



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Atividade antibacteriana do canabidiol: potencial  
reposicionamento e combinação com polimixina B contra  
bactérias multidroga-resistentes**

**Nathália de Lima Martins Abichabki**

**Ribeirão Preto  
2022**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Atividade antibacteriana do canabidiol: potencial reposicionamento e combinação com polimixina B contra bactérias multidroga-resistentes**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Bioagentes e Biotecnologia Aplicados à Farmácia

**Orientada:** Nathália de Lima Martins Abichabki

**Orientador:** Prof. Dr. Leonardo Neves de Andrade

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia em 18/01/2022. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

## RESUMO

ABICHABKI, N. L. M. **Atividade antibacteriana do canabidiol: potencial reposicionamento e combinação com polimixina B contra bactérias multidroga-resistentes.** 2022. 70f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema de saúde pública mundial, especialmente devido ao crescente aumento de infecções relacionadas à assistência à saúde causadas por bactérias multidroga-resistentes (MDR) e extremamente droga-resistentes (XDR). Com o objetivo de combater a resistência bacteriana aos antibióticos, muitas substâncias têm sido investigadas quanto à sua potencial atividade antibacteriana, incluindo substâncias provenientes de produtos naturais. O canabidiol (CBD) é o canabinoide não psicoativo mais abundante isolado da *Cannabis sativa* e o CBD tem sido associado a múltiplas e potenciais atividades biológicas e terapêuticas. Este estudo teve como objetivo investigar (i) a atividade antibacteriana do CBD ultrapuro e (ii) a atividade antibacteriana da combinação CBD + polimixina B (PB) contra bactérias gram-negativas, incluindo bacilos gram-negativos (BGN) resistentes à PB. Foi utilizado o método referência de microdiluição de caldo, técnica de *checkerboard* e ensaio de *time-kill*. O CBD apresentou atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas (13 espécies, 21 linhagens), diplococos gram-negativos (GND) que expressam lipo-oligossacarídeo (LOS) (*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella catarrhalis*) e *Mycobacterium tuberculosis*, mas não contra BGN (27 espécies, 70 linhagens). Para a maioria dos BGN estudados, os resultados mostraram que baixas concentrações de PB ( $\leq 2 \mu\text{g/mL}$  e menores que a concentração inibitória mínima) permitiram que o CBD ( $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ ) exercesse atividade antibacteriana contra BGN (por exemplo, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*), incluindo BGN com resistência cromossômica à PB (por exemplo, *K. pneumoniae* com mutação no gene *mgrB*) e *E. tarda*, com resistência intrínseca à PB. As exceções foram *Pseudomonas aeruginosa* e linhagens de *E. coli* com resistência à colistina mediada por plasmídeo (MCR-1), para as quais a combinação CBD + PB foi antibacteriana somente na presença de *Phe-Arg  $\beta$ -naphthylamide dihydrochloride* (PA $\beta$ N). A combinação CBD + PB também apresentou efeito aditivo e/ou sinérgico contra DGN que expressam LOS. Os resultados dos ensaios de *time-kill* mostraram que a combinação CBD + PB levou a uma maior redução no número de unidades formadoras de colônias por mililitro em comparação com CBD e PB sozinhos, nas mesmas concentrações usadas em combinação, e a combinação CBD + PB foi sinérgica para todos os quatro isolados de *K. pneumoniae* resistentes à PB avaliados. Os resultados obtidos mostram potencial translacional e o CBD deve ser mais explorado quanto ao reposicionamento como antibacteriano por meio de ensaios clínicos. A eficácia antibacteriana da combinação CBD + PB contra BGN MDR e XDR, destacando *K. pneumoniae* resistente à PB, é particularmente promissora.

**Palavras-chave:** polimixinas; canabinoides; concentração inibitória mínima (CIM); concentração antibiótica de efeito mínimo (CAEM); lipopolissacarídeo (LPS); lipo-oligossacarídeo (LOS); farmacocinética; superbactérias; *Enterobacterales*; *Klebsiella pneumoniae*; *time-kill*; atividade sinérgica.

