

**BANAŚ, Patryk, ABRAM, Kamila, ADAMUS, Justyna, PIERZCHAŁA, Jakub Rafał, BEDNARZ, Katarzyna, SOBAŃSKA, Natalia, BANASIAK, Aleksandra Paulina, TEICHMAN, Rafał, KASPROWICZ, Jakub & HYJEK, Michał. Multipotential use of an old drug, as a new solution for anticancer therapy and multidrug-resistant urinary tract infections. Journal of Education, Health and Sport. 2023;13(3):165--174. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.13.03.024>
<https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/41745>
<https://zenodo.org/record/7591997>**

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 21, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przynależność dyscypliny naukowej: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu). © The Authors, 2023; This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper. Received: 08.01.2023. Revised: 17.01.2023. Accepted: 01.02.2023.

Multipotential use of an old drug, as a new solution for anticancer therapy and multidrug-resistant urinary tract infections

Multipotencjalne zastosowanie starego leku, jako nowego rozwiązania w terapii przeciwnowotworowej oraz wielolekoopornych zakażeń układu moczowego

Patryk Banaś

Szpital Zakonu Bonifratrów pw. Aniołów Stróżów w Katowicach

<https://orcid.org/0000-0002-6531-6941> | pa1tryk@gmail.com

Kamila Abram

SPZOZ MSWiA w Katowicach im .Sierżanta Grzegorza Załogi w Katowicach

<https://orcid.org/0000-0003-1093-706X> | abram.kamila@gmail.com

Justyna Adamus

Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie

<https://orcid.org/0000-0002-3957-5149> | justyna.adamus@onet.eu

Jakub Rafał Pierzchała

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0002-8833-8086> | pierzchalakuba@gmail.com

Katarzyna Bednarz

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Nr 1 imienia Fryderyka Chopina w Rzeszowie

<https://orcid.org/0000-0001-9577-7039> | bedn.katarzyna@gmail.com

Natalia Sobańska

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Nr 1 imienia Fryderyka Chopina w Rzeszowie

<https://orcid.org/0000-0001-6384-7514> | n.sobanska1995@gmail.com

Aleksandra Paulina Banasiak

1 Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SPZOZ w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0001-7293-1451> | olaabanasiak@gmail.com

Rafał Teichman

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Nr 1 imienia Fryderyka Chopina w Rzeszowie

<https://orcid.org/0000-0001-7853-4879> | rafalteichman@gmail.com

Jakub Kasprowicz

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0002-0425-1670> | kasprowicz1996@gmail.com

Michał Hyjek

Independent Public Clinical Hospital No.1 in Lublin

<https://orcid.org/0000-0002-6020-0165> | m.hyjek17@gmail.com

Abstract

Introduction

Nitroxoline (NTX) is a well-known chemotherapeutic agent that has been used to treat urinary tract infections since the 1960s. Today, the incidence of multidrug-resistant (MDR) bacterial strains is on the rise worldwide. This has resulted in repurposing, whereby during the ongoing research on nitroxoline, the possibility of its wide use has been demonstrated, not only in treatment against resistant pathogens, but also potential broad anti-cancer applications.

Aim of the study

The purpose of our work was to review scientific articles and show the multi-potential - anti-pathogenic and anti-tumor use of nitroxoline.

Methods and materials

We reviewed the English-language literature in the PubMed database, using the key words: „Nitroxoline”, „Nitroxoline cancer”, „Nitroxoline antibacterial use”

Results

Analysis of studies has shown that nitroxoline, currently used in benign urinary tract infections, is also applicable in the treatment of urinary tract infections caused by multidrug-resistant bacteria (MRD). It is also active against drug-resistant fungi and mycobacteria. Repurposing has also demonstrated the anticancer effects of nitroxoline through inhibition proliferation, induction apoptosis of tumor cells and other mechanisms, making it likely that nitroxoline will be used in cancer treatment regimens in the future.

Conclusion

Nitroxoline has found widespread use in the treatment of urinary tract infections caused by multidrug-resistant bacteria (MRD) and by strains of resistant fungi, which in today's world are spreading and increasing their drug resistance. Repurposing has shown promising anticancer activity of nitroxoline in the treatment of urinary tract cancers and more. The data supporting the effects of nitroxoline seem promising, suggesting the rationale for future clinical trials to further our understanding of the exact mechanisms of action and use of nitroxoline in oncology treatment.

Key words: „Nitroxoline” „Nitroxoline cancer” „Nitroxoline antibacterial use”

Abstrakt

Wstęp

Nitroksolina (NTX) jest powszechnie znanym chemioterapeutykiem używanym w leczeniu zakażeń układu moczowego od lat 1960. Obecnie, na świecie rośnie częstość występowania szczepów bakterii wielolekoopornych (MDR). Skutkiem tego jest repurposing, dzięki któremu podczas prowadzonych nad nitroksoliną badań wykazano możliwości szerokiego jej wykorzystania, nie tylko w leczeniu przeciw patogenom opornym, ale również potencjalne, szerokie zastosowanie przeciwnowotworowe.

Cel pracy

Celem naszej pracy był przegląd artykułów naukowych i ukazanie wielopotencjalnego - przeciwpatogenego oraz przeciwnowotworowego zastosowania nitroksoliny.

Materiały i metody

Dokonałiśmy przeglądu literatury anglojęzycznej w bazie PubMed używając słów kluczowych: "Nitroxoline", "Nitroxoline cancer", "Nitroxoline antibacterial use".

Wyniki

Analiza badań wykazała, że nitroksolina, obecnie stosowana w łagodnych zakażeniach układu moczowego, ma też zastosowanie w leczeniu zakażeń układu moczowego wywołanych przez wielolekooporne bakterie (MRD). Aktywna jest także wobec lekoopornych grzybów oraz prątków. Repurposing wykazał również działanie przeciwnowotworowe nitroksoliny poprzez hamowanie proliferacji, indukcję apoptozy komórek nowotworowych i inne mechanizmy, dzięki czemu prawdopodobne jest zastosowanie nitroksoliny w schematach leczenia onkologicznego w przyszłości.

Podsumowanie

Nitroksolina znalazła szerokie zastosowanie w leczeniu zakażeń układu moczowego wywołanych przez bakterie wielolekooporne (MRD) oraz przez szczepy odporne grzybów, które w dzisiejszym świecie rozprzestrzeniają się i zwiększają swoją lekooporność. Repurposing wykazał obiecujące działanie przeciwnowotworowe nitroksoliny w leczeniu nowotworów układu moczowego i nie tylko. Dane potwierdzające działanie nitroksoliny zdają się być obiecujące, co sugeruje zasadność przeprowadzenia w przyszłości badań klinicznych, w celu pogłębienia wiedzy na temat dokładnych mechanizmów działania i wykorzystania nitroksoliny w leczeniu onkologicznym.

