

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS**

Thayná Fernandes Barros

**Avaliação antibacteriana e
antibiofilme associada a
metabolômica para identificação de
substâncias bioativas: um estudo
sobre espécies de *Combretum*
(Combretaceae)**

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2021**

Thayná Fernandes Barros

**Avaliação antibacteriana e antibiofilme
associada a metabolômica para
identificação de substâncias bioativas:
um estudo sobre espécies de
Combretum (Combretaceae)**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biociências da
Universidade Federal de Ciências da
Saúde de Porto Alegre como requisito para
obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof. Dra Danielle da Silva Trentin
Co-orientadora: Prof. Dra Denise Brentan da Silva

**Porto Alegre
2021**

Catálogo na Publicação

Barros, Thayná Fernandes

Avaliação antibacteriana e antibiofilme associada a metabolômica para identificação de substâncias bioativas: um estudo sobre espécies de Combretum (Combretaceae) / Thayná Fernandes Barros. -- 2021.

146 p. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2021.

Orientador(a): Dra. Danielle da Silva Trentin ;
coorientador(a): Dra. Denise Brentan da Silva.

1. Biofilmes bacterianos . 2. Produtos Naturais. 3. Metabolômica. I. Título.

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

INTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Molecular da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) e no Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas (LAPNEM) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Recebeu auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – FAPERGS/CNPq 11/2014 –Edital PRONEM - Processo nº 16/2551-0000244-4) e da UFCSPA através do Programa de fomento a realização de projetos de pesquisa na UFCSPA (Editais nº 01/2019/PROPPG e nº 07/2020/PROPPG). A bolsa de mestrado foi fomentada durante todo o período do mestrado acadêmico pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Maranhão (FAPEMA – Edital nº 004/2019).

PÁGINA DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha família, amigos e professores.

PÁGINA DE AGRADECIMENTOS

Danielle, em primeiro lugar, não poderia com palavras descrever o quanto você foi importante nessa etapa da minha vida, mas se eu fosse resumir em uma única palavra, eu diria "gratidão". Obrigada por tudo que tens feito, desde o primeiro momento por ter aceitado ser minha orientadora, obrigada por sua compreensão, dedicação e por nunca desistir de mim. Você me inspira pela mulher, pela amiga e pela pesquisadora que és. Amo o fato de ter te conhecido, não poderia ter uma orientadora, mestre e amiga melhor. Você me fez sair de uma pequena semente para um brotozinho e espero um dia poder florescer igual a você.

Denise, o que falar dessa mulher, que me inspira não somente pela grande pesquisadora, mas pelo exemplo de mulher e mãe que és. Sim! Você é exemplo de fortaleza e calma. Seu otimismo me encanta. Obrigada por ter aceitado ser a colaboradora no meu amadurecimento profissional e por nunca medir esforços quanto a isso.

Gostaria de agradecer a banca examinadora, Laura Silva e Raquel Giordani e em especial a Karine Zimmer que sempre se dispôs a colaborar no meu aprendizado, você com certeza foi uma peça chave nessa jornada.

Quero declarar meu amor pelo grupo Bacmea, vocês são maravilhosos! Amo cada integrante desse grupo, em especial Andressa, Josiane e Helber. Obrigada pela amizade e companheirismo de sempre.

A todos os colaboradores e amigos do laboratório por cada palavra, por cada gesto e por cada ensinamento, de forma particular a Muriel e Vivi que sempre me incentivaram.

Aos meus professores e mestres Alexandre e Luís Cláudio por me permitirem essa oportunidade de avançar no mestrado.

A toda minha família e amigos que me apoiaram e acreditaram em mim. Eu amo vocês!

Por fim, gostaria de encerrar os meus agradecimentos com um versículo: Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou o coração humano, o que Deus tem preparado para aqueles que o amam. Bíblia Sagrada 1 Coríntios 2.9.

Tudo isso só foi possível porque você sonhou primeiro. Obrigada Deus!

RESUMO

Espécies de Combretaceae têm sido utilizadas na medicina popular para tratar doenças inflamatórias e infecciosas, e diversos metabólitos secundários já foram descritos para algumas espécies do gênero *Combretum*. Infecções causadas por *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são reconhecidas como desafios clínicos dado o grau de virulência dos mesmos e resistência a múltiplos antibacterianos. Neste sentido, a terapia antivirulência, que visa atenuar a virulência sem inibir o crescimento bacteriano, representa uma abordagem alternativa para controlar infecções bacterianas com menor pressão para o surgimento de populações resistentes. Dessa forma, a aplicação de técnicas metabolômicas e análises de dados têm se mostrado ferramentas atrativas para acelerar a descoberta de fármacos. Sendo assim, este estudo teve como objetivos avaliar a atividade antibacteriana e antibiofilme das espécies *C. laxum*, *C. leprosum* e *C. lanceolatum* frente a duas bactérias-padrão, e identificar, através do perfil metabólico e comprovação experimental, os fitocompostos bioativos. Folhas e cascas das três espécies foram coletadas na região do Pantanal, no estado do Mato Grosso do Sul, em 2016. O material vegetal foi submetido à extração acelerada por solvente e a composição química de cada extrato foi determinada por CLAE-DAD-EM. Os extratos foram avaliados frente à *S. aureus* ATCC 25904 e *P. aeruginosa* ATCC 27853 quanto à atividade antibacteriana, através da técnica de microdiluição em caldo, e atividade de inibição de biofilme, pela técnica de cristal violeta. Os extratos hidrometanólicos das três espécies apresentaram maior inibição da formação de biofilme de *S. aureus* sem inibir o crescimento, no entanto não foram ativos para *P. aeruginosa*. As análises de correlação de Pearson r sugeriram 35 metabólitos como possíveis substâncias responsáveis pela ação antibiofilme de *S. aureus*. Destas, 18 substâncias foram adquiridas comercialmente e avaliadas *in vitro*. Os flavonoides luteolina, miricetina e quercetina inibiram a formação de biofilme de *S. aureus*, porém o precursor de taninos hidrolisáveis, ácido elágico, foi a substância mais ativa inibindo 73% da formação de biofilme (5 μ M) sem afetar o crescimento bacteriano. Não foram observadas interações sinérgicas entre as quatro substâncias ativas. Considerando que flavonoides glicosilados e açúcares simples apresentaram correlação positiva com a atividade antibiofilme de *S. aureus*, o efeito de açúcares sobre o crescimento e a virulência bacteriana foi aprofundado. Açúcares simples, identificados nas espécies *Combretum*, não foram ativos contra *S. aureus* e também não aumentaram a ação antibiofilme das quatro substâncias acima citadas. Em estudo de revisão da literatura observamos que, flavonoides glicosilados têm menor ação antibacteriana e antivirulência do que as respectivas agliconas frente a distintas bactérias. Esta dissertação evidenciou a aplicação

da metabolômica para o direcionamento de substância biotivas, conferindo agilidade e menor custo no processo de identificação de protótipos. As substâncias polares das espécies de *Combretum* demonstraram-se mais ativas na prevenção da formação de biofilme de *S. aureus*, dentre as quais destacamos o ácido elágico e a turicina para prosseguir em estudos futuros. Substâncias antibiofilme podem potencialmente ser utilizadas como coadjuvantes no tratamento de infecções e no desenvolvimento de superfícies menos propensas à adesão bacteriana, fundamental na redução de infecções associadas à dispositivos médicos.

Palavras-chaves: *Combretum*, metabolômica, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, flavonoides, ácido elágico

ABSTRACT

Species of Combretaceae have been used in folk medicine to treat inflammatory and infectious diseases, and several secondary metabolites have already been described for some species of the genus *Combretum*. Infections caused by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* are recognized as clinical challenges given their degree of virulence and resistance to multiple antibacterials. In this sense, antivirulence therapy, which aims to attenuate virulence without inhibiting bacterial growth, represents an alternative approach to controlling bacterial infections with less pressure for the emergence of resistant populations. Thus, the application of metabolomic techniques and data analysis have been shown to be attractive tools to accelerate drug discovery. Therefore, this study aimed to evaluate the antibacterial and antibiofilm activity of *C. laxum*, *C. leprosum* and *C. lanceolatum* species against two standard bacteria, and to identify, through the metabolic profile and experimental evidence, the bioactive phytocompounds. Leaves and bark of the three species were collected in the Pantanal region, in the state of Mato Grosso do Sul, in 2016. The plant material was subjected to accelerated solvent extraction and the chemical composition of each extract was determined by HPLC-DAD-EM. The extracts were evaluated against *S. aureus* ATCC 25904 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 for antibacterial activity, using the broth microdilution technique, and biofilm inhibition activity, using the crystal violet technique. The hydromethanolic extracts of the three species showed greater inhibition of *S. aureus* biofilm formation without inhibiting growth, however, they were not active for *P. aeruginosa*. Pearson's *r* correlation analyzes suggested 35 metabolites as possible substances responsible for the antibiofilm action of *S. aureus*. Of these, 18 substances were purchased commercially and evaluated *in vitro*. The flavonoids luteolin, myricetin and quercetin inhibited *S. aureus* biofilm formation, but the hydrolysable tannin precursor, ellagic acid, was the most active substance, inhibiting 73% of biofilm formation (5 μ M) without affecting bacterial growth. No synergistic interactions were observed between the four active substances. Considering that glycosylated flavonoids and simple sugars correlated positively with the antibiofilm activity of *S. aureus*, the effect of sugars on bacterial growth and virulence was deepened. Simple sugars, identified in *Combretum* species, were not active against *S. aureus* and did not increase the antibiofilm action of the four substances mentioned above. In a literature review study, we observed that glycosylated flavonoids have less antibacterial and antivirulence action than the respective aglycones against different bacteria. This dissertation showed the application of metabolomics for targeting bioactive substances, providing agility and lower cost in the prototype identification process. The polar substances of

Combretum species proved to be more active in preventing the formation of *S. aureus* biofilm, among which we highlight ellagic acid and turicin to continue in future studies. Antibiofilm substances can potentially be used as adjuncts in the treatment of infections and in the development of surfaces less prone to bacterial adhesion, essential in reducing infections associated with medical devices.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO:

Figura 1: Estágios do desenvolvimento dos biofilmes: (A) adesão reversível, onde bactérias iniciam a adesão ao substrato e formam microcolônias no estágio inicial de formação de biofilme e, (B) adesão irreversível, onde os biofilmes maduros são cobertos pela matriz extracelular produzida pelas bactérias. Fonte com permissão de TRENTIN et al, 2013.

Figura 2: A) mapa contendo os registros de coleta e depósito de espécies do gênero *Combretum* no mundo (marcado em verde) e no Brasil (B). Fonte: *Missouri Botanical Garden* (<http://www.tropicos.org/>) e *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>).

Figura 3: (A) mapa de registros de coletas e depósitos de *C. lanceolatum* no Brasil. (B) amostra da planta (*C. lanceolatum*). Fonte: *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>) e *Plants of the World online* (<http://www.plantsoftheworldonline.org/>).

Figura 4: (A) mapa de registros de coletas e depósitos de *C. laxum* no Brasil. (B) amostra da planta (*C. laxum*). Fonte: *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>) e *Plants of the World online* (<http://www.plantsoftheworldonline.org/>).

Figura 5: (A) mapa de registros de coletas e depósitos de *C. leprosum* no Brasil. (B) amostra da planta (*C. leprosum*). Fonte: *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>) e *Plants of the World online* (<http://www.plantsoftheworldonline.org/>).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 INFECÇÕES MICROBIANAS	15
2.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.2 BIOFILMES BACTERIANOS	17
2.2.1 Biofilmes de <i>S. aureus</i>	20
2.2.2 Biofilmes de <i>P. aeruginosa</i>	21
2.3 TERAPIA ANTIVIRULÊNCIA.....	21
2.3.1 Estratégias terapêuticas antibiofilme.....	22
2.4 FAMÍLIA COMBRETACEAE.....	23
2.4.1 Gênero <i>Combretum</i>	24
2.4.1.1 <i>Combretum lanceolatum</i> Pohl. ex Eicher.....	25
2.4.1.2 <i>Combretum laxum</i> Jacq.....	26
2.4.1.3 <i>Combretum leprosum</i> Mart.....	27
2.5 METABOLÔMICA.....	29
3 JUSTIFICATIVA.....	31
4 OBJETIVOS.....	32
4.1 OBJETIVO GERAL.....	32
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
5 RESULTADOS.....	33
6 DISCUSSÃO GERAL.....	34
7 CONCLUSÕES.....	38
8 PERSPECTIVAS.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
ANEXO I.....	52
ANEXO II.....	53
ANEXO III-Registro no projeto na Compesq.....	54
CURRÍCULO LATTES.....	55

1 INTRODUÇÃO

Biofilme é definido como uma comunidade microbiana séssil na qual as células são fixadas a uma superfície ou a outras células e incorporadas em uma matriz polimérica extracelular protetora (LISTER & HORSWILL, 2014). As propriedades intrínsecas conferidas pela matriz extracelular do biofilme conferem alta resistência aos antibacterianos utilizados na clínica, desencadeando infecções de difícil tratamento e que tendem à cronicidade (MATILLA-CUENCA, 2020). O órgão americano *National Institutes of Health* (NIH) revelou que, entre todas as infecções microbianas, 60-80% estão ligadas à formação de biofilme.

Dois agentes patogênicos oportunistas *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, constituem as causas principais de infecções agudas e crônicas associadas a biofilme, particularmente a dispositivos médicos, e impactam significativamente o sistema de saúde (LISTER & HORSWILL, 2014). Nesse sentido, o desenvolvimento de agentes inovadores, que atuem através de mecanismos diferentes dos antibacterianos convencionais constitui um dos elementos importantes no controle de infecções e de patógenos resistentes (MUNGUIA & NIZET, 2017). Cabe ressaltar que, a área de agentes anti-infecciosos ainda é fortemente dependente de produtos naturais e de suas estruturas químicas; e, o interesse em produtos naturais para a descoberta de fármacos deriva especialmente da alta diversidade química de seus metabólitos secundários (NEWMAN & CRAGG, 2020). Nesse contexto, a metabolômica é uma ferramenta bastante promissora que pode facilitar e acelerar a identificação de metabólitos responsáveis por propriedades biológicas no processo de descoberta de novos candidatos a fármacos. A associação da metabolômica com métodos estatísticos fornece uma melhor visualização de vastos dados e simplifica a análise necessária para responder à questão biológica colocada (DERMARQUE et al., 2020).

A família Combretaceae é composta por aproximadamente 20 gêneros e 600 espécies, incluindo o gênero *Combretum*. Este gênero compreende cerca de 276 espécies com uma distribuição pantropical principalmente na África tropical e na Ásia, mas ausente na maior parte da Austrália e das Ilhas do Pacífico (STACE, 2007; POWO, 2019; BOON et al., 2020). Destaca-se por fornecer uma série de classes de constituintes químicos biologicamente ativos (BISOLI et al., 2020), como flavonoides, lignana, taninos, triterpenos, alcaloides, derivados de estilbenoides e fenantrênicos (NYAMBUYA, et al, 2017; DAWÉ et al., 2018; NAINWAL et al., 2019; OLUYEMI et al, 2019). No presente trabalho, focamos no estudo de três espécies brasileiras que pertencem ao gênero *Combretum*, a saber: *Combretum lanceolatum* Pohl. ex Eichl, *Combretum laxum* Jacq. e *Combretum leprosum*

Mart. (Combretaceae), a fim de avaliar (i) a atividade antibacteriana e antibiofilme contra as duas cepas padronizadas de *S.aureus* e *P. aeruginosa* e (ii) a aplicação de ferramentas metabolômicas para a determinação dos componentes bioativos, visando contribuir com o desenvolvimento de novas estratégias de controle de patógenos bacterianos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INFECÇÕES MICROBIANAS

Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), são entre as principais causas de morbimortalidade. São consideradas um problema relevante de saúde pública, que resulta em índices elevados de complicações à saúde, prolongamento do período de hospitalização, aumento direto sobre os custos da assistência (SOUZA et al., 2015). Décadas de uso indevido e prescrição excessiva de antibacterianos resultou na seleção de patógenos que apresentam resistência a múltiplos medicamentos (VENTOLA, 2015). A resistência antimicrobiana tornou-se uma preocupação séria para a saúde humana, pois além da morte causada por patógenos resistentes a medicamentos (~700.000 mortes anualmente e estima-se em ~10 milhões para o ano de 2050), procedimentos médicos importantes, como o transplante de órgãos, a quimioterapia e a cirurgia do câncer também estão comprometidas (O'NEILL, 2016).

Com o advento de dispositivos médicos, os quais são essenciais para recuperação de funções fisiológicas e para acessar órgãos e tecidos humanos, o número de infecções em dispositivos médicos passaram a representar um grande problema. Caracteristicamente relacionado à formação de biofilmes, infecções associadas a estes dispositivos são de difícil tratamento, e representam um reservatório de bactérias que podem causar reinfecções e inflamações crônicas e levar a danos nos tecidos, entupimento de dispositivos e falhas nos tratamentos (SCHULZE et al., 2021). Tanto bactérias Gram positivas quanto as Gram negativas podem aderir e desenvolver biofilmes nas superfícies desses dispositivos, mas as bactérias formadoras de biofilme mais frequentemente relatadas são *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *P. aeruginosa* (MUHAMMAD et al., 2020). Nessa perspectiva existe uma grande necessidade de desenvolvimento de novas estratégias anti-infectivas e novos agentes com mecanismos de ação diferentes dos antibacterianos convencionais.

2.1.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma espécie de bactéria que pertence à família Micrococcaceae. Apresenta-se na forma de cocos Gram positivos arranjados em aglomerado. Metabolicamente são anaeróbios facultativos, imóveis, não formadores de esporos. Distinguem-se de outras espécies de estafilococos por produzir a enzima coagulase, catalisando a conversão de fibrinogênio em fibrina (RIBEIRO & CASTANHEIRA, 2003). Muitos isolados possuem cápsula e produzem um pigmento amarelo dourado, conhecido

como estafiloxantina, o qual fornece a pigmentação característica das colônias desta espécie (TAYEB-FLIGELMAN et al., 2017). A maioria dos isolados é hemolítico, formando uma zona de hemólise transparente ao redor das colônias em placas de ágar sangue (ZHANG et al., 2016).

