



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



**PRODUTOS NATURAIS COSTEIROS: AVALIAÇÃO ANTIMICOBACTERIANA DE
LIPÍDIOS PRESENTES EM *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* ORIUNDA DO
EXTREMO SUL DO BRASIL**

RODOLFO MOREIRA BAPTISTA

RIO GRANDE, 2024



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



**PRODUTOS NATURAIS COSTEIROS: AVALIAÇÃO ANTIMICOBACTERIANA DE
LIPÍDIOS PRESENTES EM *Schinus terebinthifolius* ORIUNDA DO EXTREMO SUL
DO BRASIL**

RODOLFO MOREIRA BAPTISTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniela Fernandes Ramos
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª Marcelle Oliveira Garcia

RIO GRANDE, 2024

RODOLFO MOREIRA BAPTISTA

**PRODUTOS NATURAIS COSTEIROS: AVALIAÇÃO ANTIMICOBACTERIANA DE
LIPÍDIOS PRESENTES EM *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* ORIUNDA DO
EXTREMO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Manuel Macedo de Souza - FURG

Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Montes D'oca– Externo

Prof. Dr. Pedro Eduardo de Almeida Silva – PPGCS FURG

Prof^ª. Dr^a. Mariana Appel Hort (Suplente) – FURG

Prof^ª. Dr^a. Marcelle Oliveira Garcia– FURG (Coorientadora)

Prof^ª. Dr^a. Prof^ª. Dr^a. Daniela Fernandes Ramos – FURG (Orientadora)

RIO GRANDE, 2024

Ficha Catalográfica

B222p Baptista, Rodolfo Moreira.

Produtos naturais costeiros: avaliação antimicobacteriana de lipídios presentes em *Schinus terebinthifolius* oriunda do extremo sul do Brasil / Rodolfo Moreira Baptista. – 2024.

103 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rio Grande/RS, 2024.

Orientadora: Dra. Daniela Fernandes Ramos.

Coorientadora: Dra. Marcelle Oliveira Garcia.

1. Produtos biológicos 2. Antimicrobianos 3. Ecossistemas costeiros 4. Halófitas 5. Tuberculose I. Ramos, Daniela Fernandes II. Garcia, Marcelle Oliveira III. Título.

CDU 616

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344



Programa de
Pós-Graduação
em Ciências da Saúde
Fundação Universidade Federal do Rio Grande

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA DA SESSÃO DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE

ATA

A banca examinadora, designada pela Portaria nº 540/2024 de onze de março de dois mil e vinte e quatro, em sessão presidida e registrada pela orientadora Profa. Dra. Daniela Fernandes Ramos, reuniu-se no dia vinte e um de março de dois mil e vinte e quatro, às quatorze horas, por meio de videoconferência (<https://meet.jit.si/DefesaMestradoRodolfoBaptista>), para avaliar a Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, intitulada: “Produtos naturais costeiros: Avaliação antimicrobacteriana de lipídios presentes em *Schinus terebinthifolius* oriunda do extremo sul do Brasil.” do mestrando Rodolfo Moreira Baptista. Para o início dos trabalhos, a Senhora Presidente procedeu à abertura oficial da sessão, com a apresentação dos membros da banca examinadora. A seguir, prestou esclarecimentos sobre a dinâmica de funcionamento da sessão, concedendo o tempo de até 30 (trinta) minutos para a apresentação da dissertação pelo mestrando, que iniciou às 14 horas e 10 minutos e terminou às 14 horas e 45 minutos. Após a apresentação, passou a palavra aos membros da banca examinadora, para que procedessem à arguição e apresentassem suas críticas e sugestões. Ao término dessa etapa de avaliação, de acordo com os membros da banca examinadora, a dissertação de mestrado avaliada foi APROVADO.

Rio Grande, 21 de março de 2024.

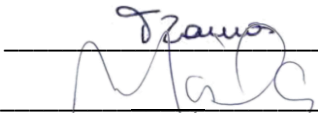
Profa. Dra. Daniela Fernandes Ramos (Orientadora – FURG)

Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Montes Dóca (Externo – UFPR)

Prof. Dr. Pedro Eduardo Almeida da Silva (Titular – FURG)

Prof. Dr. Manuel Cezar Macedo Barbosa Nogueira de Souza (Titular – FURG)

Profa. Dra. Mariana Appel Hort (Suplente - FURG)







CIENTE: 

Mestrando Rodolfo Moreira Baptista

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho é fruto de muita coisa, de tal forma que jamais caberia mais de 100 folhas. Uma vez um professor do PPGCS disse em aula que a partir do momento em que somos aprovados no mestrado/doutorado, nós nos tornamos mestres/doutores a cada dia que passa. E algumas dessas experiências que nos formam não encontramos em artigos, nos dias intensos de trabalho no laboratório, ou nas disciplinas. Mas em cada microdesafio que enfrentamos todos os dias em busca do que acreditamos, em cada relação construída em meio a tantos projetos de ensino, pesquisa e extensão, nas marcas que deixamos em quem passa pela nossa vida e as que recebemos e na escolha de atravessar o país, longe de casa e se sentir em casa.

Dito isso, só tenho a agradecer a quem sempre me fez morada, como minha família e meus amigos, e aqueles que me fizeram nesse período do mestrado, como ao meu grupo de pesquisa, o NUDEFA, aos meus novos amigos, a minha orientadora e a FURG. Este trabalho é de todos vocês.

“A educação não muda o mundo, a educação muda as pessoas, as
pessoas mudam o mundo”

Paulo Freire

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	12
OBJETIVOS.....	17
Referências.....	18
MANUSCRITO 1.....	22
Introdução.....	24
O panorama de produtos naturais costeiros com atividade antimicobacteriana.....	25
Produtos naturais costeiros.....	27
Manguezais.....	28
Estuários.....	32
Planícies de Lama.....	33
Conclusão.....	34
Referências.....	35
MANUSCRITO 2.....	53
Introdução.....	55
Métodos.....	56
Resultado.....	57
Discussão.....	60
Conclusão.....	64
Referência.....	64
MANUSCRITO 3.....	79
Introdução.....	81
Métodos.....	82
Resultados e discussão.....	86
Conclusão.....	94
Referências.....	95
CONCLUSÕES.....	102

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

- Figura 1: Região que compreende o Estuário da Laguna dos Patos 11
- Figura 2: Órgãos reprodutivos e vegetativos de *Schinus terebinthifolius*. 12

MANUSCRITO 1

- Figura S1. Áreas de *hotspot* de biodiversidade e distribuição de estudos em ambientes costeiros atualmente explorados para a descoberta de produtos naturais com ação anti-TB 45
- Figura S2. Classes químicas encontradas em ecossistemas costeiros aplicadas em estudos anti-TB (Lamaçais, Manguezais, Estuários). 46

MANUSCRITO 2

- Figura 1: Publicação por ano e tipo de acesso. 57
- Figura 2: Visualização em clusters dos autores presentes no resultado da busca realizada, suas relações e períodos de publicação. 58
- Figura 3: Métodos utilizados para avaliação antimicobacteriana presentes nos artigos científicos incluídos na análise. 59
- Figura S1: Frequência e classificação das palavras-chave identificadas nos artigos da busca. 76
- Figura S2: Diagrama de Sankey das relações de autores correspondentes e demais autores dos respectivos manuscritos. 77

MANUSCRITO 3

- Figura 1: Cromatograma do extrato em clofórmio:metanol esterificado de *S. terebinthifolius* 86
- Figura 2: Ilustração da ancoragem dos compostos e as interações realizadas no sítio de ligação da MPTPB 91

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1

Tabela S1. Estudos de produtos naturais costeiros com propriedades antituberculose (Anti-TB)	47
--	----

MANUSCRITO 2

Tabela S1: Literatura selecionada para análise bibliométrica de produtos naturais marinhos antimicobacterianos.	67
---	----

MANUSCRITO 3

Tabela 1: Compostos presentes na fração lipídica de <i>S. tereninthifolius</i> .	86
Tabela 2: Energia e tipos de interação entre os ligantes presentes no extrato de <i>S. terebonthifolius</i> e MPTPB	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPs	Peptídeos Antimicrobianos
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COVID-19	<i>Coronavirus disease</i>
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
DMSO	Dimetilsulfóxido
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FURG	Universidade Federal do Rio Grande
Ki	Constante de inibição
MeSh	<i>Medical Subject Headings</i>
MPTPB	<i>Mycobacterium protein tyrosine phosphatase B</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OMTS	(oxalilamino-metileno)-tiofeno sulfonamida
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PNC	Produtos Naturais Costeiros
PNM	Produtos Naturais Marinhos
PUFAs	Ácidos Graxos Polinsaturados
SFA	Ácido Graxo Saturado
TB	Tuberculose
UFA	Ácido Graxo Insaturado

RESUMO

A tuberculose é uma das doenças infecciosas de maior relevância no mundo. Causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, seu tratamento farmacológico apresenta muitas barreiras, como falhas na adesão a terapia, efeitos adversos incômodos e consequentemente em bactérias resistentes a antimicrobianos. Uma das alternativas mais consolidadas na pesquisa de novos fármacos está na bioprospecção de produtos naturais. No entanto, pouco se sabe sobre produtos naturais de espécies residentes de ecossistemas costeiros. Assim, nesta pesquisa pretendeu-se discutir e identificar o potencial antimicrobiano de produtos naturais costeiros frente a *M. tuberculosis*. Para isso, foi realizada uma revisão sobre produtos naturais costeiros antimicobacterianos, uma análise bibliométrica de produtos naturais marinhos antituberculose e avaliação antimicobacteriana de uma planta halófito nativa do Brasil. Apesar de apresentar resultados promissores até mesmo em comparação com alguns produtos naturais de outros ecossistemas, foi observado que os produtos naturais presentes em manguezais foram os mais explorados nesse cenário, principalmente aqueles oriundos de microrganismos endofíticos. Esses compostos não foram somente testados contra *M. tuberculosis* mas frente a proteína Tirosina fosfatase B (MPTPB), responsável por garantir a sobrevivência da bactéria no hospedeiro. Além disso, na análise bibliométrica de estudos com produtos naturais marinhos antituberculose foi discutido sobre as tendências da produção de estudos da área e possíveis influências relacionadas a localização geográfica das instituições e a epidemiologia da doença. Por fim, o estudo experimental com produtos naturais costeiros advindos da halófito *Schinus terebinthifolius* presente em estuário brasileiro concluiu que compostos lipídios inibiram o crescimento da bactéria *in vitro* a 400µg/mL e promoveram interação em sítio de ligação da MPTPB por ensaio computacional. Desta forma o estudo contribui para a descoberta e valorização dos produtos naturais costeiros frente a uma doença infecciosa de preocupação mundial.

Palavras-chave: Produtos biológicos, Antimicrobianos, Ecossistemas costeiros, halófitas, tuberculose

ABSTRACT

Tuberculosis is one of the most relevant infectious diseases worldwide. It is caused by *Mycobacterium tuberculosis* and its pharmacological treatment presents many barriers, such as effectiveness failures due to prolonged therapy duration, uncomfortable adverse effects, and consequently antimicrobial-resistant bacteria. One of the most consolidated alternatives in the search for new drugs lies in the bioprospecting of natural products. However, there are few studies about natural products from species residing in coastal environments. Therefore, this research aimed to discuss and identify the antimicrobial potential of coastal natural products against *M. tuberculosis*. To achieve this, it was made a review of coastal natural products with antimycobacterial properties, a bibliometric analysis of marine natural products with antituberculosis properties, and an antimycobacterial evaluation of a halophytic plant native to Brazil. Despite showing promising results, even in comparison with some natural products from other ecosystems, it was observed that natural products from mangroves were the most explored in this scenario, especially those originating from endophytic microorganisms. These compounds were not only tested against *M. tuberculosis* but also against the protein tyrosine phosphatase B (MPTPB), responsible for ensuring the bacterium's survival in the host. Furthermore, the bibliometric analysis of studies on marine natural products with antituberculosis properties discussed trends in study production and possible influences related to the geographical location of institutions and the epidemiology of the disease. Finally, the experimental study with coastal natural products derived from the halophyte *Schinus terebinthifolius* present in a Brazilian estuarine water concluded that lipid compounds inhibited bacterium growth at 400 µg/mL and promoted interaction at the MPTPB binding site through computational assay. Thus, the study contributes to the discovery and valorization of coastal natural products against a globally concerning infectious disease.

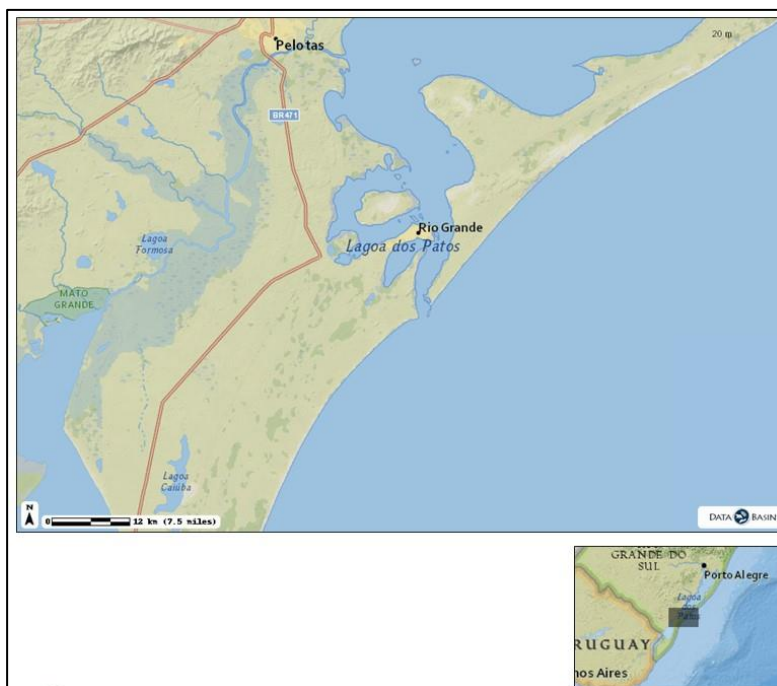
Keywords: Biological products, antimicrobial agents, Coastal environments, halophytes, tuberculosis

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O Planeta Terra é formado por uma superfície que corresponde a mais de 70 % de mares e menos de 30% de ambientes terrestres. Entre os ecossistemas aquáticos e terrestres desenvolvem-se as regiões costeiras, que além de estreitar interações entre espécies marinhas e terrestres também são fonte de animais, plantas, algas marinhas e microrganismos que vivem sob suas condições peculiares. Essas espécies utilizam mecanismos como a síntese de compostos que garantem sua sobrevivência nesses ecossistemas, produzindo assim os produtos naturais. Para o homem, esses compostos são muito valorizados em diversas áreas da ciência, como no desenvolvimento biotecnológico (BLUNT et al., 2016; NEWMAN; CRAGG, 2016; WILLIAMS et al., 2022). No entanto, no cenário de descoberta de novos fármacos, os produtos naturais costeiros (PNC) ainda são pouco explorados.

O Brasil, é considerado um dos países que apresenta diversos ambientes costeiros ao longo de seu litoral, como manguezais, marismas, estuários e planícies de lama (ARAUJO, 2011). O extremo sul do país é conhecido pela região que apresenta um estuário rico em nutrientes e por apresentar parâmetros ambientais únicos, formado pela Laguna dos Patos e por correntes marinhas do oceano Atlântico. O encontro da água do mar com a da laguna alcança mais de 900 km² de ecossistema estuarino, localizado ao Norte da Ilha da Feitoria, a Leste da cidade de São José do Norte, a Oeste da Cidade de Rio Grande e ao Sul da Barra de Rio Grande (Figura 1). O Estuário da Laguna dos Patos é formado pelo encontro de correntes extensas que transportam espécies e alimentos para o local, como a Corrente das Malvinas, de origem polar e a Corrente Brasil, que possui temperaturas tropicais e oligotrófica. Essas características tornam o ambiente único e um dos mais biodiversos do Continente (ODEBRECHT et al., 2017). Um ecossistema propício para a descoberta de espécies produtoras de PNC como fonte de candidatos a fármacos (LEMOES et al., 2022; BRASIL, 2010).

