre o piritiobaque e AHAS, apenas um estudo foi encontrado até o presente, envolvendo a AtAHAS (AHAS de

Arabidopsis thaliana, uma planta). O estudo de cristalografia de Garcia et al. (2017) verificou que o anel pirimidina é importante para a inibição enzimática por realizar interações do tipo *Pi-Pi stacking* com o Trp574 da enzima. Uma das metoxilas participa de ligações de hidrogênio com a Arg377. A outra metoxila realiza interações hidrofóbicas com outros resíduos de aminoácidos. Interações semelhantes foram observadas durante os estudos de *docking* molecular entre a ScAHAS e o piritiobaque, conduzidos durante o presente trabalho (o qual será melhor abordado no **Capítulo IV**) (**B, Figura 15**). Dessa forma, justifica-se a manutenção da pirimidinila e de, ao menos, uma metoxila do piritiobaque no planejamento de híbridos moleculares desse herbicida e da 8HQ.

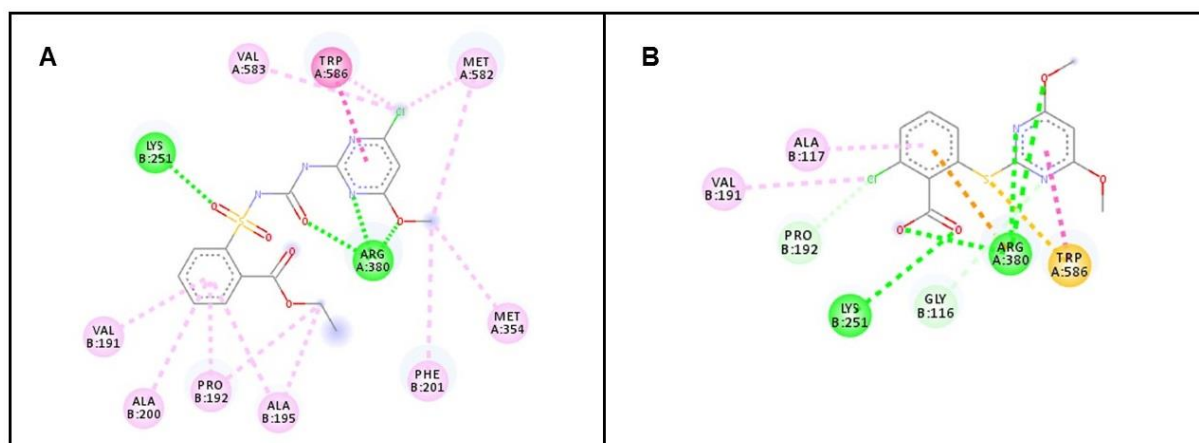


Figura 15. Interações intermoleculares entre AHAS de *S. cerevisiae* (PDB ID: 1N0H) e clorimuron etil (A) ou piritiobaque (B). Imagem gentilmente cedida pela profa. Dra. Lorane Hage Melim, da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Software Discovery Studio 2020.

Considerando que o planejamento de fármacos alvo-direcionado é uma abordagem promissora, o **Capítulo IV** deste trabalho é focado na estratégia de hibridação molecular entre o núcleo 8HQ e os herbicidas sulfonilureias, bem como entre o núcleo 8HQ e o piritiobaque, a fim de desenvolver novos agentes antifúngicos inibidores de AHAS.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Sintetizar novos derivados de 8-hidroxiquinolina e avaliar a atividade antifúngica e anti-*M. tuberculosis*, visando à identificação de novos candidatos a fármacos.

3.2 Objetivos Específicos:

- a) Realizar uma revisão da literatura sobre a atividade antimicrobiana de derivados da 8-hidroxiquinolina (últimos dez anos), com foco na relação estrutura-atividade;
- b) Planejar, sintetizar e caracterizar novos derivados do clioquinol;
- c) Planejar, sintetizar e caracterizar novos derivados de 8-hidroxiquinolina contendo uma sulfonamida na posição 5;
- d) Planejar, sintetizar e caracterizar derivados híbridos moleculares de 8-hidroxiquinolina e inibidores de AHAS;
- e) Avaliar a atividade antifúngica dos derivados do clioquinol e dos híbridos moleculares.
- f) Avaliar a atividade anti-*M. tuberculosis* de derivados do clioquinol e 8-hidroxiquinolina.
- g) Avaliar a toxicidade dos derivados sintéticos mais ativos (através de testes citotoxicidade e irritabilidade);
- h) Investigar o mecanismo de ação dos derivados mais promissores.