É encontrado na microbiota humana colonizando principalmente a pele e as cavidades nasais. No entanto, pode causar um amplo espectro de processos infecciosos, variando desde os mais simples, como espinhas e furúnculos, até enfermidades mais graves, como bacteremia, endocardite infecciosa, infecções osteoarticulares, da pele e dos tecidos moles, pleuropulmonares e relacionadas a dispositivos médicos (TONG et al., 2015). Isso se deve à sua capacidade de escapar da resposta imune inata, como a morte mediada por fagocitose, complemento ou peptídeo antimicrobiano (AMP), que auxilia na sobrevivência bacteriana no sangue e em outros tecidos durante infecções persistentes (THAMMAVONGSA et al., 2009; LEE et al., 2018). Entre os múltiplos fatores de virulência produzidos por esse micro-organismo, é possível enumerar diversas toxinas, enzimas e antígenos associados à superfície celular (OLIVEIRA et al., 2018).

Nos últimos anos, a resistência antimicrobiana se tornou um grande problema de saúde pública e *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), o qual resistente a todos os antibacterianos beta-lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas (exceto ceftarolina e ceftobiprol) e carbapenêmicos passaram a ser comumente isolados (LEE et al., 2018). Por causa do problema emergente de resistência, a Organização Mundial da Saúde (OMS) listou MRSA e *S. aureus* resistente e intermediário à vancomicina (VRSA e VISA, respectivamente) como patógenos bacterianos de “alta prioridade” para orientar a pesquisa e desenvolvimento de novos antibacterianos (WHO, 2017). Adicionalmente, infecções crônicas causadas por *S. aureus* estão frequentemente associadas ao desenvolvimento de biofilmes. Estas, muitas das vezes levam a aumentos significativos na morbidade e mortalidade (MOORMEIER et al., 2017).

2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas são bactérias Gram negativas, em forma de bastonete, anaeróbias facultativas, frequentemente contendo um único flagelo polar simples, embora alguns isolados possam apresentar dois ou três flagelos. São capazes de utilizar uma variedade de compostos orgânicos e colonizar uma ampla gama de nichos (PANAYIDOU et al., 2020).

P. aeruginosa é um patógeno humano oportunista que causa infecções agudas e crônicas devastadoras em indivíduos com sistema imunológico comprometido. Sua

persistência altamente notória em ambientes clínicos é atribuída à sua capacidade de formar biofilmes (THI & REHM, 2020). Adicionalmente, sua infectividade está associada à potencial expressão de diversos fatores de virulência, derivados do genoma versátil e flexível - 10% de seus genes estão organizados em ilhas de patogenicidade genômicas (KUNG et al., 2010). Estes genes estão envolvidos principalmente na motilidade, troca de motilidade, desenvolvimento de biofilme, mecanismos de resistência a antibacterianos e o ajuste das vias metabólicas para respostas ao estresse (BARR et al., 2015).

Notavelmente *P. aeruginosa* destaca-se por possuir diversos mecanismos de resistência a antibacterianos, incluindo tanto mecanismos de resistência intrínseca quanto adquirida, incluindo: a baixa permeabilidade da membrana externa a substâncias exógenas, característica de bactérias Gram negativas; o aumento na expressão de bombas de efluxo que expõem antibacterianos para fora da célula; a produção de enzimas inativadoras de antibacterianos, como aminoglicosídeos e quinolonas; a produção de enzimas degradadoras de antibacterianos como as diversas β -lactamases; e a alteração do sítio de ação de alguns antibacterianos. A resistência adquirida pode ser alcançada por transferência horizontal de genes de resistência ou mudanças mutacionais (PANG et al., 2019). Assim em 2017, *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos foi listada como patógeno de prioridade crítica para pesquisa e desenvolvimento de novos antibacterianos pela OMS (OMS, 2017). Adicionalmente, *P. aeruginosa* é conhecida por formar biofilme nos pulmões de pacientes infectados, especialmente em pacientes com fibrose cística. Neste contexto, o biofilme também dificulta a ação de antibacterianos pois serve como uma barreira que limita a difusão e o acesso de fármacos às células bacterianas (PANG et al., 2019).

2.2 BIOFILMES BACTERIANOS

O órgão americano NIH revelou que, 60-80% das infecções estão ligadas à formação de biofilme. O conceito de biofilme foi descrito pela primeira vez por Marshall et al., (1971) e posteriormente por Fletcher, Characklis e Costerton (CHARACKLIS, 1973; FLETCHER E FLOODGATE, 1973; FLEMMING & WUERTZ, 2019, MISHRA et al., 2020). A descrição de biofilmes vem mudando e ganhando novos conceitos. Não há dúvidas de que o conhecimento e compreensão da natureza das propriedades dos micro-organismos que crescem em biofilme expandiram (BJARNSHOLT, 2013). Entretanto, ainda existem incertezas quanto a definição mais apropriada para o termo, quando se leva em questão todos os seus aspectos e características fenotípicas.

Pela definição da *Internacional Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) de 2002, “Os biofilmes são agregados de micro-organismos nos quais as células são frequentemente incorporadas em uma matriz autoproduzida de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) que são aderentes umas às outras e/ou a uma superfície” (VERT et al., 2012). Em sua revisão, Flemming e Wuertz (2019) sugere que essa definição precisa de esclarecimento porque qualquer interface pode levar a biofilmes, não apenas uma contendo superfícies sólidas, como afirmado acima, nesse sentido o termo “agregado” explica o fato de que a maioria das células em biofilmes multicamadas são encontradas na matriz circundante, e não na camada ligada à interface.

Estima-se que as bactérias em biofilmes sejam até 1000 vezes mais resistentes aos agentes antibacterianos do que as respectivas células em estado planctônico (HØIBY et al., 2010). Vários fatores foram sugeridos para explicar a extraordinária resistência aos antibacterianos apresentada pelas bactérias em biofilme, incluindo (i) as reduzidas taxas metabólicas e de crescimento; (ii) a matriz de EPS que pode bloquear a penetração de agentes antibacterianos, dificultando o acesso às regiões inferiores do biofilme; bem como (iii) a expressão por células em biofilme, de bombas de efluxo, enzimas modificadoras de antibacterianos e proteínas neutralizadoras de antibacterianos (SHARMA et al., 2019; VUOTTO e DONELLI, 2019). Este estilo de vida multicelular também fornece às células resistência à radiação UV, à toxicidade de metal, à exposição a ácidos, dessecação, e gradientes de pH (COSTERTON et al., 1999; MISHRA et al., 2020). Os biofilmes bacterianos também facilitam a evasão imune, por exemplo, evitando a fagocitose ou modulação e disfunção das células imunes por meio da liberação de subprodutos bacterianos ou toxinas (SCHULZE, et al 2021).

Para entender as características gerais dos biofilmes é importante saber que a formação de biofilme bacteriano é um processo complexo que depende da interação entre as células bacterianas, os substratos e o meio circundante (VAN HOUDT & MICHIELS, 2010), e pode ser descrito em quatro fases principais (**Figura 1**):

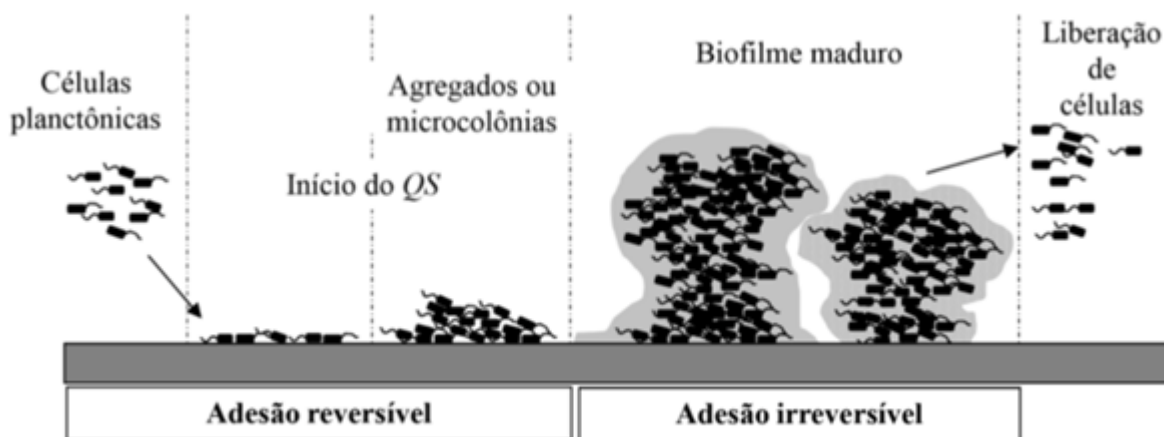
(i) adesão reversível, onde bactérias iniciam a adesão ao substrato através de adesinas bacterianas, como fimbrias e lipopolissacarídeo (LPS). Interessantemente, a fixação de células bacterianas em superfícies bióticas, como tecidos humanos, é mediada por proteínas de superfície, denominadas componentes de superfície microbiana que reconhecem moléculas adesivas de matriz (MSCRAMMs). Durante uma infecção, essas proteínas desempenham papéis importantes na ligação a fatores do hospedeiro, como fibrinogênio, fibronectina e colágeno (FOSTER et al., 2014; LISTER & HORSWILL, 2014).

(ii) adesão irreversível, quando ocorre a produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) pelas células bacterianas residentes envolvendo as microcolônias aderentes;

(iii) fase de maturação do biofilme, na qual as células bacterianas sintetizam e liberam moléculas sinalizadoras para sentirem a presença umas das outras conduzem à maturação dos biofilmes. A sinalização/comunicação de um grupo de bactérias governadas pela secreção de pequenas moléculas específicas, também denominado *Quorum Sensing* (QS), é um elemento-chave na formação de biofilme, pois permite aos micro-organismos detectar a densidade populacional e controlar de forma síncrona a expressão de genes específicos (MISHRA et al., 2020; KRZYŻEK, 2019). A natureza das moléculas do sistema QS depende do tipo de bactéria. As moléculas de QS de origem peptídica são geralmente expressas por espécies Gram positivas, como *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp., *Staphylococcus* spp., enquanto derivados de acil-homoserina lactona (AHL) são característicos de bactérias Gram negativas, como *Vibrio* e *Pseudomonas* (CANIGLIA & KRANZ, 2020). O di-AMP cíclico (c-di-AMP) um dinucleotídeo cíclico, é uma molécula de sinalização essencial em uma variedade de bactérias (CORRIGAN & GRUNDLING, 2013). Tem sido mostrada por modular a síntese e o transporte de ácidos graxos em *Mycobacterium smegmatis* (ZHANG et al., 2013) e por alterar o tamanho das células bacterianas, regular o estresse da parede celular e a formação de biofilme em *S. aureus* (CORRIGAN et al., 2011). Além disso, as alterações nos níveis de c-di-AMP influenciam a captação de potássio, a homeostase do peptidoglicano, a tolerância a ácidos, a resistência a antibacterianos, e a virulência bacteriana (CORRIGAN et al., 2011; RAO et al., 2010; BAI et al., 2013; LUO & HELMANN, 2012).

(iv) fase de dispersão/descolamento, onde as células bacterianas podem se desprender dos biofilmes e retornam ao estilo de vida planctônico (MUHAMMAD et al., 2020).

Figura 1. Estágios do desenvolvimento dos biofilmes:



(A) adesão reversível, onde bactérias iniciam a adesão ao substrato e formam microcolônias no estágio inicial de formação de biofilme e, (B) adesão irreversível, onde os biofilmes maduros são cobertos pela matriz extracelular produzida pelas bactérias. Fonte com permissão de TRENTIN et al., 2013.

2.2.1 Biofilmes de *S. aureus*

O componente da matriz mais conhecido do biofilme de *S. aureus* é a adesina intercelular polissacarídica (PIA), também conhecida como *N*-acetil-glucosamina polimérica (PNAG) (O’GARA, 2007). PIA é um componente importante em biofilmes de *S. aureus* e *S. epidermidis* que é produzido por enzimas codificadas no locus *ica* ADBC (LISTER & HORSWILL, 2014). Apesar da importância do locus do gene *ica* no desenvolvimento do biofilme, os biofilmes podem ocorrer de forma independente da *ica*. Neste sentido, Fitzpatrick e colaboradores (2005) mostraram que a formação de biofilme na cepa de MRSA BH1CC não foi afetada pela deleção do locus *ica*. Adicionalmente, foi demonstrado que uma variedade de proteínas media diferentes estágios da formação de biofilme. Certas proteínas contribuem na fixação primária a superfícies enquanto outras interagem para o acúmulo de biofilme (SPEZIALE et al., 2014). Proteínas adesinas (MSCRAMMs) constituem a maior classe de proteínas que são ancoradas na parede celular *S. aureus*. As MSCRAMMs têm diferentes papéis na virulência de *S. aureus*, como adesão e invasão de células e tecidos hospedeiros, evasão de respostas imunes e formação de biofilme. Elas incluem proteínas associadas à superfície, como proteína A, proteínas de ligação de fibrinogênio (FnBPA e FnBPB), proteína de superfície de *S. aureus* (SasG), proteína associada a biofilme (Bap), e fator de aglutinação B (ClfB) (CUCARELLA et al., 2001;

CORRIGAN et al., 2007; O'NEILL et al., 2008; MERINO et al., 2009; ABRAHAM & JEFFERSON, 2012; LISTER & HORSWILL, 2014; PARASTAN et al., 2020).

Nos estafilococos, a capacidade de detectar a densidade celular bacteriana, ou QS, e de responder com adaptações genéticas é devido a um sistema principal, que é denominado regulador de gene acessório (Agr). O sinal extracelular de Agr é um peptídeo modificado pós-tradução contendo uma estrutura de tiolactona. Em condições de alta densidade celular, Agr é responsável pelo aumento da expressão de muitas toxinas e exoenzimas degradativas e diminuição da expressão de vários fatores de colonização (LE et al., 2014).

2.2.2 Biofilmes de *P. aeruginosa*

P. aeruginosa é um formador de biofilme bem conhecido. Três exopolissacarídeos, Psl (*D*-glucose, *D*-manose e *L*-rhamnose), Pel (*N*-acetil-*D*-glucosamina e *N*-acetil-*D*-galactosamina) e alginato (ácido manurônico e resíduos de ácido gulurônico), podem estar presentes na matriz do biofilme de *P. aeruginosa*, e estão diretamente envolvidos na fixação à superfície, formação e estabilidade da arquitetura do biofilme (PANG et al., 2019).

Em *P. aeruginosa*, existem dois sistemas QS interconectados primários que dependem de moléculas de sinalização AHL: o sistema Las, que usa *N*-(3-oxododecanoil)-*L*-homoserina lactona (3-oxo-C12-HSL) como molécula sinal e o sistema Rhl, que usa *N*-butanoil homoserina lactona como molécula sinalizadora. Dois sistemas QS adicionais que não envolvem moléculas de AHL atuam como vias acessórias redundantes: sistema pqs (sinal de quinolona de *Pseudomonas*) e o sistema de detecção de quorum integrado (IQS). O QS direciona a produção de componentes essenciais do biofilme, a saber, eDNA, e o biosurfactante ramnolipídeo, sendo portanto, fundamental para o desenvolvimento de biofilmes maduros (TOLKER et al., 2014; LEE, et al., 2014; MAURICE et al., 2018).

2.3 TERAPIA ANTIVIRULÊNCIA

Diferentemente da terapia antibacteriana clássica, que tem como objetivo inibir o crescimento ou matar micro-organismos, a terapia antivirulência visa inibir a produção ou a atividade de fatores de virulência microbianos, e alterar a patogenicidade dos mesmos. Uma vez que a patogenicidade dos micro-organismos está diretamente relacionada com a capacidade de produzir fatores de virulência, como enzimas, toxinas, biofilmes, bloquear sua produção ou ação, representa atenuar a virulência dos micro-organismos, o qual pode ser eliminado pelo sistema imune competente do hospedeiro. Esta abordagem representa uma nova estratégia de controle de micro-organismos. Importaneamente, por não modular

alvos vitais dos micro-organismos, espera-se que a pressão seletiva exercida sobre os patógenos expostos a agentes antivirulência seja inferior à exercida pelos antibacterianos convencionais, e o surgimento e disseminação de mutantes resistentes podem ser menos frequentes (SILVA et al., 2016; FLEITAS MARTÍNEZ et al., 2019).

Agentes com ação antivirulência estão sendo desenvolvidos nos últimos anos. Existem atualmente 27 antibacterianos não tradicionais na clínica do pipeline antibacteriano, dos quais quatro agentes antivirulência: um fragmento de oligossacarídeo de alginato (OligoG CF-5/20), que possui atividade anti-biofilme, em testes de fase 2; um inibidor de T3SS (sistema de secreção tipo III) de *P. aeruginosa* em fase 2; um agente anti-toxina lipossomal (CAL02) em fase 1; e um inibidor de proteína adesiva de *Escherichia coli*, FimH, (adesina responsável pela ligação à D-manose) em fase 1 (WHO, 2020).

2.3.1 Estratégias terapêuticas antibiofilme

Existem duas grandes estratégias de modulação para controlar biofilmes: (i) interferir na formação dos biofilmes, em uma abordagem conhecida como inibição da formação de biofilmes, ou (ii) romper/desfazer biofilmes já formados, em uma abordagem chamada de erradicação de biofilmes (MARTÍNEZ et al., 2019).

Compostos inibidores da formação de biofilmes podem dificultar a adesão bacteriana, bloquear a produção de matriz extracelular, evitando adesão irreversível dos biofilmes, ou perturbar a transdução de sinal através de interferência no sistema QS (AHMED et al., 2014; MARTÍNEZ et al., 2019).

Em geral, o di-GMP cíclico e o di-AMP cíclico (PENG et al., 2016), controlam várias exoenzimas produtoras de EPS, polissacarídeos e adesinas que são alvos para estratégias de controle de biofilmes. Estas moléculas de sinalização regulam exoenzimas produtoras de glucano (glucosiltransferase) em *S. mutans* (Gram positiva), bem como os exopolissacarídeos agregativos Psl e Pel em *P. aeruginosa* (Gram negativa). A inibição da síntese de EPS glucano pela glucosiltransferase através de moléculas inibitórias tem mostrado reduzir o acúmulo de biofilmes patogênicos nos dentes e suprimir o aparecimento de doenças orais sem perturbar a microbiota residente de *S. mutans* (KOO et al., 2017).

A prevenção da comunicação célula a célula (QS) é outra estratégia eficiente para restringir a formação de biofilme (SHARAH et al., 2019). Os agentes antibiofilme interrompem os sistemas de detecção de *quorum* principalmente de duas maneiras: (1) inibição e degradação de moléculas de sinal e (2) mimetizando as moléculas de sinal para a inibição de sua ligação aos receptores correspondentes (KALIA, 2013; MISHRA et al.,

2020). Um dos mecanismos de ação mais conhecidos dos inibidores de QS é a inativação das moléculas AHLs (SADEKUZZAMAN et al., 2015). A inibição da síntese de moléculas sinal (por exemplo AHLs) por inibidores de QS como *N*-octanoil-L-HSL (C8-HSL) também é bem descrita na literatura (HIRAKAWA & TOMITA, 2013).

