



## PRODUTOS NATURAIS COMO AGENTES ANTIBACTERIANOS CONTRA *Staphylococcus aureus*: UMA REVISÃO DOS MECANISMOS DE AÇÃO

JOSÉ LIMA PEREIRA FILHO; JULIANA BELO MARTINS; ÉRIKA BIANNCA FRÓES DE FRANÇA; IZABELA SOUZA SANTIAGO; FRANSELMO DA SILVA OLIVEIRA

### RESUMO

Infecções por bactérias resistentes continuam sendo motivo de preocupação a nível mundial, uma vez que estão associadas a elevados níveis de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Entre as diversas espécies de bactérias, o surgimento e a disseminação *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, representa uma grave ameaça à saúde pública. A descoberta de resistência de *S. aureus* a antibióticos comumente usados e a presença de elementos genéticos móveis envolvidos na transmissão de múltiplos genes de resistência a antibióticos são fatores complicadores para o tratamento dessas infecções. Sendo assim, há necessidade do desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas. Nesse cenário, as plantas medicinais são uma das maiores fontes de moléculas bioativas para fins antibacterianos. Uma das principais vantagens do estudo de moléculas de origem vegetal é o reduzido número de possíveis efeitos tóxicos causados e o fato de apresentarem atividade, mesmo contra cepas resistentes aos antimicrobianos convencionais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sobre os principais mecanismos de ação antibacteriana de produtos naturais envolvidos na inibição de *S. aureus*. Para isso, foi realizada uma revisão integrativa de literatura. Foram selecionados artigos publicados em língua inglesa nas bases de dados *Scientific Direct* e PUBMED, entre janeiro de 2020 a julho de 2024. Foram utilizados os seguintes descritores: “*natural products*”, “*staphylococcus aureus*”, “*antimicrobial*” e “*action mechanism*”. Após a utilização dos critérios de inclusão e não inclusão, foram selecionados quatorze artigos. Nos estudos *in silico*, os principais alvos relacionados com a ação antibacteriana de produtos naturais (ácido úsnico, eugenol, ácido abiético etc.) foram a proteína de ligação à penicilina 2<sup>a</sup> e bombas de efluxo, especialmente a bomba NorA. Nos estudos *in vitro*, os produtos naturais (mirtenol, estragol, apigenina, rutina, quercetina etc.) apresentaram forte ação antibacteriana contra bombas de efluxo, DNA girase, biofilmes, parede e membrana celular de *S. aureus*. Conclui-se que compostos de origem natural apresentaram atividade antibacteriana promissora contra diferentes alvos em *S. aureus* sendo, por tanto, capazes de inibir fatores de virulência e/ou fatores essenciais para sua sobrevivência, dessa forma, estes resultados podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de terapias complementares capazes de enfrentar a crescente resistência antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Resistência antimicrobiana; Compostos bioativos; Mecanismos de ação; Tratamento complementar; Saúde pública.

### 1 INTRODUÇÃO

Infecções por bactérias resistentes continuam sendo motivo de preocupação a nível mundial, uma vez que estão associadas a elevados níveis de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Somado a isso, a resistência bacteriana a antibióticos é encontrada em inúmeras comunidades bacterianas em todo o mundo, desde bactérias sem relevância clínica até as cepas mais conhecidas envolvidas em problemas de saúde pública. Por meio de mecanismos de transferência horizontal, genes associados à resistência migram para cepas que causam doenças

em humanos e, entre elas, cepas patogênicas, tornando-as multirresistentes, o que dificulta ainda mais o tratamento clínico (Freitas *et al.*, 2021). O surgimento e a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos, como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), representam uma grave ameaça à saúde pública, uma vez que linhagens de MRSA representam um dos principais desafios na assistência à saúde devido à morbidade e mortalidade persistentemente altas associadas à bacteremia por MRSA (Goel *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2022).

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, cujo tamanho pode variar de 0.5 µm a 1.5 µm de diâmetro, caracterizada por ser um microrganismo comensal, causador de diversas infecções, pois tem capacidade de adquirir resistência frente a muitas classes de antibacterianos, como as classes das quinolonas. É uma bactéria imóvel, que não tem capacidade de produzir esporos, possui catalase e coagulase positivas e oxidase negativas, podendo existir comensalmente com humanos, como colonizador ou patógeno (Costa *et al.*, 2021). Este microrganismo é responsável por diversas doenças, como infecções de pele e tecidos moles, pneumonia, osteomielite, endocardite infecciosa e sepse (Goel *et al.*, 2021).