Słowa klucze: „Nitroxoline”, „Nitroxoline cancer”, „Nitroxoline antibacterial use”

I. Wprowadzenie

Nitroksolina (5-nitro-8-hydroksychinolina) została opisana po raz pierwszy w latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku. Nitroksolina (NTX) jest to chemioterapeutyk o powszechnie znanym działaniu przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybiczym, który stosowany jest w Europie od kilku dekad. Największe

zastosowanie znalazła w leczeniu zakażeń dróg moczowych [1]. Częstość występowania uropatogenów wieloopornych (MDR), czyli bakterii opornych na 1 antybiotyk z co najmniej trzech różnych klas antybiotyków wzrasta na całym świecie zarówno u pacjentów leczonych w warunkach ambulatoryjnych, jak i szpitalnych na zakażenie układu moczowego (UTIs). Jako leczenie pierwszego rzutu obecnie zalecane jest leczenie fosfomycyną, pivmecillinamem lub nitrofurantoiną. [8] Okazuje się, że wiele bakterii nabywa oporność na leczenie I rzutu, a co gorsza również na leczenie II rzutu. Nadszedł czas na poszukiwanie nowych cząsteczek o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, które oferują bezpieczeństwo ich stosowania, nie tylko w zakresie skuteczności wobec patogenów, ale także w zakresie niskiego poziomu działań niepożądanych u pacjentów [9]. W związku z tym wykorzystuje się ostatnio strategię repurposingu, czyli procesu identyfikacji nowych zastosowań dla istniejących leków. Główną zaletą tego podejścia jest szeroka wiedza na temat profili farmakokinetycznych, farmakodynamicznych oraz toksyczności znanych leków [6]. Dzięki tej strategii wykazano szerokie zastosowanie znanej od dawna NTX. Udowodniono, że nitroksolina ma szerokie działanie przeciwbakteryjne wobec opornych szczepów wielu bakterii [9,20]. Na przestrzeni ostatnich lat stwierdzono, że jest skuteczną również w walce z kilkoma nowotworami [1]. Kilka badań doniosło, że NTX może być potencjalnym lekiem przeciwnowotworowym w leczeniu raka pęcherza moczowego, raka prostaty, glejaka, raka trzustki i innych [2]. W ostatnich latach, w związku z rozprzestrzenianiem się zakażeń grzybiczych na świecie oraz zwiększającej się lekooporności przeprowadzono badania w kierunku działania przeciwgrzybiczego nitroksoliny [9,10,11]. W związku ze zwiększoną ilością zachorowań na gruźlicę oraz zwiększoną opornością prątków gruźliczych, wykorzystano strategię repurposing, dzięki której wykazano aktywność NTX wobec niektórych prątków (*M. tuberculosis*, *M. bovis*) [21,22,23,24].

II. Cel pracy

Celem naszej pracy był przegląd artykułów naukowych i przedstawienie nowego, szerokiego, wielokierunkowego zakresu działania nitroksoliny oraz jej działania przeciwbakteryjnego, przeciwgrzybicznego w leczeniu zakażeń układu moczowego wywołanych przez patogeny lekooporne.

III. Materiały i metody

Dokonaliśmy przeglądu literatury dostępnej w PubMed, z użyciem słów kluczowych: "nitroxoline", "nitroxoline cancer", "nitroxoline bacterial infection"

IV. Wyniki:

IV a. Bakteryjne zapalenie układu moczowego

Nitroksolina znana jest ze swojej aktywności bakteriostatycznej wobec *Escherichia coli*, ważnego czynnika etiologicznego wywołującego zakażenia dróg moczowych u pacjentów hospitalizowanych. Nitroksolina została po raz pierwszy zastosowana w 1962 roku w leczeniu i profilaktyce ostrych i nawracających zakażeń dróg moczowych wywołanych przez *E. coli* zarówno u dorosłych, jak i u dzieci. Jednak ówczesna wiedza z zakresu farmakologii i farmakotechniki utrudniała określenie odpowiedniego okna terapeutycznego dla skutecznego działania przeciwbakteryjnego substancji oraz zrozumienie jej spektrum działania, co powodowało, że związek ten był błędnie stosowany przeciwko opornym mikroorganizmom [9]. NTX jest szczególnie skuteczna w leczeniu infekcji dróg moczowych (UTI) ze względu na swoje unikalne właściwości farmakokinetyczne. Po podaniu doustnym nitroksolina jest szybko wchłaniana do osocza, a następnie wydalana z moczem. Ma również długi czas retencji w moczu, co czyni ją idealną do leczenia UTI [6]. Jak wspomniano we wstępie, częstość występowania uropatogenów wielolekoopornych (MDR), czyli bakterii opornych na jeden antybiotyk z co najmniej 3 różnych klas antybiotyków wzrasta na całym świecie zarówno u pacjentów hospitalizowanych, jak i leczonych ambulatoryjnie na zakażenie układu moczowego (UTIs). Szczególnie zagrożeni są pacjenci z cewnikami założonymi na stałe, a UTI związane z cewnikami, jako jedno z najczęstszych zakażeń szpitalnych, sprzyjają zakażeniom bakteriami MDR. [8] Leczenie I rzutu łagodnego i niepowikłanego zakażenia układu moczowego polega na stosowaniu fosfomycyny, pivmecillinamu lub nitrofurantoiny. UTI z udziałem uropatogenów opornych na cefalosporyny III generacji i chinoliny wiąże się z gorszymi wynikami leczenia wstępną antybiotykoterapią pierwszego rzutu, zwykle zalecaną w leczeniu zakażeń układu moczowego [8]. Obecnie dominuje rosnący trend w zachorowaniach UTI wywołanych przez uropatogeny ESBL, co wymaga zwiększenia klinicznego użycia karbapenemów, czego skutkiem jest rozprzestrzenianie się oporności na karbapenemy [8]. Nitroksolina, która funkcjonuje poprzez chelatowanie z różnymi dwuwartościowymi kationami metali, w tym z Zn^{2+} i Fe^{2+} z macierzy biofilmu, jest antybiotykiem o skutecznej aktywności w zwalczaniu infekcji biofilmowych. Udowodniono wiązanie się nitroksoliny ze strukturami powierzchniowymi patogenów, co prawdopodobnie prowadzi do zmiany charakteru powierzchni bakterii na hydrofobową, co zmniejsza jej przyleganie różnych powierzchni, np. cewnika. Ponadto łączy się z jonami Mg^{2+} , które stabilizują cząsteczki lipo polisacharydu (LPS) w zewnętrznej błonie bakteryjnej, co sprzyja gromadzeniu się nitroksoliny w bakteriach, takich jak *E.Coli*. Sugeruje się, że nitroksolina indukuje