CAPÍTULO I. Novel antimicrobial 8-hydroxyquinoline-based agents: current development, structure-activity relationships and perspectives

O texto completo do Capítulo I, que na Tese de Doutorado defendida ocupa o intervalo de páginas 65-130, foi suprimido por estar relacionado a manuscrito publicado no periódico científico Journal of Medicinal Chemistry. Consta de um artigo de revisão com foco em relação estrutura-atividade de 8-hidroxiquinolinas antimicrobianas e alvos moleculares.

A versão publicada pode ser encontrada em: [Joaquim AR, Gionbelli MP, Gosmann G, Fuentefria AM, Lopes MS, Fernandes de Andrade S. Novel Antimicrobial 8-Hydroxyquinoline-Based Agents: Current Development, Structure-Activity Relationships, and Perspectives. J Med Chem. 64(22), 16349-16379, 2021. doi: 10.1021/acs.jmedchem.1c01318.]. Copyright 2021 American Chemical Society.

CAPÍTULO II. New 8-hydroxyquinoline derivatives highlight the potential of this class for treatment of fungal infections

O texto completo do Capítulo II, que na Tese de Doutorado defendida ocupa o intervalo de páginas 131-168, foi suprimido por estar relacionado a manuscrito publicado no periódico científico New Journal of Chemistry. Consta da síntese e avaliação da atividade antifúngica de novos derivados de 8-hidroxiquinolina. O derivado mais ativo foi investigado quanto à citotoxicidade, irritabilidade, além de parâmetros farmacodinâmicos.

A versão publicada pode ser encontrada em: [Joaquim, AR; Reginatto, P; Lopes, MS; Bazana, LCG.; Gionbelli, MP; de Cesare, MA; Kaminski, TFA; Teixeira, ML; Abegg, MA; Fuentefria, AM; Andrade, SF. New 8-hydroxyquinoline derivatives highlight the potential of this class for treatment of fungal infections. New J. Chem. 45, 18158 – 18170, 2021. DOI: 10.1039/D0NJ06188C].

CAPÍTULO III. Discovery of 8-hydroxyquinolines as inhibitors of the *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-acyl carrier protein reductase

O texto completo do Capítulo III, que na Tese de Doutorado defendida ocupa o intervalo de páginas 169-200, foi suprimido por tratar-se de manuscrito a ser submetido para publicação em periódico científico. Consta da síntese e avaliação da atividade antimicobacteriana e do mecanismo de ação de derivados de 8-hidroxiquinolina. Das substâncias avaliadas, quatro apresentaram atividade antimicobacteriana interessante e foram identificadas como inibidores de *MtInhA*.

CAPÍTULO IV. Design and synthesis of novel molecular hybrids of 8-hydroxyquinoline and acetohydroxyacid synthase inhibitors

O texto completo do Capítulo IV, que na Tese de Doutorado defendida ocupa o intervalo de páginas 201-246, foi suprimido por tratar-se de manuscrito a ser submetido para publicação em periódico científico. Consta da síntese e avaliação da atividade antifúngica de híbridos moleculares do núcleo 8-hidroxiquinolina e inibidores de AHAS. Duas rotas de síntese foram utilizadas para a obtenção dos novos derivados. Das substâncias avaliadas, quatro apresentaram atividade antifúngica interessante.

4. DISCUSSÃO

O texto completo desta seção, que na Tese de Doutorado defendida ocupa o intervalo de páginas 247-272, foi suprimido por tratar-se de informações para publicação em periódicos científicos. Consta da apresentação de discussões referentes aos Capítulos I a IV: mecanismos reacionais, elucidação estrutural por técnicas RMN, relação estrutura-atividade, comparações com trabalhos da literatura anteriores.

CONCLUSÕES

O texto completo desta seção, que na Tese de Doutorado defendida ocupa as páginas 273 e 274, foi suprimido por tratar-se de informações para publicação em periódicos científicos. Consta da apresentação das conclusões gerais das Capítulos I a IV.

REFERÊNCIAS

ABOUELHASSAN Y et al. A Phytochemical–halogenated quinoline combination therapy strategy for the treatment of pathogenic bacteria. **ChemMedChem**. 10, 1157-1162, 2015.

AGNEW-FRANCIS KA et al. Herbicides that target acetohydroxyacid synthase are potent inhibitors of the growth of drug-resistant *Candida auris*. **ACS Infect Dis**. 6, 2901-2912, 2020.

AIK W et al. Structural basis for inhibition of the Fat Mass and Obesity Associated Protein (FTO). **J Med Chem**. 56, 3680–3688, 2013.

ALMEIDA JR JN et al. Emergence of *Candida auris* in Brazil in a COVID-19 intensive care unit. **J Fungi (Basel)**. 7, 220, 2021.