Figura 1: Região que compreende o Estuário da Laguna dos Patos

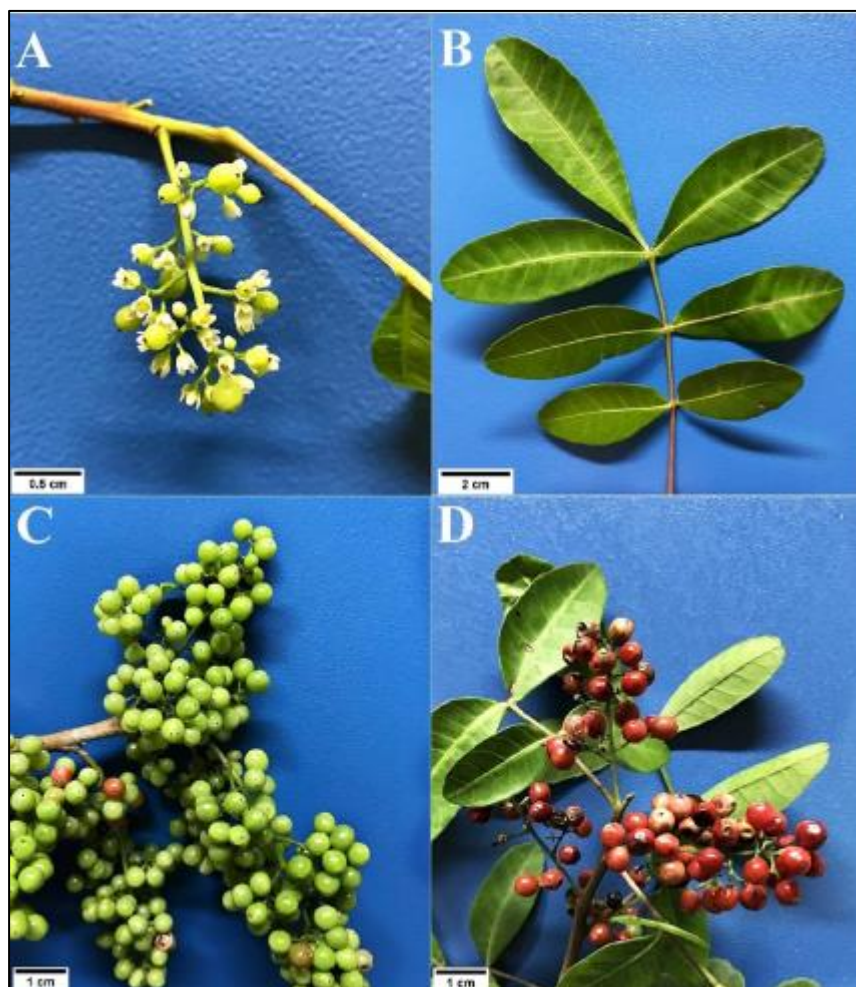


Fonte: Autor (2024)

Um exemplo de espécie presente nessa região é *Schinus terebinthifolius* (Figura 2), conhecida como aroeira-mansa, uma planta halófito medicinal e nativa do Brasil (EL-NASHAR et al., 2021; SOUZA, 2005; BRASIL, 2014). É encontrada em todos os ecossistemas costeiros do país, comumente utilizada como agente anti-inflamatório, cicatrizante, atuando principalmente na pele, sistema renal e respiratório (BRASIL, 2014; BEZERRA, 2022). Além disso, estudos comprovaram atividade antimicrobiana de seus produtos naturais da espécie contra agentes infecciosos causadores de doenças de elevado impacto na saúde mundial, incluindo o patógeno causador da tuberculose (ROBLES-ZEPEDA et al., 2013; BERNARDES et al., 2014; MARTINS et al., 2014; VASCONCELOS, 2022).

Figura 2: Órgãos reprodutivos e vegetativos de *Schinus terebinthifolius*.

A) Inflorescência. B) Folhas. C) Frutos imaturos. D) Frutos maduros.



Fonte: Bezerra (2022)

A tuberculose (TB) é uma doença causada pela infecção do agente *Mycobacterium tuberculosis*, conhecido como bacilo de Koch, que tem afetado a humanidade há muitos anos e continua a ser um grande problema de saúde global com milhões de pessoas afetadas anualmente. Em todo o mundo, foi relatado que 9,9 milhões de pessoas desenvolveram TB no ano de 2020 (SANTOS, 2012; OMS, 2021). A infecção do patógeno ocorre por meio da transmissão do bacilo em gotículas de saliva expelidas por um indivíduo infectado principalmente durante a tosse, espirro ou fala. No interior do organismo humano a bactéria é fagocitada por macrófagos, sua célula alvo. O bacilo é capaz de inibir a maturação fagossomo, utilizando o meio intracelular para se multiplicar e não ser impedida por ação de lisossomos. Durante semanas os macrófagos infectados são transportados para corrente sanguínea e assim habitam diversas partes do corpo, principalmente os pulmões, onde é capaz de causar infecções e reiniciar a transmissão (WHO, 2022).

Além disso, para se manter viva dentro da célula do hospedeiro, a micobactéria sintetiza e secreta fatores de virulência como a *Mycobacterium protein tyrosine phosphatase B* (MPTPB), proteína cuja ação consiste na intervenção das vias de sinalização de macrófagos do hospedeiro, garantido a sobrevivência da bactéria. Estudos realizados com a proteína revelam que a sua expressão ocorre no interior da célula fagocitária e atenua as vias MAPK e NF- κ B, levando à redução da produção das citocinas inflamatórias IL-1 β e IL-6 do hospedeiro e do sistema de apoptose por ERK1/2 e p38, fatores importantes para a suprarregulação da atividade bactericida (MASCARELLO et al., 2013; SILVA & TABERNERO, 2010; KOUL et al., 2000).

O tratamento medicamentoso da tuberculose oferece algumas barreiras, como o longo período de terapia e riscos de muitos efeitos colaterais ao paciente. Além disso, tem sido cada vez mais relatado casos de resistência de *M. tuberculosis* aos fármacos disponíveis atualmente no mercado. Essas barreiras tornam a doença um importante alvo de combate e impulsionam novas buscas por fármacos eficazes e efetivos, capaz de aumentar o arsenal de compostos antimicrobianos candidatos a fármacos anti-TB (OMS, 2022). Nesse contexto, estudos de PNCs de diferentes ecossistemas costeiros têm apresentado resultados promissores. Além de demonstrarem ação contra diferentes espécies de *Mycobacterium*, quando a eficácia desses compostos é comparada com produtos naturais de diferentes ecossistemas como terrestre ou marinho, os PNCs parecem apresentar melhores resultados *in vitro*. (CAI et al., 2019; LI et al., 2014; XIA et al., 2014; XIAO et al., 2015).

A MPTPB mostra-se como um atraente alvo de inibição do crescimento de *M. tuberculosis* na infecção. A ausência de ortólogos da proteína em humanos minimizam os efeitos colaterais. Como sua síntese e liberação ocorre exclusivamente no citoplasma de macrófagos, estudos consideram que sua inibição provocaria uma menor pressão seletiva, reduzindo assim o risco de resistência adquirida. Por fim, por se tratar de um fator excretado pela bactéria, os possíveis candidatos a fármacos não necessitariam ser permeáveis a parede da bactéria, considerada um obstáculo para compostos já testados (DUTTA et al., 2016; RUDDRARAJU et al., 2021). Apesar de fármacos anti-MPTPB ainda não terem se destacado entre os principais fármacos em fase avançada de descoberta, diversos estudos recentes têm demonstrado o potencial, especialmente de PNC, frente a proteína. Esses estudos são pioneiros no cenário de produtos naturais que foram testados frente a proteína, mas ainda restam avanços na pesquisa desse possível mecanismo de inibição de *M. tuberculosis* em ensaios envolvendo o

patógeno e todo o processo infeccioso. (CAI et al., 2019; CUI et al., 2017; LI et al., 2014; LIU et al., 2018; XIA et al., 2014).

Assim, elenca-se a necessidade de se conhecer estudos sobre PNCs com ação antimicobacteriana já explorados no mundo, bem como explorar o potencial de espécies do Estuário da Laguna dos Patos como *S. terebinthifolius* frente a *M. tuberculosis*. Para atender tais objetivos, esta dissertação apresenta como resultado 3 manuscritos que buscam contribuir com dados a respeito dos PNC e seus efeitos antimicobacterianos. No manuscrito 1, intitulado “Produtos naturais costeiros: Uma revisão aplicada a atividade antituberculose” é abordado um contexto introdutório e exploratório dos PNC com ação antituberculose. Nesta revisão inédita, os PNCs com ação antimicobacteriana são apresentados assim como os tipos de ecossistemas costeiros mais explorados no contexto de desenvolvimento de fármacos antituberculose.

O manuscrito 2, “A pesquisa global de produtos naturais marinhos antituberculose: uma análise bibliométrica”, foi desenvolvido com o objetivo de apresentar um panorama de publicações de artigos experimentais de produtos naturais marinhos com ação antituberculose. O manuscrito exhibe dados que envolvem os autores dos manuscritos, bem como de origem das instituições envolvidas, as produções ao longo do tempo, os tipos de estudos realizados e as palavras-chave utilizadas para representar os artigos de forma a relacionar esses dados com informações sobre a TB no mundo e sobre a oferta de produtos naturais por regiões de *hotspots*.

Por fim, no manuscrito 3, “Lipídeos antimicobacterianos de *Schinus terebinthifolius*: ensaio *in vitro* e *in silico*”, foram realizados ensaios de caracterização química e avaliação antimicobacteriana de lipídeos de uma planta halófito presente no extremo-sul do Brasil. O objetivo deste estudo foi identificar e determinar por método *in vitro* e *in silico* o potencial inibitório de lipídeos presentes em *S. terebinthifolius* frente a *M. tuberculosis* e em MPTPB, respectivamente.

OBJETIVOS

Discutir e identificar o potencial antimicrobiano de produtos naturais costeiros frente a *M. tuberculosis*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão sobre os principais trabalhos envolvendo PNC com atividade antimicobacteriana nos últimos 50 anos;
- Apresentar um panorama bibliométrico de estudos de produtos naturais marinhos com ação antituberculose;
- Produzir e caracterizar compostos lipofílicos das folhas de *S. terebinthifolius* coletada no Estuário da Laguna dos Patos;
- Avaliar a atividade antimicobacteriana *in vitro* do extrato de *S. terebinthifolius*;
- Avaliar a ação *in silico* dos compostos lipídicos de *S. terebinthifolius* frente a proteína; MPTPB de *Mycobacterium tuberculosis*.

REFERÊNCIAS

BERNARDES, Natalia R.; HEGGDORNE-ARAÚJO, Marlon; BORGES, Isabela F.J.C.; ALMEIDA, Fabricio M.; AMARAL, Eduardo P.; LASUNSKAIA, Elena B.; MUZITANO, Michelle F.; OLIVEIRA, Daniela B.. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 24, n. 6, p. 644-650, nov. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2014.10.012>.

BEZERRA, José Jailson Lima. Usos medicinais de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) em diferentes regiões do Brasil: Uma revisão. **Ethnoscientia**, Recife, v. 01, n. 07, p. 88-108, abr. 2022.

BLUNT, John W.; COPP, Brent R.; KEYZERS, Robert A.; MUNRO, Murray H. G.; PRINSEP, Michèle R.. Marine natural products. **Natural Product Reports**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 382-431, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5np00156k>.

BRASIL. **Monografia da Espécie Schinus Terebinthifolius Raddi (Aroeira-da-Praia)**. Brasília, DF: Ministério da Saúde/Anvisa, 2014.

BRASIL. **Panorama da Conservação dos Ecossistemas Costeiros e Marinhos no Brasil**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2010. p. 1-148.

ARAUJO FANERÓGAMAS SUBMERSAS E O AMBIENTE SEDIMENTAR NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS (RS – BRASIL)

CAI, Runlin; JIANG, Hongming; MO, Yaling; GUO, Huixian; LI, Chunyuan; LONG, Yuhua; ZANG, Zhenming; SHE, Zhigang. Ophiobolin-Type Sesterterpenoids from the Mangrove Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. ZJ-68. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 82, n. 8, p. 2268-2278, 31 jul. 2019. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00462>.

CAI, Runlin; WU, Yingnan; CHEN, Senhua; CUI, Hui; LIU, Zhaoming; LI, Chunyuan; SHE, Zhigang. Peniisocoumarins A–J: isocoumarins from *penicillium commune* qqf-3, an endophytic fungus of the mangrove plant *kandelia candel*. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 81, n. 6, p. 1376-1383, 24 maio 2018. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b01018>

DUTTA, Noton K.; HE, Rongjun; PINN, Michael L.; HE, Yantao; BURROWS, Francis; ZHANG, Zhong-Yin; KARAKOUSIS, Petros C.. Mycobacterial Protein Tyrosine Phosphatases A and B Inhibitors Augment the Bactericidal Activity of the Standard Anti-tuberculosis Regimen. **Acs Infectious Diseases**, [S.L.], v. 2, n. 3, p. 231-239, 7 jan. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00133>.

KOUL, Anil; CHOIDAS, Axel; TREDER, Martin; TYAGI, Anil K.; DRLICA, Karl; SINGH, Yogendra; ULLRICH, Axel. Cloning and Characterization of Secretory Tyrosine Phosphatases of Mycobacterium tuberculosis. **Journal Of Bacteriology**, [S.L.], v. 182, n. 19, p. 5425-5432, out. 2000. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.182.19.5425-5432.2000>.

LEMOES, Valéria M.; LANARI, Marianna; COPERTINO, Margareth; SECCHI, Eduardo R.; ABREU, Paulo Cesar O. V. de; MUELBERT, José H.; GARCIA, Alexandre M.; DUMONT, Felipe C.; MUXAGATA, Erik; VIEIRA, João P.. Patos Lagoon estuary and adjacent marine coastal biodiversity long-term data. **Earth System Science Data**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 1015-1041, 8 mar. 2022. Copernicus GmbH. <http://dx.doi.org/10.5194/essd-14-1015-2022>.

LI, Hanxiang; JIANG, Jieyi; LIU, Zhaoming; LIN, Shaoe; XIA, Guoping; XIA, Xuekui; DING, Bo; HE, Lei; LU, Yongjun; SHE, Zhigang. Peniphenones A–D from the Mangrove Fungus *Penicillium dipodomyicola* HN4-3A as Inhibitors of Mycobacterium tuberculosis Phosphatase MPTPB. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 77, n. 4, p. 800-806, 5 mar. 2014. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/np400880w>.

MARTINS, Maria do Rosário; ARANTES, Silvia; CANDEIAS, Fátima; TINOCO, Maria Teresa; CRUZ-MORAIS, Júlio. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 151, n. 1, p. 485-492, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.063>.