Já os compostos erradicadores de biofilmes atuam desestabilizando componentes da matriz levando a desintegração do biofilme existente (AHMED et al., 2014; MARTÍNEZ et al., 2019). As DNases demonstraram eficácia em romper biofilmes. O DNA extracelular (e-DNA) contribui para as interações célula-superfície e célula-célula, transferência horizontal de genes, integridade, coesividade e viscoelasticidade da matriz do biofilme, desempenhando um papel importante na estabilidade do biofilme (WHITCHURCH et al., 2002; SHARMA & SINGH, 2018). DNases degradam o e-DNA presente na matriz de biofilmes, tornando-a fraca e suscetível a antibacterianos (SHARMA & SINGH, 2018). Outras enzimas de degradação da matriz de biofilme, como beta-*N*-acetilglucosaminidase e dispersina B secretada pelo patógeno periodontal Gram negativo *Actinobacillus actinomycetemcomitans* desintegram biofilmes maduros de *S. epidermidis* (RAMASUBBU et al., 2005). Estudos mostraram que glucano-hidrolases, glicosídeo-hidrolases e DNases aumentam a liberação de antimicrobianos e potencializam a morte por antibacterianos ou AMPs quando usados em combinação contra biofilmes pré-formados *in vitro* (BAELO et al., 2015).

Dada a maior complexidade envolvida nas infecções associadas à biofilmes, o tratamento requer terapias combinadas ou aquelas que visam mais de um componente deste microambiente complexo, como por exemplo, um agente eficaz contra componentes da matriz e outro contra células bacterianas; ou um contra células em estado metabólico mais reduzido e outro contra células em crescimento (KOO et al., 2017).

2.4 FAMÍLIA COMBRETACEAE

A família Combretaceae compreende cerca de 20 gêneros (*Anogeissus*, *Buchenavia*, *Bucida*, *Calopyxis*, *Combretum*, *Conocarpus*, *Dansiea*, *Getonia*, *Guiera*, *Laguncularia*, *Lumnitzera*, *Macropteranthes*, *Meiostemon*, *Ptelepsis*, *Quisqualis*, *Ramatuela*, *Strephonema*, *Terminalia*, *Terminaliopsis* e *Thiola*) e 600 espécies. Estas ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais, com maior diversidade na Ásia e na África (JOLY, 1975; LIMA et al., 2012; COCK & VAN VUUREN, 2015).

No Brasil há registros de ocorrência de 64 espécies de Combretaceae em todas as regiões, sendo treze endêmicas (MARQUETE, 2012). Embora estas espécies estejam

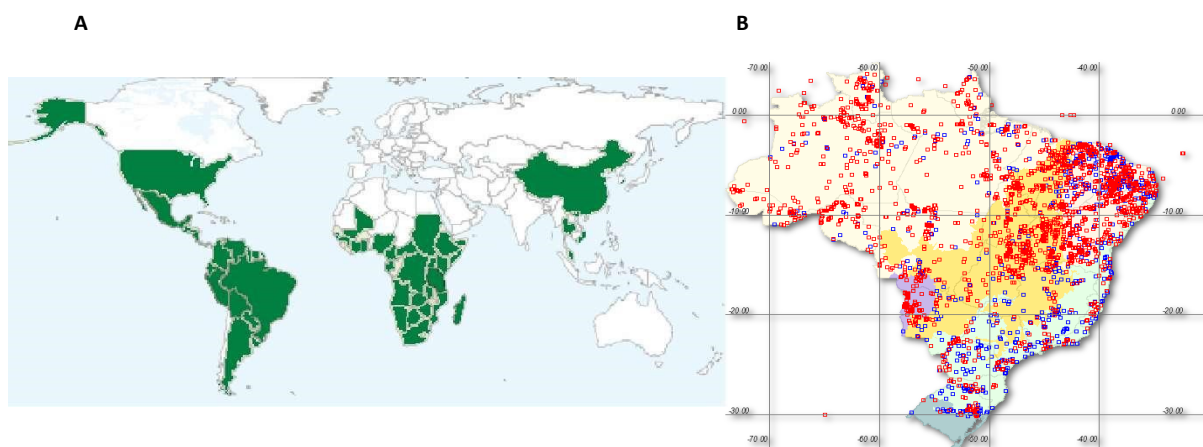
presentes nos mais diversos domínios fitogeográficos e tipos de vegetação do país, elas são mais frequentes em ambientes úmidos, contando com o registro de 47, 29 e 16 espécies nos biomas Amazônia, Mata Atlântica e Caatinga, respectivamente (MARQUETE, 2012; SOARES NETO et al., 2014)

2.4.1 Gênero *Combretum*

Este gênero compreende cerca de 276 espécies com uma distribuição pantropical principalmente na África tropical e na Ásia, mas ausente na maior parte da Austrália e das Ilhas do Pacífico (**Figura 2A**) (STACE, 2007; POWO, 2021; BOON et al., 2020).

As espécies de *Combretum* incluem árvores, arbustos e trepadeiras, as quais são encontradas em quase todos os biomas brasileiros como pode ser observado no mapa contendo os registros de coleta e depósito das espécies (**Figura 2B**) (MARQUETE & VALENTE, 1997). Estudos fitoquímicos realizados com o gênero *Combretum* demonstram a ocorrência de diversas classes de produtos naturais bioativos, incluindo, flavonoides, lignanas, taninos, derivados do ácido elágico, diterpenos, triterpenos, saponinas, cumarinas, alcaloides e derivados fenantrênicos e estilbenoides (PIETROVSKI et al., 2006; LIMA et al., 2012).

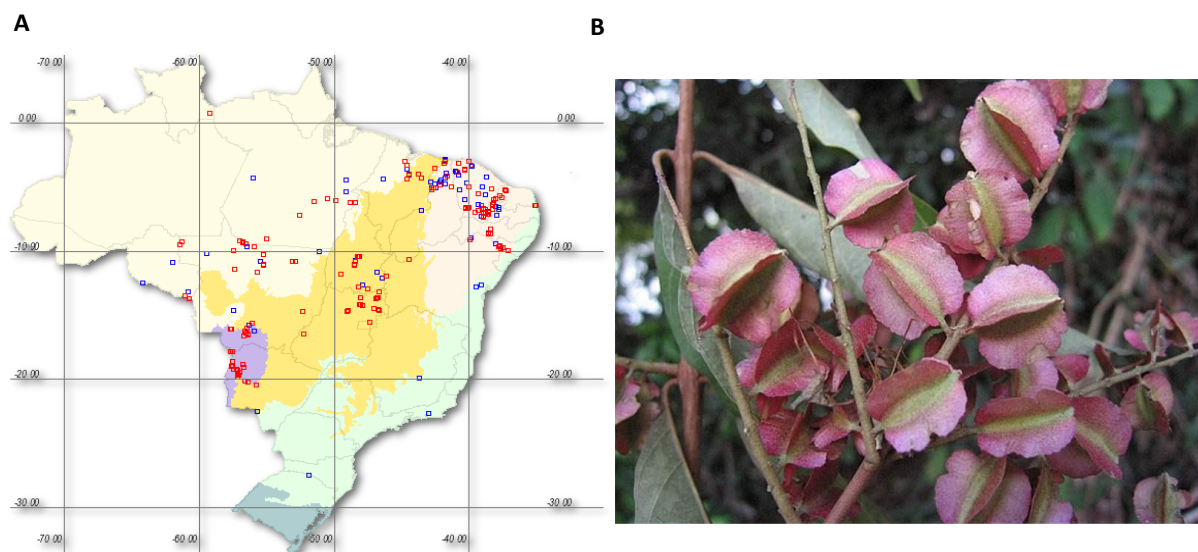
Existe um grande interesse científico nesse gênero em função de seu potencial terapêutico. Vários metabólitos foram reportados com atividade antibacteriana, a saber: triterpenóides descritos para as espécies de *Combretum racemosum*, *Combretum imberbe* e *Combretum leprosum* (GOSSAN et al., 2016; ANGEH et al., 2017; CRUZ et al., 2019, KATERERE et al., 2003; EVARISTO et al., 2014); os flavonoides apigenina, genkwanina, 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona, ramnocitrina, kaempferol, rhamnazina, isolados de *Combretum erythrophyllum* (MATINI et al., 2004); o flavonol acacetina isolado de *Combretum vendae* (KOMAPE et al., 2014); e, a lignana 2,3-dimetil-4-(4-metoxifenil)-6,7-dihidroxi-naftaleno de *Combretum alfredii* Hance (BAI et al., 2007).

Figura 2:

(A) mapa contendo os registros de coleta e depósito de espécies do gênero *Combretum* no mundo (marcado em verde) e no Brasil (B). Fonte: *Missouri Botanical Garden* (<http://www.tropicos.org/>) e *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>).

2.4.1.1 *Combretum lanceolatum* Pohl ex Eicher.

C. lanceolatum, comumente conhecido como pombeiro-vermelho, é uma espécie neotropical, com distribuição exclusiva na América do Sul, encontrada no Paraguai e no Brasil (EXELL, 1953) (**Figura 3A**). É notavelmente identificada pelos seus arbustos escandentes, inflorescência paniculada e flores com hipanto superior crateriforme, disco nectarífero desenvolvido, margem vilosa, pétalas arredondadas a oblatas; e fruto com alas desenvolvidas (LOIOLA, 2009) (**Figura 3B**).

Figura 3:

(A) mapa de registros de coletas e depósitos de *C. lanceolatum* no Brasil. (B) amostra da planta (*C. lanceolatum*). Fonte: *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>) e *Plants of the World online* (<http://www.plantsoftheworldonline.org/>).

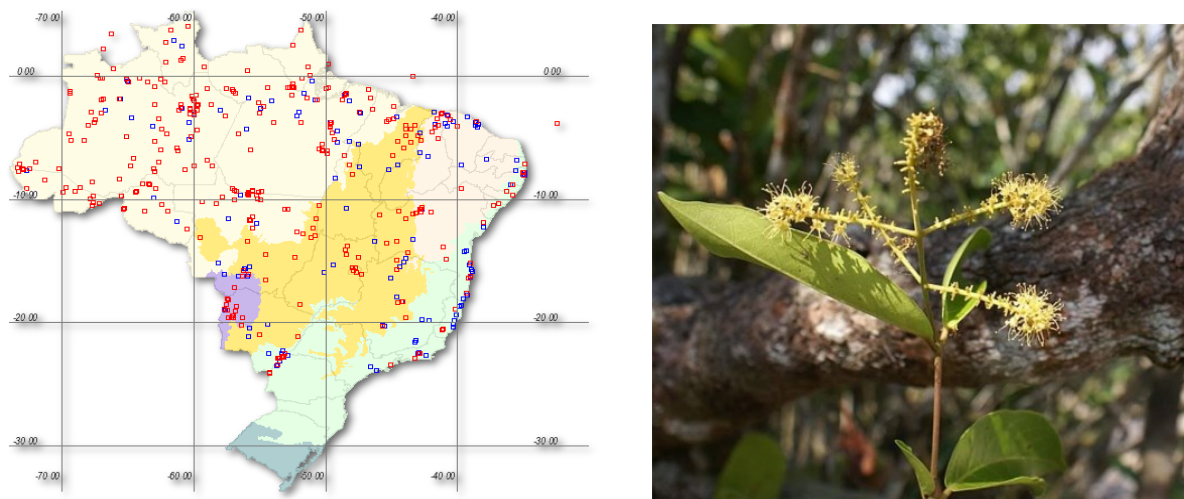
As cascas de *C. lanceolatum* são usadas na medicina popular no Brasil como adstringente e anticâncer (SAZIMA, 2001; SCHESSL, 1999). Das flores de *C. lanceolatum* foram isolados quatro flavonóis metoxilados (ARAÚJO et al., 2013). Foi demonstrada atividade antihiperglicêmica a partir dos extratos das flores, atuando principalmente na inibição da gliconeogênese hepática, através da ativação da proteína quinase pela adenosina monofosfato e da redução dos níveis de carboxiquinase fosfoenolpiruvato (SIQUEIRA et al., 2016). O extrato etanólico das folhas de *C. lanceolatum* demonstrou efeitos ansiolítico e anticonvulsivante, o que foi parcialmente explicado por uma interação com o receptor GABA A (DA SILVA et al., 2021). No entanto, *C. lanceolatum* é uma espécie ainda pouco estudada, sendo que no banco *Chemical Abstracts* há apenas nove artigos publicados.

2.4.1.2 *Combretum laxum* Jacq.

C. laxum, conhecida como pombeiro-branco, é uma espécie neotropical, exclusiva nas Américas, com distribuição confirmada no México, Panamá, Guatemala, Honduras, Antilhas, Suriname, Guianas, Venezuela, Colômbia, Equador, Bolívia, Peru, Paraguai, Argentina e Brasil (**Figura 4A**) (EXELL, 1953). Esta espécie pode ser facilmente reconhecida pelo hipanto superior pateliforme-cupuliforme com lobos do cálice reduzidos,

menores que 0,5 mm de comprimento, pelas pétalas reniformes, e pelo fruto elipsóide com alas curtas (**Figura 4B**) (LOIOLA, 2009).

Figura 4:



(A) mapa de registros de coletas e depósitos de *C. laxum* no Brasil. (B) amostra da planta (*C. laxum*). Fonte: *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>) e *Plants of the World online* (<http://www.plantsoftheworldonline.org/>).

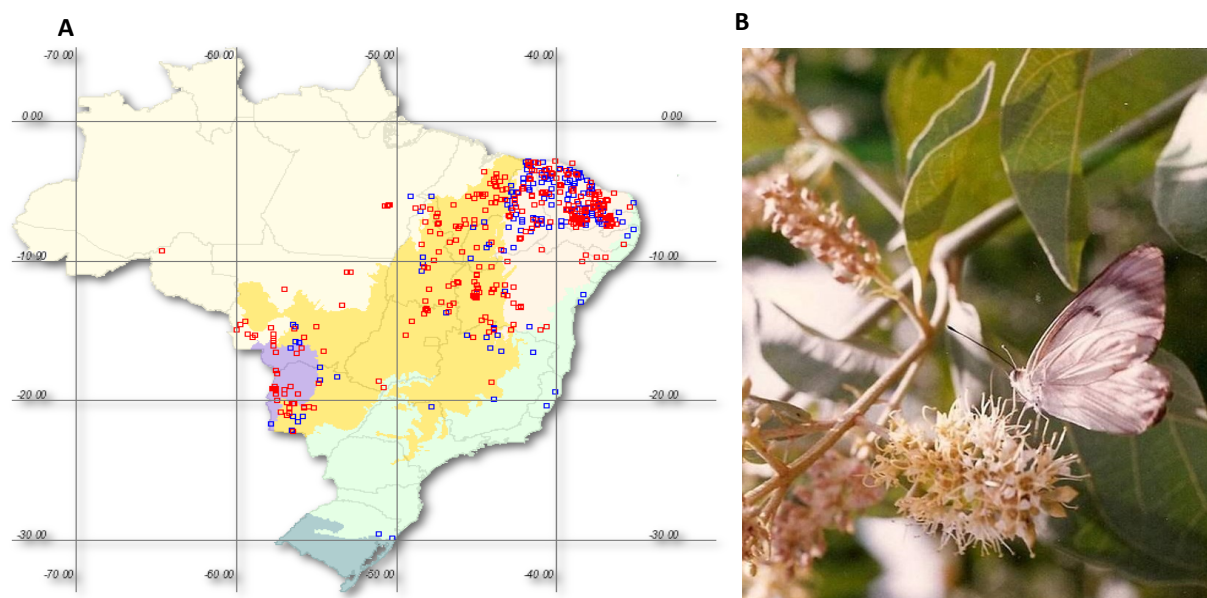
O *trans*-4-hidroxiprolinabetaína foi isolada com altos rendimentos a partir de espécimes coletadas na Venezuela (ADRIAN-ROMERO, 2007). Já em estudos realizados a partir de espécimes coletadas no Brasil, foram isolados do caule onze triterpenos pentacíclicos pertencentes às classes olenano, ursano e lupano, os quais revelaram atividade antifúngica contra *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans* (BISOLI et al., 2008). Sete flavonóis glicosilados e esterificados por ácido gálico foram isolados de *C. laxum*, como também os ácidos elágico e gálico (GULDBRANDSEN et al., 2015).

2.4.1.3 *Combretum leprosum* Mart.

C. leprosum é uma espécie neotropical com ocorrência registrada no Brasil (**Figura 5A**) e no Paraguai. Trata-se de uma espécie de fácil identificação pelo hábito arbustivo, frequentemente escandente, às vezes volúvel, pelas folhas verde-acinzentadas, flores com hipanto superior alongado-campanulado e pétalas arredondadas a oblatas (**Figura 5B**) (LOIOLA & SALES, 1996). *C. leprosum* é conhecida no Nordeste pelo nome popular de “mufumbo” ou “cipoaba”, cujas raízes são usadas na medicina popular para o tratamento de

hemorragias, sendo também citadas propriedades analgésicas e sedativas (LIRA, 2002; LORENZI, 2002).

Figura 5:



(A) mapa de registros de coletas e depósitos de *C. leprosum* no Brasil. (B) amostra da planta (*C. leprosum*). Fonte: *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>) e *Plants of the World online* (<http://www.plantsoftheworldonline.org/>).

A presença de triterpenos (ácido arjunóico, maslínico, ácido asiático e $3\beta,6\beta,16\beta$ -trihidroxi-lup-20(29)-eno) e flavonoides (3-*O*-metilquercetina e quercetrina) tem sido relatada em *C. leprosum* (FACUNDO et al., 1993). O ácido arjunóico apresentou atividade anti-inflamatória, antinociceptiva em duas fases de dor, a partir de testes feitos com o extrato etanólico das raízes e anticolinesterásica de epicatequina obtida da fração hidroalcoólica de *C. leprosum* (FACUNDO et al., 2005; PIETROVSKI et al., 2006; LOPES et al., 2012).