wewnątrzkomórkowy stres oksydacyjny. [5,20] Między innymi dzięki tym mechanizmom, NTX jest aktywna wobec większości Gram-ujemnych i Gram-dodatnich bakterii uropatogennych, wobec mykoplazm (*M. hominis*, *Ureoplasma urealyticum*) i patogennych dla człowieka *Candida* spp. Aktywność przeciwbakteryjna wobec *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp. i *Serratia* spp. jest zmienna, a *Pseudomonas* spp. są uznawane za odporne, jednak w niektórych badaniach wykazano ich pojedynczą wrażliwość [8,20]. W związku z szerokospektralnym działaniem, nitroksolina może być rozważana jako kolejna możliwa metoda leczenia UTI. W nowych niemieckich wytycznych zalecana jest jako jeden z leków I wyboru w terapii UTI u dorosłych [8]. Dodatkowo, można ten lek zastosować w długotrwałej profilaktyce nawracających zakażeń układu moczowego, ponieważ najczęstsze przyczyny UTI, takie jak *E. coli* są generalnie wrażliwe na nitroksolinę, nie mówiąc już o aktywności tego leku wobec bakterii w biofilmach [27,31]. W badaniach klinicznych w latach 1962-1987 Nitroksolinę podawano głównie w leczeniu niepowikłanych i powikłanych UTI, a także w profilaktyce nawracających UTI w dawkach dobowych najczęściej od 300 do 900 mg. Czas trwania leczenia wahał się głównie od 3 do 10 dni w zależności od wskazania. Obecnie stosuje się ją w dawkach od 250 do 750 mg w 3 dawkach podzielonych [20]. Przeprowadzono badania, w których wykazano wrażliwość opornych uropatogenu MDR na nitroksolinę. Wykazano wrażliwość *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *K. pneumoniae*. Zmierzono minimalne stężenia hamujące (MIC) wobec różnych gatunków bakterii oraz minimalne stężenie dla eradykacji biofilmu (MBEC). Stwierdzono szerokie spektrum aktywności przeciwbakteryjnej dla nitroksoliny, z MIC wynoszącym 4,69-6,25 µM dla *A. baumannii*, 12,5 µM dla *E. coli*, 9,38-25 µM dla *S. aureus*, 18,8 µM dla *S. epidermidis*. Jeśli chodzi o eradykację biofilmu, nitroksolina była bardziej aktywna wobec biofilmów *A. baumannii* (MBEC = 46,9-62,5 µM) i *E. coli* (MBEC = 62,5 µM) niż wobec biofilmów tworzonych przez pozostałe gatunki bakterii [12]. W innym badaniu badano wpływ jonów metali na aktywność przeciwdrobnoustrojową nitroksoliny. Stwierdzono, że Cu^{2+} i Fe^{3+} powodowały obniżoną aktywność, natomiast Ca^{2+} , Mg^{2+} i Mn^{2+} nie wywierały wpływu na aktywność przeciwbakteryjną związku [13]. W innym badaniu uzyskano istotne aktywności hamujące wzrost innych bakterii wobec: *B. cereus*, *Clostridium* spp. i *S. flexneri*. [14] [15]. Opisano przypadek, w którym zbadano wrażliwość *Klebsiella pneumoniae* i *Proteus mirabilis*, wyizolowanych od 68-letniego pacjenta, u którego doszło do zakażenia dróg moczowych przez bakterie wielolekooporne. W pracy antybiogram wykazał, że nitroksolina była jedyną substancją aktywną wobec obu patogenów [17]. W innym badaniu zastosowano wobec *Staphylococcus aureus* krążki ceramiczne impregnowane nitroksoliną (metoda dyfuzyjna). I tak, krążki impregnowane nitroksoliną powodowały aureolę zahamowania > 30 mm, która utrzymywała się 24 h po usunięciu krążków z płytki Petriego zawierającej *S. aureus*, wykazując intensywną aktywność przeciwbakteryjną [18]. Spośród wielu badań wykazano wynik eradykacji drobnoustrojów rzędu ponad 90% [12, 14, 15, 17, 18, 20]. Wykazano, że leczenie nitroksoliną, podobnie jak innymi kontrolnymi antybiotykami jest ogólnie dobrze tolerowane. Głównym zdarzeniem niepożądanym były zaburzenia żołądkowo-jelitowe. U niewielkiego odsetka pacjentów podczas badań klinicznych zaobserwowano reakcje alergiczne obejmujące świąd, pokrzywkę. Nie wykazano jakościowego i ilościowego wpływu na florę kałową [20].

IV b. Leczenie *Mycobacterium tuberculosis*

W związku z rosnącą liczbą zakażeń prątkami lekoopornymi obserwuje się zwiększoną ilość przypadków gruźlicy. Oporność wielolekowa (oporność na izoniazyd i ryfampicinę) wydłuża czas trwania terapii, zwiększa koszty, powoduje większą toksyczność leków, ale przede wszystkim utrudnia leczenie i zmniejsza odsetek wyleczeń. W związku z powyższym opracowywane są nowe strategie terapeutyczne w walce z *M. tuberculosis* (MTB). Jedną ze strategii jest repurposing środków przeciwdrobnoustrojowych zatwierdzonych do terapii innych zakażeń [21,22,23]. W badaniach wykazano aktywność wobec niektórych szczepów prątków (*M. bovis* i *M. tuberculosis*) [24]. Wykazano aktywność nitroksoliny wobec wszystkich gatunków *Mycobacterium*. Najwyższe MIC wynoszące 8mg/ml wykazano dla izolatu *M. bovis* BCG. W przypadku lekoopornych lub wielolekoopornych izolatów MTB opornych na izoniazyd i streptomycynę, a niektóre również na ryfampicynę i pirazyamid również wykazano wrażliwość tych szczepów na nitroksolinę [21].

IV c. Leczenie grzybiczych zakażeń pęcherza moczowego

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe (AMR) jest jednym z 10 największych zagrożeń dla zdrowia publicznego, przed którymi stoi ludzkość. Obecnie WHO opracowuje listę priorytetów uwzględniającą między innymi możliwości leczenia zakażeń grzybiczych z uwzględnieniem specyficznych gatunków (*Candida auris*) i pojawiającej się oporności na leki przeciwgrzybicze [19]. *Candida auris* jest gatunkiem, który szybko rozprzestrzenił się na świecie, powodując wiele zakażeń szpitalnych i przynosząc lekarzom pracochłonny dylemat dotyczący oporności na wiele leków przeciwgrzybiczych. W tym kontekście przeprowadzono badania wrażliwości 35 izolatów grzybów *C. auris* na nitroksolinę i 4 inne leki przeciwgrzybicze (flukonazol, worykonazol, amfoterycynę B i anidulafunginę) zastosowane do porównania. W badaniu tym stwierdzono MIC dla nitroksoliny w zakresie od 0,125 do 1 mg/L, co świadczy o doskonałej aktywności przeciwgrzybiczej nitroksoliny wobec szczepów *C. auris*, które wykazują oporność na kilka leków przeciwgrzybiczych [9, 10]. W kolejnym badaniu określono MIC nitroksoliny wobec