ANVISA, 2021. Medicamentos registrados para doenças raras. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/medicamentos/doencas-raras/medicamentos-registrados-para-doencas-raras_2020.pdf/view. Acesso em: 15/12/2021.

ARBISER JL et al. Clioquinol-zinc chelate: A candidate causative agent of subacute myelo-optic neuropathy. **Mol Med**. 4, 665-670, 1998.

ATZORI L et al. Mycological Examination. In: Katsambas AD et al. European Handbook of Dermatological Treatments. Springer, Berlin, Heidelberg. 2015.

BARBERIS I et al. The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. **J Prev Med Hyg**. 58, E9-E12, 2017.

BANERJEE A et al. inhA, a Gene Encoding a Target for Isoniazid and Ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*. **Science**. 263, 227-230, 1994.

BEN-AMI R. Treatment of invasive candidiasis: a narrative review. **J Fungi**. 4, 01-18, 2018.

BHATT A et al. The *Mycobacterium tuberculosis* FAS-II condensing enzymes: their role in mycolic acid biosynthesis, acid-fastness, pathogenesis and in future drug development. **Mol Microbiol.** 64, 1442-1454, 2007.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil, 2019. ISBN 978-85-334-2696-2.

BUCEVICIUS J et al. 2,4-Bis(4-aryl-1,2,3-triazol-1-yl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidines: synthesis and tuning of optical properties by polar substituents. **RSC Adv.** 5, 38610-38622, 2015.

BUCEVICIUS J et al. Easy Access to Isomeric 7-Deazapurine–1,2,3-Triazole Conjugates via SNAr and CuAAC Reactions of 2,6-Diazido-7-deazapurines. **Synlett.** 29, 525–529, 2018.

CADENA AM et al. Heterogeneity in tuberculosis. **Nat Rev Immunol.** 17, 691-702, 2017.

CHAKRABORTY S e RHEE KY. Tuberculosis drug development: history and evolution of the mechanism-based paradigm. **Cold Spring Harb Perspect Med.** 5, a021147, 2015.

CHAVES MA et al. Synergistic association of clioquinol with antifungal drugs against biofilm forms of clinical *Fusarium* isolates. **Mycoses.** 63, 1069-1082, 2020.

CHEN Y et al. Active or latent tuberculosis increases susceptibility to COVID-19 and disease severity. **medRxiv.** 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.10.20033795>.

CORNELY OA et al. Improving outcome of fungal diseases – Guiding experts and patients towards excellence. **Mycoses.** 60, 420-425, 2017.

CORTEGIANI A et al. Epidemiology, clinical characteristics, resistance, and treatment of infections by *Candida auris*. **J Intensive Care.** 6, 69, 2018.

CORTEZ AO et al. Tuberculose no Brasil: um país, múltiplas realidades. **J Bras Pneumol.** 47, e20200119, 2021.

COSTA B et al. In vitro antidermatophytic synergism of double and triple combination of clioquinol with ciclopirox and terbinafine. **Mycoses**. 63, 993-1001, 2020.

CRAIG PN. Interdependence between physical parameters and selection of substituent groups for correlation studies. **J. Med. Chem.** 14, 680-684, 1971.

CUMMING BM et al. Host bioenergetic parameters reveal cytotoxicity of antituberculosis drugs undetected using conventional viability assays. **Antimicrob Agents Chemother**. 65, e0093221, 2021.

DATTA S et al. Comparison of sputum collection methods for tuberculosis diagnosis: a systematic review and pairwise and network meta-analysis. **Lancet Glob Health**. 5, e760-e771, 2017.

DE ÁVILA MB et al. Structural Basis for Inhibition of Enoyl-[Acyl Carrier Protein] Reductase (InhA) from *Mycobacterium tuberculosis*. **Curr Med Chem**. 27, 745-759, 2020.

DU H et al. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. **PLoS Pathog**. 16, e1008921, 2020.

DUGGLEBY RG et al. Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase. **Plant Physiol Biochem**. 46, 309-324, 2008.

EMRI T et al. Echinocandins: production and applications. **Appl Microbiol Biotechnol**. 97, 3267–3284, 2013.

EZEOKOLI OT et al. Risk factors for fungal co-infections in critically ill COVID-19 patients, with a focus on immunosuppressants. **J Fungi (Basel)**. 7, 545, 2021.

FATIMA S. et al. Tuberculosis vaccine: A journey from BCG to present. **Life Sci**. 252, 117594, 2020.

FDA. U.S Food & Drug Administration. <https://www.fda.gov/> Acesso em: 15/12/2021.

FERGUSON L e FULLER C. Spectrum and burden of dermatophytes in children. **J Infection**. 74, S54-S60, 2017.