## ABSTRACT

ABICHABKI, N. L. M. **Cannabidiol antibacterial activity: potential repurposing and combination with polymyxin B against multidrug-resistant bacteria.** 2022. 70f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Bacterial resistance to antibiotics is a worldwide public health problem, especially due to the continuous increase of healthcare-related infections caused by multidrug-resistant (MDR) and extremely drug-resistant (XDR) bacteria. In order to combat bacterial resistance to antibiotics, many substances have been investigated regarding their potential antibacterial activity, including substances from natural products. Cannabidiol (CBD) is the most abundant non-psychoactive cannabinoid isolated from *Cannabis sativa* and CBD has been associated with multiple potential biological and therapeutic activities. This study aimed to investigate (i) the ultrapure CBD antibacterial activity, and (ii) the antibacterial activity of the combination CBD + polymyxin B (PB) against Gram-negative bacteria, including PB-resistant Gram-negative bacilli (GNB). We used the standard broth microdilution method, checkerboard assay, and time-kill assay. CBD exhibited antibacterial activity against Gram-positive bacteria (13 species, 21 strains), lipooligosaccharide (LOS)-expressing Gram-negative diplococcus (GND) (*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella catarrhalis*), and *Mycobacterium tuberculosis*, but not against GNB (27 species, 70 strains). For most of the GNB studied (8/13 species; 47/52 strains), our results showed that low concentrations of PB ( $\leq 2 \mu\text{g/mL}$  and lower than minimal inhibitory concentration) allowed CBD ( $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ ) to exert antibacterial activity against GNB (e.g., *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*), including chromosomal-acquired PB-resistant GNB (e.g. *K. pneumoniae mgrB* mutation) and intrinsic PB-resistant *E. tarda*. The exceptions were *P. aeruginosa* strains and plasmid-mediated colistin resistant (MCR-1) *E. coli*, against which the combination CBD + PB was antibacterial only in the presence of *Phe-Arg*  $\beta$ -naphthylamide dihydrochloride (PA $\beta$ N). CBD + PB also showed additive and/or synergistic effect against LOS-expressing GND. Time-kill assays results showed that the combination CBD + PB led to a greater reduction in the number of colony-forming units per milliliter compared to CBD and PB alone, at the same concentration used in combination, and the combination CBD + PB was synergistic for all four PB-resistant *K. pneumoniae* isolates evaluated. Our results show translational potential, and CBD should be further explored as a potential antibacterial agent (for drug repurposing) by clinical trials. The antibacterial efficacy of the combination CBD + PB against MDR and XDR GNB, highlighting PB-resistant *K. pneumoniae*, is particularly promising.

**Keywords:** polymyxins; cannabinoid; minimal inhibitory concentration (MIC); minimal effective antibiotic concentration (MEAC); lipopolysaccharide (LPS); lipooligosaccharide (LOS); pharmacokinetic; superbugs; *Enterobacterales*; *Klebsiella pneumoniae*, time-kill, synergistic activity.

# *Introdução*

## 1. Introdução

### 1.1. Resistência bacteriana aos antibióticos

A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema de saúde pública mundial, especialmente devido à crescente incidência de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) causadas por bactérias multidroga-resistentes (MDR) e extremamente droga-resistentes (XDR). Em grande parte dos casos, essas infecções são causadas pelos patógenos do grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), além de *Escherichia coli* (MAGIORAKOS et al., 2012; PENDLETON; GORMAN; GILMORE, 2013).

Bacilos gram-negativos (BGN) resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos de amplo espectro, como cefalosporinas de terceira e quarta gerações e/ou carbapenêmicos, têm sido de preocupação especial: BGN produtores de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL, do inglês *extended spectrum beta-lactamase*), *Enterobacterales* resistentes aos carbapenêmicos (CRE, do inglês *carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*, como *K. pneumoniae* produtora de KPC), *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos (CRAB, do inglês *carbapenem-resistant A. baumannii*), *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos (CRPA, do inglês *carbapenem-resistant P. aeruginosa*) e isolados resistentes a ceftazidima-avibactam e/ou ceftalozana-tazobactam (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017; TAMMA et al., 2021). Geralmente essas bactérias também apresentam resistência a antibióticos não-beta-lactâmicos, como aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, tigeciclina, entre outros, demonstrando fenótipo de MDR/XDR.

Neste contexto, antibióticos como as polimixinas (polimixina B e E) têm sido utilizados na prática clínica, muitas vezes, como último recurso terapêutico no tratamento de infecções graves causadas por BGN MDR/XDR. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

### 1.2. Resistência à Polimixina B

A atividade antibacteriana das polimixinas é, principalmente, resultante da interação eletrostática entre a molécula de polimixina positivamente carregada com os grupos fosfatos negativamente carregados do lipídeo A presente no lipopolissacarídeo (LPS) ou lipo-oligossacarídeo (LOS), da membrana externa de bactérias gram-negativas. Desta forma, o LPS ou LOS é desestabilizado, resultando

na ruptura do envelope celular (NANG et al., 2021; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

No entanto, a resistência adquirida às polimixinas, cromossômica ou plasmideal, tem sido crescentemente detectada em BGN, incluindo espécies da ordem *Enterobacterales* (como *K. pneumoniae*) e BGN não-fermentadores da glicose (como *A. baumannii* e *P. aeruginosa*).