MASCARELLO, Alessandra; MORI, Mattia; CHIARADIA-DELATORRE, Louise Domeneghini; MENEGATTI, Angela Camila Orbem; MONACHE, Franco Delle; FERRARI, Franco; YUNES, Rosendo Augusto; NUNES, Ricardo José; TERENCE, Hernán; BOTTA, Bruno. Discovery of Mycobacterium tuberculosis Protein Tyrosine Phosphatase B (PtpB) Inhibitors from Natural Products. **Plos One**, [S.L.], v. 8, n. 10, p. 1-12, 14 out. 2013. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0077081>.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M.. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 770-803, 12 mar. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Global Tuberculosis Report 2022**. Genebra: OMS, 2022.

ROBLES-ZEPEDA, Ramón Enrique; CORONADO-ACEVES, Enrique Wenceslao; VELÁZQUEZ-CONTRERAS, Carlos Arturo; RUIZ-BUSTOS, Eduardo; NAVARRO-NAVARRO, Moisés; GARIBAY-ESCOBAR, Adriana. In vitro anti-mycobacterial activity of nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-6, 25 nov. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-13-329>.

RUDDRARAJU, Kasi Viswanatharaju; AGGARWAL, Devesh; ZHANG, Zhong-Yin. Therapeutic Targeting of Protein Tyrosine Phosphatases from Mycobacterium tuberculosis. **Microorganisms**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 14, 23 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9010014>.

Santos LC. A base molecular da resistência em Mycobacterium tuberculosis. *Abra J Med Microbiol*. Março de 2012;28(1):24–36.

SILVA, Ana Pg; TABERNEIRO, Lydia. New strategies in fighting TB: targeting mycobacterium tuberculosis-secreted phosphatases mptpa & mptpb. **Future Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 2, n. 8, p. 1325-1337, ago. 2010. Future Science Ltd. <http://dx.doi.org/10.4155/fmc.10.214>.

VASCONCELOS, Priscilla Guimarães Silva; ALVES, Érika Ponchet; MAIA, Carolina Medeiros de Almeida; BRITO, Arella Cristina Muniz; SILVA, Diego Romário; FREIRES, Irlan Almeida; CAVALCANTI, Yuri Wanderley; REHDER, Vera Lucia Garcia; RUIZ, Ana Lúcia Tasca Gois; DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Biological properties of Schinus terebinthifolia Raddi essential oil. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 58, p. 1-14, 2022. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902021000x2e20417>.

WILLIAMS, Brooke A.; WATSON, James E.M.; BEYER, Hawthorne L.; KLEIN, Carissa J.; MONTGOMERY, Jamie; RUNTING, Rebecca K.; ROBERSON, Leslie A.; HALPERN, Benjamin S.; GRANTHAM, Hedley S.; KUEMPPEL, Caitlin D.. Global rarity of intact coastal

regions. **Conservation Biology**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 1-15, 6 fev. 2022. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1111/cobi.13874>.

XIA, Guoping; LI, Jia; LI, Hanxiang; LONG, Yuhua; LIN, Shao'E; LU, Yongjun; HE, Lei; LIN, Yongcheng; LIU, Lan; SHE, Zhigang. Alterporriol-Type Dimers from the Mangrove Endophytic Fungus, *Alternaria* sp. (SK11), and Their MPTPB Inhibitions. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 2953-2969, 16 maio 2014. MDPI AG.
<http://dx.doi.org/10.3390/md12052953>.

XIAO, Ze'En; LIN, Shao'E; TAN, Chunbing; LU, Yongjun; HE, Lei; HUANG, Xishan; SHE, Zhigang. Asperlones A and B, Dinaphthalenone Derivatives from a Mangrove Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. 16-5C. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 366-378, 13 jan. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/md13010366>.

MANUSCRITO 1

Produtos naturais costeiros: Uma revisão aplicada a atividade antituberculose

Artigo de revisão submetido na língua inglesa ao periódico: Natural Product Research (Fator de impacto: 2,48)

A versão em língua portuguesa encontra-se nas páginas seguintes desta dissertação.

As normas de submissão podem ser acessadas por meio do endereço:
<https://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?show=instructions&journalCode=gnpl>
[20](#)

1 **Produtos naturais costeiros: Uma revisão aplicada a atividade**
2 **antituberculose**

3 Rodolfo Moreira Baptista^a, Marcos Alaniz Rodrigues^a, Fabio Roselet^b, César
4 Serra Bonifácio Costa^b, Pedro Eduardo Almeida da Silva^a, Daniela Fernandes
5 Ramos^{a*}

6 ^a*Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais Costeiros, Universidade Federal do*
7 *Rio Grande, Rio Grande, Brasil;*

8 ^b*Instituto de Oceanologia, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil;*

9 *Correspondência: daniferamos@gmail.com; Tel.: + 55 53 3237-4634; Núcleo de
10 Desenvolvimento de Novos Fármacos - NUDEFA, Rua General Osório, s/nº, Campus Saúde,
11 2º andar. Rio Grande, Rio Grande do Sul - Brasil. CEP: 96.200-400.

12

13 **Resumo**

14 Apesar dos muitos avanços na pesquisa de fármacos, os produtos naturais ainda são
15 explorados como uma fonte promissora para a descoberta de novos compostos bioativos
16 para o tratamento de doenças globais, como a tuberculose. No entanto, há uma carência
17 de estudos e informações sobre produtos naturais costeiros, que prosperam no ambiente
18 de transição entre dois ecossistemas diferentes e produzem metabólitos secundários
19 únicos. Manguezais, estuários e planícies de lama compõem áreas propícias para o
20 desenvolvimento de espécies costeiras e têm mostrado resultados promissores em
21 pesquisas antituberculose, algumas dessas regiões estão presentes em áreas de *hotspots*.
22 Esta revisão concentrou-se em pesquisas realizadas em ambientes costeiros e explorou as
23 razões pelas quais esses produtos naturais tendem a superar os não costeiros no combate
24 ao agente causador da tuberculose, o *Mycobacterium tuberculosis*.

25 **Keywords:** Coastal environments; Natural products; *Mycobacterium tuberculosis*; antimicrobial

26

27

28

29 1. Introdução

30 A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Mycobacterium*
31 *tuberculosis*, também conhecida como bacilo de Koch, sendo uma das principais causas de
32 mortalidade no mundo. Em 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) relatou cerca de 10
33 milhões de casos de tuberculose e 1,5 milhão de mortes (WHO, 2022).

34 A OMS listou estratégias para diminuir a morbimortalidade por TB até 2025, como o
35 desenvolvimento de novas vacinas, melhorias nos métodos diagnósticos, promoção de terapias
36 que, de alguma forma, reduzam o tempo de tratamento e/ou que diminuam os efeitos colaterais
37 e as interações medicamentosas. No entanto, apesar de muitos avanços na descoberta de novos
38 fármacos para o tratamento da tuberculose, há relatos de falhas devido à resistência aos
39 antibióticos (Imperial et al. 2018; OMS, 2021). Isso levou à priorização de novas alternativas
40 propostas para o tratamento da tuberculose latente e contra cepas resistentes (WHO, 2021).

41 O uso farmacológico de produtos naturais tem sido um marco importante no
42 desenvolvimento humano, e mesmo com todos os avanços tecnológicos, eles ainda são
43 responsáveis por quase metade dos medicamentos disponíveis comercialmente. Essa
44 diversidade de compostos é produzida por metabólitos secundários específicos que muitas
45 espécies produzem, inclusive para manter sua sobrevivência no meio ambiente, o que torna
46 esses compostos importantes para a inovação e o desenvolvimento tecnológico tanto na
47 pesquisa quanto na indústria (Harvey 2008; Newman and Cragg 2020; Pye et al. 2017).

48 As zonas costeiras são conhecidas por sua biodiversidade, sua diversidade estrutural
49 única e, conseqüentemente, pelo alto potencial biotecnológico de seus produtos naturais.
50 Existem diferentes tipos de ambientes costeiros distribuídos nos continentes e essas
51 características fornecem um ambiente desafiador para o desenvolvimento de espécies com
52 diferentes estratégias de vida, e sua resposta evolutiva geralmente compreende a produção de
53 metabólitos secundários (Blunt et al. 2016; Lakshmi 2021). Esses ambientes em constante
54 mudança incluem aqueles chamados de estuários, leitos de algas, prados de ervas marinhas,
55 planícies de lama, recifes de coral, marismas, manguezais e florestas costeiras (Williams et al.
56 2022).

57 Estudos avaliando o potencial de ambientes costeiros como fonte de produtos naturais
58 no desenvolvimento de novos fármacos com atividade antimicrobiana, especialmente contra o
59 bacilo da TB, ainda são escassos, portanto, esta revisão pretende apresentar um resumo dos

60 principais ecossistemas costeiros como potencialmente importantes para a produção de
61 compostos antimicrobianos, especialmente aqueles com atividade antituberculose.

62

63 2. O panorama de produtos naturais costeiros com atividade antimicobacteriana

64 Diversos seres vivos, como bactérias, fungos, plantas e insetos, são importantes fontes
65 de produtos naturais bioativos. Apesar dos avanços e desenvolvimento de novos métodos de
66 síntese de novos fármacos, compostos bioativos a partir de produtos naturais ainda são uma
67 alternativa de sucesso. A importância destes compostos é confirmada em diversos estudos que
68 apresentam resultados promissores em estudos de avaliações farmacológicas (Blunt et al. 2016;
69 Mayer et al. 2021; Newman and Cragg, 2020; Ghoran et al. 2022).

70 As regiões costeiras abrigam organismos adaptados às suas características, e uma dessas
71 adaptações é a produção de metabólitos secundários. Embora essas regiões estejam muito
72 sujeitas a ações antrópicas, a biodiversidade ainda se encontra em níveis elevados (Williams et
73 al. 2022).

74 Apesar de sua presença abrangente em todos os continentes, nem todos os ambientes
75 costeiros foram explorados nos últimos anos como fonte de produtos naturais, e ainda menos
76 em pesquisas focadas em compostos anti-TB. Algumas regiões do mundo são mais estudadas
77 do que outras, por razões da localização, das características ecológicas e biológicas dos
78 ambientes e o conhecido efeito da demanda por produtos novos, lucrativos, de fácil obtenção e
79 manipulação. Os estudos com produtos naturais costeiros incluem classes fitoquímicas de
80 compostos explorados neste mesmo contexto, e os resultados mostram uma clara preferência
81 por determinadas classes.

82 A maioria das regiões alvo da coleta de espécies costeiras está localizada em *hotspots*
83 de biodiversidade (Figura S1) caracterizados por áreas de grande biodiversidade e
84 concomitantemente com enorme risco de extinção (Costa et al. 2009). Por isso, essas regiões
85 são classificadas de forma a priorizar ações de conservação, visando à preservação de espécies
86 vulneráveis. Os *hotspots* de biodiversidade estão presentes em todos os continentes, mas
87 concentrados na região tropical (Mittermeier et al. 2011).

88

90 A região que inclui a Indonésia e o sul da China, por exemplo, é conhecida como uma
91 das de maior biodiversidade do mundo, devido à sua complexa estrutura geológica, composta
92 por milhares de ilhas que emergiram principalmente do movimento das placas litosféricas e
93 ação vulcânica (Neall e Trewick 2008). Nessa zona, a Sonda Índia é a região do Oceano
94 Pacífico onde as espécies costeiras foram mais exploradas no contexto da atividade
95 antimicrobiana. É composta pela Península Malaia, Bornéu, Sumatra, Java, Bali e ilhas
96 menores na Plataforma Continental de Sunda e conhecida pela diversidade de recifes de corais
97 e extensos manguezais ao longo de várias costas. Esta é classificada como um *hotspot* para
98 produtos naturais marinhos (Mittermeier et al. 2011; Verma et al., 2020).

99 Ainda na região Sul Asiática, devido à atividade vulcânica e de subducção, a área
100 conhecida como Wallaceia inclui muitas ilhas conhecidas como Celebes, Molucas, Sunda
101 Menor na Indonésia, e Timor Leste. No entanto, este aglomerado de ilhas apresenta um alto
102 nível de endemismo. As águas de Wallacea são muito ricas em espécies de corais e possuem
103 uma grande extensão de ervas marinhas. As margens da região são compostas por manguezais,
104 estuários e lodaçais, habitats importantes para espécies da região (Mittermeier et al. 2011).

105 Outro ambiente importante na busca por produtos naturais costeiros é o litoral brasileiro.
106 O Brasil é um dos poucos países que apresenta alta diversidade de ecossistemas costeiros, como
107 manguezais, restingas, lamaçais e águas estuarinas (Amaral et al. 2016; Garreta e Alves, 2003).
108 No entanto, foi apenas em estuários que estudos com produtos naturais com possível atividade
109 antituberculose foram relatados até o momento (Ramos et al, 2015; 2022).

110 Embora não seja considerado um *hotspot* de biodiversidade segundo Mittermeier et al.
111 (2011), a costa sul do Brasil possui a biodiversidade mais rica da América do Sul. O encontro
112 de duas grandes correntes marinhas na costa do Sul do Brasil (no estado do Rio Grande do Sul)
113 forma a Zona de Convergência Subtropical do Atlântico Sul, um fenômeno que favorece a
114 biodiversidade do Sul do Brasil. Nessa região, a Corrente das Malvinas, de origem polar e rica
115 em nutrientes, encontra-se com a Corrente do Brasil, com águas de maior temperatura e
116 oligotróficas. Juntamente com as grandes descargas de água doce da Laguna dos Patos e do Rio
117 da Prata, as águas costeiras desta área fornecem gradientes ambientais e recursos nutricionais
118 propícios para grande diversidade de organismos (Lemos et al. 2022; Odebrecht et al. 2017).

119 Além disso, a região sul do Brasil possui ambientes únicos e com alta biodiversidade,
120 gerando um grande número de compostos de organismos locais para suportar e mitigar diversas
121 condições estressantes. Scarano et al. (2018) destacaram como a biodiversidade química de
122 metabólitos secundários (alguns com potencial ação anti-TB) de plantas terrestres auxilia sua
123 adaptação às condições locais, como os flavonoides (Figura Suplemento 2). O Rio Grande do
124 Sul possui mais de 600 km de região costeira, que inclui estuários e extensas planícies arenosas
125 com suas dunas costeiras associadas, áreas úmidas de água doce e lagoas (Silveira et al. 2022).

126 Em relação aos produtos naturais anti-TB no mundo, a maior porcentagem dos
127 compostos ativos obtidos ainda está concentrada em espécies terrestres, apesar do grande
128 aumento de pesquisas em produtos naturais marinhos na última década. No entanto, há uma
129 diminuição destes compostos obtidos em ambientes costeiros. Uma interpretação sobre isso
130 pode estar relacionada à falta de informações sobre o ecossistema e o ambiente das espécies
131 originais utilizadas nos referidos estudos.

132

133 3. Produtos naturais costeiros

134 A partir dos poucos estudos *in vitro* realizados sobre a ação de produtos naturais
135 costeiros contra *Mycobacterium* sp., é possível observar um potencial maior desses compostos
136 quando comparados a produtos naturais de outros ecossistemas, como o terrestre. Esse achado
137 sugere que características dos ecossistemas costeiros podem favorecer a produção de potenciais
138 produtos naturais na pesquisa de novos fármacos.

139 Neste cenário, os ambientes costeiros que se destacam na busca por novos compostos
140 anti-TB são os manguezais, estuarinos e planícies de lama, devido a interação entre a terra e a
141 água, interação que promove parâmetros ambientais únicos de temperatura, salinidade e
142 oscilação do volume de água e consequentemente a migração de espécies, esses ambientes têm
143 sido considerados fonte de oportunidade única para a descoberta de uma grande variedade de
144 produtos naturais bioativos. Assim, enfatizamos as informações disponíveis sobre a produção
145 de metabólitos antimicrobianos com atividade anti-TB por organismos nesses ambientes
146 (Tabela S1).