FUENTEFRIA AM et al. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Lett Appl Microbiol.** 66, 2-13, 2018.

GARCIA MD et al. Comprehensive understanding of acetohydroxyacid synthase inhibition by different herbicide families. **PNAS.** E1091-E1100, 2017.

GARCIA MD et al. Commercial AHAS-inhibiting herbicides are promising drug leads for the treatment of human fungal pathogenic infections. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 115, E9649-E9658, 2018.

GARCÍA-SANTAMARINA S e THIELE DJ. Copper at the fungal pathogen-host axis. **J Biol Chem.** 290, 18945–18953, 2015.

GOTHELF KV e JØRGENSEN KA. Asymmetric 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions. **Chem Rev.** 98, 863-910, 1998.

GIACOMAZZI J et al. The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses.** 59, 145–150, 2017.

GLAZIOU P et al. Global epidemiology of tuberculosis. **Semin Respir Crit Care Med.** 39, 271-285, 2018.

GONÇALVES B et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Crit Rev Microbiol.** 42, 905–927, 2016.

GRZEGORZEWICZ AE et al. Inhibition of mycolic acid transport across the *Mycobacterium tuberculosis* plasma membrane. **Nat Chem Biol.** 8, 334–341, 2012.

HARTWIG J. Carbon–heteroatom bond formation catalysed by organometallic complexes. **Nature,** 455, 314-322, 2008.

HELMUT L. An antibiotic to treat Alzheimer's? **Science.** 290, 1273-1274, 2000.

HELSEL ME et al. Chemical and functional properties of metal chelators that mobilize copper to elicit fungal killing of *Cryptococcus neoformans*. **Metallomics.** 9, 69-81, 2017.

HOAGLAND DT et al. New agents for the treatment of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **Adv Drug Deliv Rev.** 102, 55-72, 2016.

HOLAS O et al. *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-acyl carrier protein reductase inhibitors as potential antituberculotics: development in the past decade. **J Enzyme Inhib Med Chem.** 30, 629-648, 2015.

HOLLAND GF. Notes - Preparation of some additional sulfonylureas. **J Org Chem.** 26, 662-1665, 1961.

ISLAM MM et al. Drug resistance mechanisms and novel drug targets for tuberculosis therapy. **J Genet Genomics.** 44, 21-37, 2017.

JENA L et al. Computational approach to understanding the mechanism of action of isoniazid, an anti-TB drug. **Int J Mycobacteriol.** 3, 276-282, 2014.

JOAQUIM AR. Síntese de derivados de 8-hidroxiquinolina e avaliação da atividade antimicrobiana. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio grande do Sul, Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. 2018.

JOAQUIM AR et al. Rapid tools to gain insights into the interaction dynamics of new 8-hydroxyquinolines with few fungal lines. **Chem Biol Drug Des.** 93, 1186-1196, 2019.

JOAQUIM AR et al. Novel Antimicrobial 8-Hydroxyquinoline-Based Agents: Current Development, Structure–Activity Relationships, and Perspectives. **J Med Chem.** 64, 22, 16349–16379, 2021a.

JOAQUIM AR et al. New 8-hydroxyquinoline derivatives highlight the potential of this class for treatment of fungal infections. **New J Chem.** 45, 18158-18170, 2021b.

JOAQUIM AR et al. Antibacterial and synergistic activity of a new 8-hydroxyquinoline derivative against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Future Microbiol.** 17, 425-436, 2022.

JOSHI SD et al. Enoyl ACP reductase as effective target for the synthesized novel antitubercular drugs: a-state-of-the-art. **Mini Rev Med Chem.** 14, 678-693, 2014.

KANABALAN RD et al. Human tuberculosis and *Mycobacterium tuberculosis* complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. **Microbiol Res.** 246, 126674, 2021.

KHAWBUNG JL et al. Drug resistant tuberculosis: A review. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis.** 74, 101574, 2021.

KHURANA A et al. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. **Fungal Genet Biol.** 132, 103255, 2019.

KINGSBURY JM e McCusker JH. Cytocidal amino acid starvation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans* acetolactate synthase (*ilv2*{Delta}) mutants is influenced by the carbon source and rapamycin. **Microbiol (Reading).** 156, 929-939, 2010.

KOS J et al. 8-Hydroxyquinoline-2-carboxanilides as antiviral agents against Avian Influenza Virus. **ChemistrySelect.** 4, 4582-4587, 2019.

KOSAK TM et al. Ether Cleavage Re-Investigated: Elucidating the Mechanism of BBr₃-Facilitated Demethylation of Aryl Methyl Ethers. **Eur J Org Chem.** 2015, 7460–7467, 2015.