O principal mecanismo de resistência às polimixinas é a adição dos grupos catiônicos ao lipídeo A, conferindo cargas positivas ou neutras e levando à repulsão da molécula de PB (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Diversos genes e operons estão envolvidos na modificação do LPS. Na maioria das espécies bacterianas, mutações em genes cromossômicos regulatórios levam à ativação de sistemas de dois componentes e à transcrição de genes e operons, o que resulta na síntese de fosfoetanolamina e/ou 4-amino-4-deoxi-L-arabinose, posteriormente adicionados ao lipídeo A ou a outras porções do LPS (BARON et al., 2016; NANG et al., 2021; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Além da resistência cromossômica, a resistência às polimixinas pode ser mediada por plasmídeo (*mcr*, do inglês *plasmid-mediated colistin resistance*). A aquisição de genes *mcr* resulta na produção da proteína MCR, enzima da família das fosfoetanolaminas transferases que leva à adição de fosfoetanolamina ao lipídeo A (BARON et al., 2016; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

### **1.3. Combate à resistência bacteriana a antibióticos**

Diversas abordagens têm sido utilizadas para compreender melhor e combater mais eficientemente a resistência bacteriana aos antibióticos. Essas abordagens incluem: o desenvolvimento de testes fenotípicos e moleculares para detecção de mecanismos de resistência; a investigação molecular de genes, plasmídeos e linhagens bacterianas resistentes; terapias com bacteriófagos; e a pesquisa de compostos anti-virulência e de novas moléculas com atividade antimicrobiana (PACIOS et al., 2020; THEURETZBACHER et al., 2019, 2020; VAN BELKUM et al., 2020). Outras estratégias estão relacionadas ao gerenciamento da antibioticoterapia (*stewardship*), que pode envolver a otimização de farmacocinética e farmacodinâmica (PK/PD), monitorização terapêutica e ajuste de dose de antimicrobianos, visando a redução e o uso racional de antibióticos (RICE, 2018; VAN BELKUM et al., 2020).

Considerando o aumento do número de infecções causadas por bactérias multirresistentes, a Organização Mundial da Saúde (OMS) chama atenção para a pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos antibióticos contra patógenos ESKAPE MDR/XDR (TACCONELLI et al., 2018). No entanto, a descoberta de uma nova substância antimicrobiana é tarefa laboriosa e é seguida de avaliações pré-clínicas, clínicas e regulamentações governamentais antes de ser aprovada como um novo fármaco, demandando considerável tempo da descoberta até a utilização clínica (ÅRDAL et al., 2019; THEURETZBACHER et al., 2019, 2020; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Entretanto, é entusiasmante a investigação de novos antimicrobianos de origem da natureza, dada a grande biodiversidade do Planeta Terra como fonte natural de novas moléculas (por exemplo, de origem de plantas e outros micro-organismos).

O reposicionamento de fármacos, ou seja, nova indicação terapêutica para medicamentos já utilizados para outros fins, pode representar uma abordagem mais rápida no processo de desenvolvimento de novos antimicrobianos, pois parâmetros pré-clínicos e clínicos desses fármacos já estão estabelecidos, otimizando novos estudos com objetivo de utilização terapêutica como antimicrobiano (DAS; DASGUPTA; CHOPRA, 2016; KAUL et al., 2019; ZHENG; SUN; SIMEONOV, 2018).

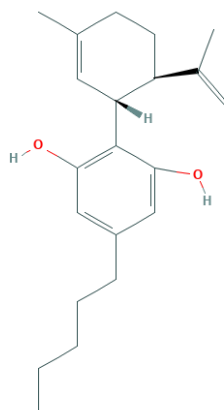
### **1.3.1. Canabidiol**

No cenário de combate à resistência bacteriana aos antibióticos, muitas substâncias têm sido investigadas quanto à sua potencial atividade antibacteriana, incluindo substâncias provenientes de produtos naturais.

O canabidiol (CBD) (Figura 1) é o canabinoide não psicoativo mais abundante dentre os mais de 400 compostos isolados da *Cannabis sativa*, a qual apresenta grande diversidade de substâncias bioativas de potencial medicinal.