147

148

149 3.1. *Manguezais*

150 Os manguezais são de grande importância ecológica e econômica, que correspondem a
151 137.600 km² de área no planeta. Essas florestas, na interface terra-mar, fornecem alimento,
152 áreas de reprodução e berçários para vários organismos terrestres e marinhos, incluindo muitas
153 espécies comerciais. As florestas de manguezais são ecossistemas altamente produtivos com
154 taxas de produção primária equivalentes às das florestas tropicais úmidas verdes (Bunting et al.
155 2018).

156 Esse ambiente também desempenha um papel fundamental na sustentabilidade humana
157 e nos meios de subsistência amplamente utilizado para alimentos, combustíveis e para a
158 descoberta de novas drogas. Além disso, os manguezais oferecem proteção contra desastres
159 como tsunamis e ciclones tropicais por causa de sua ação como um amortecedor, evitando a
160 erosão da costa (Rivera-Monroy et al. 2017).

161 Outra característica desse ecossistema envolve a diversidade de plantas medicinais
162 comumente utilizadas para diversas doenças, principalmente em países em desenvolvimento
163 que adotam fortemente a medicina tradicional como primeira linha de tratamento, incluindo o
164 uso dessas espécies como agentes antimicrobianos (Rao et al. 2022). Esse aspecto despertou
165 interesse da comunidade científica, numa corrida para descobrir novas drogas (et al. 2021).
166 Devido ao gradiente de salinidade do solo do manguezal e aos ciclos de oscilação da água, o
167 crescimento de plantas tolerantes a sais (halófitas) torna-se condutor na produção de
168 metabólitos secundários específicos e promissores (Ferreira et al. 2022).

169 A adaptação de halófitas para sobrevivência em solos de composição salina envolve
170 uma complexidade de mecanismos que isolam íons em vacúolos e a ação de moléculas bioativas
171 como ácidos fenólicos, flavonoides e taninos, polissacarídeos, glicosídeos, lipídios (gorduras e
172 ácidos graxos, fitoesteróis e tocoferóis, óleos essenciais, lipídios acetilicos, carotenoides) e
173 alcaloides (Attia-Ismail 2022; Chen et al. 2017; Flowers and Colmer 2015).

174 Embora já se conheça a grande variedade de espécies vegetais em mangues, muitos
175 estudos visaram produtos naturais de microrganismos endofíticos na pesquisa de fármacos anti-
176 TB (Cai et al. 2018, 2019; Cui et al., 2017; Demers et al., 2018; Li et al., 2014; Liu et al., 2018;
177 Pan et al., 2011; Sartika et al., 2021; Sol et al., 2014; Wang et al., 2013; Xia et al., 2014; 2015;
178 Kornsakulkarn et al., 2018). A descoberta de produtos naturais a partir de fungos e bactérias
179 não é algo novo no universo dos antimicrobianos (Guo et al., 2008; Vandana et al., 2021).

180 Entretanto, muitos estudos recentes envolvendo microrganismos endofíticos de plantas típicas
181 de manguezais têm mostrado resultados promissores de produtos naturais. A relação simbiótica
182 de microrganismos endofíticos com essas plantas que crescem sob as condições estressantes já
183 mencionadas nesse ecossistema desenvolvem proteção química contra microrganismos
184 patogênicos, entre outros benefícios, (Cadamuro et al. 2021; Hong et al., 2009; Kuzhalvaymani
185 et al., 2020; 2020; Yan et al., 2010).

186 A proteção contra microrganismos endofíticos pode ocorrer de forma direta, onde
187 desenvolvem metabólitos capazes de afastar insetos ou impedir o crescimento de
188 microrganismos, ou capazes de causar efeitos que promovem uma relação de antibiose entre
189 as espécies (Vandana et al. 2021).

190 *Derris indica* e *Avicennia alba* são duas espécies de halófitas típicas de manguezais da
191 província de Nakhon Si Thammarat, na Tailândia, cujos compostos foram testados contra *M.*
192 *tuberculosis*. Entretanto, *D. indica* oriunda de ambientes costeiros apresentou em ensaio *in*
193 *vitro*, uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 6,25 µg/mL, enquanto *A. alba* não
194 apresentou atividade contra *M. tuberculosis* a 100 µg/mL (Koysomboon et al. 2006). Além
195 disso, em comparação com a atividade antimicobacteriana de *Derris sp.*, obtida de um ambiente
196 de floresta perenifolia (Kumar et al. 2014), a concentração mínima necessária para inibir o
197 crescimento do bacilo, *in vitro*, foi pelo menos 8x maior (50 µg/mL) do que a obtida em
198 manguezais (Liu et al. 2020).

199 Os fungos endofíticos são espécies que se mostram líderes nesse cenário. Apesar da
200 presença de estudos sobre sua atividade antimicobacteriana, alguns estudos se destacam com
201 ensaios inibitórios de proteínas como a MPTPB (Mycobacterium Protein Tyrosine Phosphatase
202 B) (Cai et al. 2019; Cui et al., 2017; Li et al., 2014; Liu et al., 2018; Xia et al., 2014). Acredita-
203 se que a inibição dessa proteína implicaria em uma ação mais efetiva do sistema imune contra
204 a infecção pelo *M. tuberculosis*, além de não culminar em mecanismos de resistência por ser
205 uma proteína secretada externamente pela micobactéria (Vickers et al. 2018).

206 Fungos como do gênero *Aspergillus*, *Diaporthe*, *Penicillium* e *Alternaria* que colonizam
207 plantas de mangue apresentaram resultados notáveis contra MPTPB (Figura Suplemento 2),
208 com destaque para os compostos: Asperophiobolins H, Asperterpenóide A, Asperlona A e B,
209 Mitorrubrina, Penifenona B e C; Diaporisoindol A e Tenellone C; Peniisocumarina G,

210 Atropisomer 2 e Alterporriol (Cai et al. 2019, Huang et al. 2013, Xiao et al. 2015, Li et al. 2014,
211 Cui et al. 2017, Cai et al. 2018, Xia et al. 2014).

212 Da Espécie *Penicillium dipodomyicola* coletada na província de Hainan, China, foi
213 extraído o composto Peniferona B cuja inibição da proteína MPTPB atingiu um valor de IC₅₀
214 de 0,16 ± 0,02 µM, a dose mais efetiva de um produto natural de origem costeira frente a
215 proteína identificada até agora (Cai et al. 2018, 2019; Cui et al., 2017; Li et al., 2014; Liu et al.,
216 2018).

217 Ao comparar diferentes espécies do gênero *Diaporthe* encontrada em manguezal, é
218 possível verificar que o produto natural terpenóide Diaporisoindol A extraído do gênero
219 apresentou melhor resultado na inibição de MPTPB (4,2µM) (Cui et al. 2017) quando
220 comparados aos compostos produzidos pelo mesmo gênero originado de habitat marinho
221 (50µM) (Liu et al. 2020).

222 Bactérias do gênero *Streptomyces* destacam-se entre as maiores produtoras de
223 compostos bioativos em manguezais, principalmente na busca por produtos naturais com ação
224 anti-TB. No entanto, apenas ensaios de concentração inibitória mínima foram realizadas com
225 os metabólitos secundários dessas espécies, onde *Streptomyces* sp apresentou menor CIM
226 devido à produção de actinomicina D (0,78 µg/mL) (Rakhmawatie et al. 2021).

227 Ainda nesse contexto, ao analisar as classes bioativas, a maioria dos estudos com
228 espécies de manguezais comprovou a eficácia das quinonas com ação anti-TB (Figura
229 Suplemento 2), mesmo para anti-MPTPB. São classes comumente produzidos por organismos
230 eucariotos e algumas bactérias e exercem forte ação antimicrobiana. Plantas associadas a
231 microrganismos produtores de quinona conferem proteção contra fungos patógenos (Tran et al.
232 2004; Ghoran et al. 2022).

233 No entanto, o mecanismo de ação desta classe em micobactérias não é conhecido.
234 Acredita-se que, devido à alta produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) as quinonas
235 causam esse ambiente estressante seria capaz de causar morte celular (Carcamo-Noriega et al.
236 2019). Ensaios com derivados de quinona como naftoquinonas concluíram que há um possível
237 efeito antimicobacteriano devido à presença de radicais nitrogenados (Halicki et al. 2018).
238 Outro estudo envolvendo antraquinonas sugere atividade anti-TB por meio da inibição do ácido
239 micólico, o principal constituinte lipídico das células micobacterianas (Sharma et al. 2019).

Um único estudo envolvendo antraquinonas de fungos endofíticos de manguezais revelou que possíveis mecanismos de ação da 4-desoxibostrina estão relacionados a genes envolvidos na produção de nucleotídeos, lipídios, energia, coenzimas, metabolismo de carboidratos e armazenamento de informações. No entanto, ainda é considerada inconclusiva (Wang et al. 2013). Kornsakulkarn et al. (2018) identificaram pela primeira vez o composto Nigrosporone B do fungo *Nigrospora* sp., isolado da folha de *Choerospondias axillaris* na Tailândia, que inibiu o crescimento de *M. tuberculosis* H37Ra com CIM de 172,25 µM.

Compostos fenólicos de plantas e fungos de manguezais também foram explorados como produtos naturais anti-TB (Li et al. 2014; Rakhmawatie et al., 2021; Cai et al., 2018; Sol et al., 2014; 2006; Sartika et al., 2021; Zerubabel 2022; Prabu et al., 2014). Embora a maioria dos estudos não tenha apresentado caracterização química, ensaios qualitativos fitoquímicos foram realizados para identificar classes fenólicas como flavonoides e cumarinas.

Essas classes são conhecidas como agentes antimicobacterianos promissores. Estudos com plantas não costeiras identificaram vários mecanismos de ação desses compostos contra *Mycobacterium* sp., como inibição da bomba de efluxo e inibição do proteassoma. Os flavonoides têm se destacado em alguns estudos na inibição da biossíntese de ácido micólico, principal componente da aparência de células micobacterianas, e inibição do óxido nítrico (Gröblacher et al. 2012; Zheng et al., 2014; Mazlun et al., 2019). Compostos fenólicos das halófitas *Schinus terebinthifolius* e *Ocotea nonata* já identificaram a inibição do óxido nítrico como seu principal mecanismo de ação anti-TB (Costa et al. 2015; Bernardes et al., 2014)

A classe dos terpenos também é explorada como agente anti-TB. Estes compostos são encontrados em diferentes partes de plantas e em microrganismos. Sabe-se que sua função vegetal está relacionada à proteção UV e proteção contra predadores devido ao sabor amargo que esta classe promove. Além disso, as propriedades antimicrobianas dos terpenos contra uma ampla gama de microrganismos também forneceram evidências convincentes de que eles são candidatos adequados para uso como candidatos a medicamentos (Jagatap et al. 2022).

Estudos recentes têm demonstrado que terpenos derivados de óleos essenciais têm ação antimicrobiana por aumentar a permeabilidade da membrana bacteriana, promover estresse oxidativo e inibir a síntese proteica. Isso pode estar relacionado aos estudos com espécies costeiras de fungos produtores de terpenóides contra MPTPB (Cai et al. 2019; Huang et al., 2013). Entretanto, no contexto antimicobacteriano, a ação dos terpenóides é direcionada para a

271 inibição da síntese da proteína Tuberculosinol fosfatase (Rv3378c), responsável pela formação
272 de outros fatores de virulência da bactéria (Kataev et al. 2018).

273

274 3.2. *Estuários*

275 Os estuários, da mesma forma que os manguezais, são formadas na transição de Lagunas
276 de água doce para ambientes marinhos. Essas águas de transição são caracterizadas por alta
277 variabilidade de fatores abióticos (por exemplo, salinidade, temperatura, disponibilidade de
278 oxigênio, etc.) e alta produtividade biológica. A integração desses parâmetros nesse
279 ecossistêmica determina as condições para a biodiversidade nesse ambiente (Valle-Levinson
280 2010)

281 Nas águas estuarinas, existem bactérias, peixes, macro e microalgas, espécies
282 bentônicas como ascídias, corais, plantas e outros componentes da biodiversidade capazes de
283 sobreviver às mudanças de salinidade e outros fatores citados. Essa característica despertou a
284 atenção dos pesquisadores, para a obtenção de metabólitos secundários produzidos por essas
285 espécies sob determinadas condições (Costanza et al. 1993)

286 Os estuários do sul do Brasil têm uma variedade de ambientes de zonas subtidais e
287 entremarés, não vegetados e vegetados (como ervas marinhas e prado de macroalgas), bem
288 como substratos duros artificiais e áreas de canais mais profundos (Lemos et al. 2020). Esses
289 ambientes e as águas costeiras adjacentes estão sujeitos a um clima subtropical e marcam
290 variações interanuais em sua precipitação e descarga fluvial impulsionadas pelo El Niño-
291 Oscilação Sul (ENOS) (Seeliger e Kjerfve, 2001; Lemos et al., 2020).

292 A variabilidade no clima e na hidrologia não só influencia a ecologia da biodiversidade
293 e produção estuarina e marinha (Lemos et al. 2020) como gera condições adequadas para a
294 diversificação genética adaptativa para as condições estressantes locais. Por exemplo, uma
295 espécie relacionada ao aipo originada de um ambiente estuarino (*Apium graveolens*; A família
296 *Apiaceae*) no sul do Brasil apresentou uma concentração 10 vezes maior de compostos
297 fenólicos livres (Souza et al. 2018) e 150-250% maior teor de ácido clorogênico (ácido fenólico
298 protetor contra o estresse oxidativo) do que cultivares comerciais de aipo (Souza et al. 2021).

299 Estudos realizados com espécies do microbioma estuarino no sul do Brasil mostraram
300 metabólitos secundários com ação antituberculose de cianobactérias (Figura Suplemento 2). A

301 microcistina, peptídeo obtido de *Microcystis aeruginosa*, apresentou atividade contra cepas de
302 *M. tuberculosis*, com CIMs de 1,93 μ M para cepas sensíveis e valor expressivo de 0,06 μ M para
303 cepas resistentes, revelando potenciais compostos que ocorrem em outros mecanismos de ação
304 (Ramos et al. 2015). Um dos mecanismos conhecidos de ação dos peptídeos antimicrobianos
305 (AMP) em *M. tuberculosis* está diretamente relacionado à sua carga positiva, que permite ao
306 peptídeo realizar interações eletrostáticas com a membrana bacteriana, que por sua vez tem uma
307 carga global negativa (Oliveira et al. 2021; Lee et al., 2016). Além disso, outros estudos indicam
308 uma resposta de peptídeos antimicrobianos (AMPs) contra o *M. tuberculosis* intra e
309 extracelular, potencializando a ação do sistema imunológico do hospedeiro (Coyotl et al. 2020;
310 Deshpande et al., 2020).

311 Os extratos obtidos em acetona/clorofórmio de *Chaetoceros* sp originados do Mar
312 Mediterrâneo apresentaram CIM de 800 μ g/mL (Lauritano et al. 2018). Por outro lado, extratos
313 de *Chaetoceros muelleri* coletados em águas estuarinas do Rio Grande do Sul apresentaram
314 efeitos inibitórios na concentração de 100 μ g/mL contra *M. tuberculosis* (Ramos et al. 2022), o
315 que parece estar associado à sua alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados (Figura
316 Suplemento 2) como ácido linoleico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenóico.
317 Assim, os autores hipotetizam que alguns compostos lipofílicos podem ser capazes de induzir
318 alterações na permeabilidade da membrana bacteriana que causam morte celular (Carballeira et
319 al. 2014). Compostos como o ácido palmítico interferem indiretamente na síntese de ácido
320 micólico, componente crucial da membrana de *Mycobacterium* (Morbidoni et al. 2006).