O triterpeno lupano $3\beta,6\beta,16\beta$ -trihidroxi-lup-20(29)-eno demonstrou atividade antitumoral (VIAU et al., 2014), antiproliferativa e anti-inflamatória (LONGHI-BALBINOT et al., 2012; NASCIMENTO-NETO et al., 2015; HORINOUCI et al., 2016), e tem se destacado por exibir diversas atividades antimicrobianas, tais como (i) inibição do crescimento planctônico de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis* (Concentração inibitória mínima -MIC 7,8 $\mu\text{g/mL}$ e Concentração bactericida mínima - MBC 15,6 $\mu\text{g/mL}$ para ambos micro-organismos) e inibição da formação de biofilmes de *S. mutans* e *S. mitis*, com redução de 97% da biomassa (EVARISTO et al., 2014), (ii) erradicação de biofilmes pré-formados de *Streptococcus parasanguinis*, onde o tratamento com 500 $\mu\text{g/mL}$ reduziu o

número de células viáveis em aproximadamente 5.3 log (EVARISTO et al., 2017), (iii) atividade antibacteriana frente a *S. aureus* multirresistente (MIC <4 µg/mL) (CRUZ et al., 2019), (iv) efeito sinérgico com o antibacteriano amicacina frente a *S. aureus* e *E. coli* multirresistentes, bem como com gentamicina frente a *E. coli* multirresistente (CRUZ et al., 2019) e, (v) atividade leishmanicida contra *Leishmania (L). amazonensis* (TELES et al., 2015).

2.5 METABOLÔMICA

A metabolômica é uma ferramenta baseada na análise do metaboloma, relacionado à descrição de metabólitos de baixo peso molecular (<1 kDa), a partir de um sistema, tecido, célula ou organismo permitindo e facilitando a comparação metabólica simultânea de diferentes amostras biológicas de um grande número de dados (WU et al., 2015). A metabolômica expressa a funcionalidade dos sistemas biológicos através da observação de variações metabólicas, podendo incluir aminoácidos, nucleotídeos, ácidos graxos, cofatores, fármacos e metabólitos associados a medicamentos (BURDINE & KODADEK, 2004; SCHENONE et al., 2013). Desta maneira, a metabolômica pode ser aplicada na compreensão das variações metabólicas dos indivíduos e obtenção de diversas respostas biológicas (BOWNE et al., 2011; SAIA et al., 2019). Além disso, é importante ressaltar que esta metodologia está em constante evolução em todo o mundo como, por exemplo, sua combinação com a genômica, o que é refletido na área de produtos naturais.

A associação da metabolômica com métodos estatísticos fornece uma melhor visualização de vastos dados e simplifica a análise necessária para responder a hipótese delineada, incluindo até mesmo aplicações quimiotaxonômicas (SANTOS et al., 2017). Essas ferramentas metabolômicas também estão sendo utilizadas na elucidação das propriedades biológicas de misturas de substâncias (extratos e frações), auxiliando na identificação de sinergismo, pro-fármacos e determinação de substância(s) ativa(s) (DEMARQUE et al., 2020). Como, por exemplo, nos estudos de gengibre que foram realizados através de correlações dos perfis metabólico e biológico, foi possível confirmar que a atividade anticâncer dos extratos não estava centrada apenas na concentração de gingerol, uma substância com propriedades biológicas já conhecidas, mas também está diretamente relacionada aos shogaols (CHENG et al., 2011).

Com o desenvolvimento das ciências ômicas, e mais particularmente a metabolômica, os métodos de perfil de metabólitos evoluíram consideravelmente e podem

produzir uma quantidade importante de informações sobre a composição química da planta. Essas investigações podem ser utilizadas para um estudo abrangente da composição química de um extrato vegetal de interesse ou em combinação com análise quimiométricas de dados na busca de biomarcadores responsáveis pela discriminação entre conjuntos de amostras (WOLFENDER et al., 2019). Embora enormes conjuntos de dados sejam gerados a partir desses instrumentos, a evolução da quimiometria e dos algoritmos de análise de dados multivariados fornece uma ferramenta eficaz para extrair informações úteis de tais resultados de alta dimensionalidade (SALEM et al., 2020).

Dentre os principais métodos de análise associados às técnicas cromatográficas, tem-se a espectrometria de massas (EM) e a ressonância magnética nuclear (RMN). A EM tem sido mais amplamente empregada devido as suas vantagens, as quais incluem a sensibilidade, reprodutibilidade e custos, além de gerar informações que auxiliam a anotação dos componentes das amostras (DEMARQUE et al., 2020). A anotação dos componentes pode ser realizada através da combinação de dados de EM em alta resolução e perfis de fragmentações. Isto se aplica especialmente para séries homólogas de compostos cuja relação estrutura-fragmentação já tenha sido previamente estudada e descrita (PIVATTO et al., 2005). Grandes bancos de dados espectrais de massas e espectrais de RMN foram criados para facilitar e acelerar a anotação dos constituintes, dentre esses bancos podemos citar o GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*) (SALEM et al., 2020).

As bases de dados espectrais públicas mais utilizadas para comparação dos dados espectrais, estão o Metlin e MassBank com aproximadamente 11,209 e 2,000 espectros (ESI-MS/MS), respectivamente. Entretanto, este número de compostos presentes nessas bases é insignificante quando se compara as mais de 19 milhões de estruturas químicas contidas na base de dados do PubChem (ALLEN et al., 2015).

3 JUSTIFICATIVA

É importante destacar que a indústria farmacêutica não apresenta há pelo menos duas décadas fármacos para infecções bacterianas com mecanismos de ação diferentes dos já disponíveis no mercado, evidenciando a necessidade dessa busca por alternativas e que a pesquisa, a descoberta e o desenvolvimento de novos antimicrobianos contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* é considerada como alta prioridade pela OMS (2017).

No presente estudo, selecionamos três espécies brasileiras de *Combretum*, a saber: *C. leprosum*, *C. laxum* e *C. lanceolatum*. Até o momento apenas três artigos foram publicados quanto à atividade antimicrobiana de apenas uma dessas espécies, a *C. leprosum*. O triterpeno isolado 3 β , 6 β , 16 β -tri-hidroxilup-20(29)-eno de *C. leprosum*, foi descrito por seus efeitos na inibição do crescimento planctônico e de biofilmes de *S. mutans*, *S. mitis*, *S. parasanguinis*, *S. aureus* multirresistente e sinergismo com os antibacterianos gentamicina e amicacina contra *Escherichia coli* multirresistente (EVARISTO et al., 2014; EVARISTO, 2017, CRUZ et al., 2019).

Considerando (i) a necessidade de novos agentes para o controle de micro-organismos, (ii) a importante contribuição de produtos naturais e suas estruturas químicas no tratamento de doenças infecto-contagiosas causadas por *S. aureus* e *P. aeruginosa* com menor pressão seletiva para o surgimento de cepas resistentes, refletindo diretamente em menor morbi-mortalidade e redução nos custos financeiros dos sistemas de saúde, (iii) a escassez de trabalhos publicados avaliando a atividade antibacteriana e antivirulência das espécies *C. laxum*, *C. lanceolatum* e *C. leprosum*, (iv) as vantagens oferecidas pelas análises metabolômicas na geração de novos compostos líderes, e (v) a demonstração do potencial biotecnológico da biodiversidade brasileira na prospecção de produtos naturais como moléculas protótipo para o planejamento de novos agentes anti-infectivos, e desenvolvimento de hospedeiros experimentais invertebrados, a realização deste trabalho é justificada, demonstrando importância e relevância para as áreas envolvidas.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Identificar substâncias com ação antibiofilme ou antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* e/ou *Pseudomonas aeruginosa* provenientes das espécies *Combretum lanceolatum*, *Combretum laxum* e *Combretum leprosum* (Combretaceae).

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar a capacidade de extratos orgânicos de três espécies de *Combretum* em inibir a formação de biofilme de cepas padronizadas de *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

b) Avaliar a capacidade de extratos orgânicos de três espécies de *Combretum* em inibir o crescimento de cepas padronizadas de *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

c) Determinar através de análises metabolômicas e estatísticas possíveis substâncias bioativas presentes nos diferentes extratos vegetais.

d) Avaliar a atividade antibacteriana e antibiofilme das substâncias puras e em combinação.

e) Avaliar a toxicidade dos extratos e de substâncias puras *in vivo* utilizando hospedeiro alternativo de larvas de *Galleria mellonella*.

f) Determinar a eficácia *in vivo* dos extratos e de substâncias puras no tratamento de infecções utilizando o hospedeiro alternativo de larvas de *Galleria mellonella*.

5 RESULTADOS

Os resultados deste trabalho estão redigidos na forma de dois artigos científicos em língua inglesa conforme as normas e diretrizes de dissertações e teses do programa de pós-graduação em Biociências da UFCSPA. Contudo, considerando a confidencialidade para publicação, os artigos foram suprimidos deste documento.

6 DISCUSSÃO GERAL

A formação de biofilme é muito relacionada ao desenvolvimento de infecções bacterianas persistentes, particularmente quando associados a dispositivos médicos, acarretando falha nos tratamentos com antibacterianos (ZHANG et al., 2020). Isso tem levado a aumentos na morbidade e mortalidade, impondo também uma forte pressão econômica ao setor de saúde (SRINIVASAN et al., 2021). A busca por novas estratégias antibiofilme a partir de moléculas com mecanismos de ação diferentes dos atuais antibacterianos é extremamente necessária. Os produtos naturais por sua vez, constituem fonte de uma ampla diversidade de estruturas químicas, o que os torna interessantes na busca de novos protótipos a candidatos a fármacos (NEWMAN & CRAGG, 2020). Nessa perspectiva, abordagens metabolômicas pode acelerar, com menor custo, o processo de identificação de compostos responsáveis por propriedades biológicas (DEMARQUE et al., 2020).

No presente estudo, focamos nas atividades antibacteriana e antibiofilme de três espécies brasileiras de *Combretum*, *C. laxum*, *C. lanceolatum* e *C. leprosum* a fim identificar, com o auxílio de ferramentas metabolômica, os compostos naturais bioativos, como descrito no manuscrito I. Optamos pelo método de extração acelerada por solvente devido as suas inúmeras vantagens frente a outras técnicas de extração, como, por exemplo, maior rendimento e possibilidade de posterior escalonamento. Além disso, este sistema aceita a extração com solventes de diferentes polaridades de maneira subsequente, o que permite a obtenção de extratos com composições químicas diferentes e, maior exaustão na extração dos componentes presentes nos materiais vegetais, ampliando a possibilidade de obtenção de novas substâncias bioativas. Os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* mostraram que os extratos hidrometanólicos (MeOH70) na concentração de 0,5 mg/mL se destacaram por inibir 65 a 90% a formação de biofilmes de *S. aureus* sem afetar o crescimento. Importaneamente, estes extratos foram os que apresentaram maior rendimento na extração, evidenciando a alta quantidade de compostos polares presentes nas três espécies vegetais. Não foi observado efeito dos extratos de *Combretum* contra *P. aeruginosa*. Da mesma forma, o estudo conduzido por Evaristo et al., (2014), demonstrou que o triterpeno 3 β ,6 β ,16 β - triidroxilup-20 (29) -eno isolado de *C. leprosum*, ativo contra os Gram positivos *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus parasanguinis*, e *S. aureus*, também não foi ativo contra os Gram negativos *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella oxytoca*.

As análises de componentes principais (PCA) e o dendrograma de análise de agrupamento hierárquico (HCA) mostraram a formação de dois grupos, um formado pelos extratos mais ativos (MeOH70) e outro pelos extratos menos ativos (DCM), com diferenciação química dos perfis metabólicos entre os grupos. Isto indica que as substâncias polares foram as mais importantes para a atividade antibiofilme de *S. aureus*. A este respeito, flavonoides e outros compostos fenólicos constituem uma classe de compostos naturais com marcada atividade contra fatores de virulência bacterianos (SILVA et al., 2016). É importante reportar que alguns flavonoides podem ainda aumentar a sensibilidade das bactérias aos antibacterianos e, até mesmo, reverter a resistência antibacteriana (CUSHNIE et al., 2005). Um exemplo é o caso do flavonoide miricetina quando combinado com oxacilina, que é capaz de reverter a resistência de MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina), como descrito pelo nosso grupo de pesquisa (PINTO et al., 2020).

A análise do coeficiente de correlação de Pearson r sugeriu 35 metabólitos bioativos a partir das amostras analisadas de *Combretum*, entre eles alcalóides, taninos, ácidos fenólicos, flavonoides, açúcares simples e flavonoides glicosilados, como potenciais substâncias com atividade antibiofilme de *S. aureus*. A predição de flavonoides glicosilados como isoorientina (22), vitexina (26), isovitexina (28) e açúcares simples, como di-*O*-hexoside (2) e manitol (3) com correlação positiva para a atividade antibiofilme de *S. aureus*, nos levou a realizar uma busca da literatura sobre o efeito da glicosilação na atividade de flavonoides. A relação estrutura/atividade relacionada a ação antibacteriana de flavonoides glicosilados e não glicosilados (forma aglicona) tem sido demonstrada (VIKRAN et al., 2010), sendo que maior atividade antibacteriana é observada para formas agliconas e do que para as formas glicosiladas dos flavonoides. Propomos então, no manuscrito II desta dissertação, investigar se esta observação também se aplica para a atividade antivirulência. Com base na mesma estrutura central, diferenças na resposta biológica das subclasses de flavonóides glicosilados foram observadas. Embora um número relativamente baixo de estudos correlacionando a estrutura dos flavonoides com atividades antivirulentas esteja disponível na literatura, no geral, a glicosilação não apenas reduz a atividade antibacteriana dos flavonoides, mas também influencia negativamente a resposta antibiofilme e para outros fatores de virulência, como sistema QS, motilidade, enzimas, toxinas e pigmentos.

O efeito de 18 substâncias puras, a saber: galocatequina (9), catequina (10), epicatequina (16), ácido elágico (25), vitexina (26), isovitexina (28), isoquercetrina (29), quercetina (34), açúcares simples, sugeridos por EM como isômeros di-*O*-hexosídeos (2) e manitol (3) e seus possíveis isômeros, ou seja, sacarose, lactose, maltose (MW 342) e

sorbitol, galactitol e dulcitol (MW 182), e as agliconas miricetina, luteolina e apigenina, relacionadas com *O*-desoxihexosil miricetina (27), *O*-desoxihexosil luteolina (32), e *C*-vitexina (26) e isovitexina (28), respectivamente, foram investigadas, nas concentrações de 200 e 20 μ M, na formação de biofilme e crescimento de *S. aureus*. As substâncias luteolina, miricetina e quercetina (34) apresentaram melhores atividades, inibindo em 50% a formação de biofilme na concentração 200 μ M e em 35% na concentração de 20 μ M. O ácido elágico (25) por sua vez, determinou ser mais ativo, inibindo em 66% a formação de biofilme em 20 μ M, sem afetar o crescimento bacteriano. Ensaios de combinações de ácido elágico (25) em concentrações mais baixas (10 ou 5 μ M) com miricetina, quercetina e luteolina a 20 μ M, não demonstraram efeitos sinérgicos, do contrário evidenciaram o ácido elágico (25) como o principal responsável pela atividade de inibição do biofilme de *S. aureus*.

A curva dose-resposta realizada para ácido elágico mostrou supressão da formação de biofilme até 0,1563 μ M (33%) e 72% de inibição do biofilme é alcançada em 2,5 μ M, enquanto o crescimento bacteriano não é afetado. Quando avaliado o efeito da substância na hidrofobicidade da superfície de *S. aureus*, observou-se um aumento significativo na hidrofobicidade da superfície celular, indicando que o ácido elágico induz alterações na superfície de *S. aureus* que interferem no material bacteriano. À medida que a concentração de ácido elágico diminui, o revestimento hidrofóbico também diminui e a capacidade de inibir a formação de biofilme é perdida. Além disso, esta substância não foi ativa sobre biofilmes de *S. aureus* pré-formados, indicando o ácido elágico pode ser útil para prevenir, mas não para tratar, infecções associadas a biofilmes.

Esses resultados apontam o ácido elágico, como um importante componente ativo das espécies de *Combretum*. Sua ação antibiofilme já foi evidenciada para *Streptococcus dysgalactiae* (DÜRIG et al., 2010). Adicionalmente, a caracterização do extrato metanólico de romã (*Punica granatum* L.) revelou a presença de ácido elágico como componente majoritário. O ácido elágico foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus* em concentrações mais elevadas (>75 μ g/mL) e formação de biofilme em concentrações mais baixas (<40 μ g/mL) (BAKKIYARAJ et al., 2013). Posteriormente, a combinação entre ácido elágico e o antibacteriano tetraciclina foi capaz de inibir efetivamente a formação de biofilme por *Propionibacterium acnes* (80-91%) sem afetar seu crescimento (SIVASANKAR et al., 2016).

É importante destacar que Quave et al., (2012) demonstraram que o extrato de amora (*Rubus ulmifolius* Schott.), rico em ácido elágico e derivados glicosilados do ácido elágico, limita a formação de biofilme de *S. aureus* e que Fontaine e colaboradores (2017)

identificaram glicosídeos de ácido elágico, como xilosídeo de ácido elágico e ramnosídeo de ácido elágico, como os componentes do extrato de *Rubus* com atividade comparável ao extrato complexo. Neste contexto, cabe destacar que, como já descrito, nossos dados não evidenciaram potencialização da atividade do ácido elágico quando na presença de uma mistura de açúcares simples.

Tem sido bem reconhecido que substâncias isoladas raramente têm o mesmo grau de atividade que o extrato bruto em concentrações ou doses comparáveis do componente ativo (RASOANAIVO et al., 2011), o que indica que efeitos sinérgicos desempenham importante papel nas diversas propriedades biológicas encontradas em extratos, como vegetais. No presente trabalho, os extratos de *Combretum* foram capazes de inibir em 65-90% a formação de biofilme de *S. aureus*. Embora não tenham sido observados efeitos entre quercetina, miricetina, luteolina, ácido elágico, e os açúcares, a taxa de inibição observada para o ácido elágico é comparável à dos extratos mais ativos, mesmo em concentrações de 2,5 μM (72%). É possível que outros componentes ativos não tenham sido avaliados. Além disso, nem todas as substâncias anotadas para as espécies de *Combretum* foram caracterizadas ou mesmo testadas, como é o caso do alcalóide turicina (4), que apresentou alta correlação com a atividade antibiofilme e para o qual não há relatos na literatura sobre atividade biológica. Esta substância não está disponível comercialmente, portanto, deve ser posteriormente isolada para avaliação *in vitro*.