**Figura 1.** Estrutura química do CBD



**Fonte:** Pubchem (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021)

CBD tem sido associado a múltiplas e potenciais atividades biológicas, com destaque para suas propriedades ansiolíticas e antipsicóticas, anti-inflamatórias, analgésicas, antioxidantes e neuroprotetoras (CASSANO et al., 2020; CRIPPA et al., 2018; LUCAS; GALETTIS; SCHNEIDER, 2018; STASIŁOWICZ et al., 2021; VALIM BRIGANTE et al., 2018; ZUARDI et al., 2012). Foi relatado, ainda, potencial do CBD como inibidor da proliferação de células cancerígenas (GUZMÁN, 2003; SULTAN; MARIE; SHEWEITA, 2018).

Desde a década de 1950, preparações à base de *C. sativa* têm sido investigadas quanto à sua atividade antimicrobiana (APPENDINO et al., 2008; KABELIK, 1957; KREJCI, 1958; VAN KLINGEREN; TEN HAM, 1976). Porém, os primeiros estudos não avaliaram os compostos purificados, mas obtidos a partir de extratos. Além disso, poucos estudos demonstram a atividade antibacteriana do CBD ultrapuro contra bactérias gram-positivas e a ausência de atividade contra BGN (ABICHABKI et al., 2020, 2021; ANDRADE et al., 2018; APPENDINO et al., 2008; BLASKOVICH et al., 2021; CASSANO et al., 2020; FARHA et al., 2020; MARTINENGI et al., 2020; VAN KLINGEREN; TEN HAM, 1976).

Outras atividades biológicas do CBD frente bactérias também já foram descritas, como inibição da liberação de vesículas de membrana externa de BGN, inibição da formação de biofilmes e erradicação de biofilmes pré-formados (BLASKOVICH et al., 2021; KOSGODAGE et al., 2019).

Em 2018, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA, Estados Unidos) aprovou o CBD (Epidiolex®, Greenwich Biosciences, Inc.) para o tratamento de pacientes com síndrome de Lennox-Gastaut ou síndrome de Dravet (U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2020). Da mesma forma, na União Europeia, o CBD Epidyolex® (GW Pharma [Internacional] B.V.) foi autorizado pela Agência Europeia de Medicamentos em 2019 para a mesma indicação terapêutica quando combinado ao clobazam, outro medicamento antiepilético (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2019). Em 2020, a Agência Brasileira de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou o CBD (Canabidiol Prati-Donaduzzi®, Toledo, PR, Brasil) para o tratamento da epilepsia farmacorresistente ou epilepsia refratária (ANVISA, 2020). Recentemente, em 2021, a ANVISA publicou a autorização sanitária também de uma solução de uso oral à base de CBD, com indicação e a forma de uso de responsabilidade do médico prescritor (ANVISA, 2021).

### **1.3.2. Terapias baseadas em combinações**

As terapias baseadas em combinações são também apontadas como alternativas promissoras no combate à resistência bacteriana aos antibióticos. A atividade antibacteriana contra bactérias MDR/XDR pode ser resultante da combinação entre dois diferentes antibióticos, entre antibiótico e um peptídeo antimicrobiano, entre antibiótico e nanopartículas e, ainda, antibiótico e fármacos não-antimicrobianos (CHENG; WILLIAMSON; ZHENG, 2019; PACIOS et al., 2020; SCHNEIDER et al., 2017; YU et al., 2020).

Como resultados da combinação entre substâncias, podem ser observados efeitos sinérgicos, aditivos, indiferentes ou antagônicos (DOERN, 2014; SULLIVAN et al., 2020). Combinações com efeitos sinérgicos podem ser alternativas terapêuticas promissoras no tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos, frente as quais altas concentrações de antibióticos seriam necessárias para a inibição do crescimento bacteriano. Efeitos sinérgicos são observados quando a combinação resulta em maior inibição bacteriana em comparação à atividade antibacteriana de cada substância individualmente (SULLIVAN et al., 2020).

Desta forma, combinações com atividade antibacteriana possibilitam melhorar a atividade antibacteriana de antibióticos, permitindo o uso em menores doses de cada um dos fármacos e minimizando toxicidade. Adicionalmente, combinações de permitem a inibição de mecanismos de resistência (por exemplo,

inibidores de beta-lactamases combinados a antibióticos beta-lactâmicos) ou mesmo a atividade de uma substância que não teria atividade por não atingir o alvo na célula bacteriana (por exemplo, devido à impermeabilidade) (SULLIVAN et al., 2020; ZHU et al., 2021).