321

322 3.3. *Planícies de lama*

323 O ambiente conhecido como lamaçal ou planície de lama é composto pela transição de
324 outros ambientes costeiros, e atinge 127.921 km² no planeta Terra. estuários e manguezais
325 podem apresentar regiões lamacentas, caracterizadas por zonas úmidas de areia ou rocha, e são
326 consideradas um reservatório de espécies bentônicas. Os parâmetros do ambiente necessários
327 para o seu desenvolvimento incluem variações no nível da água sem ondas fortes. Assim,
328 sedimentos mixahalínicos surgem ocasionando contato com a maré baixa com frequência
329 (Foster et al. 2013; Murray et al., 2019).

330 Devido a essas características, esse ecossistema fornece componentes ideais para o
331 crescimento de vários organismos, principalmente seres invertebrados bentônicos, além de
332 proteção contra inundações e tempestades causadoras de erosão (Meijer et al. 2021).

333 Um único estudo realizado com produtos naturais costeiros dessa região encontrou
334 compostos bioativos extraídos de *Streptomyces* sp., na província da Coreia (Cui et al. 2022),
335 país com uma faixa de planície de lama que atravessa grande parte de seu território. O estudo
336 apresentou resultados importantes de dois novos lipodecapeptídeos não ribossomais
337 (Teanamida A e Teanamida B) contra *M. tuberculosis* com CIM de 27 μ M, evidenciando ainda
338 mais o importante papel que o gênero *Streptomyces* tem desempenhado na pesquisa de novos
339 produtos naturais antimicrobianos, em que um dos metabólitos produzidos pela bactéria trata-
340 se de uma das drogas pioneiras para o tratamento da tuberculose, a estreptomicina (Figura
341 Suplemento 2) (Cui et al. 2022).

342 Peptídeos não ribossomais têm se destacado no contexto da atividade antimicrobiana.
343 Embora seu mecanismo exato de ação em micobactérias ainda não seja conhecido, suas
344 interações geralmente ocorrem na inibição da síntese da parede celular, ruptura da membrana e
345 bloqueio de processos intracelulares (Liu et al. 2019).

346

347 4. **Conclusões**

348 A pesquisa de produtos naturais costeiros contra a tuberculose apresenta resultados
349 positivos, mas com uma grande lista de espécies e produtos naturais a serem descobertos. A
350 maior parte das pesquisas sobre produtos naturais costeiros anti-TB tem se concentrado em
351 microrganismos endofíticos de manguezais, que apresentam potencial inibitório promissor.

352 Outro fator importante é a falta de informações sobre o ambiente de origem do produto
353 natural estudado, uma vez que o ambiente de desenvolvimento das espécies é um fator crucial
354 para a formação de seu perfil de metabólitos secundários. Por fim, as condições intocadas de
355 muitos outros ambientes costeiros e regiões consideradas de alta biodiversidade no mundo
356 podem abrir novas janelas de oportunidade para o desenvolvimento de novos fármacos com
357 atividade antimicobacteriana.

358

359 **Agradecimentos**

360 Os autores agradecem o apoio financeiro para esta pesquisa da Coordenação de
361 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de
362 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Produtividade em Pesquisa, Processo
363 306806/2022-3 - Daniela Fernandes Ramos).

364

365 **Declaração de interesse**

366 Não houve conflito de interesses relatado pelo(s) autor(es).

367

368 5. **Referências**

369 Amaral ACZ, Corte GN, Filho JSR, Denadai MR, Colling LA, Borzone C, Veloso V, Omena
370 EP, Zalmon IR, Rocha-Barreira CDA, Souza JRBD, Rosa LCD, Almeida TCMD. 2016.
371 Brazilian sandy beaches: characteristics, ecosystem services, impacts, knowledge and priorities.
372 Braz. J. Oceanogr. 64(spe2):5–16. <https://doi.org/10.1590/S1679-875920160933064sp2>.

373 Attia-Ismail SA. 2022. Halophytic Plants for Animal Feed: Associated Botanical and
374 Nutritional Characteristics. Singapore (SG): Bentham Science Publishers. Chapter 8, Plant
375 Secondary Metabolites in Halophytes; 110–122.
376 <https://doi.org/10.2174/9789815050387122010013>.

377 Bernardes NR, Heggdorne-Araújo M, Borges IFJC, Almeida FM, Amaral EP, Lasunskiaia EB,
378 Muzitano MF, Oliveira DB. 2014. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and
379 antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus*
380 *terebinthifolius*. Rev. Bras. Farmacogn. 24:644–650. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.10.012>.

381 Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, Munro MHG, Prinsep MR. 2016. Marine natural products.
382 Nat. Prod. Rep. 33(3):382–431. <https://doi.org/10.1039/c5np00156k>.

383 Bunting P, Rosenqvist A, Lucas R, Rebelo LM, Hilarides L, Thomas N, Hardy A, Itoh T,
384 Shimada M, Finlayson C. 2018. The Global Mangrove Watch—A New 2010 Global Baseline
385 of Mangrove Extent. Rem. Sens. 10(10): 1-19 <https://doi.org/10.3390/rs10101669>.

386 Cadamuro RD, Bastos IMADS, Silva IT, Da Cruz ACC, Robl D, Sandjo LP, Alves S, Lorenzo
 387 JM, Rodríguez-Lázaro D, Treichel H, Steindel M, Fongaro G. 2021. Bioactive Compounds
 388 from Mangrove Endophytic Fungus and Their Uses for Microorganism Control. *J. Fungus* 7(6):
 389 1-19. <https://doi.org/10.3390/jof7060455>.

390 Cai R, Wu Y, Chen S, Cui H, Liu Z, Li C, She Z. 2018. Peniisocoumarins A-J: Isocoumarins
 391 from *Penicillium commune* QQF-3, an Endophytic Fungus of the Mangrove Plant *Kandelia*
 392 *candel.* *J. Nat. Prod.* 81(6):1376–1383. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b01018>.

393 Cai R, Jiang H, Mo Y, Guo H, Li C, Long Y, Zang Z, She Z. 2019. Ophiobolin-Type
 394 Sesterterpenoids from the Mangrove Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. ZJ-68. *J. Nat. Prod.*
 395 82(8):2268–2278. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00462>.

396 Carballeira, NM, Cruz H, Kwong CD, Wan B, Franzblau S. 2004. 2-Methoxylated fatty acids
 397 in marine sponges: Defense mechanism against mycobacteria? *Lipids.* 39(7):675-680.
 398 <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1281-8>.

399 Carcamo-Noriega EM, Sathyamoorthi S, Banerjee S, Gnanamani E, Mendoza-Trujillo M,
 400 Mata-Espinosa D, Hernández-Pando R, Veytia-Bucheli, JI, Possani LD, Zare RN. 2019. 1,4-
 401 Benzoquinone antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium*
 402 *tuberculosis* derived from scorpion venom. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 116(26):12642-12647.
 403 <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1812334116>.

404 Chen S, He L, Chen D, Cai R, Long Y, Lu Y, She Z. 2017. Talaramide A, an unusual alkaloid
 405 from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces* sp. (HZ-YX1) as an inhibitor of
 406 mycobacterial PknG. *N. Jour. Chem.* 41(11):4273-4276. <http://dx.doi.org/10.1039/c7nj00059f>.

407 Costa CSB, Iribarne OO, Farina JM. 2009. Human impacts and threats to the conservation of
 408 South American salt marshes. In: Silliman R, Grosholz ED, Bertness MD. *Human impacts on*
 409 *salt marshes: A global perspective.* Los Angeles (CA), University of California Press: p. 337–
 410 359.

411 Costa IFB, Calixto SD, Araujo MH, Konno TUP, Tinoco LW, Guimarães DO, Lasunskiaia EB;
 412 Leal IRC, Muzitano MF. 2015. Antimycobacterial and Nitric Oxide Production Inhibitory
 413 Activities of *Ocotea notata* from Brazilian Restinga. *Sci. World Jour.*
 414 <http://dx.doi.org/10.1155/2015/947248>.

415 Costanza, R, Kemp, WM, Boynton, WR. 1993. Predictability, Scale, and Biodiversity in
 416 Coastal and Estuarine Ecosystems: Implications for Management. *Ambio*. 22:88-96.

417 Coyotl EAP, Palacios JB, Muciño G, Moreno-Blas D, Costas M, Montes TM, Diener C, Uribe-
 418 Carvajal S, Massieu L, Castro-Obregón S, Espinosa OR. 2020. Antimicrobial Peptide against
 419 *Mycobacterium tuberculosis* that Activates Autophagy Is an Effective Treatment for
 420 Tuberculosis. *Pharmaceutics*. 12(11): 1071. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111071>

421 Cui H, Lin Y, Luo M, Lu Y, Huang X, She Z. 2017. Diaporisoindoles A-C: Three
 422 Isoprenylisoindole Alkaloid Derivatives from the Mangrove Endophytic Fungus *Diaporthe* sp.
 423 SYSU-HQ3. *Org. Lett.* 19(20):5621–5624. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b02748>.

424 Cui J, Kim E, Moon DH, Kim TH, Kang I, Lim Y, Shin D, Hwang S, Du YE., Song MC, Bae
 425 M, Cho JC, Jang J, Lee SK, Yoon YJ, Oh DC. 2022. Taeanamides A and B, Nonribosomal Lipo-
 426 Decapeptides Isolated from an Intertidal-Mudflat-Derived *Streptomyces* sp. *Mar. Drug*.
 427 20(6):1-14. <https://doi.org/10.3390/md20060400>.

428 Demers DH, Knestrick MA, Fleeman R, Tawfik R, Azhari A, Souza A, Vesely B, Netherton M,
 429 Gupta R, Colon BL, Rice CA, Rodríguez-Pérez MA, Rohde KH, Kyle DE, Shaw LN, Baker
 430 BJ. 2018. Exploitation of mangrove endophytic fungi for infectious disease drug discovery.
 431 *Mar. Drug*. 16(10):1-11. <https://doi.org/10.3390/md16100376>.

432 Deshpande D, Grieshaber M, Wondany F, Gerbl F, Noschka R, Michaelis J, Stenger S. 2020.
 433 Super-resolution microscopy reveals a direct interaction of intracellular *Mycobacterium*
 434 *tuberculosis* with the antimicrobial peptide LL-37. *Int J Mol Sci*. 21(18):6741.
 435 <https://doi.org/10.3390/ijms21186741>.

436 Ferreira MJ, Pinto DCGA, Cunha Â, Silva H. 2022. Halophytes as Medicinal Plants against
 437 Human Infectious Diseases. *Appl. Sci*. 12(15):1-18. <https://doi.org/10.3390/app12157493>.

438 Flowers TJ, Colmer TD. 2015. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Ann. Bot.* 115(3):
 439 327–331. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu267>.

440 Foster NM, Hudson MD, Bray S, Nicholls RJ. 2013. Intertidal mudflat and saltmarsh
 441 conservation and sustainable use in the UK: A review. *J. Env. Manag.* 126: 96–104.
 442 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.04.015>.

443 Garreta HP, Alves CM. 2003. The Brazilian Coastal Zone: the Main Environmental Problems
 444 and Their Consequences for Human Health. *Epidemiology*, 14(5). Suppl: 85–86.
 445 <https://doi.org/10.1097/00001648-200309001-00199>.

446 Ghoran SH, Taktaz F, Ayatollahi SA, Kijjoo A. 2022 Anthraquinones and Their Analogues from
 447 Marine-Derived Fungi: chemistry and biological activities. *Mar. Drugs*, 20(8):1-69.
 448 <http://dx.doi.org/10.3390/md20080474>.

449 Gröblacher B, Kunert O, Bucar, F. 2012 Compounds of *Alpinia katsumadai* As Potential Efflux
 450 Inhibitors In *Mycobacterium smegmatis*. *Bioorg. Med. Chem.* 20(8):2701-2706.
 451 <http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Bmc.2012.02.039>.

452 Guo B, Wang Y, Sun, X, Tang K. 2008. Bioactive natural products from endophytes: A review.
 453 *Appl. Biochem. Microbiol.* 44(2):136–142. <https://doi.org/10.1134/S0003683808020026>.

454 Halicki PCB, Ferreira LA, De Moura KCG, Carneiro PF, Del Rio KP, Carvalho TSC, Pinto
 455 MCFR, da Silva PEA, Ramos DF. 2018. Naphthoquinone Derivatives as Scaffold to Develop
 456 New Drugs for Tuberculosis Treatment. *Front. Microbiol.* 9:673. 10.3389/fmicb.2018.00673.

457 Harvey A. 2008. Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today*, 13(19–20):894–901.
 458 <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.07.004>.

459 Hong K, Gao A-H, Xie Q-Y, Gao HG, Zhuang L, Lin H-P, Yu H-P, Li J, Yao X-S, Goodfellow
 460 M, Ruan J-S. (2009). Actinomycetes for Marine Drug Discovery Isolated from Mangrove Soils
 461 and Plants in China. *Mar. Drug.* 7(1):24–44. <https://doi.org/10.3390/md7010024>.

462 Huang X, Huang H, Li H, Sun X, Huang H, Lu Y, Lin Y, Long Y, She Z. 2013. Asperterpenoid
 463 A, a new Sesterterpenoid as an Inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* Protein Tyrosine
 464 Phosphatase B from the Culture of *Aspergillus* sp. 16-5c. *Org. Lett.* 15(4):721-723, 29
 465 <http://dx.doi.org/10.1021/ol303549c>.

466 Imperial, MZ, Nahid P, Phillips PPJ, Davies GR, Fielding K, Hama D, Hermann, Wallis RS,
 467 Johnson JL, Lienhardt C, et al. 2018. A patient-level pooled analysis of treatment-shortening
 468 regimens for drug-susceptible pulmonary tuberculosis. *Nat. Med.* 24(11):1708-1715.
 469 <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-018-0224-2>.

470 Jagatap VR, Ahmad I, Patel HM. 2022. Recent updates in natural terpenoids as potential anti-
 471 mycobacterial agents. *Indian J Tuberc.* Jul;69(3):282-304. [http://dx.doi.org/](http://dx.doi.org/10.1016/j.ijtb.2021.07.006)
 472 10.1016/j.ijtb.2021.07.006.

473 Kataev VE, Khaybullin RN, Garifullin BF, Sharipova RR. 2018. New Targets for Growth
 474 Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis*: why do natural terpenoids exhibit antitubercular
 475 activity? *Rus. J. Bioorg. Chem.* 44(4):438-452. <http://dx.doi.org/10.1134/s1068162018040106>.

476 Kornsakulkarn J, Choowong W, Rachtawee P, Boonyuen N, Kongthong S, Isaka M,
 477 Thongpanchang C. 2018. Bioactive Hydroanthraquinones from Endophytic Fungus *Nigrospora*
 478 *Sp. Bcc 47789*. *Phytochem. Lett.* 24: 46-50. <Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Phytol.2018.01.015>.

479 Koysomboon S, Van Altena I, Kato S, Chantrapromma K. 2006. Antimycobacterial flavonoids
 480 from *Derris indica*. *Phytochem.* 67(10):1034–1040.
 481 <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.03.019>.

482 Kumar J, Prasad AD, Chaturvedi V. 2014. Phytochemical screening of five medicinal legumes
 483 and their evaluation for in vitro anti-tubercular activity. *J. R. Ayurveda.* 35(1):98-102.
 484 <http://dx.doi.org/10.4103/0974-8520.141952>.

485 Kuzhalvaymani K, Elizabethjacqueline L, Subha TS. 2020. Endophytic fungi from mangroves -
 486 a review. *IJPSR* 11(9):34-43 [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(9\)](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(9)).

487 Lakshmi A. 2021. Coastal ecosystem services and human wellbeing. *Indian J. Med. Research,*
 488 153(3):382-387. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_695_21.