Saccharomyces cerevisiae i *Candida albicans*, uzyskując wartość 42,07 μM dla obu gatunków grzybów (co wskazuje na umiarkowaną aktywność przeciwrzybiczą). Wywnioskowano, że aktywność przeciwrzybicza nitroksoliny jest zależna od gatunku. Ponadto fakt, że nitroksolina jest lekiem zatwierdzonym przez FDA (Food and Drugs Administration) ułatwi w przyszłości prowadzenie badań klinicznych z wykorzystaniem tej substancji w leczeniu zakażenia dróg moczowych lub kolonizacji nie tylko przez *C. auris*, ale także przez inne gatunki grzybów [9,10,11]. W przypadku opornych na leki przeciwrzybiczne (azole, echinokandyny oraz amfoterycynę B) *Candida* spp. zatwierdzone leki posiadające aktywność przeciwrzybiczą, które są strukturalnie niezwiązane z klasycznymi lekami przeciwrzybiczymi, mogą być używane do oszczędzania azoli, echinokandyn i polienów i mogą zapobiegać selekcji i rozprzestrzenianiu się opornych grzybów. Stary antybiotyk nitroksolina (8-hydroksychinolina) mógłby zatem stanowić interesującą opcję w leczeniu kandydurowania. [6, 19]

IV d. Leczenie raka pęcherza moczowego

Rak pęcherza moczowego jest jednym z najczęstszych nowotworów na całym świecie, z szacunkową liczbą 81 400 nowych przypadków i 17 980 nowych zgonów w Stanach Zjednoczonych w 2020 roku [2]. Rak pęcherza moczowego jest dziewiątym co do częstości występowania nowotworem złośliwym i najczęstszym nowotworem złośliwym układu moczowego na świecie. Dzieli się głównie na raka pęcherza moczowego nieinwazyjnego (NMIBC) i raka pęcherza moczowego inwazyjnego (MIBC). Około 80% wszystkich przypadków raka pęcherza to NMIBC. Standardowym sposobem leczenia NMIBC jest przecięciowa resekcja guza (TUR), a następnie podanie *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG). Jednak pacjenci z NMIBC mają wysoki odsetek nawrotów, a 20-30% z nich przechodzi w MIBC. Z tych powodów potrzebne są nowe opcje leczenia, które zapobiegą nawrotom i progresji [3]. W niektórych badaniach ukazano skuteczność działania nitroksoliny na odporne linie komórkowe raka pęcherza moczowego odporne na doksorubicynę i cisplatynę. Ujawniono również działanie hamujące nitroksoliny na komórki nowotworowe w stadium G0/G1. Wraz ze wzrostem stężenia leku, wyższy odsetek komórek pozostawał w fazie G0/G1, podczas gdy niższy odsetek komórek pozostawał w fazach S i G2/M w komórkach raka pęcherza moczowego opornych na doksorubicynę (T24/DOX) oraz cisplatynę (T24/CIS). Nitroksolina negatywnie regulowała ekspresję białek związanych z G0/G1 (c-Myc, Cyklina D1, CDK4 i CDK6) w komórkach T24/DOX i T24/CIS. Nitroksolina zwiększała także odsetek apoptozy w komórkach raka pęcherza moczowego [1]. Opisano wiele możliwych mechanizmów jako sposoby przeciwnowotworowego działania nitroksoliny, w tym aktywację apoptozy komórek, downregulację pompy Na/K-ATPaza i β -kateniny oraz hamowanie angiogenezy poprzez regulację funkcji MetAP2. Co znamienne, w kilku badaniach wykazano, że nitroksolina hamuje migrację i inwazję komórek nowotworowych poprzez hamowanie aktywności katepsyny B [3]. Katepsyna B jest lizosomalną proteazą cysteinową należącą do rodziny papain (C1) klanu CA proteaz cysteinowych. Enzym posiada aktywność endopeptydazy i dipeptydylo karboksypeptydazy. CatB aktywuje proteazy działające w kaskadach proteolitycznych, co skutkuje zwiększoną inwazją guzów nowotworowych i większą ilością przerzutów. Ostatnio wykazano silne działanie nitroksoliny jako selektywnego i odwracalnego inhibitora CatB. Nitroksolina ma lepsze właściwości farmakokinetyczne/farmakodynamiczne [25,26]. Jako mechanizm odpowiedzi immunologicznej, katepsyna B może hamować proliferację limfocytów i pośredniczyć w apoptozie komórek odpornościowych [4]. NTX hamuje również progresję UBC poprzez odwrócenie przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT) i wzmocnienie odporności przeciwnowotworowej [1]. Wykazano, że nitroksolina zmniejszała zdolność migracji komórek raka pęcherza moczowego, podobne wyniki obserwowano w teście gojenia ran. Komórki raka pęcherza moczowego traktowane nitroksoliną (10 i 20 μM) goiły ranę wolniej niż komórki nieleczone. Ponadto ustanowiono model wstrzyknięcia do żyły ogonowej z myszami nagimi, aby zbadać wpływ nitroksoliny na przerzuty in vivo. Względna intensywność luminescencji w grupie leczonej nitroksoliną była słabsza niż w grupie kontrolnej, wskazując na to, że nitroksolina skutecznie łagodziła przerzuty raka pęcherza moczowego. Nitroksolina hamuje przerzuty raka pęcherza moczowego in vitro i vivo, poprzez ścieżkę sygnalizacyjną EGR1/circNDRG1/miR-520h/smad7/EMT [2]. Wykazano, że komórki raka pęcherza moczowego traktowane 10 lub 20 μM nitroksoliną przez 48h prezentowały oczywiste apoptotyczne zmiany morfologiczne, takie jak kondensacja chromatyny, fragmentacja jądra i ciała apoptotyczne. [3] Wykazano również obniżoną ekspresję N-kadheryny i MMP-9 w komórkach raka pęcherza moczowego MBT-2 oraz J28, ale ekspresja MMP-2 była obniżona tylko w komórkach MBT-2. Ponadto nitroksolina zmniejszyła również ekspresję antyapoptotycznego białka Bcl-2, jak również podniosła ekspresję proapoptotycznego białka rozszczepionej kaspazy-3 [3]. W jednym z badań nitroksolina w powszechnej dawce (750 mg/dzień) stosowanej w leczeniu UTI u ludzi spowodowała ok 46% zahamowanie wzrostu guza w porównaniu z badaniami kontrolnymi. Podczas zwiększania dawki nitroksoliny stwierdzono wzrost wskaźników zahamowania wzrostu guza do ok 74% przy maksymalnej dziennej dawce nitroksoliny. Podsumowując, nitroksolina wydaje się skutecznie hamować wzrost ortotopowych guzów urologicznych w sposób zależny od dawki [6]. Kliniczne zastosowanie nitroksoliny ma zalety w porównaniu z klasyczną chemioterapią. Po pierwsze, jej skuteczność jest lepsza niż konwencjonalnej chemioterapii we wlewie u chorych z nawrotem chemioterapii przez perfuzję, co pozwala niektórym chorym wysokiego ryzyka uniknąć całkowitej cystektomii. Po drugie, nitroksolina jest przyjmowana doustnie zamiast