Além da atividade inibitória, antibióticos podem ainda exercer outros efeitos na célula bacteriana, por exemplo, em concentrações subletais. Neste contexto, a concentração antibiótica de efeito mínimo (CAEM), definida como a mínima concentração subletal que produz qualquer efeito na célula bacteriana (por exemplo, desestabilização da membrana externa de bactérias gram-negativas, porém, sem inibição, sem morte bacteriana), poderia permitir ou melhorar a atividade de outra substância e fazer com que a combinação tenha atividade antibacteriana (BAQUERO et al., 2021; BAQUERO; COQUE, 2014; YIM; HUIMI WANG; DAVIES, 2006).

*Conclusões*

## 6. Conclusões

- Canabidiol (CBD) apresentou atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas, diplococos gram-negativos que expressam lipo-oligossacarídeo (*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* e *Moraxella catarralis*) e *Mycobacterium tuberculosis*, porém ausência de atividade contra bacilos gram-negativos.
- CBD não possui atividade antibacteriana contra bacilos gram-negativos mesmo na presença de inibidores de bombas de efluxo, sugerindo que efluxo não é responsável pela ausência de atividade antibacteriana.
- Para a maioria dos bacilos gram-negativos estudados, os resultados obtidos mostraram que baixas concentrações de polimixina B (PB) ( $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ ) permitem que o CBD ( $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ ) exerça atividade antibacteriana contra bacilos gram-negativos, incluindo linhagens resistentes à PB.
- Para *P. aeruginosa* ATCC 27853 e HC103 (linhagens sensíveis à PB) e para as linhagens *E. coli* NCTC 13846 e 72H (produtoras de MCR-1), a combinação CBD + PB foi antibacteriana apenas na presença de PA $\beta$ N.
- Em diplococos gram-negativos, a combinação CBD + PB apresentou efeitos aditivo e/ou sinérgico.
- Para isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* resistentes à PB, a combinação CBD + PB é mais efetiva e leva à maior inibição do crescimento bacteriano em comparação ao CBD e PB sozinhos (nas concentrações avaliadas).
- Os resultados apresentados mostram potencial translacional e sugerem que o CBD poderia ser considerado para reposicionamento como antibacteriano, especialmente na combinação CBD + PB para isolados de *K. pneumoniae* resistentes à PB.

## *Referências*

## 7. Referências

ABICHABKI, N. et al. **Cannabidiol synergic antimicrobial activity combined with polymyxin B (PB) against PB susceptible and resistant Gram-Negative bacilli.** 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2020. **Anais...**2020

ABICHABKI, N. et al. **In Vitro Antibacterial Efficacy of Cannabidiol Plus Polymyxin B: Mixed and Together Against Multidrug-resistant and Polymyxin B-resistant Gram-negative Bacilli.** World Microbe Forum Abstracts. **Anais...**2021 Disponível em: <<https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/9286/presentation/4811>>. Acesso em: 14 out. 2021

ANDRADE, L. N. et al. Expansion and evolution of a virulent, extensively drug-resistant (polymyxin B-resistant), QnrS1-, CTX-M-2-, and KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 international high-risk clone. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 7, p. 2530–2535, 2014.

ANDRADE, L. N. et al. **Antimicrobial Activity of Cannabidiol against Escape Pathogens: Inhibitory and Bactericidal Activity against Vancomycin- Resistant *Enterococcus faecium*, Vancomycin- Intermediate *Staphylococcus aureus*, and Methicillin-Resistant *S. Aureus*.** ASM MICROBE 2018. **Anais...**Atlanta: 2018

ANVISA. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 38, DE 12 DE AGOSTO DE 2013 Aprova o regulamento para os programas de acesso expandido, uso compassivo e fornecimento de medicamento pós-estudo.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária, , 2013. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0038\\_12\\_08\\_2013.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0038_12_08_2013.html)>

ANVISA. **Anvisa autoriza primeiro produto à base de Cannabis.** Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/anvisa-autoriza-primeiro-produto-a-base-de-cannabis>>. Acesso em: 3 out. 2020.

ANVISA. **Anvisa aprova mais um produto medicinal à base de Cannabis.** Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/anvisa-aprova-mais-um-produto-medicinal-a-base-de-cannabis>>. Acesso em: 15 nov. 2021.

APPENDINO, G. et al. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: A structure-activity study. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 8, p. 1427–1430, 2008.

ARAOKA, H. et al. Evaluation of trimethoprim-sulfamethoxazole based combination therapy against *Stenotrophomonas maltophilia*: in vitro effects and clinical efficacy in cancer patients. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 58, p. 18–21, 2017.

ÅRDAL, C. et al. Antibiotic development — economic, regulatory and societal challenges. **Nature Reviews Microbiology**, 2019.