KRIVOPALOV VP et al. Azide-tetrazole tautomerism of diazidodiazines and their benzo analogs. **Russ Chem Bull.** 38, 1839–1844, 1989.

KUMAR R et al. COVID-19 and TB co-infection - 'Finishing touch" in perfect recipe to 'severity' or 'death'. **J Infect.** 81, e39–e40, 2020

LA HOZ RM e BADDLEY JW. Subcutaneous fungal infections. **Curr Infect Dis Rep.** 14, 530–539, 2012.

LANGDON SR et al. Bioisosteric Replacement and Scaffold Hopping in Lead Generation and Optimization. **Mol Inform.** 29, 366-85, 2010.

LANGE C et al. Drug-resistant tuberculosis: An update on disease burden, diagnosis and treatment. **Respirology.** 23, 656–673, 2018.

LEE YT et al. Sulfonylureas have antifungal activity and are potent inhibitors of *Candida albicans* acetohydroxyacid synthase. **J Med Chem** 56, 210–219, 2013.

LIPNER SR e SCHER RK. Efinaconazole in the treatment of onychomycosis. **Infect Drug Resist.** 8, 163-172, 2015.

LONHIENNE T et al. Structures of fungal and plant acetohydroxyacid synthases. **Nature.** 586, 317-321, 2020.

LOW YS et al. Triazolopyrimidine herbicides are potent inhibitors of *Aspergillus fumigatus* acetohydroxyacid synthase and potential antifungal drug leads. **Sci Rep.** 11, 21055, 2021.

MANJUNATHA U et al. The mechanism of action of PA-824. **Commun Integr Biol.** 2, 215-218, 2009.

MÄNNEL B et al. Hydroxy-Substituted Heteroaryl piperazines: Novel Scaffolds for β -Arrestin-Biased D2R Agonists. **J Med Chem.** 60, 4693–4713, 2017.

MAO X e SCHIMMER AD. The toxicology of Clioquinol. **Toxicol Lett.** 182, 1–6, 2008.

MATTEELLI A et al. TMC207: the first compound of a new class of potent antituberculosis drugs. **Future Microbiol.** 5, 849–858, 2010.

MAZUMDER UK et al. Antineoplastic and antibacterial activity of some mononuclear Ru(II) complexes. **J Enzyme Inhib Med Chem.** 19, 185-192, 2004.

MCCOURT JA e DUGGLEBY RG. Acetohydroxyacid synthase and its role in the biosynthetic pathway for branched-chain amino acids. **Amino Acids.** 31, 173–210, 2006.

MICELI MH e KAUFFMAN CA. Isavuconazole: A new broad-spectrum triazole antifungal agent. **Clin Infect Dis.** 61, 1558-1565, 2015.

MITAL M et al. Copper exchange and redox activity of a prototypical 8-hydroxyquinoline: implications for therapeutic chelation. **Inorg Chem.** 55, 7317–7319, 2016.

MITCHISON D e DAVIES G. The chemotherapy of tuberculosis: past, present and future. **Int J Tuberc Lung Dis.** 16, 724–732, 2012.

MPHAHLELE M e LESENYEHO L. Halogenated quinolines as substrates for the palladium-catalyzed cross-coupling reactions to afford substituted quinolines. **J Heterocyclic Chem.** 50,1-16, 2013.

NABER GN et al. Review of the literature and individual patients' data meta-analysis on efficacy and tolerance of nitroxoline in the treatment of uncomplicated urinary tract infections. **BMC Infect Dis.** 14, 01-16, 2014.

NAKAE K et al. Relation between subacute myelo-optic neuropathy (S.M.O.N.) and clioquinol: nationwide survey. **Lancet.** 171–173, 1973.

NARANG T et al. Quality of life and psychological morbidity in patients with superficial cutaneous dermatophytosis. **Mycoses.** 62:680–685, 2019.

NGUYEN LA et al. Chiral drugs: An overview. **Int J Biomed Sci.** 2, 85–100, 2006.

NGUYEN T et al. Clioquinol down-regulates mutant huntingtin expression in vitro and mitigates pathology in a Huntington's disease mouse model. **Proc Natl Acad Sci.** 102, 11840–11856, 2005.

NJIRE M et al. Pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Review and update. **Adv Med Sci.** 61, 63-71, 2015.

ODINGO JO et al. 8-Hydroxyquinolines are bactericidal against *Mycobacterium tuberculosis*. **Drug Dev Res.** 80, 566–572, 2019.

OKADA S et al. Chronic mucocutaneous candidiasis disease associated with inborn errors of IL-17 immunity. **Clin Transl Immunology.** 5, e114, 2016.