A descoberta de resistência de *S. aureus* a antibióticos comumente usados, especialmente beta-lactâmicos, o surgimento de cepas resistentes à meticilina e vancomicina e a presença de elementos genéticos móveis envolvidos na transmissão de múltiplos genes de resistência a antibióticos são fatores complicadores para o tratamento dessas infecções. Atualmente, encontrar novos medicamentos para tratar infecções causadas por MRSA é considerado de alta prioridade (Cordeiro *et al.*, 2020). Uma abordagem crítica para o problema da resistência por MRSA é desenvolver novos medicamentos antibacterianos ou estratégias alternativas (Liu *et al.*, 2022). Sendo assim, há necessidade de desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas, devido à existência e constante evolução de microrganismos e fenótipos resistentes, ao surgimento de novas doenças, à toxicidade de alguns dos antimicrobianos atuais e à escassa existência de produtos com atividade antibiofilme e inibição de bombas de efluxo.

Nesse cenário, as plantas medicinais são uma das maiores fontes de moléculas bioativas para fins antibacterianos. Uma das principais vantagens do estudo de moléculas de origem vegetal é o reduzido número de possíveis efeitos tóxicos causados por tais substâncias e o fato de apresentarem atividade, mesmo contra cepas resistentes aos antimicrobianos convencionais (Cordeiro *et al.*, 2020). Segundo Takó *et al.* (2020), os compostos de origem natural podem apresentar diversos mecanismos de ação diferente dos encontrados em antimicrobianos de uso clássico, como inibição de bombas de efluxo, o que pode fazer com que estas moléculas possam ser efetivas contra patógenos resistentes aos antibióticos utilizados na terapêutica.

Por tanto, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão integrativa da literatura sobre os principais mecanismos de ação antibacteriana de produtos naturais envolvidos na inibição da espécie *Staphylococcus aureus*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho consiste em um estudo descritivo e exploratório de aspecto qualitativo em que foi elaborado por meio de uma revisão integrativa de literatura, que permite a identificação, síntese e a realização de uma análise ampliada da literatura acerca de uma temática específica (Silva *et al.*, 2020). Os trabalhos selecionados para a realização da revisão integrativa foram aqueles publicados no período entre janeiro de 2020 a julho de 2024. Este estudo foi realizado através da busca e leitura de artigos científicos publicados nos bancos de dados *Scientific Direct* e *PUBMED* (Portal da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos). Foram incluídos os trabalhos publicados com a temática abordada no idioma inglês, disponibilizados na íntegra, em meio digital. Não foram incluídos os trabalhos publicados em outras bases de dados, revisões integrativas de literatura e trabalhos de conclusão de curso. Os dados foram coletados, utilizando os seguintes descritores (DeCS): “*natural products*”, “*Staphylococcus aureus*”,

“antimicrobial” e “action mechanism”. A partir da combinação dos descritores, utilizando os operadores booleanos (AND e OR), foi possível realizar a seleção dos artigos publicados nas bases de dados *Scientific Direct* e PUBMED. Os artigos foram selecionados a partir da leitura dos títulos e resumos para a confirmação dos critérios de inclusão e não inclusão. Por fim, os dados analisados foram extraídos e organizados em tabela no Programa Microsoft Word® 2016. Os resultados foram analisados e discutidos confrontando a literatura.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o levantamento dos estudos realizados, selecionou-se quatorze artigos. Os trabalhos relacionados com atividade inibitória de produtos naturais contra a espécie *S. aureus* foram divididos em estudos *in silico* (Tabela 1) e *in vitro* (Tabela 2). Em relação aos principais mecanismos de ação antibacteriana, verificou-se predominância na inibição da formação de biofilmes, inibição de bombas de efluxo e inibição de componentes essenciais da membrana celular.