489 Lauritano C, Martín J, De La Cruz, M, Reyes F, Romano G, Ianora A. 2018. First identification
 490 of marine diatoms with anti-tuberculosis activity. *Sci. Rep.* 8(1):1-10.
 491 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20611-x>.

492 Lee TH, Hall KN, Aguilar MI. 2016. Antimicrobial Peptide Structure and Mechanism of
 493 Action: A Focus on the Role of Membrane Structure. *Curr. Top. Med. Chem.* 16(1):25–39. doi:
 494 10.2174/1568026615666150703121700.

495 Lemos VM, Lanari M, Copertino M, Secchi ER, De Abreu PCOV, Muelbert JH, Garcia AM,
 496 Dumont FC, Muxagata E, Vieira JP, Colling A, Odebrecht C. 2022. Patos Lagoon estuary and
 497 adjacent marine coastal biodiversity long-term data. *Earth Sys. Sci. Data,* 14(3):1015–1041.
 498 <https://doi.org/10.5194/essd-14-1015-2022>.

499 Li H, Jiang J, Liu Z, Lin S, Xia G, Xia X, Ding B, He L, Lu Y, She, Z. 2014. Peniphenones A-
500 D from the mangrove fungus *Penicillium dipodomyicola* HN4-3A as inhibitors of
501 *Mycobacterium tuberculosis* phosphatase MPTPB. *J. Nat. Prod.* 77(4):800–806.
502 <https://doi.org/10.1021/np400880w>.

503 Liu Y; Ding S; Shen J; Zhu K. 2019. Nonribosomal antibacterial peptides that target multidrug-
504 resistant bacteria. *Nat. Prod. Rep.* 36(4)-573-592, <http://dx.doi.org/10.1039/c8np00031j>.

505 Liu Z, Dong Z, Qiu P, Wang Q, Yan J, Lu Y, Wasu P-A, Hong K, She Z. 2018. Two new bioactive
506 steroids from a mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp. *Steroids*, 140:32–38.
507 <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.08.009>.

508 Liu Z, Chen Y, Li S, Wang Q, Hu C, Liu H, Zhang W. 2020. Bioactive Metabolites from the
509 Deep-Sea-Derived Fungus *Diaporthe longicolla* FS429. *Mar. Drug.*18(8):1-13.
510 <http://dx.doi.org/10.3390/md18080381>.

511 Mayer AMS, Guerrero AJ, Rodríguez AD, Taglialatela-Scafati O, Nakamura F, Fusetani N.
512 2021. Marine Pharmacology in 2016–2017: Marine Compounds with Antibacterial,
513 Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral
514 Activities; Affecting the Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms
515 of Action. *Mar. Drug.* 19(2):1-75. <https://doi.org/10.3390/md19020049>.

516 Mazlun MH, Sabran DF, Mohamed M, Bakar MFA, Abdullah Z. 2019. Phenolic Compounds
517 as Promising Drug Candidates in Tuberculosis Therapy. *Molecules*, 24(13): 1-16.
518 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24132449>.

519 Meijer KJ, El-Hacen E-HM, Govers LL, Lavaleye M, Piersma, T, Olf, H. 2021. Mangrove-
520 mudflat connectivity shapes benthic communities in a tropical intertidal system. *Ecol. Indic.*
521 130 (1-11). <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108030>.

522 Mittermeier RA, Turner WR, Larsen FW, Brooks TM, Gascon C. 2011. Global Biodiversity
523 Conservation: The Critical Role of Hotspots. In: Zachos FE, Habel JC. *Biodiversity Hotspots:*
524 *Distribution and Protection of Conservation Priority Areas.* London (UK) Springer Berlin
525 Heidelberg: p. 3–22. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20992-5_1.

526 Morbidoni HR, Vilchèze C, Kremer L, Bittman R, Sacchettini JC, Jacobs jr WR. 2006. Dual
 527 Inhibition of Mycobacterial Fatty Acid Biosynthesis and Degradation by 2-Alkynoic Acids.
 528 Chem Bio. 13(3):297–307. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.01.005>.

529 Murray NJ, Phinn SR, DeWitt M, Ferrari R, Johnston R, Lyons MB. Clinton N, Thau D, Fuller
 530 RA. 2019. The global distribution and trajectory of tidal flats. Nature, 565(7738): 222–225.
 531 <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0805-8>.

532 Myo EM, Maung CEH, Mya KM, Khai AA. 2020. Characterization of bacterial endophytes
 533 from Myanmar medicinal plants for antimicrobial activity against human and plant pathogens.
 534 Braz. J. Pharm. Sci. 56:1-8. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000317705>.

535 Neall, VE, Trewick, SA .2008. The age and origin of the Pacific islands: a geological overview.
 536 Phil. Trans. R. Soc. Lond., B. Biol. Sci., 363(1508):3293-3308.
 537 <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0119>.

538 Newman DJ, Cragg, GM. 2020. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly
 539 Four Decades from 01/1981 to 09/2019. Ind J. Nat. Prod. 83(3):770–803.
 540 <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.

541 Odebrecht C, Secchi ER, Abreu PC, Muelbert JH, Uiblein F. 2017. Biota of the Patos Lagoon
 542 estuary and adjacent marine coast: long-term changes induced by natural and human-related
 543 factors. Mar. Biol. Res. 13(1):3–8. <https://doi.org/10.1080/17451000.2016.1258714>.

544 Oliveira GS, Costa RP, Gomes P, Gomes MS, Silva T, Teixeira C. 2021. Antimicrobial Peptides
 545 as Potential Anti-Tubercular Leads: a concise review. Pharmaceuticals. 14(4)323.
 546 <http://dx.doi.org/10.3390/ph14040323>.

547 Pan JH, Chen Y, Huang YH, Tao YW, Wang J, Li Y, Peng Y, Dong T, Lai XM, Lin YC. 2011.
 548 Antimycobacterial activity of fusaric acid from a mangrove endophyte and its metal complexes.
 549 Arch. Pharm. Res. 34(7):1177–1181. <https://doi.org/10.1007/s12272-011-0716-9>.

550 Porras G, Chassagne F, Lyles JT, Marquez L, Dettweiler M, Salam AM, Samarakoon T, Shabih
 551 S, Farrokhi DR, Quave CL. 2020. Ethnobotany and the Role of Plant Natural Products in
 552 Antibiotic Drug Discovery. Chem. Rev. 121(6):3495-3560.
 553 <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00922>.

554 Prabu A, Seenivasan P, Kumar V. 2014. Antimycobacterial activity of certain mangrove plants
 555 against multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Asian J. Med. Sci.* 5(3):54-57.
 556 <http://dx.doi.org/10.3126/ajms.v5i3.9171>.

557 Pye CR, Bertin MJ, Lokey RS, Gerwick WH, Linington RG. 2017. Retrospective analysis of
 558 natural products provides insights for future discovery trends. *PNAS.* 114(22): 5601–5606.
 559 <https://doi.org/10.1073/pnas.1614680114>.

560 Rakhmawatie MD, Wibawa T, Lisdiyanti P, Pratiwi WR, Damayanti E, Mustofa M. 2021.
 561 Potential secondary metabolite from Indonesian Actinobacteria (InaCC A758) against
 562 *Mycobacterium tuberculosis*. *Iran J. Basic Med. Sci.* 24(8):1058–1068.
 563 <https://doi.org/10.22038/ijbms.2021.56468.12601>.

564 Ramos DF, Matthiensen A, Colvara W, De Votto APS, Trindade GS., Da Silva PEA, Yunes JS.
 565 2015. Antimycobacterial and cytotoxicity activity of microcystins. *JVATiTD.* 21(1):1-7
 566 <https://doi.org/10.1186/s40409-015-0009-8>.

567 Ramos, DF. Halicki, PCB, Caprara CSC, Borges P, D’oca CRM, Santos MFC, D’oca MGM,
 568 Roselet F, Silva PEA, Abreu PC. 2022. Chemical Profile and Antimicrobial Activity of the
 569 Marine Diatom *Chaetoceros muelleri*. *Chem. Biodiv.* 19(5):1-10.
 570 <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100846>.

571 Rao JK, Manjula RR., Suneetha J, Reddi TVVS. 2022. Ethnobotany of Mangroves: A Review.
 572 In: Das SC, Pullaiah T, Ashton EC. *Mangroves: Biodiversity, Livelihoods and Conservation.*
 573 Singapore (SG), Springer: p.107-138 https://doi.org/10.1007/978-981-19-0519-3_5.

574 Rivera-Monroy VH, Yip Lee S, Kristensen E, Twilley RR. 2017. *Mangrove Ecosystems: A*
 575 *Global Biogeographic Perspective: Structure, Function, and Services.* Cham (SWTZ) Springer
 576 International Publishing. Chapter 1, Introduction; p.1-16. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-](https://doi.org/10.1007/978-3-319-62206-4)
 577 [62206-4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-62206-4).

578 Sartika D, Rahma A, Amelano S, & Handayani D. 2021. Antibacterial Activity of Ethyl Acetate
 579 Extracts from Mangrove Plants *Rhizophora apiculata* and *Sonneratia alba*-Associated Fungi.
 580 *AHSR.* 40:336-342. <https://doi.org/10.2991/ahsr.k.211105.049>.

581 Scarano A, Chieppa M, Santino A. 2018. Looking at Flavonoid Biodiversity in Horticultural
582 Crops: A Colored Mine with Nutritional Benefits. *Plants*, 7(4):1-22.
583 <https://doi.org/10.3390/plants7040098>.

584 Sharma A, Islam MH, Fatima N, Upadhyay TK, Khan M, Kalim A, Dwivedi UN, Sharma R.
585 2019. Elucidation of marine fungi derived anthraquinones as mycobacterial mycolic acid
586 synthesis inhibitors: an in silico approach. *Mol. Biol. Rep.* 46(2):1715-1725.
587 <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-019-04621-0>.

588 Schumacher T. 1999. Plants used in medicine. In: Whitten T, Whitten J, editors. Indonesian
589 heritage: plants. Singapore (SG). Didier Millet. 4:68–69.

590 Seeliger U, Kjerfve B. 2001. Coastal Marine Ecosystems of Latin America. Ecological Studies.
591 Springer Berlin Heidelberg. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-04482-7>.

592 Silveira FF, da Silva Menezes L, Porto AB, Overbeck GE. 2022. Environmental drivers and
593 diversity of open plant communities in grassland and wetland mosaics in coastal southern
594 Brazil. *Folia Geobot.* 57(1):1-20. <https://doi.org/10.1007/s12224-022-09407-0>.

595 Souza MM, Silva B, Costa CSB, Badiale-Furlong E. 2018. Free phenolic compounds extraction
596 from Brazilian halophytes, soybean and rice bran by ultrasound-assisted and orbital shaker
597 methods. *An. Acad. Bras. Cien. Dec* 3363-3372, FAPESP. [http://dx.doi.org/10.1590/0001-](http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170745)
598 [3765201820170745](http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170745).

599 Souza MM, Da Silva B, Badiale-Furlong E, Costa CSB. 2021. Phenolic Acid Profile, Quercetin
600 Content, and Antioxidant Activity of Six Brazilian Halophytes. In: Grigore, MN. Handbook of
601 Halophytes. Cham (SWT), Springer, p. 1395–1419. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-57635-](https://doi.org/10.1007/978-3-030-57635-6_44)
602 [6_44](https://doi.org/10.1007/978-3-030-57635-6_44).

603 Sun JF, Lin X, Zhou XF, Wan J, Zhang T, Yang B, Yang XW, Tu Z, Liu Y. 2014. Pestalols A-E,
604 new alkenyl phenol, and benzaldehyde derivatives from endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp.
605 AcBC2 isolated from the Chinese mangrove plant *Aegiceras corniculatum*. *J. Antibiot.*
606 67(6):451–457. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.24>.

607 Tran T, Saheba E, Arcerio AV, Chavez V, Li QY, Martinez, LE.; Primm TP. 2004 Quinones as
608 antimycobacterial agents. *Bioorg. Med. Chem.* 12(18):4809-4813.
609 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2004.07.015>.

610 Valle-Levinson A. 2010. Definition and classification of estuaries. Cambridge (UK).
 611 Cambridge University Press. Chapter 1, Contemporary Issues in Estuarine Physics; p.1-11.
 612 <https://doi.org/10.1017/CBO9780511676567.002>.

613 Vandana UK, Rajkumari J, Singha LP, Satish L, Alavilli H, Sudheer PDVN, Chauhan S, Ratnala
 614 R, Satturu V, Mazumder PB, Pandey P. 2021. The Endophytic Microbiome as a Hotspot of
 615 Synergistic Interactions, with Prospects of Plant Growth Promotion. *Biol.* 10(2):1-29.
 616 <https://doi.org/10.3390/biology10020101>.

617 Verma M, Symes WS, Watson JEM, Jones KR, Allan JR, Venter O, Rheindt FE, Edwards, DP,
 618 Carrasco LR. 2020. Severe human pressures in the Sundaland biodiversity hotspot. *Cons. Sci.*
 619 *Pract.* 2(3):1-12. <https://doi.org/10.1111/csp2.169>.

620 Vickers CF, silva APG, Chakraborty A, Fernandez P, Kurepina N, Saville C, Naranjo V, Pons
 621 M, Schnettger LS, Gutierrez, MG. 2018. Structure-Based Design of MPTPB Inhibitors That
 622 Reduce Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Survival and Infection Burden in
 623 Vivo. *J. Med. Chem.* 61(18):8337-8352. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00832>.

624 Wang C, Wang J, Huang Y, Chen H, Li Y, Zhong L, Chen Y, Chen S, Wang J, Kang J, Peng Y,
 625 Yang B, Lin Y, She Z, Lai X. 2013. Anti-mycobacterial activity of marine fungus-derived 4-
 626 deoxybostrycin and nigrosporin. *Molecules.* 18(2):1728–1740.
 627 <https://doi.org/10.3390/molecules18021728>.

628 WHO World Health Organization. 2022. Global Tuberculosis Report 2022. Geneva.

629 WHO World Health Organization. 2021. Global lists of high burden countries for tuberculosis
 630 (TB), TB/HIV and multidrug/rifampicin-resistant TB (MDR/RR-TB), 2021–2025: Background
 631 document. Geneva.

632 Williams BA, Watson JEM, Beyer HL, Klein CJ, Montgomery J, Runting RK, Roberson LA,
 633 Halpern BS, Grantham HS, Kuempel CD, Frazier M, Venter O, Wenger A. 2022. Global rarity
 634 of intact coastal regions. *Cons. Biol.* 36(4). <https://doi.org/10.1111/cobi.13874>.

635 Xia G, Li J, Li H, Long Y, Lin S, Lu Y, He L, Lin Y, Liu L, She Z. 2014. Alterporriol-type
 636 dimers from the mangrove endophytic fungus *Alternaria* sp. (SK11), and their MPTPB
 637 inhibitions. *Mar. Drug.*, 12(5):2953–2969. <https://doi.org/10.3390/md12052953>.

638 Xiao Z, Lin SOE, Tan C, Lu Y, He L, Huang X, She Z. 2015. Asperlones A and B,
 639 dinaphthalenone derivatives from a mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. 16-5C. *Mar.*
 640 *Drug.*, 13(1): 366–378. <https://doi.org/10.3390/md13010366>.

641 Yan L-L, Han N-N, Zhang Y-Q, Yu L-Y, Chen J, Wei Y-Z, Li Q-P, Tao L, Zheng G-H, Yang S-
 642 E, et al. 2010. Antimycin A18 produced by an endophytic *Streptomyces albidoflavus* isolated
 643 from a mangrove plant. *J. Antibiot.* 63(5):259–261. <https://doi.org/10.1038/ja.2010.21>.