OLALEYE O et al. Methionine Aminopeptidases from *Mycobacterium tuberculosis* as novel antimycobacterial targets. **Chem Biol.** 29, 17, 86–97, 2010.

OLALEYE O et al. Characterization of clioquinol and analogues as novel inhibitors of methionine aminopeptidases from *Mycobacterium tuberculosis*. **Tuberculosis**. 91, S61-S65, 2011.

OLIVEIRA LVN et al. Vaccines for human fungal diseases: close but still a long way to go. **npj Vaccines**. 6, 33, 2021.

ONISHI J et al. Discovery of Novel Antifungal (1,3)-b-D-Glucan Synthase Inhibitors. **Antimicrob Agents Chemother**. 44, 368-377, 2000.

PALACIOS DS et al. Synthesis-enabled functional group deletions reveal key underpinnings of amphotericin B ion channel and antifungal activities. **PNAS**. 108, 6733–6738, 2011.

PAPPAS PG et al. Invasive candidiasis. **Nat Rev Dis Primers**. 4:18026, 2018.

PEMÁN J. et al. Fungal co-infection in COVID-19 patients: Should we be concerned? **Rev Iberoam Micol**. 37, 41–46, 2020.

PERFECT JR. Fungal diagnosis: how do we do it and can we do better? **Current Med. Res. Opinion** 29, Supplement 4, 3–11, 2013.

PFALLER MA e CASTANHEIRA M. Nosocomial candidiasis: antifungal stewardship and the importance of rapid diagnosis. **Med Mycol**. 54, 1–22, 2016.

PFALLER MA. et al. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. **J. Clin. Microbiol**. 34, 58-61, 1996.

PIPPI B et al. Evaluation of 8-hydroxyquinoline derivatives as hits for antifungal drug design. **Med Mycol**. 55, 763-773, 2017.

PIPPI B et al. Clioquinol is a promising preventive morphological switching compound in the treatment of *Candida* infections linked to the use of intrauterine devices. **J Med Microbiol**. 67, 1655-1663, 2018.

PIPPI B et al. New insights into the mechanism of antifungal action of 8-hydroxyquinolines. **Saudi Pharm J**. 27. 41-48, 2019a.

PIPPI B et al. Oral clioquinol is effective in the treatment of a fly model of *Candida* systemic infection. **Mycoses**. 62, 475-481, 2019b.

PIPPI B et al. 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonamides are promising antifungal candidates for the topical treatment of dermatomycosis. **J Appl Microbiol**. 128, 1038-1049, 2020.

PIPPI B et al. Antifungal activity and toxicological parameters of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamides using alternative animal models. **J Appl Microbiol**. 130, 1925-1934, 2021.

POISSY J et al. Risk factors for candidemia: a prospective matched case-control study. **Critical Care**. 24, 01-11, 2020.

POOJARY SA. Topical antifungals: A review and their role in current management of dermatophytoses. **Clin Dermatol Rev**. 1, 24-29, 2017.

PRASAD MS et al. Mycobacterium enoyl acyl carrier protein reductase (InhA): A key target for antitubercular drug discovery. **Bioorg Chem**. 115, 105242, 2021.

PRATT YT e DRAKE NL. Quinolinequinones. V. 6-Chloro- and 7-Chloro-5,8-quinolinequinones. **J Am Chem Soc**. 82, 1155-1161, 1960.

PUE N e GUDDAT LW. Acetohydroxyacid Synthase: A target for antimicrobial drug discovery. **Curr Pharm Des**. 20, 740-753, 2014.

QU T et al. Design, synthesis, and antibacterial activity of novel 8-methoxyquinoline-2-carboxamide compounds containing 1,3,4-thiadiazole moiety. **Z Naturforsch**. 73, 117–122, 2018.

QUEIROZ-TELLES F et al. Neglected endemic mycoses. **Lancet Infect Dis**. 17, e367-e377, 2017.

RAMIREZ-LAPAUSA M et al. Extrapulmonary tuberculosis: an overview. **Rev Esp Sanid Penit**. 17, 3-11, 2015.

RBAA M et al. Synthesis, antibacterial properties and bioinformatics computational analyses of novel 8-hydroxyquinoline derivatives. **Heliyon**. 5, e02689, 2019.

REGINATTO P et al. 8-hydroxyquinoline and quinazoline derivatives as potential new alternatives to combat *Candida* spp. biofilm. **Lett Appl Microbiol.** 2021. <https://doi.org/10.1111/lam.13607>.

RIGO GV et al. Iron chelation and inhibition of metallopeptidases mediate anti-*Trichomonas vaginalis* activity by a novel 8-hydroxyquinoline derivative. **Bioorg Chem.** 125, 105912, 2022.