Primeiramente, é importante destacar que os métodos computacionais podem fazer contribuições substanciais para a descoberta de medicamentos baseada em produtos naturais e dar suporte a experimentalistas durante as fases de descoberta. Dessa forma, estudos *in silico* são de fundamental importância porque demonstraram ser particularmente poderosos, não apenas na identificação de produtos naturais bioativos, mas também na priorização de materiais (especialmente vegetais) para teste, ajudando, portanto, experimentalistas a concentrar seus recursos nos materiais mais promissores (Chen; Kirchmair, 2020). Através da Tabela 1, observa-se a antibacteriana *in silico* de diferentes produtos naturais bem como seus alvos de ação contra *S. aureus*.

**Tabela 1** – Lista de produtos naturais que inibem *in silico* alvos de *Staphylococcus aureus*.

Nome do composto	Alvos potenciais de <i>Staphylococcus aureus</i>	Referência
Ácido úsnico	Proteína de ligação à penicilina 2 <sup>a</sup>	Goel <i>et al.</i> (2021)
Eugenol e Isoeugenol	Bomba de efluxo NorA	Muniz <i>et al.</i> (2021)
Andrograpanina	Proteína Z filamentosa sensível à temperatura (FtsZ)	Selvaraj <i>et al.</i> (2021)
Naringina, Hesperidina, Neohesperidina, Didimina e Icaríina	Proteína de ligação à penicilina 2 <sup>a</sup>	Verma <i>et al.</i> (2021)
Cianidina, Tetrândrina, Ciclomorusina, Lipomicina e Morusina	Proteína de ligação à penicilina 2 <sup>a</sup>	Tabassum <i>et al.</i> (2023)
Quercetina	Operon ADCB de adesão intercelular (icaB e icaC)	Musini <i>et al.</i> (2024)
Ácido abiético	Bomba de efluxo NorA	Silva <i>et al.</i> (2024)

Através das predições *in silico*, verificou-se que diferentes produtos naturais como ácido úsnico, naringina, hesperidina, neohesperidina, didimina, icariína, cianidina, tetrândrina, ciclomorusina, lipomicina e morusina apresentam atividade inibitória da proteína de ligação à penicilina 2<sup>a</sup> (PBP-2a). É importante destacar que as PBPs são alvos desejáveis para antibióticos, especialmente para  $\beta$ -lactâmicos devido ao seu papel fundamental na sobrevivência bacteriana (Tabassum *et al.*, 2023). Somado a isso, notou-se que compostos presentes em óleos essenciais como eugenol e isoeugenol foram capazes de se ligar à proteínas envolvidas na bomba de efluxo NorA (Muniz *et al.*, 2021).

Após a confirmação de atividade de uma determinada substância através de estudos computacionais outro passo crucial é a validação de atividade *in vitro* em laboratório. Em

relação a atividade antimicrobiana é importante destacar que a capacidade de uma cepa bacteriana sobreviver à exposição de moléculas com efeito antimicrobiano como compostos fenólicos e antibióticos é comumente avaliada em medições de crescimento em monocultura, por meio de ensaios de microdiluição em caldo para quantificar uma concentração inibitória mínima (CIM). Esses métodos *in vitro* testam a suscetibilidade de cepas bacterianas individuais, determinando pontos de interrupção de CIM e fornecendo escolhas informadas de intervenções antimicrobianas (Bottery; Pitchford; Friman, 2021). Através da Tabela 2, verifica-se a atividade antibacteriana *in vitro* de diferentes produtos naturais bem como seus alvos de ação contra *S. aureus*.