644 Zerubabel M. 2022. Phytochemical Analysis, Tuberculosis Effect, Purification and
 645 Characterization of Aerial Parts of *Avicennia alba*. *Indian J Pharm Sci.* 2(84):423-435.
 646 [10.36468/pharmaceutical-sciences.936](https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.936).

647 Zheng Y, Jiang X, Gao F, Song J, Sun J, Wang L, Sun X, Lu Z, Zhang H. 2014. Identification
 648 of plant-derived natural products as potential inhibitors of the *Mycobacterium tuberculosis*
 649 proteasome. *Altern. Med.* 14:400. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-400>.

Material Suplementar

Figura S1. Áreas de *hotspot* de biodiversidade e distribuição de estudos em ambientes costeiros atualmente explorados para a descoberta de produtos naturais com ação anti-TB.

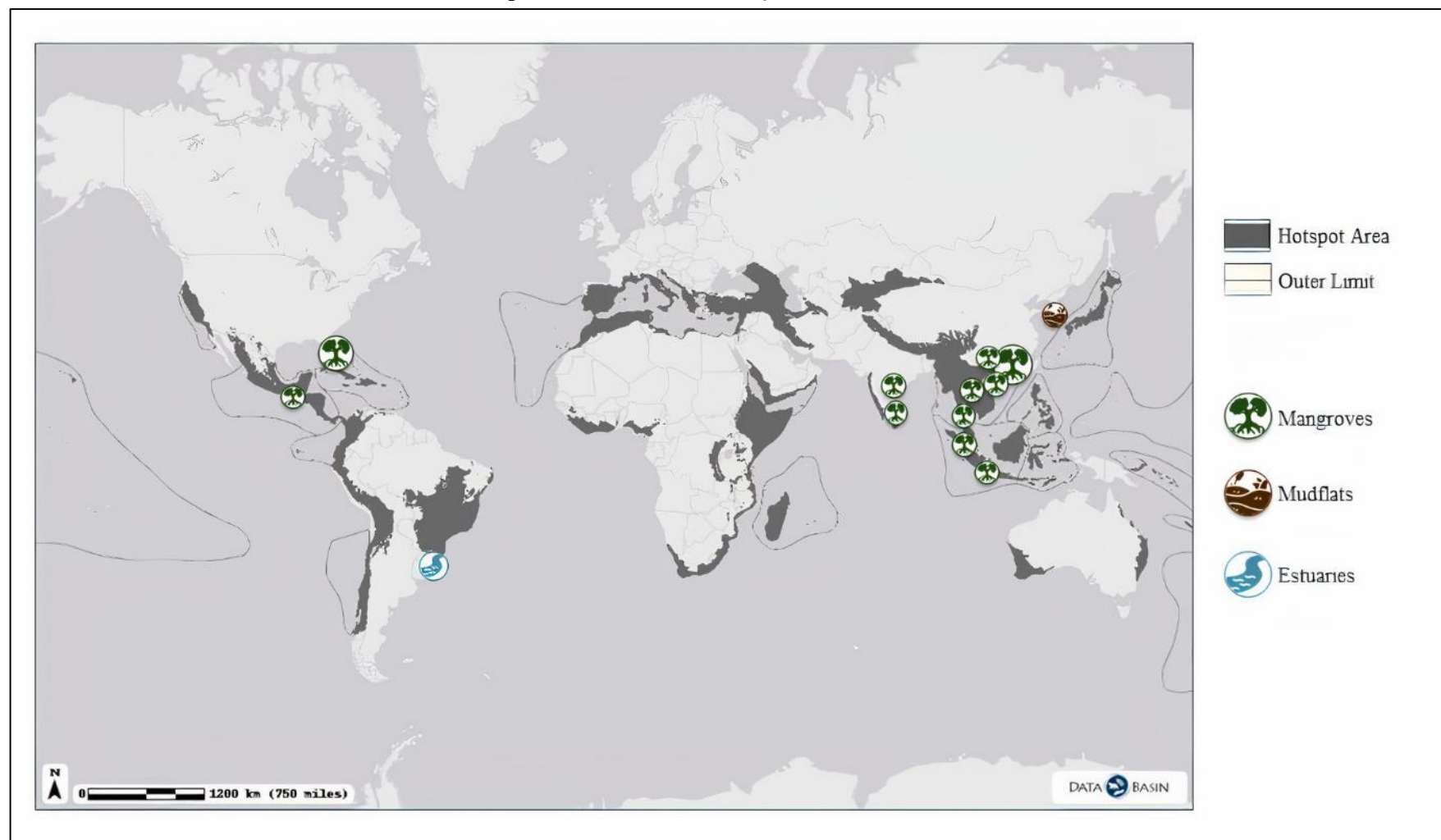


Figura S2. Classes químicas encontradas em ecossistemas costeiros aplicadas em estudos anti-TB (Lamaçais, Manguezais, Estuários).

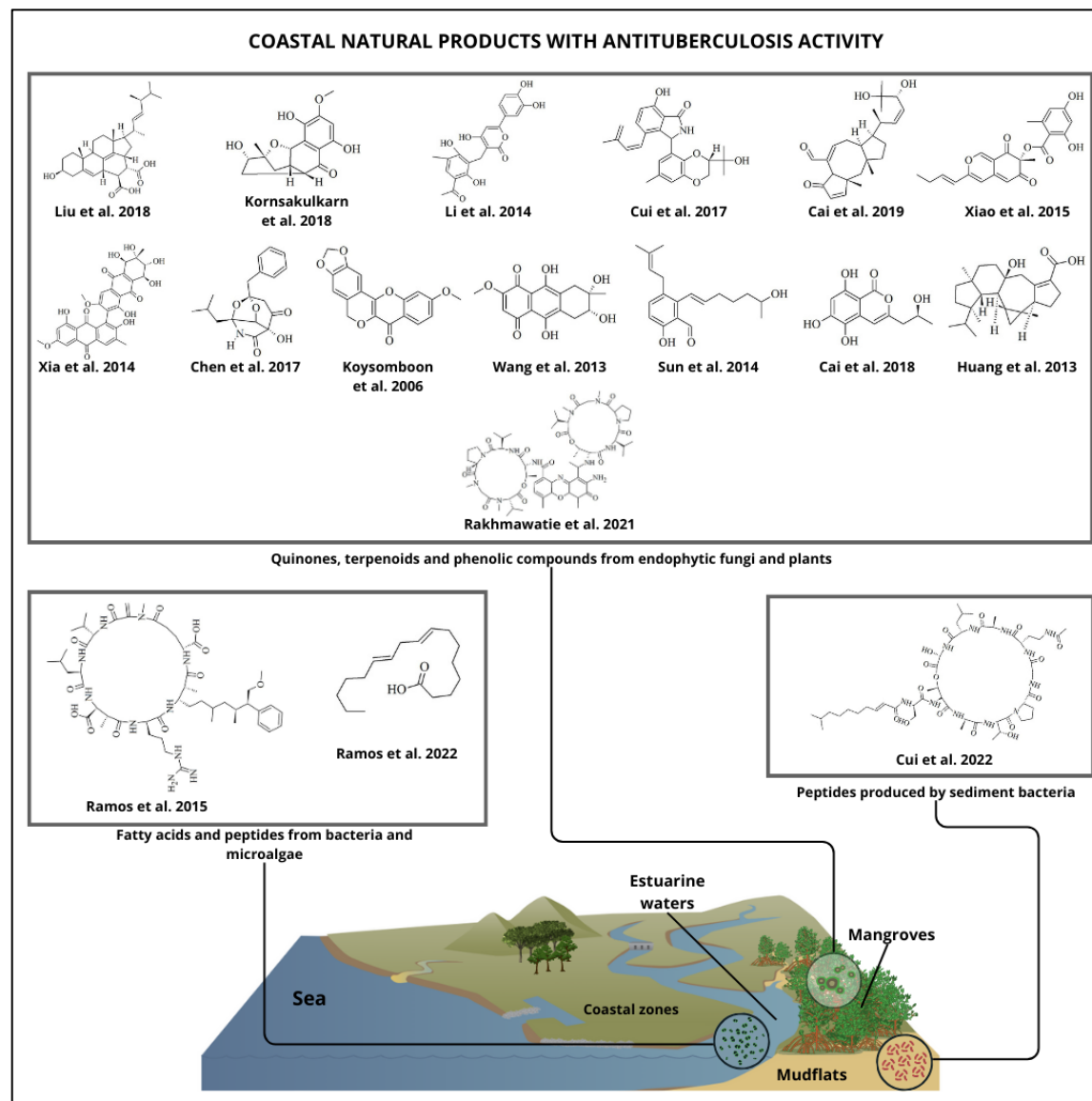
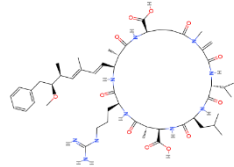
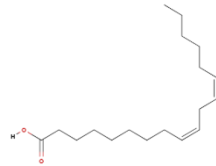
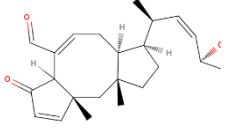
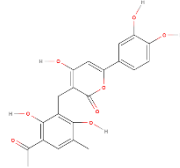
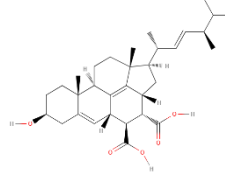
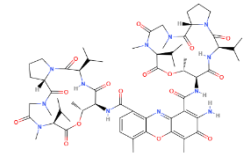
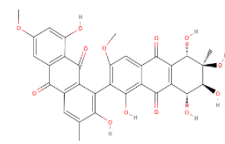
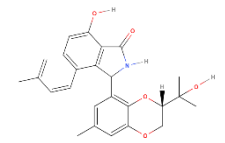
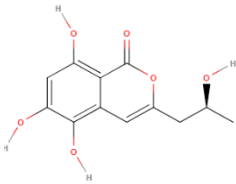
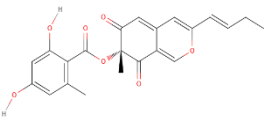
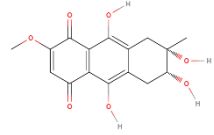
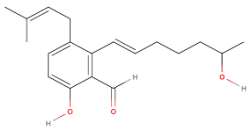
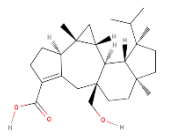
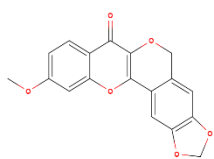


Tabela S1. Estudos de produtos naturais costeiros com propriedades antituberculose (Anti-TB)

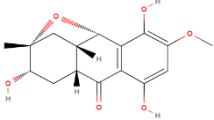
Ambiente costeiro	Local de coleta do organismo	Espécie	Classe de PNC	Estrutura do compostos de melhor resultado	Resultado	Referência
Estuarine waters	Estuary of Patos Lagoon, Brazil	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Peptides		Hexanic extract of <i>M. aeruginosa</i> (RST 9501 strain) showed inhibition against <i>M. tuberculosis</i> , including sensitive and resistant strains MIC between 1.93 μ M and 0.06 μ M. [D-Leu1] MC-LR showed activity at MIC between 53 and 0.42 μ M against tested mycobacterial strains	Ramos et al. (2015)
Estuarine waters	Rio Grande do Sul, Brazil	<i>Chaetoceros muelleri</i>	Fatty acids		The hexane extract was the most active, which presents linoleic acid as majoritary compound between six extracts in different solvents against <i>M. tuberculosis</i> , with MIC of 100 μ g/ml.	Ramos et al. (2022)
Mangrove	Zhanjiang Mangrove Nature Reserve in Guangdong Province, China.	<i>Aspergillus</i> sp.	Terpenoid		Asperophiobolins H presented inhibition of MPTPB with an IC ₅₀ value of 19 μ M. Compounds Asperophiobolins B, D, E, I, Ophiobolin G, Hydroxy-6-epi-ophiobolin G, and Ophiobolin P showed moderate inhibitory activity of MPTPB with IC ₅₀ values in the range of 24 to 42 μ M.	Cai et al. (2019)
Mangrove	Florida, USA Chiapas, Mexico	Fungal species	undetermined	-	From 540 fungal extracts tested, 100 showed percent growth inhibition for <i>M. tuberculosis</i> at 100 μ g/mL.	Demers et al. (2018)

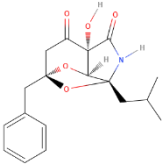
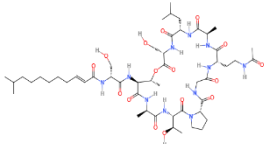
Mangrove	South China Sea in Hainan Province	<i>Penicillium dipodomyicola</i> HN4-3A	Quinone		Peniphenone B and C exhibited inhibitory activity against MPTPB with IC ₅₀ values of 0.16 ± 0.02 and 1.37 ± 0.05 μM, respectively	Li et al. (2014)
Mangrove	Thailand	<i>Aspergillus</i> sp.	Steroids		Ergosterdiacids A and B exhibited <i>in vitro</i> inhibitory activity against MPTPB with an IC ₅₀ values of 15.1 and 30.1 μM,	Liu et al. (2018)
Mangrove	Indonesian Culture Collection (InaCC), Indonesian Institute of Sciences, West Java, Indonesian.	Bacteria	Peptides		The compound similar to dimethenamid shown MIC anti-tb values of 100 μg/ml, and compound 2 actinomycin D with MIC value of 0.78 μg/mL against strain H37Rv. Atropisomer 2 exhibited inhibitory activity against MPTPB with an IC ₅₀ value 8.70 μM. Alterporriol S exhibited inhibitory activity at IC ₅₀ 64.70 μM. hydroxybostrycin, halorosellinia A, tetrahydrobostrycin, 9α-hydroxydihydrodesoxybostrycin, austrocortinin and 6-methylquinizarin shown IC ₅₀ values more than 100 μM against MPTPB	Rakhmawatie et al (2021)
Mangrove	Shankou, Guangxi Province, China.	<i>Alternaria</i> sp.	Quinone		The Compounds Diaporisoindole A and tenellone C showed inhibitory activity with IC ₅₀ values of 4.2 and 5.2 μM). Diaporisoindole B and diaporisoindole C revealed inhibitory effects at a concentration of 50 μM.	Xia et al. (2014)
Mangrove	Not described	<i>Diaporthe</i> sp.	Alkaloid			Cui et al. (2017)

Mangrove	Zhuhai Mangrove Nature Reserve in Guangdong Province, China.	<i>Penicillium commune</i>	Isocoumarin		Compound Peniisocoumarin G was found to inhibit MPTPB with an IC ₅₀ value of 20.7 μM.	Cai et al. (2018)
Mangrove	Hainan Island, China.	<i>Aspergillus</i> sp.	Quinone		Compounds Asperlone A, Asperlone B and Mitorubrin exhibited inhibitory effects against MPTPB with IC ₅₀ values of 4.24 ± 0.41, 4.32 ± 0.60 and 3.99 ± 0.34 μM, respectively. Mitorubrinic acid and 6''-Hydroxy-(R)-mitorubrinic acid showed inhibitory concentration at >50 μM	Xiao et al. (2015)
Mangrove	Hong Kong	<i>Nigrospora</i> sp.	Quinone		4-deoxybostrycin showed MIC against <i>M. tuberculosis</i> H37Rv with value of 15 μg/mL. And Nigrosporin showed MIC against <i>M. tuberculosis</i> H37Rv with value of 20 μg/mL.	Wang et al. (2013)
Mangrove	Nansha mangrove wetland, Guangdong province, China.	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	Phenolic compounds		Pestalol B showed inhibitory effects by bioluminescence intensity against <i>M. tuberculosis</i> at 50 μM	Sun et al. (2014)
Mangrove	Hong Kong	<i>Aspergillus</i> sp.	Terpenoid		Asperterpenoid A exhibited inhibitory activity against MPTPB with an IC ₅₀ value of 2.2 μM.	Huang et al. (2013)
Mangrove	Mangrove Research Station in Nakhon Si Thammarat province, Thailand	<i>Derris indica</i>	Phenolic compounds		The compound 3,4-Methylenedioxy-10-methoxy-7-oxo[2]benzopyrano[4,3-b]benzopyran exhibited antimycobacterial activity with MIC of 6.25 μg/mL.	Koysomboon et al. (2006)