przez irygację pęcherza, co jest łatwiejsze do zaakceptowania przez pacjentów. Po trzecie, nitroksolina jest bezpieczna dla ludzi i nie wywołuje poważnych skutków ubocznych. Jednak specyficzny mechanizm leżący u podstaw hamowania przez nitroksolinę progresji raka pęcherza moczowego nadal nie jest jasny[2]. W szczególności nitroksolina wykazywała silną aktywność przeciwnowotworową wobec różnych typów komórek nowotworowych, w tym chłoniaka, białaczki, glejaka, raka pęcherza moczowego, raka piersi, raka trzustki i komórek raka jajnika. Jak również hamowanie angiogenezy, nitroksolina była również w stanie indukować apoptozę komórek nowotworowych i tłumić migrację komórek nowotworowych i inwazję. W sumie, jako lek stosowany w leczeniu UTI, nitroksolina wykazuje duże nadzieje jako nowy kandydat do leczenia przeciwnowotworowego. [6]

IV e. Leczenie raka prostaty

Rak gruczołu krokowego jest drugim co do częstości występowania nowotworem złośliwym w populacji mężczyzn na świecie. Obecne standardowe podejście do leczenia pacjentów obejmuje chirurgię, chemioterapię i promieniowanie. Ostatnie badania potwierdziły, że nitroksolina, zatwierdzony przez FDA lek używany w leczeniu zakażeń dróg moczowych, ma aktywność przeciwnowotworową wobec ludzkiego raka prostaty, a w skojarzeniu z immunoterapią może przedłużyć przeżycie pacjentów w przypadku wielu nowotworów [4]. W jednym z badań, przy użyciu testu z sulfodaminą B (SRB) określono antyproliferacyjne działanie nitroksoliny w komórkach raka prostaty zarówno hormonowrażliwego (LNCaP), jak i hormonalnie opornego (PC-3 i DU-145). Wykazano, że nitroksolina hamowała proliferację komórek raka prostaty. Podobny efekt uzyskano zarówno w komórkach DU-145, jak i LNCaP. Po długotrwałym okresie ekspozycji na nitroksolinę zauważono znaczne zmniejszenie ilości tworzenia koloni komórkowych raka prostaty, co świadczy o działaniu przeciwnowotworowym [5]. Ostatnie dane wykazują, że białko programowanej śmierci komórki 1 (PD-1), receptor ulegający ekspresji na błonie limfocytów przenikających do guza, powoduje szereg zmian, w tym zahamowanie żywotności i proliferacji komórek T CD8+, zmniejszenie produkcji cytokin i wyczerpanie komórek T 4, ulegał wysokiej ekspresji w komórkach nowotworowych prostaty. Blokada PD-1 jest skuteczną strategią terapeutyczną w leczeniu kilku guzów litych, w tym raka prostaty. PD-L1 może być wskaźnikiem nawrotu biochemicznego. Ekspresja PD-L1 pozytywnie koreluje ze wskaźnikami odpowiedzi w terapii anty-PD-1 lub anty-PD-L. W badaniu udowodniono, że nitroksolina znacznie zmniejszała ekspresję PD-L1 w sposób zależny od dawki i czasu. W próbkach tkanki nowotworowej z resektowanego guza ortotopowego oceniono wpływ nitroksoliny na ekspresję PD-L1 za pomocą barwienia immunohistochemicznego i immunofluorescencyjnego. PD-L1 była dominująco zlokalizowana na błonie lub w cytoplazmie komórek guza, a poziom jej ekspresji zmniejszył się po leczeniu nitroksoliną [4]. Wykazano zbliżone działanie nitroksoliny do inhibitorów PD-1. Wykazano również, że terapia łączona nitroksoliną z inhibitorami PD-1 wzmacniała odporność przeciwnowotworową. W jednym z badań pokazano, że leczenie 10- μ M nitroksoliną znacząco hamowało żywotność komórek w liniach komórkowych raka prostaty w sposób zależny od czasu. Nie zaobserwowano znaczącej cytotoksyczności w zdrowych komórkach. Nitroksolina zmniejszała żywotność komórek raka prostaty w sposób zależny od dawki i czasu. Ogólnie rzecz biorąc, wyniki te wskazały, że nitroksolina tłumiała żywotność i proliferację komórek raka prostaty, ale nie miała efektu cytotoksycznego na normalne komórki RWPE-1. Nitroksolina znacznie zwiększyła odsetek komórek w fazie S i zmniejszyła odsetek komórek w fazie G0/G1[4].

IV f. Leczenie raka trzustki

Rak trzustki jest 4 najczęstszą przyczyną zgonów spowodowanych nowotworami. Ma bardzo niski wskaźnik przeżycia oraz szybką śmiertelność po rozpoznaniu [28]. Zwykle rozpoznaje się go w zaawansowanych stadiach, gdzie niekiedy jedynymi dostępnymi metodami leczenia są metody paliatywne. Rak trzustki wcześniej daje przerzuty miejscowe oraz ma wysoką tendencję do rozprzestrzeniania się i dawania przerzutów odległych. Ponadto wykazuje oporność na tradycyjną radioterapię i większość chemioterapii systemowych [29]. Badano naturalne lub syntetyczne związki chemiczne jako pojedyncze środki lub w połączeniu ze standardową chemioterapią w przedklinicznych modelach komórek raka trzustki [30,31]. Obecnie prowadzi się badania kliniczne nad zastosowaniem czynników celowanych, które mogą wykazywać mniej toksyczne działanie niż konwencjonalna chemioterapia [29]. Wśród badanych leków celowanych do leczenia raka trzustki zatwierdzono erlotynib - inhibitor kinazy tyrozynowej EGFR [32]. Wykazano, że połączenie NTX z erlotynibem miało zmienne efekty przeciw komórkom raka trzustki, w zależności od stężeń. Niskie stężenia leków nie zmieniały istotnie rozkładu cyklu komórkowego, natomiast powodowały statystycznie istotne zmniejszenie odsetka komórek nowotworowych w fazie G1. Natomiast wysokie stężenia leków zmieniało rozkład cyklu komórkowego, powodując konsekwentne zmniejszenie odsetka komórek w fazie G2 w badanych liniach komórkowych raka trzustki [27]. Zbadano, że erlotynib w monoterapii nie wywoływał istotnego wpływu na apoptozę komórek raka trzustki. Z kolei nitroksolina w monoterapii miała zmienny wpływ na apoptozę [27]. Wykazano, że leczenie skojarzone powodowało większe zmniejszenie żywotności komórek w porównaniu do

monoterapii w odpowiednich stężeniach, ale efekt synergistyczny był bardziej konsekwentnie obserwowany przy wysokim stężeniu nitroksoliny.[27]