**Tabela 2** – Lista de produtos naturais que inibem *in vitro* alvos de *Staphylococcus aureus*.

Produto natural	Fonte	Atividade	Alvo	Referência
Mirtenol	<i>Myrtus communis</i>	CIM: 128 µg/mL CBM: 128 µg/mL	Parede celular Biofilme	Cordeiro <i>et al.</i> (2020)
flavanona G	<i>Sophora alopecuroides</i>	CIM: 4 mg/L Atividade sinérgica com norfloxacin	Bomba de fluxo Nor A	Sun <i>et al.</i> (2020)
Estragol	Sigma Aldrich®	Atividade sinérgica com norfloxacin	Bomba de efluxo NorA MepA	Costa <i>et al.</i> (2021)
Eugenol	Sigma Aldrich®	Atividade sinérgica com norfloxacin	Bomba de efluxo NorA	Muniz <i>et al.</i> (2021)
Carvacrol	Shanghai Macklin Biochemical®	CIM: 125 µg/mL CBM: 800 µg/mL Atividade sinérgica com nistatina	Membrana celular Biofilme	Li <i>et al.</i> (2022)
6-Etoxisanguinari na	<i>Macleaya cordata</i>	CIM: 1-4 µg/mL	Membrana celular Proteína Z filamentosa sensível à temperatura (FtsZ)	Liu <i>et al.</i> (2022)
Apigenina	Tokyo Chemical Industry Co®	CIM: 4-128 µg/mL	DNA girase	Morimoto <i>et al.</i> (2023)
Rutina	Himedia Laboratories Pvt. Ltd®	Atividade em 125 µg/mL quando combinada com Eritromicina Redução da biomassa de biofilme	Biofilme	Mishra <i>et al.</i> (2023)
Ácido abiético	Sigma Corp®	Atividade sinérgica com gentamicina	Bomba de efluxo NorA	Silva <i>et al.</i> (2024)
Quercetina	Sigma Aldrich®	Redução da biomassa de biofilme	Biofilme	Musini <i>et al.</i> (2024)

CIM: Concentração Inibitória Mínima; CBM: Concentração Bactericida Mínima.

### 3.1 Inibição da formação de biofilmes

Apesar de serem encontradas naturalmente como células individuais na forma planctônica, a maioria das bactérias é capaz de formar múltiplas estruturas celulares chamadas

biofilmes ao aderir a superfícies bióticas e abióticas. A formação de biofilme bacteriano é considerada uma das estratégias mais importantes de sobrevivência uma vez que aumenta a virulência para ser mais patogênica e, conseqüentemente, contribui para maior resistência a antibióticos (Amankwah; Abdella; Kassa, 2021). Através da Tabela 2, verifica-se que a atividade antibiofilme de produtos naturais, especialmente flavonoides (rutina e quercetina), correspondeu a 40% dos estudos. No estudo desenvolvido por Li *et al.* (2022) o monoterpene carvacrol apresentou valores de atividade antibacteriana significativos com valores de CIM igual a 125 µg/mL e Concentração Bactericida Mínima (CBM) igual 800 µg/mL. Além desse trabalho, Cordeiro *et al.* (2020) extraíram da espécie vegetal *Myrtus communis* o monoterpene conhecido como mirtenol. Este composto foi capaz de inibir a formação de biofilmes em uma concentração de CIM igual a 128 µg/mL, o que também demonstra seu potencial promissor como agente antibiofilme. Somado a isso, o flavonoide conhecido como quercetina também foi capaz de inibir o biofilme através da redução de sua biomassa (Musini *et al.*, 2024).

### 3.2 Inibição de bombas de efluxo

As bactérias têm quatro mecanismos comuns para a aquisição de resistência aos antibióticos, entre os quais o efluxo relacionado à resistência a múltiplos fármacos (MDR) é um dos mais importantes e foi relatado para muitos organismos, incluindo *S. aureus*. Diferentes transportadores MDR, como QacA e NorA, são conhecidos como mecanismos de resistência em *S. aureus* há algum tempo (Sun *et al.*, 2020). Sabe-se que bombas de efluxo são proteínas de membrana que transportam ativamente antibióticos para o meio extracelular, resultando em concentrações intracelulares reduzidas (Muniz *et al.*, 2021). Ainda de acordo com Muniz *et al.* (2021) considerando a relevância da expressão da bomba de efluxo como mecanismo de resistência a antibióticos em diversas linhagens de *S. aureus*, evidências consistentes têm indicado que o desenvolvimento de fármacos capazes de inibir a expressão ou atividade dessas proteínas pode ser útil no combate à resistência bacteriana.

Através dos estudos *in vitro* no presente estudo de revisão, evidenciou-se a forte atividade antibacteriana de produtos naturais contra o mecanismo de resistência de bomba de efluxo, especialmente na inibição da expressão das bombas NorA (Tabela 1). Os estudos desenvolvidos por Sun *et al.* (2020), Costa *et al.* (2021), Muniz *et al.* (2021) e Silva *et al.* (2024) comprovaram a ação *in vitro* anti-NorA de alguns compostos naturais, tais como: soforaflavanona G, estragol, eugenol e quercetina, respectivamente. Alguns destes compostos foram capazes de potencializar a ação antibacteriana de antibióticos como norfloxacina.