Por fim, o presente trabalho evidencia a aplicabilidade de abordagens metabolômicas e estatísticas na predição e determinação de potenciais substâncias candidatas ao estudo microbiológico experimental. Dentre as grandes vantagens estão o menor tempo e custo quando comparado abordagens tradicionais que envolvem o isolamento, purificação, elucidação de uma série de compostos para posterior avaliação biológica. Assim, a partir de análises metabolômica estatísticas foi possível identificar o ácido elágico como substância-protótipo antivirulência, a partir de espécies de *Combretum*. Sua atividade antibiofilme, sem ação sobre o crescimento bacteriano, foi confirmada experimentalmente (73% inibição). Substâncias antibiofilme, como o ácido elágico, podem potencialmente ser utilizadas como coadjuvantes no tratamento de infecções, com menor probabilidade de surgimento de resistência, e no desenvolvimento de superfícies menos propensas à adesão bacteriana, fundamental na redução de infecções associadas à dispositivos médicos.

7 CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* mostraram que os extratos hidrometanólicos (MeOH70) na concentração de 0,5 mg/mL inibem em 65 a 90% a formação de biofilmes de *S. aureus* sem afetar o crescimento bacteriano.

- Os extratos das três espécies de *Combretum* não tiveram efeito sobre o biofilme e crescimento de *P. aeruginosa*.

- As análises metabolômicas e estatísticas sugeriram 35 metabólitos bioativos a partir das amostras analisadas de *Combretum*, entre eles alcaloides, taninos, ácidos fenólicos, flavonoides, açúcares simples e flavonoides glicosilados, como candidatos potenciais a agentes antibiofilme.

- Quatro substâncias, miricetina, quercetina, luteolina e ácido elágico, se destacaram na inibição da formação de biofilme de *S. aureus*. O efeito de inibição do ácido elágico se compara aos efeitos vistos pelos extratos mais ativos, destacando a sua ação antibiofilme (73%), sem inibir o crescimento bacteriano, mesmo em concentrações baixas como 0,1563 μ M. Além disso, dentre os 35 metabólitos com correlação com atividade antibiofilme de *S. aureus*, alguns desses ainda não foram estudados, como por exemplo a turicina.

- É provável que o ácido elágico impeça a interação bactéria-material das superfícies, uma vez que levou ao aumento da hidrofobicidade na superfície de *S. aureus* nas mesmas concentrações que afetaram a formação do biofilme (até 0,1563 μ M). No entanto, o ácido elágico não foi capaz de erradicar a biomassa já aderida no ensaio de erradicação de biofilme de *S. aureus*.

- O ácido elágico e os 4 extratos brutos de *Combretum* mais ativos não são tóxicos, conforme determinado pelo modelo de larva da *Galleria mellonella*.

- Os resultados demonstraram o potencial antibiofilme de *Combretum*, especialmente frente a bactérias Gram positivas, como *S. aureus*.

- As ferramentas metabolômicas foram importantes para sugestão e determinação dos possíveis componentes bioativos, e mostra a aplicabilidade dessa abordagem para a predição de substâncias ativas contra micro-organismos.

8 PERSPECTIVAS

- Verificar a eficácia de extratos de *Combretum* e do composto ácido elágico no tratamento de infecções por *S. aureus* por meio de ensaios *in vivo* no modelo experimental alternativo de larvas de *G. mellonella*.

- Isolar a substância turicina a partir de extratos de *Combretum* e realizar posterior investigação do seu efeito na inibição de crescimento e biofilmes bacterianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, N.M., JEFFERSON, K.K. *Staphylococcus aureus* agglutination factor B mediates biofilm formation in the absence of calcium. **Microbiology**, 158, 1504–1512, 2012.

ADRIAN-ROMERO, M.; BLUNDEN, G.; PATEL, A.V.; ARMSTRONG, N.; MELENDEZ, P.; CUERVO, A.C. Betaines and N-methylprolines from Venezuelan plants. **Natural Product Communications**, 2, 863-868, 2007

AHMAD, I.; AQUI, F.; OWAIS, M. Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs. **Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA**, 109-113, 2006.

ALLEN, F., GREINER, R. & WISHART, D. Competitive fragmentation modeling of ESI-MS/MS spectra for putative metabolite identification. **Metabolomics** 11, 98–110. 2015.

ANGEH, J.E.; HUANG, X.; SATTLER, I.; SWAN, G.E.; DAHSE, H.; HÄRTL, A.; ELOFF, J.N. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of four known and one new triterpenoid from *Combretum imberbe* (Combretaceae). **J. Ethnopharmacol**, 110, 56–60, 2007.

ARAÚJO, L.C.J., COBIANCHI J.; DA SILVA, V.C.; DALL'OGLIO, E.L.; DE SOUSA, P.T. Flavonoids from *Combretum lanceolatum* Pohl. **Biochemical Systematics And Ecology** 49, 37-38, 2013.

BAELO, A., LEVATO, R., JULIÁN, E., CRESPO, A., ASTOLA, J., GAVALDÀ, J., ENGEL, E., MATEOS-TIMONEDA, M. A., & TORRENTS, E. Disassembling bacterial extracellular matrix with DNase-coated nanoparticles to enhance antibiotic delivery in biofilm infections. **Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society**, 209, 150–158, 2015.

BAI M, WU LJ, CAI Y, WU SY, SONG XP, CHEN GY, ZHENG CJ, HAN CR. One new lignan derivative from the *Combretum alfredii* Hance. **Nat Prod Res**, 31(9):1022-1027, 2017.

BAI, Y., YANG, J., EISELE, L. E., UNDERWOOD, A. J., KOESTLER, B. J., WATERS, C. M., BAI, G. Two *dhh* Subfamily 1 Proteins in *Streptococcus pneumoniae* Possess Cyclic Di-AMP Phosphodiesterase Activity and Affect Bacterial Growth and Virulence. **Journal of Bacteriology**, 195, 5123–5132, 2013.

BAKKIYARAJ, D., NANDHINI, J. R., MALATHY, B., & PANDIAN, S. K. The anti-biofilm potential of pomegranate (*Punica granatum*L.) extract against human bacterial and fungal pathogens. **Biofouling**, 29(8), 929–937, 2013.

BISOLI, E.; GARCEZ, W.S.; HAMERSKI, L; TIEPPO, C.; GARCEZ, F.R. Triterpenos pentacíclicos bioativos das hastes de *Combretum laxum*. **Molecules**, 13, 2717-2728, 2008.

BISOLI, EDER; FREIRE, TALITA VILALVA; YOSHIDA, NÂDIA CRISTIANE; GARCEZ, WALMIR SILVA; QUEIRÃZ, LYARA MEIRA MARINHO; MATOS, MARIA DE FÃ;TIMA CEPA; PERDOMO, RENATA TRENTIN; GARCEZ, FERNANDA

RODRIGUES. Cytotoxic Phenanthrene, Dihydrophenanthrene, and Dihydrostilbene Derivatives and Other Aromatic Compounds from *Combretum laxum*. **Molecules**, 25, 31-54, 2020.

BJARNSHOLT T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. **APMIS. Supplementum**, (136), 1–51, 2013).

BOON, R. G. C., JORDAAN, M., & VAN WYK, A. E. A new species of *Combretum* sect. *Ciliatipetala* (Combretaceae) from South Africa. **Phytotaxa**, 434(1), 1–12, 2020.

BOWNE, J.B ERWIN, T.A., JUTTNER, J., SCHNURBUSCH, T., LANGRIDGE, P., BACIC, A., ROESSNER, U. Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level. **Molecular Plant**, 5, 418–429, 2011.

BURDINE, L.; KODADEK, T. Target identification in chemical genetics: The (often)-missing link. **Chem. Biol.** 11, 593–597 2004.

CANIGLIA, G., KRANZ, C. Scanning electrochemical microscopy and its potential for studying biofilms and antimicrobial coatings. **Anal Bioanal Chem** 412, 6133–6148, 2020.

CHARACKLIS, W. G. *Attached microbial growths-I. Attachment and growth.* **Water Research**, 7(8), 1113 –1127, 1973.

CHENG, X et al., Steamed ginger (*Zingiber officinale*): Changed chemical profile and increased anticancer potential. **Food Chem.**, v. 129, n. 4, p. 1785-1792, 2011.

COCK, I. E., & VAN VUUREN, S. F. A comparison of the antimicrobial activity and toxicity of six *Combretum* and two terminalia species from southern Africa. **Pharmacognosy magazine**, 11(41), 208–218. 2015.

CORRIGAN R. M., RIGBY D., HANDLEY P., FOSTER T. J. The role of *Staphylococcus aureus* surface protein SasG in adherence and biofilm formation. **Microbiology**, 153, 2435–2446, 2007.

CORRIGAN, R. M.; CAMPEOTTO, I.; JEGANATHAN, T.; ROELOFS, K. G.; LEE, V. T.; Grundling, A. Systematic identification of conserved bacterial c-di-AMP receptor proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 110, 9084–9089, 2013.

CORRIGAN, REBECCA M.; ABBOTT, JAMES C.; BURHENNE, HEIKE; KAEVER, VOLKHARD; GRÜNDLING, ANGELIKA; CHEUNG, AMBROSE. c-di-AMP Is a New Second Messenger in *Staphylococcus aureus* with a Role in Controlling Cell Size and Envelope Stress. **PLoS Pathogens**, 7, 100 - 217, 2011.

COSTERTON, J. W., STEWART, P. S., AND GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, 284, 1318–1322, 1999.

CRUZ, B.G., RODRIGUES TEIXEIRA, A.M., SILVA, P.T.D., VASCONCELOS EVARISTO, F.F., DE VACONCELOS, M.A., HOLANDA, TEIXEIRA, E., DOS SANTOS, H.S, BANDEIRA, P.N, SENA-JÚNIOR, D.M., BARRETO, V.P., COUTINHO, H.D.M. Antimicrobial activity of the lupane triterpene $3\beta,6\beta,16\beta$ -trihydroxylup-20(29)-ene isolated from *Combretum leprosum* Mart. **J Med Microbiol.** 68 (10):1438-1444, 2019. DOI: 10.1099/jmm.0.001056

CUCARELLA C., SOLANO C., VALLE J., AMORENA B., LASA I., PENADES J. R. BAP, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. **J. Bacteriol.** 183, 2888–2896, 2001.

CUSHNIE, T. P., & LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International journal of antimicrobial agents**, 26(5), 343–356, 2005.

DA SILVA, A.W, FERREIRA, M.K.A., PEREIRA, L.R., REBOUÇAS, E.L., COUTINHO, M.R., DOS J, LIMA R., GUEDES, M.I.F, BANDEIRA, P.N., MAGALHÃES, FEA, MENEZES JESA, MARINHO, M.M., TEIXEIRA, A.M.R., SALLES TREVISAN, M.T, DOS SANTOS, H.S, MARINHO, E.S. *Combretum lanceolatum* extract reverses anxiety and seizure behavior in adult zebrafish through GABAergic neurotransmission: an *in vivo* and *in silico* study. **J Biomol Struct**, 14:1-14, 2021.

DAWÉ, A., MBIANTCHA, M., YAKAI, F., JABEEN, A., ALI, M. S., LATEEF, M., & NGADJUI, B. T. Flavonoids and triterpenes from *Combretum fragrans* with anti-inflammatory, antioxidant and antidiabetic potential. **Zeitschrift Für Naturforschung C**, 73, 211–219, 2018.

DEMARQUE, D.P., DUSI, R.G., SOUSA, F.D.M., GROSSI, S.M., SILVÉRIO, M.R.S., LOPES, N.P., ESPINDOLA, L.S. Mass spectrometry-based metabolomics approach in the isolation of bioactive natural products. **Scientific Reports** 10, 1051, 2020.

DÜRIG, A., KOUSKOU MVEKAKI, I., VEJBORG, R. M., & KLEMM, P. Chemoinformatics-assisted development of new anti-biofilm compounds. **Applied microbiology and biotechnology**, 87(1), 309 – 317, 2010.

EVARISTO, F. F., ALBUQUERQUE, M. R., DOS SANTOS, H. S., BANDEIRA, P. N., AVILA, F., DA SILVA, B. R., VASCONCELOS, A. A., RABELO, E., NASCIMENTO-NETO, L. G., ARRUDA, F. V., VASCONCELOS, M. A., CARNEIRO, V. A., CAVADA, B. S., & TEIXEIRA, E. H. (2014). Antimicrobial effect of the triterpene $3\beta,6\beta,16\beta$ -trihydroxylup-20(29)-ene on planktonic cells and biofilms from Gram positive and Gram negative bacteria. **BioMed research international**, 729358, 2014.

EVARISTO, F.F.V., VASCONCELOS, M.A., ARRUDA, F.V.S. Antibacterial effect on mature biofilms of oral *Streptococci* and antioxidant activity of $3\beta,6\beta,16\beta$ -trihydroxylup-20(29)-ene from *Combretum leprosum* et al. **Med Chem Res**, 26: 3296, 2017.

EXELL, A.W. The *Combretum* species of the new world. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 55, 130-141, 1953.

FACUNDO, V.A.; RIOS, K.A.; MEDEIROS, C.M.; MILITÃO, J.S.L.T.; MIRANDA, A. L.P.; EPIFANIO, R.A.; CARVALHO, M. P.; ANDRADE, A. T.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M. Arjunolic acid in the ethanolic extract of *Combretum leprosum* root and its use as a potential multi-functional phytochemistry and drug for neurodegenerative disorders: anti-inflammatory and anticholinesterase activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16, 1309-1312, 2005.

FITZPATRICK F, HUMPHREYS H, O'GARA JP. Evidence for icaADBC-independent biofilm development mechanism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Clin Microbiol*, 43, 1973–1976, 2005.

FLEITAS MARTÍNEZ, O., CARDOSO, M. H., RIBEIRO, S. M., & FRANCO, O. L. Recent Advances in Anti-virulence Therapeutic Strategies with a Focus on Dismantling Bacterial Membrane Microdomains, Toxin Neutralization, Quorum-Sensing Interference and Biofilm Inhibition. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 74, 2019.

FLEMMING, HC., WUERTZ, S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nat Rev Microbiol*, 17, 247–260, 2019.

FLETCHER, M., & FLOODGATE, G. D. An Electron-microscopic Demonstration of an Acidic Polysaccharide Involved in the Adhesion of a Marine Bacterium to Solid Surfaces. *Journal of General Microbiology*, 74(2), 325 – 334, 1973.

FONTAINE, B. M., NELSON, K., LYLES, J. T., JARIWALA, P. B., GARCÍA-RODRIGUEZ, J. M., QUAVE, C. L., & WEINERT, E. E. Identification of Ellagic Acid Rhamnoside as a Bioactive Component of a Complex Botanical Extract with Anti-biofilm Activity. *Frontiers in Microbiology* 08, 496, 2014. DOI:10.3389/fmicb.2017.00496

FOSTER, T. J., GEOGHEGAN, J. A., GANESH, V. K., AND HOOK, M. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat. Rev. Microbiol.* 12, 49–62, 2014.

GOSSAN, D.P., ALABDUL MAGID, A., YAO-KOUASSI, P.A, JOSSE J., GANGLOFF, S.C., MORJANI, H., VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. Antibacterial and cytotoxic triterpenoids from the roots of *Combretum racemosum*. *Fitoterapia*, 110:89-95, 2016.

GULDBRANDSEN, N.; DE MIERI, M.; GUPTA, M.; SEISER, T.; WIEBE, C.; DICKHAUT, J.; REINGRUBER, R.; SORGENFREI, O.; HAMBURGER, M. Screening of Panamanian Plant Extracts for Pesticidal Properties and HPLC-Based Identification of Active Compounds. *Scientia Pharmaceutica* 83, 353-367, 2015.

HIRAKAWA, HIDETADA; TOMITA, HARUYOSHI. INTERFERENCE OF BACTERIAL CELL-TO-CELL COMMUNICATION: A new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic. *Frontiers in Microbiology*, 4, 2013.

HØIBY, N., BJARNSHOLT, T., GIVSKOV, M., MOLIN, S., & CIOFU, O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 35(4), 322–332, 2010.

HORINOUCI, C.D.S.; MENDES, D.A.G.B.; NOLTE, S.; BRITO, P.S.; SOLEY, B.S.; FAVERO, G.M.; FACUNDO, A.V.; SANTOS, A.R.S.; DANIELA DE ALMEIDA.; OTUKI, C.M.F. Anti-proliferative and anti-inflammatory effects of 3 β ,6 β ,16 β -Trihydroxylup-20(29)-ene on cutaneous inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 195, 298 – 308, 2017.

JOLY, A. B. Botânica, Introdução à Taxonomia Vegetal. *EDUSP*, 1975.

KALIA, V. C. *Quorum sensing* inhibitors: An overview. *Biotechnology Advances*, 31, 224– 245.

KATERERE DR, GRAY AI, NASH RJ, WAIGH RD. Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae. *Phytochemistry*, 63(1):81-8, 2003.

KOO, H., ALLAN, R. N., HOWLIN, R. P., STOODLEY, P., & HALL-STOODLEY, L. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nature Reviews Microbiology*, 15, 740 –755, 2017.

KRZYŻEK, P. Challenges and Limitations of *Anti-quorum* Sensing Therapies. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2019.

KUNG, V.L.; OZER, E.A.; AND HAUSER, A.R. “the accessory genome of *Pseudomonas aeruginosa*”. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74, 621 – 641, 2010.

LE, K. Y., & OTTO, M. Quorum-sensing regulation in *staphylococci*-an overview. *Frontiers in microbiology*, 6, 1174, 2015.

LEE, A., DE LENCASTRE, H., GARAU, J. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers* 4, 18033, 2018.

LEE, J., & ZHANG, L. The hierarchy *quorum sensing* network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & Cell*, 6, 26 – 41, 2014.

LIMA, G.R.M.; SALES, I.R.P.; FILHO, M.R.D.C.; JESUS, N.Z.T.; FALCÃO, H.S.; BARBOSA, J.M.F.; CABRAL, A.G.S.; SOUTO, A.L.; TAVARES, J.F.; BATISTA, L.M. Bioactivities of the genus *Combretum* (Combretaceae): a review. *Molecules*, 17, 9142 – 9206, 2012.

LIRA, S.R.D.; ALMEIDA, R.N.; ALMEIDA, F.R.C.; OLIVEIRA, F.S.; DUARTE, J.C. Preliminary studies on the analgesic properties of the ethanol extract of *Combretum leprosum*. *Pharmaceutical Biology*, 40, 213 – 215, 2002.

LISTER, J. L., & HORSWILL, A. R. *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4, 2014.

LOIOLA, M.I.B. Combretaceae. Plantas Vasculares das Florestas Serranas de Pernambuco: um checklist da Flora Ameaçada dos Brejos de Altitude, Pernambuco, Brasil. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, In: **M.F. Sales; S.J. Mayo & M.J.N. Rodal**, 58, 1998.