IV g. Leczenie glejaków

Opracowanie skuteczniejszych metod leczenia glejaków o wysokim stopniu złośliwości pozostaje głównym wyzwaniem w neuroonkologii. Nawet przy zastosowaniu najnowocześniejszych technik chirurgicznych, radioterapii i leczenia temozolomidem, mediana przeżycia w przypadku najbardziej agresywnych glejaków (stopień IV, glioblastoma) wynosi 12-16 miesięcy od rozpoznania i w ciągu ostatnich 10 lat uległa niewielkiej poprawie. Temozolomid (TMZ) jest to lek stosowany w chemioterapii nowotworów, pochodna dakarbazyny. Ze względu na swoje działanie należy do grupy leków przeciwnowotworowych o właściwościach alkilujących. Ostateczne niepowodzenie dostępnych metod leczenia przypisuje się oporności na leki, właściwościom naciekowym glejaków o wysokim stopniu złośliwości oraz niemożności całkowitej resekcji komórek guza inwazyjnego. Mechanizmy molekularne, które umożliwiają komórkom glejaka oporność na apoptozę, co ostatecznie prowadzi do niepowodzenia leczenia, są tylko częściowo wyjaśnione [7,33]. Ostatnio, zatwierdzony przez FDA antybiotyk 8-hydroksy-5-nitrochinolina (nitroksolina) odzyskała uwagę ze względu na silniejsze właściwości przeciwnowotworowe niż podobne związki, które są również strukturalnie związane z kliocholem i 8-hydroksychinoliną. Stwierdzono znaczące zależne od dawki hamowanie wzrostu komórek glejaka przy stężeniu nitroksoliny w zakresie 5-100 µg/mL. Podobną odpowiedź na dawkę stwierdzono w przypadku ludzkich komórek gruczolakoraka płuc (A549) i komórek raka prostaty (PC3). Stwierdzono, że nitroksolina jest jednym z najskuteczniejszych inhibitorów angiogenezy i aminopeptydazy metioniny typu 2 (MetAP2) wśród 175 000 związków z biblioteki leków zatwierdzonych przez FDA. W tym samym badaniu wykazano zdolność nitroksoliny do znacznego hamowania wzrostu ksenograftów raka piersi i pęcherza moczowego in vivo. Oprócz roli w hamowaniu angiogenezy, wykazano ostatnio, że nitroksolina hamuje ekspresję cysteinowej proteazy katepsyny B (catB). Wysoki poziom catB stwierdza się na brzegu inwazyjnym astrocytoma anaplastycznego i glioblastoma oraz w ich pożywkach do hodowli komórkowych [7,33]. Uważa się, że brak indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych przez środki chemioterapeutyczne jest jednym z głównych mechanizmów leżących u podstaw oporności na leczenie. Kaspazy są to enzymy z grupy proteaz cysteinowych, które po aktywacji przez sygnały apoptozy degradują białka komórkowe. Stwierdzono znaczący wzrost kaspazy 3 po 24 godzinach leczenia nitroksoliną (40 i 60) µg/mL. Niższa dawka nitroksoliny (20 µg/mL przez 24 h) nie prowadziła do znaczącego wzrostu kaspazy 3, chociaż ta dawka indukowała zatrzymanie cyklu komórkowego G0/G1. Dane te sugerują, że niższe dawki nitroksoliny mogą działać cytostatycznie, natomiast wyższe dawki są wymagane do indukcji apoptozy [7,33]. Analiza odpowiedzi zależnej od czasu wykazała, że nitroksolina była skuteczna już po 4 godzinach przy znaczącym hamowaniu proliferacji linii komórek glejaka, począwszy od stężenia 10 µg/mL. W przeciwieństwie do tej szybkiej odpowiedzi, w innym badaniu nitroksolina stała się skutecznym inhibitorem proliferacji komórek po 24 godzinach, zaczynając od stężenia 60 µg/mL [7,33]. W innym badaniu, przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego wykazano, że odporne na temozolomid TMZ linie komórkowe glejaka zmieniły kształt z okrągłego lub owalnego na wydłużony i wrzecionowaty. Po podaniu 10 µg/ml Nitroksoliny przez 24h w obu liniach komórkowych wyindukowano zaburzenie cytoszkieletu komórki i powrót do jej pierwotnej morfologii rodzicielskiej. Wykazano efekt zmniejszenia tworzenia się kolonii komórek nowotworowych opornych na TMZ po ok 10 dniach leczenia [33]. Nitroksolina może wywołać zatrzymanie cyklu komórkowego. Wyniki badań wykazały na cytostatyczne działanie nitroksoliny w dawkach tak niskich jak 5 µg/ml [7,33]. W badaniu przeprowadzonym na myszach uwidoczono hamowanie progresji glejaka oraz zwiększone przeżycie w spektrum długoterminowym. Wskaźnik objętości guza był znacznie niższy w grupie myszy leczonych nitroksoliną po 1 tygodniu leczenia NTX w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano brak progresji guza u myszy leczonych NTX w dalszych badaniach MRI, natomiast w grupie kontrolnej wykazano znaczący wzrost objętości guza między kolejnymi skanami MRI. W badaniu długoterminowym wykazano istotnie wydłużone przeżycie grupy leczonej NTX w porównaniu z grupą kontrolną. [33]

V. Podsumowanie

W niniejszym przeglądzie ujawniliśmy możliwości wykorzystania szerokiego spektrum działania przeciwbakteryjnego, przeciwgrzybicznego, przeciwpłatkowego dla nitroksoliny oraz potencjalne poszerzenie zakresu działania i zastosowania NTX jako leku przeciwnowotworowego w leczeniu raka pęcherza moczowego, raka prostaty, glejaka oraz raka trzustki. Aby jednak właściwie zrozumieć i wykorzystać potencjał nitroksoliny, potrzebne są dalsze prace kliniczne nad właściwościami farmakodynamicznymi/farmakokinetycznymi oraz bardziej szczegółowe badania nad mechanizmem przeciwbakteryjnym działania leku, który wciąż nie został właściwie wyjaśniony, mimo że jest lekiem starym, w leczeniu opornych uropatogenów wywołujących zakażenia układu moczowego. Dodatkowym, niezbędnym elementem jest konieczność przeprowadzenia wielu badań klinicznych, co pozwoli na poznanie dokładnych mechanizmów NTX, które będzie można wykorzystać w leczeniu nowotworów. Perspektywą dla nitroksoliny jest jej do praktyki klinicznej w przyszłości, w ramach ostrożnego i kontrolowanego stosowania, z poszanowaniem zaleceń proponowanych przez agencje zdrowia

obowiązujące w poszczególnych krajach. Wyniki przeglądu zachęcają do dalszych badań przedklinicznych i klinicznych w celu potwierdzenia potencjału nitroksoliny i jej pochodnych jako obiecujących szeroko spektralnych leków przeciw opornym szczepom bakterii oraz jako nowych/starych leków przeciwnowotworowych.