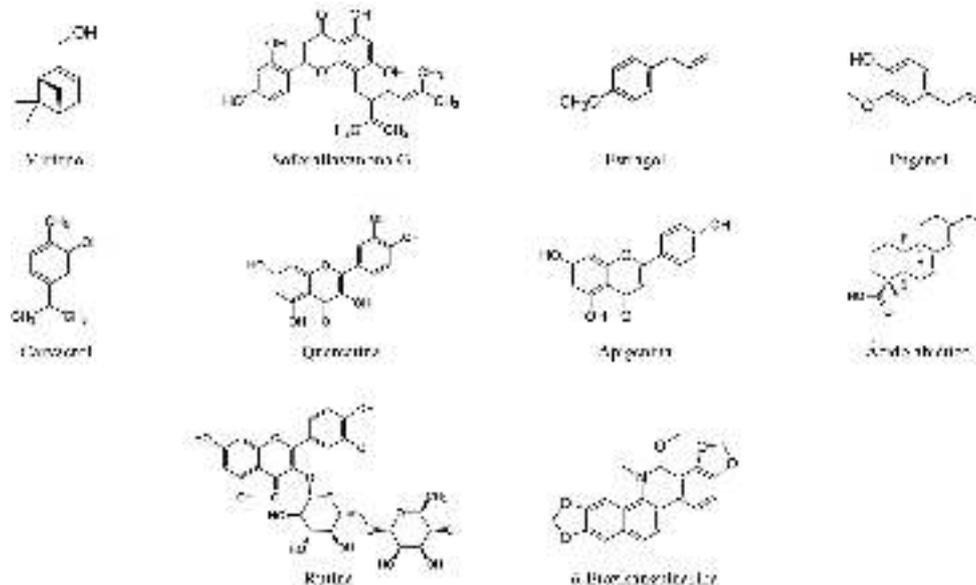
### 3.3 Inibição da síntese da membrana celular e parede celular

A membrana celular desempenha um papel fundamental na sobrevivência e funcionalidade de bactérias. Os compostos antibacterianos naturais podem se ligar a alvos da membrana celular e destruí-la, resultando na liberação de componentes intracelulares (Li *et al.*, 2022). Mediante o levantamento de estudos expostos na Tabela 2, verifica-se que Li *et al.* (2022) e Liu *et al.* (2022) demonstraram o potencial de ruptura da membrana celular de *S. aureus* a partir do uso do carvacrol (125 µg/mL) e do alcalóide 6-Etoxisinguarina (1-4 µg/mL). É importante destacar que além da membrana celular, a parede celular que reveste às células bacterianas é importante para a proteção e sobrevivência destes microrganismos, incluindo *S. aureus* (Cordeiro *et al.*, 2020).

A parede celular bacteriana é um polímero de peptidoglicanos como seus principais blocos de construção e, portanto, a saúde da parede celular é responsável pela sobrevivência bacteriana durante a divisão e o crescimento celular (Tabassum *et al.*, 2023). No estudo realizado por Cordeiro *et al.* (2020), comprovou-se que o composto mirtenol apresentou interferência na integridade da parede celular de *S. aureus* em uma concentração inibitória mínima de 128 µg/mL.

A Figura 1 retrata os compostos naturais com atividade anti-*Staphylococcus aureus* apresentados na presente revisão.

Figura 1 – Estrutura química de compostos com atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*.



De modo geral, verificou-se através desta revisão de literatura que produtos naturais extraídos principalmente de plantas medicinais possuem promissora atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* através de diferentes mecanismos de ação.

#### 4 CONCLUSÃO

Através deste estudo que compostos de origem natural apresentaram atividade antibacteriana promissora contra diferentes alvos em *S. aureus* sendo, por tanto, capazes de inibir fatores de virulência e/ou fatores essenciais para sua sobrevivência, dessa forma, estes resultados podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de terapias complementares capazes de enfrentar a crescente resistência antimicrobiana. O desenvolvimento de estratégias terapêuticas baseadas em produtos naturais pode contribuir significativamente para a reduzir o problema global da resistência aos antibióticos e para a melhoria da saúde pública. Por fim, como perspectivas futuras, almeja-se que sejam realizados ensaios *in vivo* em modelos animais e clínicos a fim de contribuir com o estabelecimento de alguns compostos naturais como adjuvantes na antibioticoterapia.