RITCHIE CW et al. Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting a β amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease. **Arch Neurol.** 60, 1685-1691, 2003.

ROCHA LF et al. 8-hydroxyquinoline-5-(*N*-4-chlorophenyl) sulfonamide and fluconazole combination as a preventive strategy for *Candida* biofilm in haemodialysis devices. **J Med Microbiol.** 70, 2021.

RODRIGUES ML e ALBUQUERQUE PC. Searching for a change: The need for increased support for public health and research on fungal diseases. **PLoS Negl Trop Dis.** 12, e0006479, 2018.

ROSTOVTSEV VV et al. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. **Angew Chem Int Ed Engl.** 41, 2596-2599, 2002.

RYAN ED e KOHLHAW GB. Subcellular localization of isoleucine-valine biosynthetic enzymes in yeast. **J Bacteriol.** 120, 631-637, 1974.

SAGATOVA AA et al. Structural insights into binding of the antifungal drug fluconazole to *Saccharomyces cerevisiae* lanosterol 14 α -demethylase. **Antimicrob Agents Chemother.** 59, 4982-4989, 2015.

SANGLARD D. Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. **Front Med (Lausanne).** 3, 11, 2016.

SANTOS GCO et al. *Candida* infections and therapeutic strategies: Mechanisms of action for traditional and alternative agents. **Front Microbiol.** 9, 01-23, 2018.

SCHER R. et al. Luliconazole: a review of a new antifungal agent for the topical treatment of onychomycosis. **Mycoses**. 57, 389-393, 2014.

SCORZONI L et al. Antifungal therapy: New advances in the understanding and treatment of mycosis. **Front Microbiol**. 8, 01-23, 2017.

SHAO C et al. Acid-base jointly promoted copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **J Org Chem**. 76, 6832-6836, 2011.

SILVA DL et al. Fungal and bacterial coinfections increase mortality of severely ill COVID-19 patients. **J Hosp Infect**. 113, 145-154, 2021a.

SILVA NM et al. 8-Hydroxyquinoline 1,2,3-triazole derivatives with promising and selective antifungal activity. **Med Mycol**. 59, 431-440, 2021b.

SOUZA LM. et al. The efficacy of 8-hydroxyquinoline derivatives in controlling the fungus *Ilyonectria liriodendri*, the causative agent of black foot disease in grapevines. **J Appl Microbiol**. 131, 1440-1451, 2021.

SWINDELLS S. New drugs to treat tuberculosis. **F1000 Med Rep**. 4, 12, 2012.

TAN Z et al. Synthesis of p38 MAP kinase inhibitor BIRB 796 and analogs via copper-mediated *N*-arylation reaction. **Tetrahedron Lett**. 51, 4547–4551, 2010.

TARDITO S et al., Copper-dependent cytotoxicity of 8-hydroxyquinoline derivatives correlates with their hydrophobicity and does not require caspase activation. **J Med Chem**. 55, 10448–10459, 2012.

THAKURAS et al. The design, synthesis and pharmacological evaluation of pyrazole containing sulfonylurea derivatives as potent GSK3B inhibitor for blood glucose lowering effect. **Indian J Heterocycl Chem**. 26, 173-178, 2016.

VARELA C et al. MmpL genes are associated with mycolic acid metabolism in mycobacteria and corynebacteria. **Chem Biol**. 19, 498–506, 2012.

VEASEY JV et al. White piedra, black piedra, tinea versicolor, and tinea nigra: contribution to the diagnosis of superficial mycosis. **An Bras Dermatol**. 92, 413-416, 2017.

VIEGAS-JUNIOR C et al. Molecular hybridization: A useful tool in the design of new drug prototypes. **Curr Med Chem.** 14, 1829-1852, 2007.

YAAKOV DB et al. The quinoline bromoquinol exhibits broad-spectrum antifungal activity and induces oxidative stress and apoptosis in *Aspergillus fumigatus*. **J Antimicrob Chemother.** 72, 2263–2272, 2017.

YANG X et al. Novel 8-hydroxyquinoline derivatives targeting b-amyloid aggregation, metal chelation and oxidative stress against Alzheimer's disease. **Bioorgan Med Chem.** 26, 3191–3201, 2018.

YOU Z et al. The effects of clioquinol in morphogenesis, cell membrane and ion homeostasis in *Candida albicans*. **BMC Microbiol.** 20, 165, 2020.

WANGTRAKULDEE P et al. Discovery of inhibitors of *Burkholderia pseudomallei* methionine aminopeptidase with antibacterial activity. **ACS Med Chem Lett.** 4, 699–703, 2013.

WHO Global Tuberculosis Report. World Health Organization, 2021. ISBN 978-92-4-003702-1.