References:

1. Lin W, Sun J, Sadahira T, Xu N, Wada K, Liu C, Araki M, Xu A, Watanabe M, Nasu Y, Huang P. Discovery and Validation of Nitroxoline as a Novel STAT3 Inhibitor in Drug-resistant Urothelial Bladder Cancer. *Int J Biol Sci.* 2021 Jul 25;17(12):3255-3267. doi: 10.7150/ijbs.63125. PMID: 34421363; PMCID: PMC8375225.
2. Ren L, Jiang M, Xue D, Wang H, Lu Z, Ding L, Xie H, Wang R, Luo W, Xu L, Wang M, Yu S, Cheng S, Xia L, Yu H, Huang P, Xu N, Li G. Nitroxoline suppresses metastasis in bladder cancer via EGR1/circNDRG1/miR-520h/smad7/EMT signaling pathway. *Int J Biol Sci.* 2022 Aug 8;18(13):5207-5220. doi: 10.7150/ijbs.69373. PMID: 35982887; PMCID: PMC9379395.
3. Xu N, Lin W, Sun J, Sadahira T, Xu A, Watanabe M, Guo K, Araki M, Li G, Liu C, Nasu Y, Huang P. Nitroxoline inhibits bladder cancer progression by reversing EMT process and enhancing anti-tumor immunity. *J Cancer.* 2020 Sep 23;11(22):6633-6641. doi: 10.7150/jca.47025. PMID: 33046984; PMCID: PMC7545671.
4. Xu N, Huang L, Li X, Watanabe M, Li C, Xu A, Liu C, Li Q, Araki M, Wada K, Nasu Y, Huang P. The Novel Combination of Nitroxoline and PD-1 Blockade, Exerts a Potent Antitumor Effect in a Mouse Model of Prostate Cancer. *Int J Biol Sci.* 2019 Mar 9;15(5):919-928. doi: 10.7150/ijbs.32259. PMID: 31182913; PMCID: PMC6535792.
5. Chang WL, Hsu LC, Leu WJ, Chen CS, Guh JH. Repurposing of nitroxoline as a potential anticancer agent against human prostate cancer: a crucial role on AMPK/mTOR signaling pathway and the interplay with Chk2 activation. *Oncotarget.* 2015 Nov 24;6(37):39806-20. doi: 10.18632/oncotarget.5655. PMID: 26447757; PMCID: PMC4741862.
6. Zhang QI, Wang S, Yang D, Pan K, Li L, Yuan S. Preclinical pharmacodynamic evaluation of antibiotic nitroxoline for anticancer drug repurposing. *Oncol Lett.* 2016 May;11(5):3265-3272. doi: 10.3892/ol.2016.4380. Epub 2016 Mar 29. PMID: 27123101; PMCID: PMC4841112.
7. Lazovic J, Guo L, Nakashima J, Mirsadraei L, Yong W, Kim HJ, Ellingson B, Wu H, Pope WB. Nitroxoline induces apoptosis and slows glioma growth in vivo. *Neuro Oncol.* 2015 Jan;17(1):53-62. doi: 10.1093/neuonc/nou139. Epub 2014 Jul 28. PMID: 25074541; PMCID: PMC4483047.
8. Dobrindt U, Wami HT, Schmidt-Wieland T, Bertsch D, Oberdorfer K, Hof H. Compared with Cotrimoxazole Nitroxoline Seems to Be a Better Option for the Treatment and Prophylaxis of Urinary Tract Infections Caused by Multidrug-Resistant Uropathogens: An In Vitro Study. *Antibiotics (Basel).* 2021 May 28;10(6):645. doi: 10.3390/antibiotics10060645. PMID: 34071539; PMCID: PMC8230139.
9. Wykowski R, Fuentesfria AM, de Andrade SF. Antimicrobial activity of clioquinol and nitroxoline: a scoping review. *Arch Microbiol.* 2022 Jul 30;204(8):535. doi: 10.1007/s00203-022-03122-2. PMID: 35907036; PMCID: PMC9362210.
10. Fuchs F, Hof H, Hofmann S, Kurzai O, Meis JF, Hamprecht A. Antifungal activity of nitroxoline against *Candida auris* isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Nov;27(11):1697.e7-1697.e10. doi: 10.1016/j.cmi.2021.06.035. Epub 2021 Jul 7. PMID: 34245904.
11. Cherdtrakulkiat R, Boonpangrak S, Sinthupoom N, Prachayasittikul S, Ruchirawat S, Prachayasittikul V. Derivatives (halogen, nitro and amino) of 8-hydroxyquinoline with highly potent antimicrobial and antioxidant activities. *Biochem Biophys Rep.* 2016 Mar 24;6:135-141. doi: 10.1016/j.bbrep.2016.03.014. PMID: 29214226; PMCID: PMC5689172.
12. Abouelhassan Y, Yang Q, Yousaf H, Nguyen MT, Rolfe M, Schultz GS, Huigens RW 3rd. Nitroxoline: a broad-spectrum biofilm-eradicating agent against pathogenic bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* 2017 Feb;49(2):247-251. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.10.017. Epub 2016 Dec 6. PMID: 28110918.