#### REFERÊNCIAS

- AMANKWAH, Stephen; ABDELLA, Kedir; KASSA, Tesfaye. Bacterial biofilm destruction: A focused review on the recent use of phage-based strategies with other antibiofilm agents. **Nanotechnology, science and applications**, p. 161-177, 2021.
- BOTTERY, Michael J.; PITCHFORD, Jonathan W.; FRIMAN, Ville-Petri. Ecology and evolution of antimicrobial resistance in bacterial communities. **The ISME Journal**, v. 15, n. 4, p. 939-948, 2021.
- CHEN, Ya; KIRCHMAIR, Johannes. Cheminformatics in natural product-based drug discovery. **Molecular Informatics**, v. 39, n. 12, p. 2000171, 2020.

- CORDEIRO, Laisa *et al.* Antibacterial and antibiofilm activity of myrtenol against *Staphylococcus aureus*. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 133, 2020.
- COSTA, Roger Henrique Sousa *et al.* Evaluation of antibacterial activity and reversal of the NorA and MepA efflux pump of estragole against *Staphylococcus aureus* bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 6, p. 3551-3555, 2021.
- FREITAS, Thiago S. *et al.* *In vitro* and *in silico* studies of chalcones derived from natural acetophenone inhibitors of NorA and MepA multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, v. 161, p. 105286, 2021.
- GOEL, Mayurika *et al.* Inhibition of penicillin-binding protein 2a (PBP2a) in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by combination of oxacillin and a bioactive compound from *Ramalinaroesleri*. **Microbial Pathogenesis**, v. 150, p. 104676, 2021.
- LI, Qingxiang *et al.* Synergistic antibacterial activity and mechanism of action of nisin/carvacrol combination against *Staphylococcus aureus* and their application in the infecting pasteurized milk. **Food Chemistry**, v. 380, p. 132009, 2022.
- LIU, Zhi Hai *et al.* Natural antibacterial and antivirulence alkaloids from *Macleaya cordata* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in pharmacology**, v. 13, p. 813172, 2022.
- MORIMOTO, Yuh *et al.* CID12261165, a flavonoid compound as antibacterial agents against quinolone-resistant *Staphylococcus aureus*. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1725, 2023.
- MUNIZ, Débora Feitosa *et al.* *In vitro* and *in silico* inhibitory effects of synthetic and natural eugenol derivatives against the NorA efflux pump in *Staphylococcus aureus*. **Food Chemistry**, v. 337, p. 127776, 2021.
- MUSINI, Anjaneyulu *et al.* Quercetin's antibiofilm effectiveness against drug resistant *Staphylococcus aureus* and its validation by *in silico* modeling. **Research in Microbiology**, v. 175, n. 3, p. 104091, 2024.
- SELVARAJ, Jayaraman *et al.* *In silico* and *in vitro* Study on the Inhibition of FtsZ Protein of *Staphylococcus aureus* by Active Compounds from *Andrographis paniculata*. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 11, n. 2, p. 116-128, 2021.
- SILVA, Cáren Coronel da *et al.* Access and use of dental services by pregnant women: an integrative literature review. **Ciencia & saude coletiva**, v. 25, p. 827-835, 2020.
- SILVA, Maria Gabriely *et al.* Antibacterial effect and evaluation of the inhibitory effect against efflux pump in *Staphylococcus aureus* by abietic acid: *In vitro* and *in silico* assays. **Process Biochemistry**, v. 122, p. 363-372, 2022.
- SUN, Zhong Lin *et al.* Synergism of sophoraflavanone G with norfloxacin against effluxing antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 56, n. 3, p. 106098, 2020.
- TABASSUM, Riaz *et al.* *In silico* Method for the Screening of Phytochemicals against

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **BioMed Research International**, v. 2023, n. 1, p. 5100400, 2023.

VERMA, Abhishek Kumar *et al.* Molecular docking and simulation studies of flavonoid compounds against PBP-2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 21, p. 10561-10577, 2022.