LOIOLA, M.I.B.; AGRA, M.F.; BARACHO, G.S. & QUEIROZ, R.T. Flora da Paraíba, Brasil: Erythroxylaceae. **Acta Botanica Brasilica**, 21: 473-487, 2007.

LOIOLA, M.I.B.; ROCHA, E.A.; BARACHO, G.S.; M.F. Flora da Paraíba, Brasil: Combretaceae. **Acta bot. Brás**, 23, 330-342. 2009.

LONGHI-BALBINOT, D.T.; LANZMASTER, D.; BAGGIO, C.H.; SILVA, M.D.; CABRERA, C.H.; FACUNDO, V.A.; SANTOS, A.R. Anti-inflammatory effect of triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihydroxylup-20(29)-ene obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich in mice. **Journal of ethnopharmacology**, 142(1), 59 – 64, 2012.

LOPES, L.; MARQUES, R. B.; FERNANDES, H. B.; PEREIRA, S.; AYRES, M. C.; CHAVES, M. H.; & ALMEIDA, F. R. Mechanisms of the antinociceptive action of (-) epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of *Combretum leprosum* Mart & Eic in rodents. **Journal of biomedical science**, 19, 68, 2012.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras – Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Instituto **Plantarum de Estudos e da Flora LTDA**, 2, 96, 2002.

LUO, Y., & HELMANN, J. D. A D-dependent antisense transcript modulates expression of the cyclic-di-AMP hydrolase GdpP in *Bacillus subtilis*. **Microbiology**, 158, 2732–2741, 2012.

MARQUETE, N.F.S.; & VALENTE, M.C. Combretaceae In: M.C.M. Marques & H.F. Martins, Flora do Estado do Rio de Janeiro. **Albertoa**, 4: 13 – 51, 1997.

MARTINI, N.D.; KATERERE, D.R.P.; ELOFF, J.N. Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). **J. Ethnopharmacol**, 2004, 93, 207–212, 2004.

MATILLA-CUENCA, L., GIL, C., CUESTA, S., RAPÚN-ARAI, Z., ŽIEMYTĚ, M., MIRA, A., LASA, I., & VALLE, J. Antibiofilm activity of flavonoids on *staphylococcal* biofilms through targeting BAP amyloids. **Scientific reports**, 10 (1), 18968, 2020.

MAURICE, NICHOLAS M., BEDI, BRAHMCHETNA., SADIKOT, RUXANA T. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Host Response and Clinical Implications in Lung Infections. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, 2018.

MERINO N., TOLEDO-ARANA A., VERGARA-IRIGARAY M., VALLE J., SOLANO C., CALVO E., et al. Protein-A mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol**, 191, 832–843, 2009.

MISHRA, R., PANDA, A.K., DE MANDAL, S., SHAKEEL, M., BISHT, S.S AND KHAN J. Natural Anti-biofilm Agents: Strategies to Control Biofilm-Forming Pathogens. *Front. Microbiol.* 2020.

MUHAMMAD, MUSA HASSAN., IDRIS, AISHA LAWAN., FAN, XIAO., GUO, YACHONG., YU, YIYAN., JIN, XU., QIU, JUNZHI., GUAN, XIONG., HUANG, TIANPEI. Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. *Frontiers in Microbiology*, 11, 928, 2020.

MUNGUIA, J., & NIZET, V. Pharmacological Targeting of the Host-Pathogen Interaction: Alternatives to Classical Antibiotics to Combat Drug-Resistant Superbugs. *Trends in pharmacological sciences*, 38(5), 473–488, 2017.

NAINWAL, L. M., ALAM, M. M., SHAQUIQUZZAMAN, M., MARELLA, A., & KAMAL, A. Combretastatin-based compounds with therapeutic characteristics: a patent review. *Expert opinion on therapeutic patents*, 29(9), 703–731, 2019.

NASCIMENTO-NETO, L.G.; EVARISTO, F.F.V.; ALVES, M.F.A.; ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; DOS SANTOS, H.S.; BANDEIRA, P.N.; ARRUDA, F.V.S.; TEIXEIRA, E.H. Effect of the triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihydroxylup-20(29)-ene isolated from the leaves of *Combretum leprosum* Mart. on cutaneous wounds in mice, *Journal of Ethnopharmacology* , 171, 116-120, 2015.

NEWMAN, D. J., & CRAGG, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 2020. 770–803, 2020.

NYAMBUYA, TAFADZWA., MAUTSA, RUVIMBO., MUKANGANYAMA, STANLEY. Alkaloid extracts from *Combretum zeyheri* inhibit the growth of *Mycobacterium smegmatis*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 124, 2017.

O'GARA J. P. (2007). *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol, Lett*, 270, 179–188, 2007.

OLIVEIRA, D., BORGES, A., & SIMÕES, M. (2018). *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins*, 10(6), 252.

OLUYEMI, WANDE M., SAMUEL, BABATUNDE B., KAEHLIG., HANSPETER., ZEHL., MARTIN., PARAPINI, SILVIA., D'ALESSANDRO, SARAH., TARAMELLI, DONATELLA., KRENN, LISELOTTE., Antiplasmodial activity of triterpenes isolated from the methanolic leaf extract of *Combretum racemosum* P. Beauv. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019.

O'NEILL E., POZZI C., HOUSTON P., HUMPHREYS H., ROBINSON D. A., LOUGHMAN A., et al. A novel *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype mediated by the fibronectin-binding proteins, FnBPA and FnBPB. *J. Bacteriol.* 190, 3835–3850, 2008.

O'Neill J. (2016). Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. **HM Government and Wellcome Trust**.

PANAYIDOU, S., GEORGIADIS, K., CHRISTOFI, T., TAMANA, S., PROMPONAS, V. J., & APIDIANAKIS, Y. *Pseudomonas aeruginosa* core metabolism exerts a widespread growth-independent control on virulence. **Scientific Reports**, 10, 2020.

PANG, Z., RAUDONIS, R., GLICK, B. R., LIN, T. J., & CHENG, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology advances**, 37(1), 177–192, 2019.

PARASTAN, RAZIEY; KARGAR, MOHAMMAD; SOLHJOO, KAVOUS; KAFILZADEH, FARSHID. *Staphylococcus aureus* biofilms: Structures, antibiotic resistance, inhibition, and vaccines. **Gene Reports**, 100739, 2020.

PENG, XIAN; ZHANG, YANG; BAI, GUANGCHUN; ZHOU, XUEDONG; WU, HUI (2016). Cyclic di-AMP mediates biofilm formation. **Molecular Microbiology**, 99, 945–959, 2016.

PIETROVSKI, E.F.; ROSA, K.A.; FACUNDO, V.A.; RIOS, K.; MARQUES, M.C.A.; SANTOS, A.R.S. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3 β ,6 β ,16 β trihidroxilup-20(29)-ene obtained from flowers of *Combretum leprosum* in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav**, 83, 90–99, 2006.

PINTO, H. B., BRUST, F. R., MACEDO, A. J., & TRENTIN, D. S. The antivirulence compound myricetin possesses remarkable synergistic effect with antibacterials upon multidrug resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, 149, 104571, 2020. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104571

PIVATTO, M.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; REZENDE, A.; VIEGAS JÚNIOR, C.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Electrospray ionization mass spectrometry screening of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* (Fabaceae) extracts: Fast identification of new constituents and cometabolites. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1431–1438, 2005.

POWO (2021). **Plants of the World Online**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet: <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 01 November 2021).

QUAVE, C. L., ESTÉVEZ-CARMONA, M., COMPADRE, C. M., HOBBY, G., HENDRICKSON, H., BEENKEN, K. E., & SMELTZER, M. S. Ellagic acid derivatives from *Rubus ulmifolius* Inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and improve response to antibiotics. **Plos One**, 7 (1), 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.002873.

RAMASUBBU, N., THOMAS, L. M., RAGUNATH, C., & KAPLAN, J. B. (2005). Structural Analysis of Dispersin B, a Biofilm-releasing Glycoside Hydrolase from the

Periodontopathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Molecular Biology*, 349, 475–486, 2005.

RAO, F., SEE, R. Y., ZHANG, D., TOH, D. C., JI, Q., & LIANG, Z.-X. (2009). YybT Is a Signaling Protein That Contains a Cyclic Dinucleotide Phosphodiesterase Domain and a GGDEF Domain with ATPase Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 285, 473–482, 2009.

RASOANAIVO, P., WRIGHT, C. W., WILLCOX, M. L., & GILBERT, B. Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: synergy and positive interactions. *Malaria journal*, 10, 1(1), S4, 2011.

RIBEIRO, I.; & CASTANHEIRA, R. Tratamento e prevenção das infecções e da colonização por *Staphylococcus aureus*. *In Rev Port Pneumol IX*, 395 – 409, 2003.

SADEKUZZAMAN, M., YANG, S., MIZAN, M. F. R., & HA, S. D. Current and Recent Advanced Strategies for Combating Biofilms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 491–509, 2015.

SAI, C.J.Y.; LOH, J.M.S. Modelos de infecção Proft, T. *Galleria mellonella* para o estudo de doenças bacterianas e para teste de drogas antimicrobianas. *Virulência*7, 214–229, 2016.

SAIA, S., FRAGASSO, M., DE VITA, P., & BELEGGIA, R. Metabolomics Provides Valuable Insight for the Study of Durum Wheat: A Review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(11), 3069–3085, 2019.

SALEM, MA, PEREZ DE SOUZA, L., SERAG, A., FERNIE, AR, FARAG, MA, EZZAT, SM, & ALSEEKH, S. Metabolômica no contexto da pesquisa de produtos naturais de plantas: da preparação de amostras à análise de metabólitos. *Metabolites*, 10 (1), 37, 2020 <https://doi.org/10.3390/metabo10010037>.

SANTOS, A.L.; SANTOS, D.O.; FREITAS, C.C.; FERREIRA, B.L.A.; AFONSO, I.F., RODRIGUES, C.R., CASTRO, H.C. *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. *J. Bras. Patol. Med. Lab*, 43, 6, 413-423, 2007.

SAZIMA, M.; VOGEL, S.; DO PRADO, A.L.; DE OLIVEIRA, D.M.; FRANZ, G.; SAZIMA, I. The sweet jelly of *Combretum lanceolatum* flowers (Combretaceae): a cornucopia resource for bird pollinators in the Pantanal, western Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 227, 195 – 208, 2001.

SCHESSL, M. Floristic composition and structure of floodplain vegetation in the northern Pantanal of Mato Grosso, Brazil. *Phyton-Annales Rei Botanicae*, 39, 303-336, 1999.

SCHULZE, A., MITTERER, F., POMBO, J. P., & SCHILD, S. Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance - development, composition and regulation - therapeutical strategies. *Microbial cell*, 8(2), 28–56, 2021

SHARAH, J. Y., AZIMI, T., SHARIATI, A., SAFARI, H., TEHRANI, M. K., & HASHEMI, A. Advanced strategies for combating bacterial biofilms. *Journal of Cellular Physiology*. 1- 20, 2019.

SHARMA, D., MISBA, L. & KHAN, A.U. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Control* 8, 76, 2019.

SHARMA, K., & PAGEDAR SINGH, A. Antibiofilm Effect of DNase against Single and Mixed Species Biofilm. *Foods*, 7, 42, 2018.

SILVA, L. N., ZIMMER, K. R., MACEDO, A. J., & TRENTIN, D. S. Plant Natural Products Targeting Bacterial Virulence Factors. *Chemical reviews*, 116(16), 9162–9236, 2016.

SIQUEIRA, J.T.; BATISTELA, E.; PEREIRA, M.P.; SILVA, V.C.; SOUSA, P.T.J.; ANDRADE, C. M. B.; KAWASHITA, N. H.; BERTOLINI, G. L.; BAVIERA, A. M. Combretum lanceolatum flowers ethanol extract inhibits hepatic gluconeogenesis: an in vivo mechanism study, *Pharmaceutical Biology*, 54, 1671 – 79, 2016.

SIVASANKAR C, MARUTHUPANDIYAN S, BALAMURUGAN K, JAMES PB, KRISHNAN V, PANDIAN SK. A combination of ellagic acid and tetracycline inhibits biofilm formation and the associated virulence of *Propionibacterium acnes* in vitro and in vivo. *Biofouling*. 2016;32(4):397-410.

SOARES NETO, R.L.; CORDEIRO, L.S.; LOIOLA, M.I.B. Flora do Ceará, Brasil: Combretaceae. *Rodriguésia*, 65, 3, 685-700, 2014.

SOUZA, ESTER SENA et al. Mortality and risks related to healthcare-associated infection. Texto & Contexto - Enfermagem. 2015, v. 24, n. 1. Accessed 8 November 2021, pp. 220 – 228.

SPEZIALE, P., PIETROCOLA, G., FOSTER, T. J., & GEOGHEGAN, J. A. Protein-based biofilm matrices in Staphylococci. Frontiers in cellular and infection microbiology, 4, 171, 2014.

SRINIVASAN, R., SANTHAKUMARI, S., POONGUZHALI, P., GEETHA M, DYAVAIAH, M., XIANGMIN, L. Bacterial Biofilm Inhibition: A Focused Review on Recent Therapeutic Strategies for Combating the Biofilm Mediated Infections. *Front Microbiol*, 12; 12:676458, 2021.

STACE, C.A. (1969). The significance of the leaf epidermis in the taxonomy of the Combretaceae. 11. The genus *Combretum* subgenus *Combretum* in Africa. *Botanical Journal of the Linnean Society* 62: 131–168.

TAYEB-FLIGELMAN, E., TABACHNIKOV, O., MOSHE, A., GOLDSCHMIDT-TRAN, O., SAWAYA, M. R., COQUELLE, N., LANDAU, M. The cytotoxic

Staphylococcus aureus PSM α 3 reveals a cross- α amyloid-like fibril. **Science**, 355, 831–833, 2017.

TELES, C.B.G.; MOREIRA-DILL, L.S.; SILVA, A.A.; FACUNDO, A.A.; DE AZEVEDO J.R.W.F.; SILVA, F.H.P.; MOTTA, M.C.M.; STÁBELI, R.G.; SILVA-JARDIM, I. A lupane-triterpene isolated from *Combretum leprosum* Mart. fruit extracts that interferes with the intracellular development of *Leishmania (L.) amazonensis* in vitro. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 15, 165, 2015.

THAMMAVONGSA, V., KERN, J. W., MISSIAKAS, D. M., & SCHNEEWIND, O. *Staphylococcus aureus* synthesizes adenosine to escape host immune responses. **The Journal of Experimental Medicine**, 206, 2417–2427, 2009.

THI, M., WIBOWO, D., & REHM, B. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **International journal of molecular sciences**, 21(22), 8671, 2020.

TOLKER-NIELSEN, T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. **APMIS**, 122, 1–51, 2014.

TONG, S. Y. C., DAVIS, J. S., EICHENBERGER, E., HOLLAND, T. L., & FOWLER, V. G. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. **Clinical Microbiology Reviews**, 28, 603–661, 2015.

VAN HOUDT, R., & MICHIELS, C. W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. **Journal of applied microbiology**, 109(4), 1117–1131, 2010.

VANDEPUTTE, O.M.; KIENDREBEOGO, M.; RAJAONSON S. et al. Identification of catechin as one of the flavonoids from *Combretum albiflorum* bark extract that reduces the production of quorum-sensing-controlled virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Appl Environ Microbiol**, 76, 243–253, 2009.

VENTOLA C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **P & T: a peer-reviewed journal for formulary management**, 40(4), 277–283, 2015.

VERT, M., DOI, Y., HELLWICH, K.-H., HESS, M., HODGE, P., KUBISA, P., SCHUÉ, F. Terminology for biorelated polymers and applications. **Pure and Applied Chemistry**, 84, 377–410, 2012.

VIAU, C. M.; MOURA, D. J.; FACUNDO, V. A.; & SAFFI, J. The natural triterpene 3 β ,6 β ,16 β -trihydroxy-lup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. **BMC complementary and alternative medicine**, 14, 280, 2014.

VIKRAM, A., JAYAPRAKASHA, G.K., JESUDHASAN, P.R., PILLAI, S.D., PATIL, B.S. Suppression of bacterial cell-cell signalling, biofilm formation and type III secretion system by citrus flavonoids. **J Appl Microbiol**. 109(2):515-527, 2010.

VUOTTO, C., & DONELLI, G. Novel Treatment Strategies for Biofilm-Based Infections. *Drugs*, 79(15), 1635–1655, 2019.

WHITCHURCH, C. B. Extracellular DNA Required for Bacterial Biofilm Formation. *Science*, 295, 1487–1487, 2002.

WHO - *World Health Organization*. Antibacterial agents in clinical and preclinical development, 17 – 22, 2020.

WHO - *World Health Organization*. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics, 1 – 7, 2017.

WOLFENDER, J. L., LITAUDON, M., TOUBOUL, D., & QUEIROZ, E. F. Innovative omics-based approaches for prioritisation and targeted isolation of natural products - new strategies for drug discovery. *Natural product reports*, 36(6), 855–868, 2019.

WU, C.; CHOI, Y.H.; VAN WEZEL, G.P. Metabolic profiling as a tool for prioritizing antimicrobial compounds. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 43, 299-312, 2015.

ZHANG, H., ZHENG, Y., GAO, H., XU, P., WANG, M., LI, A., DU, H. *Identification and Characterization of Staphylococcus aureus Strains with an Incomplete Hemolytic Phenotype*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6, 2016

ZHANG, Y. J., REDDY, M. C., IOERGER, T. R., ROTHCHILD, A. C., DARTOIS, V., SCHUSTER, B. M., TRAUNER, A., WALLIS, D., GALAVIZ, S., HUTTENHOWER, C., SACCHETTINI, J. C., BEHAR, S. M., & RUBIN, E. J. Tryptophan biosynthesis protects mycobacteria from CD4 T-cell-mediated *killing*. *Cell*, 155(6), 1296 –1308, 2013.

ANEXO I

Colaboração em manuscrito a ser submetido para revista científica: Avaliação antibacteriana e antibiofilme dos extratos e frações de *Cuscuta platyloba* and *Cuscuta xanthochortos*.