13. Cherdtrakulkiat R, Lawung R, Nabu S, Tantimavanich S, Sinthupoom N, Prachayasittikul S, Prachayasittikul V. Nitroxoline: a potent antimicrobial agent against multidrug resistant Enterobacteriaceae. *EXCLI J*. 2019 Jun 26;18:445-453. doi: 10.17179/excli2019-1378. PMID: 31423123; PMCID: PMC6694710.
14. Kudera T, Doslak I, Salmonova H, Petryl M, Skrivanova E, Kokoska L. In Vitro Selective Growth-Inhibitory Activities of Phytochemicals, Synthetic Phytochemical Analogs, and Antibiotics against Diarrheagenic/Probiotic Bacteria and Cancer/Normal Intestinal Cells. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020 Sep 3;13(9):233. doi: 10.3390/ph13090233. PMID: 32899218; PMCID: PMC7558399.
15. Principe L, Vecchio G, Sheehan G, Kavanagh K, Morroni G, Viaggi V, di Masi A, Giacobbe DR, Luzzaro F, Luzzati R, Di Bella S. Zinc Chelators as Carbapenem Adjuvants for Metallo- β -Lactamase-Producing Bacteria: *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation. *Microb Drug Resist*. 2020 Oct;26(10):1133-1143. doi: 10.1089/mdr.2020.0037. Epub 2020 May 4. PMID: 32364820.
16. Sobke A, Makarewicz O, Baier M, Bär C, Pfister W, Gatermann SG, Pletz MW, Forstner C. Empirical treatment of lower urinary tract infections in the face of spreading multidrug resistance: in vitro study on the effectiveness of nitroxoline. *Int J Antimicrob Agents*. 2018 Feb;51(2):213-220. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.10.010. Epub 2017 Oct 27. PMID: 29111434.
17. Hof H, Juretschke C. Nitroxoline: an option for the treatment of urinary tract infection with multi-resistant uropathogenic bacteria. *Infection*. 2019 Jun;47(3):493-495. doi: 10.1007/s15010-018-1253-y. Epub 2018 Nov 17. PMID: 30449013.
18. Ancuta D, Gorea M, Avram A (2016) Antimicrobial activity of ceramic disks loaded with silver ions and nitroxoline. *Bacteriology and Bacterial Zoonoses*. <https://www.researchgate.net/publication/305618803>. Accessed 06 July 2020
19. Fuchs F, Aldejohann AM, Hoffmann AM, Walther G, Kurzai O, Hamprecht AG. *In Vitro* Activity of Nitroxoline in Antifungal-Resistant *Candida* Species Isolated from the Urinary Tract. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022 Jun 21;66(6):e0226521. doi: 10.1128/aac.02265-21. Epub 2022 May 11. PMID: 35543103; PMCID: PMC9211423.
20. Naber KG, Niggemann H, Stein G, Stein G. 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*. 2014 Nov 27;14:628. doi: 10.1186/s12879-014-0628-7. PMID: 25427651; PMCID: PMC4262220.
21. Hoffmann AM, Wolke M, Rybniker J, Plum G, Fuchs F. *In vitro* Activity of Repurposed Nitroxoline Against Clinically Isolated Mycobacteria Including Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Pharmacol*. 2022 May 26;13:906097. doi: 10.3389/fphar.2022.906097. PMID: 35721137; PMCID: PMC9198898.
22. WHO (2020). *Global Tuberculosis Report 2019 Licence*. CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Geneva: WHO. [Google Scholar] [Ref list]
23. Mourenza Á, Gil JA, Mateos LM, Letek M. Novel Treatments against *Mycobacterium tuberculosis* Based on Drug Repurposing. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Aug 28;9(9):550. doi: 10.3390/antibiotics9090550. PMID: 32872158; PMCID: PMC7557778.
24. Odingo JO, Early JV, Smith J, Johnson J, Bailey MA, Files M, Guzman J, Ollinger J, Korkegian A, Kumar A, Ovechkina Y, Parish T. 8-Hydroxyquinolines are bactericidal against *Mycobacterium tuberculosis*. *Drug Dev Res*. 2019 Aug;80(5):566-572. doi: 10.1002/ddr.21531. Epub 2019 Mar 20. PMID: 30893501; PMCID: PMC6767403.
25. Mirković B, Markec B, Butinar M, Mitrović A, Sosić I, Gobec S, Vasiljeva O, Turk B, Čemažar M, Serša G, Kos J. Nitroxoline impairs tumor progression in vitro and in vivo by regulating cathepsin B activity. *Oncotarget*. 2015 Aug 7;6(22):19027-42. doi: 10.18632/oncotarget.3699. PMID: 25848918; PMCID: PMC4662473.
26. Mitrović A, Kljun J, Sosić I, Uršič M, Meden A, Gobec S, Kos J, Turel I. Organoruthenated Nitroxoline Derivatives Impair Tumor Cell Invasion through Inhibition of Cathepsin B Activity. *Inorg Chem*. 2019 Sep 16;58(18):12334-12347. doi: 10.1021/acs.inorgchem.9b01882. Epub 2019 Aug 29. PMID: 31464130; PMCID: PMC6751773.
27. Veschi S, De Lellis L, Florio R, Lanuti P, Massucci A, Tinari N, De Tursi M, di Sebastiano P, Marchisio M, Natoli C, Cama A. Effects of repurposed drug candidates nitroxoline and nelfinavir as

- single agents or in combination with erlotinib in pancreatic cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018 Sep 21;37(1):236. doi: 10.1186/s13046-018-0904-2. PMID: 30241558; PMCID: PMC6151049.
28. Teague A, Lim KH, Wang-Gillam A. Advanced pancreatic adenocarcinoma: a review of current treatment strategies and developing therapies. *Ther Adv Med Oncol*. 2015 Mar;7(2):68-84. doi: 10.1177/1758834014564775. PMID: 25755680; PMCID: PMC4346211.
 29. Spadi R, Brusa F, Ponzetti A, Chiappino I, Birocco N, Ciuffreda L, Satolli MA. Current therapeutic strategies for advanced pancreatic cancer: A review for clinicians. *World J Clin Oncol*. 2016 Feb 10;7(1):27-43. doi: 10.5306/wjco.v7.i1.27. PMID: 26862489; PMCID: PMC4734936.
 30. Xia G, Wang H, Song Z, Meng Q, Huang X, Huang X. Gambogic acid sensitizes gemcitabine efficacy in pancreatic cancer by reducing the expression of ribonucleotide reductase subunit-M2 (RRM2). *J Exp Clin Cancer Res*. 2017 Aug 10;36(1):107. doi: 10.1186/s13046-017-0579-0. PMID: 28797284; PMCID: PMC5553806.
 31. Ammazalorso A, De Lellis L, Florio R, Bruno I, De Filippis B, Fantacuzzi M, Giampietro L, Maccallini C, Perconti S, Verginelli F, Cama A, Amoroso R. Cytotoxic effect of a family of peroxisome proliferator-activated receptor antagonists in colorectal and pancreatic cancer cell lines. *Chem Biol Drug Des*. 2017 Nov;90(5):1029-1035. doi: 10.1111/cbdd.13026. Epub 2017 Jul 19. PMID: 28544586.
 32. Kelley RK, Ko AH. Erlotinib in the treatment of advanced pancreatic cancer. *Biologics*. 2008 Mar;2(1):83-95. doi: 10.2147/btt.s1832. PMID: 19707431; PMCID: PMC2727779.
 33. Cho HR, Kumari N, Thakur N, Vu HT, Kim H, Choi SH. Decreased APE-1 by Nitroxoline Enhances Therapeutic Effect in a Temozolomide-resistant Glioblastoma: Correlation with Diffusion Weighted Imaging. *Sci Rep*. 2019 Nov 12;9(1):16613. doi: 10.1038/s41598-019-53147-9. PMID: 31719653; PMCID: PMC6851184.