BAQUERO, F. et al. Evolutionary Pathways and Trajectories in Antibiotic Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, 2021.

BAQUERO, F.; COQUE, T. M. Widening the spaces of selection: Evolution along sublethal antimicrobial gradients. **mBio**, v. 5, n. 6, p. 5–7, 2014.

BARON, S. et al. Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 48, n. 6, p. 583–591, 2016.

BLASKOVICH, M. A. T. et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. **Communications Biology**, n. 2021, 2021.

BOSSO, J. A. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy : time-kill , checkerboard , and E test . Downloaded from <http://aac.asm.org/> on September 3 , 2013 by Universidade Federal do Rio Grande do Sul Comparison of Three Different In Vitro Met. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, n. 8, p. 1914–1918, 1996.

**BRCAST. Preparo de meios para o teste de disco-difusão do BrCAST-EUCAST e para a determinação dos valores de concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em caldo, 2021a.**

**BRCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCAST**, v. 11, p. 37–40, 2021b.

BRENNAN-KROHN, T.; PIRONTI, A.; KIRBY, J. E. Synergistic Activity of Colistin-Containing Combinations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 10, p. 1–11, 2018.

BRENNAN-KROHN, T.; KIRBY, J. E. When One Drug Is Not Enough: Context, Methodology, and Future Prospects in Antibacterial Synergy Testing. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 39, n. 3, p. 345–358, 2019a.

BRENNAN-KROHN, T.; KIRBY, J. E. Antimicrobial synergy testing by the inkjet printer-assisted automated checkerboard array and the manual time-kill method. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2019, n. 146, p. 2–3, 2019b.

CASSANO, T. et al. From Cannabis sativa to Cannabidiol: Promising Therapeutic Candidate for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. March, p. 1–10, 2020.

CHENG, Y. S.; WILLIAMSON, P. R.; ZHENG, W. **Improving therapy of severe**



**infections through drug repurposing of synergistic combinations** *Current Opinion in Pharmacology* Elsevier Ltd, , 1 out. 2019.

CLÍMACO, E. C. et al. Clonal complexes 104, 109 and 113 playing a major role in the dissemination of OXA-carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Southeast Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 19, p. 127–133, 2013.

CLSI. **CLSI M100-ED30:2020 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition**. Disponível em: <<http://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx>>. Acesso em: 29 jul. 2020.

CRIPPA, J. A. et al. Translational investigation of the therapeutic potential of cannabidiol (CBD): Toward a new age. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. SEP, p. 1–16, 2018.

DAS, S.; DASGUPTA, A.; CHOPRA, S. Drug repurposing: A new front in the war against *Staphylococcus aureus*. **Future Microbiology**, v. 11, n. 8, p. 1091–1099, 2016.

DOERN, C. D. When Does 2 Plus 2 Equal 5? A Review of Antimicrobial Synergy Testing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 4124–4128, 2014.

EUCAST. **Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, , 2020.

EUCAST. **Antimicrobial susceptibility testing**. Disponível em: <[https://eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/](https://eucast.org/ast_of_bacteria/)>. Acesso em: 20 out. 2021a.

EUCAST. **Clinical breakpoints - bacteria (v 11.0)** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, , 2021b.

EUCAST. **Antimicrobial susceptibility testing of Mycobacteria**. Disponível em: <<https://www.eucast.org/mycobacteria/>>. Acesso em: 16 nov. 2021c.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. An overview of Epidyolex and why it is authorised in the EU. v. 31, n. 0, p. 0–1, 2019.

FARHA, M. A. et al. Uncovering the Hidden Antibiotic Potential of Cannabis. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 3, p. 338–346, 2020.

FERNANDES, M. R. et al. Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the mcr-1 gene. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 17, p. 1–6, 2016.

FERRER-ESPADA, R. et al. A permeability-increasing drug synergizes with bacterial

efflux pump inhibitors and restores susceptibility to antibiotics in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.

FOERSTER, S. et al. A new rapid resazurin-based microdilution assay for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 7, p. 1961–1968, 2017.

GALETTI, R. et al. Genomic diversification and virulence features in SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* 13years later. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 82, n. 2, p. 179–180, 2015.

GUARD, S. E. et al. Multi-Omic Analysis Reveals Disruption of Cholesterol Homeostasis by Cannabidiol in Human Cell Lines. **bioRxiv**, p. 2020.06.03.130864, 1 jan. 2021.

GUZMÁN, M. Cannabinoids: Potential anticancer agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 10, p. 745–755, 2003.

HARDING, C. M.; HENNON, S. W.; FELDMAN, M. F. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 91–102, 2018.