Título: Metabolomics analyses from holoparasites *Cuscuta platyloba* and *Cuscuta xanthochortos* (Convolvulaceae) and their correlation with antibiofilm activity

Autores: Caroline De Moura Costa¹; Amanda Galdi Boaretto¹; Thayná Fernandes Barros², Flávio Macedo Alves³; Danielle da Silva Trentin²; Denise Brentan Silva^{1*}

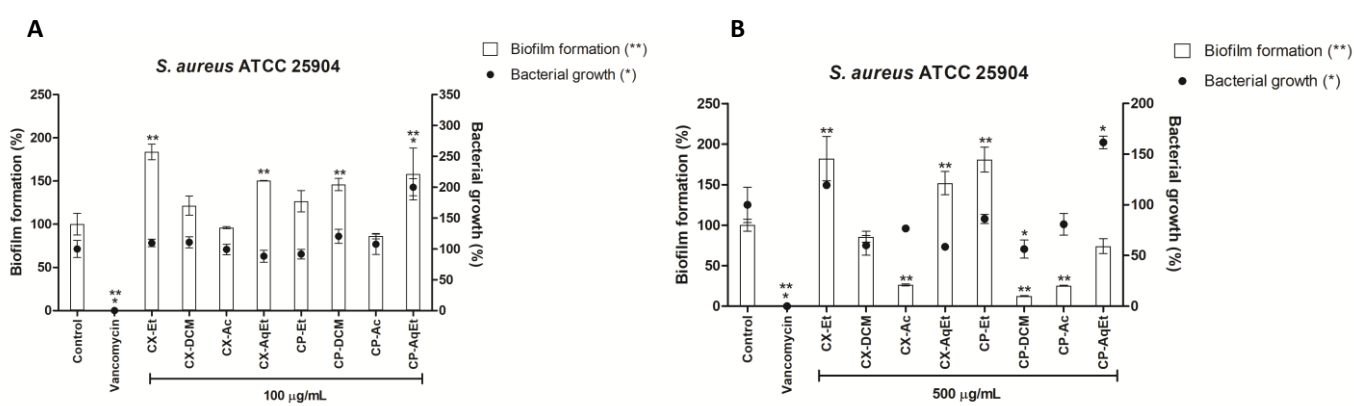


Figure 1. The effects of extracts and fractions (CX-Et, CX-DCM, CX-Ac, CX-AqEt, CP-Et, CP-DCM, CP-Ac and CP-AqEt) at concentration 100 µg/mL (A) and 500 µg/mL (B) on bacterial biofilm formation and growth in *S. aureus*. (* p<0.05, Student's t-test).

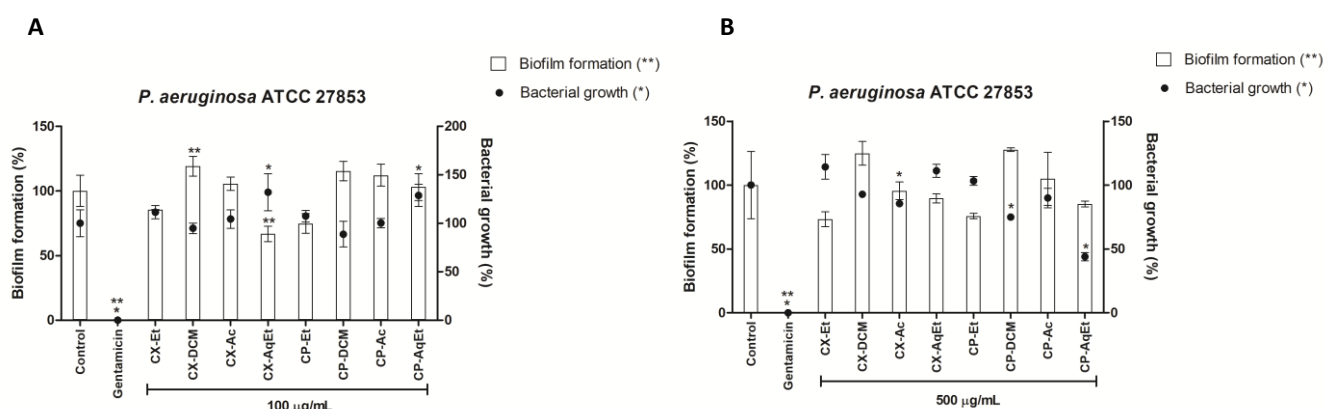


Figure 2. The effects of extracts and fractions (CX-Et, CX-DCM, CX-Ac, CX-AqEt, CP-Et, CP-DCM, CP-Ac and CP-AqEt) at concentration 100 µg/mL (A) and 500 µg/mL (B) on bacterial biofilm formation and growth in *P. aeruginosa* (* p<0.05, Student's t-test).

ANEXO II

Colaboração em manuscrito a ser submetido para revista científica: Avaliação antibacteriana e antibiofilme dos extratos e frações de *Tibouchina spp.*

Manuscrito está sendo redigido em colaboração com a Dra. Fernanda Rodrigues Garcez (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS)

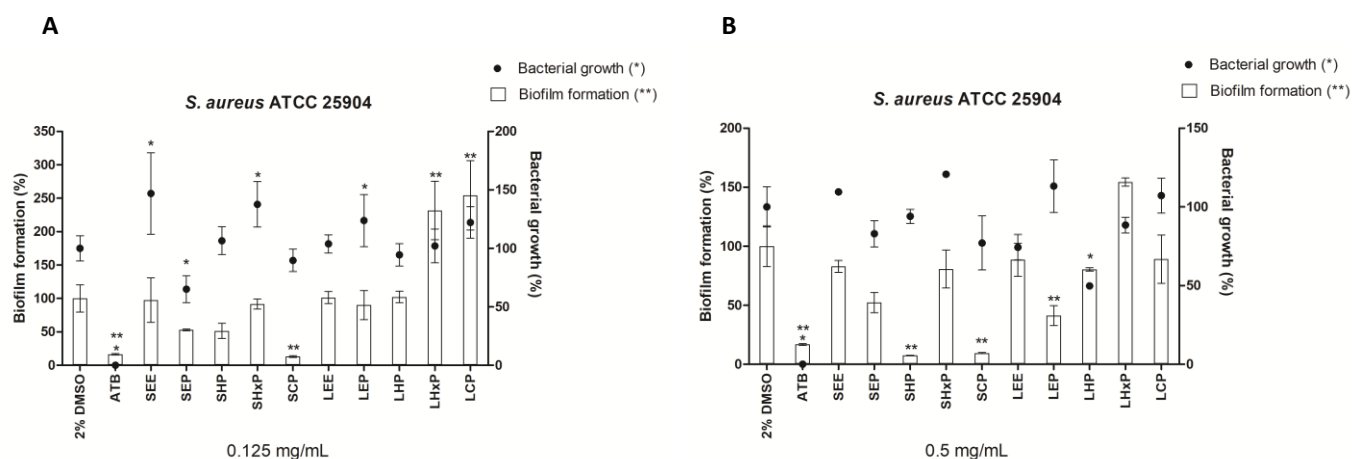


Figure 1. Biofilm formation and bacterial growth of *S. aureus* ATCC 25904 in the presence of crude extracts and fractions of *Tibouchina spp.*: A) 0.125 mg/mL and B) 0.5 mg/mL. Significant differences in comparison to negative control (2% DMSO - vehicle) with p value ≤ 0.05 are represented by ** for biofilm formation and * for bacterial growth.

ANEXO III – Registro do projeto na Compesq



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
COMISSÃO DE PESQUISA

Atestado

Atestamos que o projeto de pesquisa intitulado "*Avaliação antibacteriana e antivirulência associada ao perfil metabólico para identificação de fitocompostos bioativos: estudo de espécies Combretum lanceolatum Pohl. ex Eichl, Combretum laxum Jacq. e Combretum leprosum Mart. (Combretaceae)*" está registrado na Comissão de Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre com o número 067/2019, sob responsabilidade de Danielle da Silva Trentin.

Salientamos que este registro **não autoriza o pesquisador a coletar ou analisar dados oriundos de sujeitos de pesquisa.**

Salientamos ainda que este registro **não garante a concessão de recursos financeiros por parte da UFCSPA a este projeto de pesquisa.**

Porto Alegre, 20 de maio de 2019.

Dinara Jaqueline Moura
Dinara Jaqueline Moura
Coordenadora
Comissão de Pesquisa
UFCSPA

CURRÍCULO LATTES



Thayná Fernandes Barros

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/0005869894601312>

ID Lattes: **0005869894601312**

Última atualização do currículo em 14/01/2023

Possui Graduação em Farmácia pela Universidade Ceuma (2013-2017), e Mestrado em Biociências pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Tem experiência na área de Microbiologia, atuando no estudo de biofilmes bacterianos e avaliação de atividade biológica e toxicidade de fitocompostos em modelos experimentais in vivo alternativos. Participou de projetos voltados para Caracterização e Mecanismos de Ação de Compostos Bioativos e Farmacologia de Produtos Naturais. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Thayná Fernandes Barros

Nome em citações bibliográficas

BARROS, T. F.; BARROS, THAYNÁ FERNANDES

Lattes ID

 <http://lattes.cnpq.br/0005869894601312>

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2019 - 2021

Mestrado em Biociências.

Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Brasil.

Título: Avaliação antibacteriana e antivirulência associada ao perfil metabólico para identificação de fitocompostos bioativos: estudo de espécies *Combretum lanceolatum* Pohl. ex Eichl, *Combretum laxum* Jacq. e *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae), Ano de Obtenção: 2021.

Orientador:  Danielle da Silva Trentin.

Coorientador: Denise Brentan da Silva.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa ao Desenvol.

Científico e Tecnológico - MA, FAPEMA, Brasil.

2017 - 2018

Aperfeiçoamento em Iniciação Científica. (Carga Horária: 480h).

Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.

Título: Prospecção de Inibidores da Infectividade de *Staphylococcus aureus* a partir de Plantas da Baixada Maranhense. Ano de finalização: 2018.

Orientador: Luís Cláudio Nascimento da Silva.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa ao Desenvol.

Científico e Tecnológico - MA, FAPEMA, Brasil.

2013 - 2018

Graduação em Farmácia.

Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.

Título: PROSPECÇÃO DE INIBIDORES DA INFECTIVIDADE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* A PARTIR DE PLANTAS DO NORDESTE BRASILEIRO.

Orientador: LUÍS CLÁUDIO NASCIMENTO DA SILVA.

Bolsista do(a): PROGRAMA UNIVERSIDADE PARA TODOS, PROUNI, Brasil.

Formação Complementar

2021 - 2021	Biodiversidade na Era Digital: Desafios e Perspectivas Para a Ciência. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSA, Brasil.
2020 - 2020	Biosegurança e Pesquisa em tempos de Covid-19. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSA, Brasil.
2020 - 2020	?How to write a Review paper?,. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSA, Brasil.
2017 - 2017	Extensão universitária em Análise microbiológica da água. (Carga horária: 4h). Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.
2016 - 2016	Extensão universitária em Bioética e experimentação animal. (Carga horária: 8h). Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.
2015 - 2015	Extensão universitária em Como elaborar artigos científicos. (Carga horária: 4h). Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.
2015 - 2015	Extensão universitária em Introdução a química analítica. (Carga horária: 4h). Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.
2015 - 2015	Curso Prático em Fitoterapia. (Carga horária: 30h). Universidade Federal do Maranhão, UFMA, Brasil.
2014 - 2014	Curso de Bases Clínicas da Antibioticoterapia. (Carga horária: 30h). Universidade Federal do Maranhão, UFMA, Brasil.

Atuação Profissional

DROGARIA BIN BEN, BIG BEN, Brasil.

Vínculo institucional 2015 - 2015

Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estagiário,
Carga horária: 30

Centro de Oncologia Médica do Maranhão, C.O.M, Brasil.

Vínculo institucional 2016 - 2016

Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estagiário,
Carga horária: 30

HOSPITAL CARLOS MACIEIRA, H.C.M, Brasil.

Vínculo institucional 2016 - 2016

Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estagiário,
Carga horária: 30

Laboratório Central de Saúde Pública do Maranhão, IOC/LACEN-MA, Brasil.

Vínculo institucional 2017 - 2017

Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estagiário,
Carga horária: 30

Universidade Ceuma, UNICEUMA, Brasil.

Vínculo institucional 2017 - 2018

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: iniciação científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva.

Atividades 08/2017 - 08/2017

Estágios , Associação de Ensino.
Estágio realizado
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS.

Projetos de pesquisa

2016 - 2019**AVANÇOS NA CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE COMPOSTOS NATURAIS**

Descrição: O sucesso de novas estratégias antimicrobianas é limitado pela disponibilidade de biomoléculas, sendo necessário implementar metodologias eficientes de prospecção e identificação de compostos ativos, elucidação de mecanismos de ação, e seus efeitos sistêmicos. Diante desse contexto, novas alternativas de tratamento estão sendo desenvolvidas, entre elas temos a busca de moléculas que atuem em alvos terapêuticos novos ou pouco explorados (como a maquinaria de replicação do DNA). Além disso, apesar de vários trabalhos tenham demonstrado o potencial de produtos naturais brasileiros, estudos mais detalhados visando elucidar os mecanismos de ação destes produtos e seus efeitos sistêmicos ainda são escassos. Evidências recentes têm apontado o papel essencial da microbiota intestinal nos processos patológicos e na eficácia dos agentes terapêuticos. Estes efeitos estão relacionados com ação desta microbiota sobre o agente terapêutico e sobre o sistema imune do hospedeiro, sendo extremamente necessário avaliar o efeito de novos candidatos a agentes terapêuticos neste ecossistema. Num contexto em que a biodiversidade vem sendo progressivamente dizimada e onde existem inúmeras doenças que carecem de um tratamento eficaz, o valor dos produtos naturais como fontes de medicamentos para a sociedade e para a economia é incalculável. Deste modo, este projeto visa explorar a biodiversidade de produtos naturais brasileiros com o intuito de contribuir no desenvolvimento de moléculas antimicrobianas através da (i) caracterização do (s) mecanismo (s) de ação de agentes antimicrobianos; (ii) avaliação dos efeitos de agentes antimicrobianos na microbiota intestinal; (iii) seleção de compostos capazes de inibir a replicação do DNA. Para os estudos de mecanismos de ação e efeitos sobre a microbiota intestinal serão utilizadas plantas com ação antimicrobiana comprovada cientificamente e produtos naturais comercializados na forma de fitoterápicos. A prospecção de novos agentes inibidores da replicação do DNA bacteriano será realizada a partir de plantas coletadas na região da Baixada Maranhense e de micro-organismos marinhos. Além do importante fator econômico, deve-se ressaltar também o valor estratégico que representa, para qualquer estado/nação, a independência na produção de medicamentos com matéria-prima e tecnologias derivadas de sua própria biodiversidade. Desta forma este projeto propiciará a inovação ao fornecer subsídios para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas mais eficazes a partir de resíduos de baixo custo, resultando em ganhos científicos, sociais e econômicos para o Maranhão...

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (7) / Mestrado acadêmico: (4) / Doutorado: (1) .

Integrantes: Thayná Fernandes Barros - Integrante / Luís Cláudio Nascimento da Silva - Coordenador / Joice Castelo Branco Santos - Integrante / Hermerson Sousa Maia - Integrante / Alessandra Rodrigues Carvalho Junior - Integrante / ADRIELLE ZAGMIGNAM - Integrante / CRISTIANE SANTOS SILVA E SILVA FIGUEIREDO - Integrante / Isana M S F Lima - Integrante / Arthur Lima de Berrêdo Martins - Integrante / Amanda Caroline de Souza Sales - Integrante / Brenda Ferreira de Oliveira - Integrante / anders løbner-olesen - Integrante / MARIELA ANDREA MEDEIROS SUAREZ - Integrante / ROSEANE COSTA DINIZ - Integrante / MARI SILMA MAIA DA SILVA - Integrante / Patrícia Vieira de Oliveira - Integrante / Alexandre José Macedo - Integrante / L Kato - Integrante / A G Abreu - Integrante. PROSPECÇÃO DE INIBIDORES DA REPLICAÇÃO, INFECTIVIDADE E MUTAGENICIDADE BACTERIANA A PARTIR DE PLANTAS DA BAIXADA MARANHENSE.

Descrição: Apesar dos esforços aplicados, a resistência bacteriana aos antimicrobianos continua a avançar em ritmo alarmante, desafiando os sistemas de saúde globalmente por resultar em elevados índices de mortalidade e morbidade. Dentre os patógenos, *Staphylococcus aureus* se destaca devido sua capacidade de expressar uma variedade de fatores de virulência e adquirir resistência aos antimicrobianos. Este cenário impõe a necessidade de desenvolver estratégias para combater esta versátil bactéria, que incluem (i) a utilização de novos/subexplorados alvos antimicrobianos (como a Replicação do DNA); (ii) inibição da capacidade de infecção; (iii) aperfeiçoamento da

2016 - 2018

defesa imune do hospedeiro; e (iv) aumento da eficácia dos antibióticos tradicionais (pela inibição da resposta SOS relacionada com a mutagenese induzida por drogas). O objetivo desta proposta é selecionar produtos derivados de plantas da Baixada Maranhense capazes de inibir a virulência, mutagenicidade, ou a replicação do DNA de *S. aureus*. Para tanto, produtos naturais (extratos, óleos essenciais, compostos) serão avaliados quanto ao potencial de inibir a infecção causada por *S. aureus* em *Caenorhabditis elegans*, utilizando cepa padrão e mutantes transgênicos. Paralelamente, plataformas genéticas serão empregadas para selecionar compostos capazes de inibir proteínas de replicação do DNA (ensaio Duplo híbrido bacteriano) e Reposta SOS (expressão do gene *recA*). Os mecanismos de ação serão avaliados através de Citometria de fluxo e microscopia de fluorescência. Os extratos serão caracterizados quimicamente para identificação de compostos ativos. Através da utilização de novas abordagens moleculares, este projeto vai beneficiar o acesso a novas coleções de compostos derivados de Plantas da Baixada Maranhense, estabelecendo um caminho sustentável para explorar os recursos naturais desta região. Além disso, propiciará a inovação ao fornecer subsídios para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas mais eficazes a partir de resíduos de baixo custo, resultando em ganhos científicos, sociais e econômicos para o Maranhão..

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (12) / Mestrado acadêmico: (4) /

Doutorado: (3) .