WU RJ et al. Chemical synthesis, crystal structure, versatile evaluation of their biological activities and molecular simulations of novel pyrithiobac derivatives. **Eur J Med Chem.** 167, 472-484, 2019.

WU S et al. Chemical modification of AlQ₃ to a potential electron acceptor for solution-processed organic solar cells. **Tetrahedron Lett.** 57, 2797-2799, 2016.

ZHAI S et al. Tumor cellular proteasome inhibition and growth suppression by 8-hydroxyquinoline and clioquinol requires their capabilities to bind copper and transport copper into cells. **J Biol Inorg Chem.** 15, 259–269, 2010.

ANEXO 1 - Outros artigos publicados em colaboração durante o doutorado:

*Joaquim, A.R.; *Pippi, B.; Cesare, M.A.; Rocha, D.A.; Boff, R.T.; Staudt, K.J.; Ruaro, T.C.; Zimmer, A.R.; Araújo, B.V.; Silveira, G.P.; Martins, A.F.; Teixeira, M.L.; Santos, F.P.; Fuentefria, A.M.; Andrade, S.F. Rapid tools to gain insights into the interaction dynamics of new 8-hydroxyquinolines with few fungal lines. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2019**, 93, 1186-1196. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13435>

*Joaquim, A.R.; *Boff, R.T.; Adam, F.C.; Lima-Morales, D.; Cesare, M.A.; Kaminski, T.F.; Teixeira, M.L.; Fuentefria, A.M.; Andrade, S.F.; Martins, A.F. Antibacterial and synergistic activity of a new 8-hydroxyquinoline derivative against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiol.* **2022**, 17, 425-436. <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0198>

*Pippi, B.; *Joaquim, A. R.; Lopes, W.; Machado, G. R. M.; Bergamo, V. Z.; Giuliani, L. M.; Abegg, M. A.; Cruz, L.; Vainstein, M. H.; Fuentefria, A. M.; Andrade, S. F. 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonamides are promising antifungal candidates for the topical treatment of dermatomycosis. *J. Appl. Microbiol.* **2020**, 128, 1038-1049. <https://doi.org/10.1111/jam.14545>

*Rigo, G.V.; *Joaquim, A.R.; Macedo, A.J.; de Andrade, S.F.; Tasca, T. Iron chelation and inhibition of metallopeptidases mediate anti-*Trichomonas vaginalis* activity by a novel 8-hydroxyquinoline derivative. *Bioorg. Chem.* **2022**, 125, 105912. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105912>

Pippi, B.; Lopes, W.; Reginatto, P.; Silva, F. E. K.; Joaquim, A. R.; Alves, R. J.; Silveira, G. P.; Vainstein, M. H.; Andrade, S. F.; Fuentefria, A. M. New insights into the mechanism of antifungal action of 8-hydroxyquinolines. *Saudi Pharm. J.* **2019**, 27, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.07.017>

Pippi, B.; Joaquim, A. R.; Merkel, S.; Zanette, R. A.; Nunes, M. E. M.; Silva, D. G. C.; Schimith, L. E.; Teixeira, M. L.; Franco, J. L.; Andrade, S. F.; Fuentefria, A. M. Antifungal activity and toxicological parameters of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamides

using alternative animal models. *J. Appl. Microbiol.* **2021**, *130*, 1925-1934. <https://doi.org/10.1111/jam.14915>

Reginatto, P.; Joaquim, A.R.; Rocha, D.; Berlitz, S.J.; Kulkamp-Guerreiro, I.C.; de Andrade, S.F.; Fuentefria, A.M. 8-hydroxyquinoline and quinazoline derivatives as potential new alternatives to combat *Candida* spp. biofilm. *Lett Appl Microbiol.* **2021**, *74*, 395-404. <https://doi.org/10.1111/lam.13607>

da Rocha LF, Pippi B, Joaquim AR, de Andrade SF, Fuentefria AM. 8-hydroxyquinoline-5-(N-4-chlorophenyl) sulfonamide and fluconazole combination as a preventive strategy for *Candida* biofilm in haemodialysis devices. *J. Med. Microbiol.* **2021**, *70*. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001377>

de Souza LM, de Chaves MA, Joaquim AR, Gionbelli MP, Gava A, Fiorentin J, Ficagna E, Almança MAK, Teixeira ML, Andrade SF, Fuentefria AM. The efficacy of 8-hydroxyquinoline derivatives in controlling the fungus *Ilyonectria liriodendri*, the causative agent of black foot disease in grapevines. *J. Appl. Microbiol.* **2021**, *131*, 1440-1451. <https://doi.org/10.1111/jam.15035>

*As autoras dividem a primeira autoria.