JAROW, J. P. et al. Overview of FDA 's Expanded Access Program for Investigational Drugs. **Therapeutic Innovation & Regulatory Science**, v. 51, n. 2, p. 177–179, 2017.

KABELIK, V. J. Hanf (*Cannabis sativa*); Antibiotisches Heilmittel. I. Hanf in der Alt- und Volksmedizin. **Die Pharmazie**, v. 12, n. 7, p. 439–443, 1957.

KARAKONSTANTIS, S.; KRITSOTAKIS, E. I.; GIKAS, A. Treatment options for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. **Infection**, v. 48, n. 6, p. 835–851, 2020.

KAUL, G. et al. Update on drug-repurposing: Is it useful for tackling antimicrobial resistance? **Future Microbiology**, v. 14, n. 10, p. 829–831, 2019.

KOSGODAGE, U. S. et al. Cannabidiol Is a Novel Modulator of Bacterial Membrane Vesicles. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, n. September, p. 1–13, 2019.

KREJCI, Z. Hanf (*Cannabis sativa*) - Antibiotisches Heilmittel. 2. Mitteilung: Methodik und Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen und vorläufige klinische Erfahrungen. **Die Pharmazie**, v. 13, n. 3, p. 155–166, mar. 1958.

LAMERS, R. P.; CAVALLARI, J. F.; BURROWS, L. L. The Efflux Inhibitor Phenylalanine-Arginine Beta-Naphthylamide (PAβN) Permeabilizes the Outer Membrane of Gram-Negative Bacteria. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–7, 2013.

LESCAT, M. et al. A Resazurin Reduction-Based Assay for Rapid Detection of Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 57, n. 3, p. 1–6, 2019.

LI, L. et al. Insight into synergetic mechanisms of tetracycline and the selective serotonin reuptake inhibitor, sertraline, in a tetracycline-resistant strain of *Escherichia coli*. **Journal of Antibiotics**, v. 70, n. 9, p. 944–953, 2017.

LUCAS, C. J.; GALETTIS, P.; SCHNEIDER, J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 84, n. 11, p. 2477–2482, 2018.

LV, Y. et al. Systematic mutation analysis of two-component signal transduction systems reveals EsrA-EsrB and PhoP-PhoQ as the major virulence regulators in *Edwardsiella tarda*. **Veterinary Microbiology**, v. 157, n. 1–2, p. 190–199, 2012.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012.

MAKABENTA, J. M. V. et al. Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 23–36, 2021.

MARTINENGI, L. D. et al. Isolation, Purification, and Antimicrobial Characterization of Cannabidiolic Acid and Cannabidiol from *Cannabis sativa* L. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 1–16, 2020.

MECHOULAM, R.; PARKER, L. A.; GALLILY, R. Cannabidiol: An overview of some pharmacological aspects. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 42, n. 11 SUPPL., p. 11–19, 2002.

MILLAR, S. A. et al. A systematic review on the pharmacokinetics of cannabidiol in humans. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. NOV, 2018.

MILLAR, S. A. et al. Towards Better Delivery of Cannabidiol (CBD). **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 9, p. 219, 28 ago. 2020.

NANG, S. C. et al. Rescuing the last-line polymyxins: Achievements and challenges. **Pharmacological Reviews**, v. 73, n. 2, p. 679–728, 2021.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem Compound Summary for CID 644019, Cannabidiol**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cannabidiol>>. Acesso em: 24 nov. 2021.

ODDS, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them.

**Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 1, p. 1–1, 2003.

PACIOS, O. et al. Strategies to Combat Multidrug-Resistant and. **Antibiotics**, v. 9, n. 65, p. 1–20, 2020.

PALMEIRO, J. K. et al. Molecular Epidemiology of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in a Brazilian Tertiary Hospital. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. July, p. 1–11, 2019.

PALOMINO, J. et al. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720–2722, 2002.

PENDLETON, J. N.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 11, n. 3, p. 297–308, 2013.

PENG, D. et al. *Moraxella catarrhalis* bacterium without endotoxin, a potential vaccine candidate. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 11, p. 7569–7577, 2005.

PERUCCA, E.; BIALER, M. Critical Aspects Affecting Cannabidiol Oral Bioavailability and Metabolic Elimination, and Related Clinical Implications. **CNS Drugs**, n. 0123456789, 2020.

POIREL, L.; JAYOL, A.; NORDMANN, P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 557–596, 2017.

PRESTON, A. et al. The Lipooligosaccharides of Pathogenic Gram-Negative Bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 22, n. 3, p. 139–180, 25 jan. 1996.