Integrantes: Thayná Fernandes Barros - Integrante / Luís Cláudio Nascimento da Silva - Coordenador / Joice Castelo Branco Santos - Integrante / Hermerson Sousa Maia - Integrante / Alexsander Rodrigues Carvalho Junior - Integrante / MARIA TEREZA SANTOS CORREIA - Integrante / MARCOS AUGUSTO GRIGOLIN GRISOTTO - Integrante / Valério Monteiro Neto - Integrante / CRISTIANE SANTOS SILVA E SILVA FIGUEIREDO - Integrante / Isana M S F Lima - Integrante / Arthur Lima de Berrêdo Martins - Integrante / Arthur Henrique Mendes Colasso - Integrante / Amanda Caroline de Souza Sales - Integrante / Brenda Ferreira de Oliveira - Integrante / anders løbner-lesen - Integrante / ADRIELLE ZAGMIGNAN - Integrante / MARIELA ANDREA MEDEIROS SUAREZ - Integrante / ROSEANE COSTA DINIZ - Integrante / MARI SILMA MAIA DA SILVA - Integrante / Patrícia Vieira de Oliveira - Integrante.

Outros Projetos

2017 - 2017

INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF MICROBIAL PATHOGENESIS AND DRUG DEVELOPMENT- 4TH DANISH BRAZILIAN WORKSHOP ON INNOVATIVE MODELS TO STUDY BACTERIAL PATHOGENESIS AND DRUG DEVELOPMENT

Descrição: O evento "International Symposium on Microbial Pathogenesis and Drug development" (Simpósio Internacional sobre Patogênese Microbiana e Desenvolvimento de Drogas) é extremamente importante para o estado de Maranhão, uma vez que será possível uma ampla discussão dos desafios e perspectivas em relação às infecções microbianas e seu tratamento. É sempre importante ressaltar que o Maranhão ocupa uma posição estratégica no Brasil, ligando diferentes ecossistemas brasileiros (Amazonas, Cerrado), o que faz deste estado uma importante fonte de Biodiversidade essencial para a descoberta de drogas. Assim, as discussões sobre como desenvolver novos modelos para explorar de forma sustentável esses recursos também são relevantes. Durante este evento, os professores, pesquisadores, estudantes de graduação e pós-graduados terão a oportunidade de acessar e trocar conhecimentos com pesquisadores de renomadas instituições nacionais e internacionais (Universidade de Copenhagen, Staten Serum Institute, Universidade da Virgínia, PUC-RS, UFRGS, UFMG, UFMA UFRJ, Instituto Butant, UFPE, UFPA, CPqAM). Teremos discussão sobre vários temas relacionados à patogênese microbiana e descoberta de medicamentos, incluindo os seguintes tópicos: (i) Biologia celular de parasitas; (ii) Interações Microbiota-patógenos; (iii) Mecanismos de virulência e resistência a drogas; (iv) Novas opções terapêuticas contra patógenos; (v) Imunopatologia das doenças endêmicas brasileiras; (vi) Diagnóstico de doenças endêmicas brasileiras. Nesse sentido, o "International Symposium on Microbial

Pathogenesis and Drug development? é uma oportunidade excepcional para os pesquisadores de Maranhão criar e/ou solidificar colaborações com essas instituições. Acreditamos que essas conexões são extremamente importantes para o desenvolvimento científico de Maranhão...

Situação: Concluído; Natureza: Outra.

Alunos envolvidos: Graduação: (6) / Mestrado acadêmico: (2) .

Integrantes: Thayná Fernandes Barros - Integrante / Luís Cláudio Nascimento da Silva - Coordenador / Lídio Gonçalves Lima Neto - Integrante / Elizabeth Soares Fernandes - Integrante / Joice Castelo Branco Santos - Integrante / Hermerson Sousa Maia - Integrante / Valério Monteiro Neto - Integrante / Arthur Henrique Mendes Colasso - Integrante / Amanda Caroline de Souza Sales - Integrante / Brenda Ferreira de Oliveira - Integrante / MARIELA ANDREA MEDEIROS SUAREZ - Integrante / MARI SILMA MAIA DA SILVA - Integrante / A G Abreu - Integrante / Andrea de Souza Monteiro - Integrante / Eduardo Martins de Sousa - Integrante / Julliana Ribeiral Alves dos Santos - Integrante / RODRIGO ASSUNÇÃO DE HOLANDA - Integrante / KAREN ANGELIKI KROGFELT - Integrante / MARIA ROSA QUARESMA BOMFIM - Integrante.

Áreas de atuação

- | | |
|----|---|
| 1. | Grande área: Ciências Biológicas / Área: Microbiologia. |
| 2. | Grande área: Ciências Biológicas / Área: Farmacologia. |

Idiomas

Espanhol	Compreende Razoavelmente, Fala Pouco, Lê Razoavelmente, Escreve Pouco.
Inglês	Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.

Prêmios e títulos

2021	Prêmio "Destaque Científico" do VI Encontro do PPG "(Bio)Ciência que transforma", Universidade Federal de Ciências da Saúde Porto Alegre.
2019	Prêmio aluno Destaque no IV Encontro PPG Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.
2017	TOP 5 - Programa de Premiação dos Melhores Discentes, Universidade Ceuma.
2017	Honra ao Mérito no I Fórum de Meio Ambiente do Estado do Maranhão, Universidade Ceuma.
2015	TOP 5 - Programa de Premiação dos Melhores Discentes, Universidade Ceuma.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica

- DIAS, E. J. S. ; ROCHA, C. Q. ; DA SILVA, LUÍS CLÁUDIO NASCIMENTO ; SANTOS, J.C.B ; **BARROS, T. F.** ; SANTOS, D. M. . Antimicrobial Activity of Extracts from the *Humiria balsamifera* (Aubl). *PLANTS* **JCR**, v. 10, p. 1479, 2021.
Citações: *WEB OF SCIENCE* = 3
- COLASSO, ARTHUR HENRIQUE MENDES ; **BARROS, THAYNÁ FERNANDES** ; FIGUEIREDO, ISABELLA FERNANDES DA SILVA ; CARVALHO JUNIOR, ALEXSANDER RODRIGUES ; FERNANDES, ELIZABETH SOARES ; UCHOA, MICHELLE RUSSO BENDELAK ; DA SILVA, LUÍS

CLÁUDIO NASCIMENTO . The latex of Euphorbia tirucalli inhibits staphyloxanthin production and protects *Tenebrio molitor* larvae against *Staphylococcus aureus* infection. *NATURAL PRODUCT RESEARCH* **JCR**, v. 33, p. 1-4, 2019.

Citações: **WEB OF SCIENCE**™ 7

Resumos publicados em anais de congressos

1. **BARROS, T. F.**; SANTOS, J.C.B ; DA SILVA, T.F ; CORREIA, M. T. S. ; Colasso, A.H.M ; DA SILVA, L.C.N . Atividade antimicrobiana in vivo dos extratos de *Senna splendida* contra *Staphylococcus aureus*. In: I Fórum de Meio Ambiente do Estado do Maranhão, 2017, SAO LUIS. I Fórum de Meio Ambiente do Estado Maranhão, 2017.
2. DE ANDRADE, E.P ; ALVES, T. C. ; DA SILVA, B.L.R ; **BARROS, T. F.** ; DA SILVA, L.C.N ; NETO, L.G.L ; FERNANDES, E.S . Efeito da fração hexânica obtida do extrato hidroalcoólico das folhas da *Punica granatum* em macrófagos cultivados.. In: 10º SEMIC - SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2016, SAO LUIS. SEMINARIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA SEMIC 2016, 2016.

Artigos aceitos para publicação

1. **BARROS, T. F.**; BORGES, J. S. ; PRIMON-BARROS, M. ; ZANUNCIO, S. S. ; SILVA, D. B. ; TRENTIN, D. S. . *Staphylococcus aureus* antibiofilm agents from *Combretum species* (Combretaceae) by metabolomics profiling. *Industrial Crops And Products* **JCR**, 2023.

Apresentações de Trabalho

1. **BARROS, T. F.**; BORGES, J. S. ; PRIMON-BARROS, M. ; DA SILVA, M.V ; TRENTIN, D. S. . Avaliação antibacteriana e antibiofilme associada a metabolômica para identificação de substâncias bioativas : um es tudo sobre espécies de *Combretum* (Combretaceae). 2021. (Apresentação de Trabalho/Outra).
2. **BARROS, T. F.**; BORGES, J. S. ; SILVA, D. B. ; TRENTIN, D. S. . A ciência das plantas: novas formas de ação sobre bactérias. 2020. (Apresentação de Trabalho/Outra).
3. **BARROS, T. F.**; SILVA, D. B. ; TRENTIN, D. S. . ANTIBACTERIAL AND ANTIVIRULENCE EVALUATION ASSOCIATED WITH THE METABOLIC PROFILE TO IDENTIFY BIOACTIVE PHYTOCOMPOSITES: STUDY OF SPECIES *COMBRETUM LANCEOLATUM* POHL. EX EICHL, *COMBRETUM LAXUM* JACQ. AND *COMBRETUM LEPROSUM* MART. (COMBRETACEAE). 2019. (Apresentação de Trabalho/Outra).
4. **BARROS, T. F.**; SANTOS, J.C.B ; CARVALHO JUNIOR, A. R. ; Colasso, A.H.M ; CANTANHEDE FILHO, A. J. ; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DOS EXTRATO DE HUMIRIA BALSAMIFERA CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 2018. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
5. CUTRIM, B. S. ; CARVALHO JUNIOR, A. R. ; SANTOS, D. M. ; PONTES, J. P. ; **BARROS, T. F.** ; SAMINEZ, W. F. S. ; SALES, L. A. T. ; CORDEIRO, B. M. P. ; PAIVA, P. M. G. ; DA SILVA, L.C.N . AVALIAÇÃO DA AÇÃO CITOTÓXICA DO EXTRATO METANOLICO E HEXANCO DE *SPONDIA TUBEROSA* EM LARVAS DE *TENEbrio MOLITOR*. 2018. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
6. CARVALHO JUNIOR, A. R. ; SANTOS, D. M. ; CUTRIM, B. S. ; PONTES, J. P. ; **BARROS, T. F.** ; SAMINEZ, W. F. S. ; SALES, L. A. T. ; CORDEIRO, B. M. P. ; PAIVA, P. M. G. ; DA SILVA, L.C.N . AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA AÇÃO ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HEXANICO DE *SPONDIA TUBEROSA* NO CONTROLE DA INFECÇÃO EM *TENEbrio MOLITOR* INDUZIDA POR *CRYPTOCOCCUS GATTII*. 2018. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
7. **BARROS, T. F.**; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DOS EXTRATOS DE *SENNA SPLENDIDA* CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 2018. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
8. MARTINS, A. L. B. ; SILVA, M. S. M. ; **BARROS, T. F.** ; SANTOS, J.C.B ; COLASSO, A. H. M. ; MAIA, H. S. ; OLIVEIRA, B. F. ; SALES, A. C. S. ; CANTANHEDE FILHO, A. J. ; DA SILVA, L.C.N . EVALUATION OF INHIBITORY ACTION OF PLANT-DERIVED PRODUCTS ON SOS RESPONSE INDUCED BY CIPROFLOXACIN IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
9. **BARROS, T. F.**; TRENTIN, D. S. . Avaliação Antimicrobiana e Antibiofilme de Espécies *Combretum lanceolatum*, *Combretum laxum* e *Combretum leproso* (Combretaceae). 2018. (Apresentação de Trabalho/Outra).
10. **BARROS, T. F.**; SANTOS, J.C.B ; DA SILVA, T.F ; FIGUEIREDO, I. F. S. ; PONTES, J. P. ; Colasso, A.H.M ; MAIA, H. S. ; CORREIA, M.T.S ; DA SILVA, L.C.N . EVALUATION OF THE IN VIVO EFFICACY OF *SENNA SPLENDIDA* EXTRACTS AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 2017. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
11. BEZERRA FILHO, C. M. ; SANTOS, J.C.B ; **BARROS, T. F.** ; MAIA, H. S. ; ZAGMIGNAM, A. ; CORREIA, M. T. S. ; DA SILVA, L.C.N . CAATINGA PLANTS AS INHIBITORS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VIRULENCE: IN VITRO AND IN VIVO INSIGHTS. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
12. **BARROS, T. F.**; SANTOS, J.C.B ; PONTES, J. P. ; Colasso, A.H.M ; DIAS, E. J. S. ; CANTANHEDE FILHO, A. J. ; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE IN VIVO DO EXTRATO DE HUMIRIA BALSAMIFERA CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
13. COLASSO, A. H. M. ; MAIA, H. S. ; FIGUEIREDO, I. F. S. ; SANTOS, J.C.B ; ARAUJO, M. C. ; **BARROS, T. F.** ; DA SILVA, L.C.N ; UCHOA, M.R.B . EVALUATION OF IN VIVO ANTIMICROBIAL

EFFECTS OF LATEX OBTAINED FROM EUPHORBIA TIRUCALLI LINEU USING TENEBRIO MOLITOR LARVA AS MODEL. 2017. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

14. PONTES, J. P. ; FIGUEIREDO, I. F. S. ; PEREIRA, D. M. S. ; SANTOS, J.C.B ; **BARROS, T. F.** ; ROCHA, C. Q. ; ALMEIDA, L. S. B. ; DA SILVA, L.C.N ; FERNANDES, E.S . EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF theobroma grandiflorum (CUPUAÇU) SEED EXTRACT IN ESCHERICHIA COLI INFECTION IN VIVO. 2017. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
15. ALVES, T.C ; DE ANDRADE, E.P ; DA SILVA, B.L.R ; **BARROS, T. F.** ; PEREIRA, M.S ; MENDES, S.J.F ; DA SILVA, L.C.N ; NETO, L.G.L ; FERNANDES, E.S . EFFECT OF THE HEXANE FRACTION OBTAINED FROM THE LEAF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF PUNICA GRANATUM ON MACROPHAGE VIABILITY AND NO PRODUCTION IN VITRO. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
16. ALVES, T.C ; DA SILVA, B.L.R ; **BARROS, T. F.** ; DA SILVA, L.C.N ; NETO, L.G.L ; FERNANDES, E.S . EFEITO DA FRAÇÃO HEXÂNICA OBTIDA DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DAS FOLHAS DA PUNICA GRANATUM EM MACROFÁGOS CULTIVADOS. 2016. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
17. SANTOS, J.C.B ; **BARROS, T. F.** ; DA SILVA, T.F ; DA SILVA, M.V ; CORREIA, M.T.S ; MONTEIRO, A.S ; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIBIOFILME DE SENNA SPLENDIDA CONTRA ISOLADOS CLÍNICOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
18. SANTOS, J.C.B ; **BARROS, T. F.** ; DA SILVA, T.F ; DA SILVA, M.V ; CORREIA, M.T.S ; MONTEIRO, A.S ; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIBIOFILME DE SENNA SPLENDIDA CONTRA ISOLADOS CLÍNICOS STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2016. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
19. **BARROS, T. F.** ; SANTOS, J.C.B ; DOS SANTOS, B.S ; FILHO, C.M.B ; PAIVA, P.M.G ; DA SILVA, M.V ; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DO ÓLEO ESSENCIAL DE SYAGRUS CORONATA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
20. **BARROS, T. F.** ; SANTOS, J.C.B ; DOS SANTOS, B.S ; FILHO, C.M.B ; PAIVA, P.M.G ; DA SILVA, M.V ; DA SILVA, L.C.N . ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DO ÓLEO ESSENCIAL DE SYAGRUS CORONATA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2016. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
21. Colasso, A.H.M ; **BARROS, T. F.** ; SERRÃO, R.J.L ; UCHOA, M.R.B . LEVANTAMENTO DAS PRINCIPAIS PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS NO MUNICÍPIO DE MARACAÇUMÉ-MA. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. Ciclo de Palestra sobre o Meio Ambiente e Saúde. 2021. (Outra).
2. II Brazilian South Symposium on Neuroscience. 2021. (Simpósio).
3. Simpósios Científico dos Membros afiliados da ABC sobre biologia e produtos naturais. 2021. (Simpósio).
4. VI Encontro do PPG "(Bio)Ciência que transforma". Avaliação antibacteriana e antibiofilme associada a metabolômica para identificação de substâncias bioativas: um estudo sobre espécies de Combretum (Combretaceae). 2021. (Encontro).
5. V Biosciences Meeting - Crossing Borders. A ciência das plantas: novas formas de ação sobre bactérias. 2020. (Encontro).
6. IV Encontro Biotecnologias. ANTIBACTERIAL AND ANTIVIRULENCE EVALUATION ASSOCIATED WITH THE METABOLIC PROFILE TO IDENTIFY BIOACTIVE PHYTOCOMPOSITES: STUDY OF SPECIES COMBRETUM LANCEOLATUM POHL. EX EICHL, COMBRETUM LAXUM JACQ. AND COMBRETUM LEPROSUM MART. (COMBRETACEAE). 2019. (Encontro).
7. 11º Seminário de iniciação científica da Universidade Ceuma. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DOS EXTRATOS DE SENNA SPLENDIDA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2018. (Seminário).
8. III ENCONTRO DO PPG BIOCÍÊNCIAS DA UFCSPA E ENCONTRO DE PESQUISA EM BIOLOGIA CELULAR. Avaliação Antimicrobiana e Antibiofilme de espécies Combretum lanceolatum, Combretum Laxum e Combretum Leprosum (Combretaceae). 2018. (Encontro).
9. Simpósio Nacional em Bioética e Experimentação Animal. ATIVIDADE IN VIVO DO EXTRATO DE HUMIRIA BALSAMIFERA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2018. (Simpósio).
10. 1st International Symposium on Microbial Pathogenesis. EVALUATION OF THE IN VIVO EFFICACY OF SENNA SPLENDIDA EXTRACTS AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2017. (Simpósio).
11. I Fórum de Meio Ambiente do Estado do Maranhão. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DOS EXTRATOS DE SENNA SPLENDIDA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2017. (Outra).
12. II Semana Acadêmica de Farmácia. 2017. (Simpósio).
13. V Congresso de Saúde e Bem Estar. ATIVIDADE IN VIVO DO EXTRATO DE HUMIRIA BALSAMIFERA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2017. (Congresso).
14. Conceitos de Câncer Relacionados ao Trabalho e Exposição Ocupacional. 2016. (Outra).
15. I Congresso de Ostomia do Maranhão. 2016. (Congresso).

16. I semana de farmácia. 2016. (Outro).
17. IV Congresso de Saúde e Bem Estar do Maranhão. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO DO ÓLEO DE SYAGRUS CORONATA CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS. 2016. (Congresso).
18. III Congresso de Saúde e Bem Estar do Maranhão. 2015. (Congresso).

Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. **BARROS, T. F.**. UFCSPA Acolhe 2019. 2019. (Outro).
2. **BARROS, T. F.**; DA SILVA, L.C.N . 1ST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MICROBIAL PATHOGENESIS AND DRUG DEVELOPMENT. 2017. (Outro).

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 18/04/2023 às 17:37:24

[Imprimir currículo](#)