RICE, L. B. Antimicrobial Stewardship and Antimicrobial Resistance. **Medical Clinics of North America**, v. 102, n. 5, p. 805–818, 2018.

SCHNEIDER, E. K. et al. Antibiotic–non-antibiotic combinations for combating extremely drug-resistant Gram-negative ‘superbugs’. **Essays In Biochemistry**, v. 61, n. 1, p. 115–125, 2017.

SHARMA, A.; GUPTA, V.; PATHANIA, R. Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens: From bench to bedside. **Indian Journal of Medical Research**, v. 149, n. 2, p. 129, 2019.

STASIŁOWICZ, A. et al. *Cannabis sativa* L. As a natural drug meeting the criteria of a multitarget approach to treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 1–31, 2021.

SULLIVAN, G. J. et al. How antibiotics work together: molecular mechanisms behind combination therapy. **Current Opinion in Microbiology**, v. 57, p. 31–40, 2020.

SULTAN, A. S.; MARIE, M. A.; SHEWEITA, S. A. Novel mechanism of cannabidiol-induced apoptosis in breast cancer cell lines. **Breast**, v. 41, p. 34–41, 2018.

SUNDARAMOORTHY, N. S.; SIVASUBRAMANIAN, A.; NAGARAJAN, S. Simultaneous inhibition of MarR by salicylate and efflux pumps by curcumin sensitizes colistin resistant clinical isolates of Enterobacteriaceae. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, p. 104445, nov. 2020.

TACCONELLI, E. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318–327, 2018.

TAMMA, P. D. et al. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with Difficult-to-Treat Resistance (DTR- *P. aer.* **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 7, p. 1109–1116, 2021.

TÄNGDÉN, T. et al. Assessment of early combination effects of colistin and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in dynamic time-kill experiments. **Infectious Diseases**, v. 49, n. 7, p. 521–527, 2017.

TAYLOR, L. et al. A Phase I , Randomized , Double - Blind , Placebo - Controlled , Single Ascending Dose , Multiple Dose , and Food Effect Trial of the Safety , Tolerability and Pharmacokinetics of Highly Purified Cannabidiol in Healthy Subjects. **CNS Drugs**, v. 32, n. 11, p. 1053–1067, 2018.

THEURETZBACHER, U. et al. The global preclinical antibacterial pipeline. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. May, p. 275–285, 2019.

THEURETZBACHER, U. et al. Critical analysis of antibacterial agents in clinical development. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. May, 2020.

U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **FDA Regulation of Cannabis and Cannabis-Derived Products, Including Cannabidiol (CBD)**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd>>. Acesso em: 3 out. 2020.

VALIM BRIGANTE, T. A. et al. Cannabidiol did not induce teratogenicity or neurotoxicity in exposed zebrafish embryos. **Chemico-Biological Interactions**, v. 291, n. February, p. 81–86, 2018.

VAN BELKUM, A. et al. Innovative and rapid antimicrobial susceptibility testing systems. **Nature Reviews Microbiology**, 2020.

VAN KLINGEREN, B.; TEN HAM, M. Antibacterial activity of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 42, n. 1–2, p. 9–12, 1976.

VINOGRADOV, E. V. et al. The structure of the carbohydrate backbone of the lipopolysaccharide from *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 19606. **European Journal of Biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 422–430, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **2019 Antibacterial Agents in Clinical Development**. [s.l.] WHO, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Health Organization Model List of Essential Medicines – 22nd List** Geneva World Health Organization, , 2021. Disponível em: <[https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Leishmaniasis\\_India/en/](https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Leishmaniasis_India/en/)>

Y. MAHMOOD, H. et al. Current Advances in Developing Inhibitors of Bacterial Multidrug Efflux Pumps. **Current Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 1062–1081, 7 abr. 2016.

YIM, G.; HUIMI WANG, H.; DAVIES, J. The truth about antibiotics. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 296, n. 2–3, p. 163–170, 2006.

YU, T. et al. Circumventing antimicrobial-resistance and preventing its development in novel, bacterial infection-control strategies. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 00, n. 00, p. 1–14, 2020.

ZHENG, W.; SUN, W.; SIMEONOV, A. Drug repurposing screens and synergistic drug-combinations for infectious diseases. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 2, p. 181–191, 2018.

ZHU, M. et al. The future of antibiotics begins with discovering new combinations. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1496, n. 1, p. 82–96, 2021.

ZUARDI, A. W. et al. A Critical Review of the Antipsychotic Effects of Cannabidiol: 30 Years of a Translational Investigation. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 32, p. 5131–5140, 2012.