The compounds 8,40-Dimethoxy-7-O-c,c-dimethylallylisoflavone; pongachromene and medicarpin showed inhibitory effects with values of 100 µg/mL. The compounds desmethoxy kanugin; lacheolatin B; 3,7-dimethoxyflavone and maackiain exhibited MIC value of 50 µg/mL. The Compounds karanjachromene and pinnatin showed MIC values of 12.5 µg/mL. The compound 3-Methoxy-(300,400-dihydro-300,400-diacetoxy)-200,200-dimethylpyrano-(7,8:500,600)-flavone showed inhibitory effects with value of 25 µg/mL. And Compound pachycarin D showed MIC value of 200 µg/mL against *M. tuberculosis*

Extract prepared from *Aspergillus flavus* presented the range of inhibition zone of 21.87 ± 0.81 mm – 26.12 ± 0.21 mm. Six fungal extracts (RAA2, RAA3, RAA4, RAK2, SaDa1, SaDa2) showed sensitivity to *M. tuberculosis* at concentrations of 3% and 5%. Growth inhibitory activity against *M. tuberculosis* H37Ra Nigrosporone A, B and Fusaquinon A were tested by obtaining MIC >169.89, 172.25 and >163.33 µM, respectively. The extracts of hexane, chloroform and methanol did not present inhibitory effect at 100 µg/mL against *M. tuberculosis*

Mangrove	Mandeh Beach, West Sumatra.	Fungal extracts	Flavonoids and saponnis	-	Sartika et al. (2021)
Mangrove	Khao Yai National Park, Nakhon Ratchasima Province, Thailand	<i>Nigrospora</i> sp. BCC47789	Quinones		Kornsakulkarn et al. (2018)
Mangrove	Corangi mangrove forests, Kakinada, Andhra Pradesh, India.	<i>Avicennia alba</i>	Phenolic compounds and alkaloids	-	Zerubabel (2022)

Mangrove	Guangdong province, China	<i>Talaromyces sp.</i>	Alkaloid		Talaramide A showed inhibition of mycobacterial protein kinase G activity with an IC ₅₀ value of 55 µM.	Chen et al. (2017)
Mangrove	Tamil Nadu	<i>Aegiceras corniculatum</i> <i>Avicennia officinalis</i> <i>Ceriops decandra</i> <i>Ceriops decandra</i> <i>Excoecaria agollacha</i> <i>Rhizophora mucronata</i> <i>Suaeda monoica</i> <i>Sesuvium portulacastrum</i>	Alkaloids, Flavonoids, Phytosterols, Saponnins, Tannins (Only in <i>E. agollacha</i>)	-	Methanol extract of <i>E. agollacha</i> showed maximum antimycobacterial activity at 500 µg/ml concentration, followed by <i>A. corniculatum</i> and <i>A. officinalis</i>	Prabu and Kumar (2014)
Mudflat	Anmyeondo, Republic of Korea	<i>Streptomyces sp.</i>	Peptides		Teanamide A and Teanamide B showed MIC ₅₀ of 27 µM and 63 µM, respectively.	Cui et al. (2022)

MANUSCRITO 2

A pesquisa global de produtos naturais marinhos antituberculose: uma análise bibliométrica

Artigo de revisão a ser submetido em língua inglesa ao periódico: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Fator de impacto: 1,581)

A versão em língua portuguesa encontra-se nas páginas seguintes desta dissertação.

As normas de submissão podem ser acessadas por meio do endereço:
<https://www.scielo.br/journal/rsbmt/about/#instructions>

1 A pesquisa global de produtos naturais marinhos antituberculose: uma análise 2 bibliométrica

3 Rodolfo Moreira Baptista¹, Pedro Eduardo Almeida Silva¹, Daniela Fernandes Ramos¹

4

5 ¹Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais Costeiros, Universidade Federal do Rio
6 Grande, Rio Grande, RS, Brasil;

7

8 RESUMO

9 **Introdução:** A tuberculose (TB) é uma doença causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, considerada em
10 2023 como a segunda principal causa de morte por infecção no planeta. Obstáculos como tempo prolongado de
11 terapia, efeitos colaterais desconfortáveis dentre outras barreiras impulsionam a busca por novos candidatos a
12 fármacos, como na bioprospecção de produtos naturais marinhos (PNM). Contudo, não há pesquisas bibliométricas
13 sobre a temática. Desta forma, este estudo identificou tendências e avanços na área de pesquisa de PNM com ação
14 antituberculose.

15 **Métodos:** Trata-se de uma análise bibliométrica realizada por meio de estratégias de busca na base de dados
16 PubMed sobre artigos experimentais de produtos naturais marinhos com ação antimicrobiana frente a *M.*
17 *tuberculosis*.

18 **Resultados:** Dos 105 manuscritos encontrados na busca, apenas 37% possuíam acesso aberto. A análise temporal
19 revelou uma queda nas produções devido ao surgimento da pandemia do novo coronavírus em 2021. Países como
20 EUA, Reino Unido e China lideram as origens das instituições envolvidas. Além disso, foi observado uma relação
21 entre países inseridos em *hotspots* de biodiversidade marinha, países com elevados casos de TB e a origem das
22 instituições. Cerca de 81% dos manuscritos apresentam ensaios *in vitro*, indicando que há possíveis barreiras para
23 seguimento dos estudos nas fases de desenvolvimento de fármacos.

24 **Conclusões:** Destaca-se aqui a apresentação de um cenário novo de pesquisas de descobertas de novos fármacos
25 antimicobacterianos, a fim de contribuir com fatores que facilitem e promovam mais produções sobre a temática
26 e que reflitam na busca de novas ferramentas de combate a tuberculose.

27

28 **Palavras-chave:** tuberculose, produtos biológicos, dados bibliométricos, PubMed, recursos marinhos

29

30 **Conflito de Interesse:** Os autores declaram que não houve conflito de interesse

31 **Autor correspondente:** Daniela Fernandes Ramos. E-mail: daniferamos@gmail.com; Tel.: +
32 55 53 3237-4634; Núcleo de Desenvolvimento de Novos Fármacos - NUDEFA, Rua General
33 Osório, s/nº, Campus Saúde, 2º andar. Rio Grande, Rio Grande do Sul - Brasil. CEP: 96.200-
34 400.

35

36

37

38 **INTRODUÇÃO**

39 A tuberculose (TB) é uma doença causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que
40 afeta cerca de 33% da população mundial¹. Apesar da redução de 15% na mortalidade alcançada
41 entre 2015 e 2019, dados de 2021 revelam um aumento nas mortes causadas pela doença de
42 mais de 1,6 milhão de pessoas em todo o mundo, o que a torna a principal causa de morte por
43 um único agente infeccioso no planeta. Por isso, a doença é atualmente considerada uma das
44 prioridades a serem combatidas pela Organização Mundial da Saúde². Além disso, no contexto
45 terapêutico da doença, obstáculos como tempo prolongado de terapia e efeitos colaterais
46 prejudiciais e desconfortáveis causam falhas na adesão ao tratamento, o que aumenta os custos
47 em saúde e favorece o desenvolvimento de mecanismos de resistência^{3,4,5}.

48 A bioprospecção de compostos antimicrobianos destaca-se nesse cenário como um
49 caminho consolidado e promissor, onde cerca de 48% dos medicamentos aprovados no mundo
50 entre 1980 e 2019 são produtos naturais ou derivados⁶. Devido a esse histórico de sucessos, a
51 busca por candidatos a fármacos antituberculose não só permanece em destaque nas pesquisas,
52 como também se expande nos estudos de metabólitos de espécies costeiras e marinhas^{7, 8, 9, 10}.

53 Os produtos naturais marinhos (PNM), embora menos explorados do que os produtos
54 naturais terrestres, apresentam vantagem comparativa em termos de novidade das estruturas
55 químicas^{11,12}. Além disso, a taxa de sucesso de produtos naturais marinhos como fonte de
56 fármacos corresponde a 1 em cada 3500 compostos avaliados⁶, enquanto a média geral de
57 compostos sintéticos na indústria atinge 1 em cada 5000 compostos¹³.

58 No contexto exploratório de PNM com ação antimicobacteriana, apesar do sucesso
59 exibido nos estudos, há escassez de análises de produção das pesquisas e tendências globais
60 sobre a temática. Assim, um estudo de análise bibliométrica apresenta-se como uma abordagem

61 eficaz na avaliação quantitativa de artigos acadêmicos, permitindo aos pesquisadores explorar
62 a progressão de campos específicos. É uma ferramenta que avalia o crescimento, a
63 produtividade e os padrões gerais de publicações relacionadas a um tema específico^{14, 15}.

64 Nas ciências da saúde, estas pesquisas promovem um papel relevante na determinação
65 de previsões, motivando os investigadores a identificar países e instituições líderes, bem como
66 áreas que necessitam de avanços¹⁶. Pretende-se aqui, fornecer dados que servirão como fonte
67 fundamental de informações para futuras comparações e avaliações. Desta forma, o objetivo
68 deste estudo consistiu em analisar perfis, tendências e avanços de pesquisas de PNM com ação
69 antimicobacteriana.

70

71 MÉTODOS

72 Este estudo trata-se de uma análise bibliométrica elaborada seguindo o método proposto
73 por outros estudos^{15, 17} com algumas alterações. A base de dados PubMed foi escolhida para a
74 seleção dos artigos científicos. A estratégia de busca utilizada foi selecionada por meio das
75 plataformas *Medical Subject Headings* (MeSh) e *Descritores em Ciências da Saúde* (DeCS),
76 resultando em “Marine and Antimicrobial and Mycobacterium”. Os critérios de seleção foram
77 artigos experimentais produzidos entre 1975 e 2023, nos idiomas português, inglês ou espanhol,
78 que utilizassem um produto natural de origem marinha aplicado em ensaios antituberculose *in*
79 *vitro*, *in silico*, *in vivo* ou ensaios clínicos. Como critério de exclusão, os artigos que não
80 utilizaram *Mycobacterium tuberculosis* ou qualquer constituinte da bactéria como alvo de
81 ensaios antimicrobianos ou revisões.

82 Inicialmente, os artigos encontrados foram classificados de acordo com as informações
83 contidas no título e resumo. Após, uma leitura na íntegra foi realizada com o objetivo de
84 certificar as informações presentes no título e resumo. Dessa forma, foram elencados os

85 manuscritos cujo conteúdo respondia a seguinte pergunta: Neste artigo é apresentado métodos
86 e resultados de ensaios antimicrobianos de produtos naturais marinhos frente a *M. tuberculosis*?
87 Para a análise dos dados, utilizou-se o programa VOSviewer versão 1.6.18 utilizado para
88 construir imagens das relações entre autores e palavras-chave de suas publicações ao longo do
89 tempo.

90 Os trabalhos selecionados foram analisados quanto:

- 91 • Ao período das publicações;
- 92 • Ao número de autores e as relações entre si;
- 93 • Às relações de parceria entre os países das instituições envolvidas;
- 94 • A natureza dos ensaios realizados;
- 95 • Aos tipos e frequência de palavras-chave mais utilizadas.

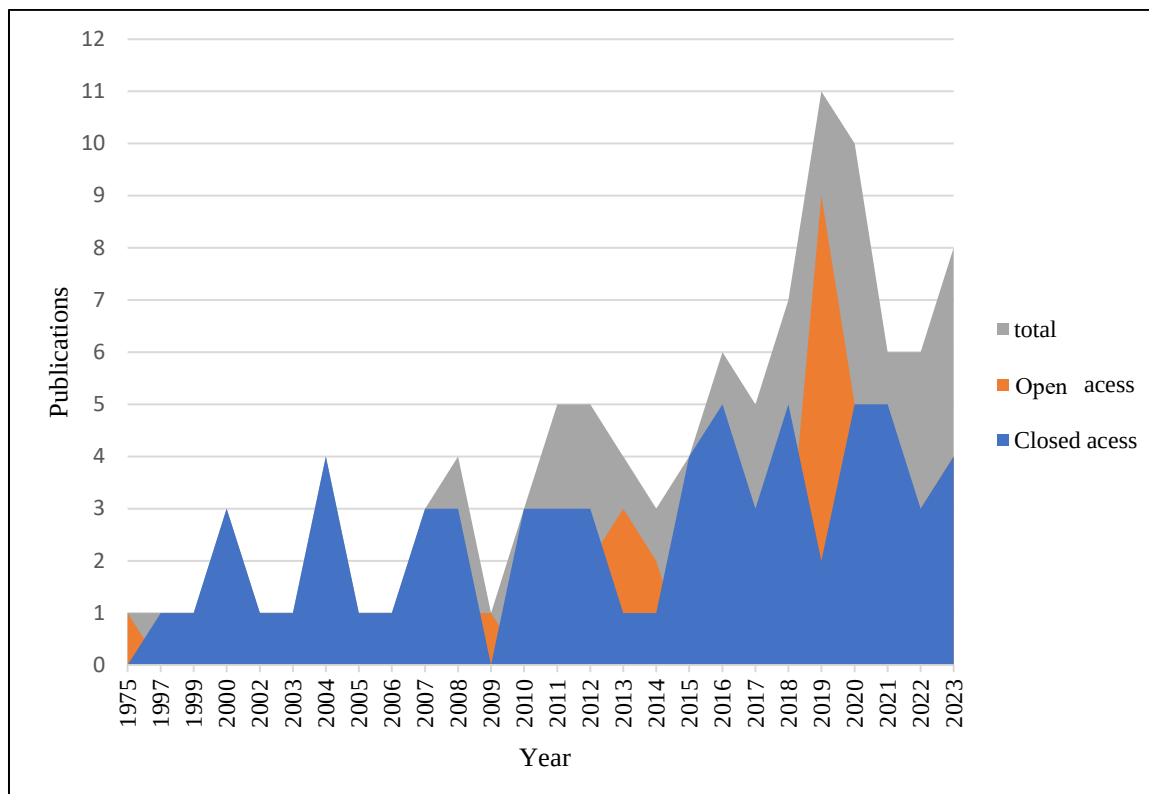
96

97 RESULTADOS

98 Utilizando a estratégia de busca na plataforma PubMed foram encontrados 305
99 documentos. A partir desses dados, 105 artigos contemplaram os critérios de inclusão. Foram
100 identificados 628 autores pertencentes a instituições de 39 países e 490 palavras-chave. Os 105
101 manuscritos selecionados estão presentes na Tabela 1 do Suplemento.

102 Ao analisar as publicações ao longo do tempo, o número de produções científicas sofreu
103 alterações nas últimas décadas, principalmente na maior queda entre 2020 e 2022 (Figura 1),
104 representando um decréscimo de 45%. Isso pode ser justificado pelo surgimento da pandemia
105 causada pelo novo coronavírus (SARS-COV-2), a COVID-19 (*Coronavirus disease*). Além
106 disso, o número de produções de acesso aberto teve apresentaram um pico de crescimento
107 somente em 2019.

108 Figura 1: Publicação por ano e tipo de acesso



109

110

111

112

113

114

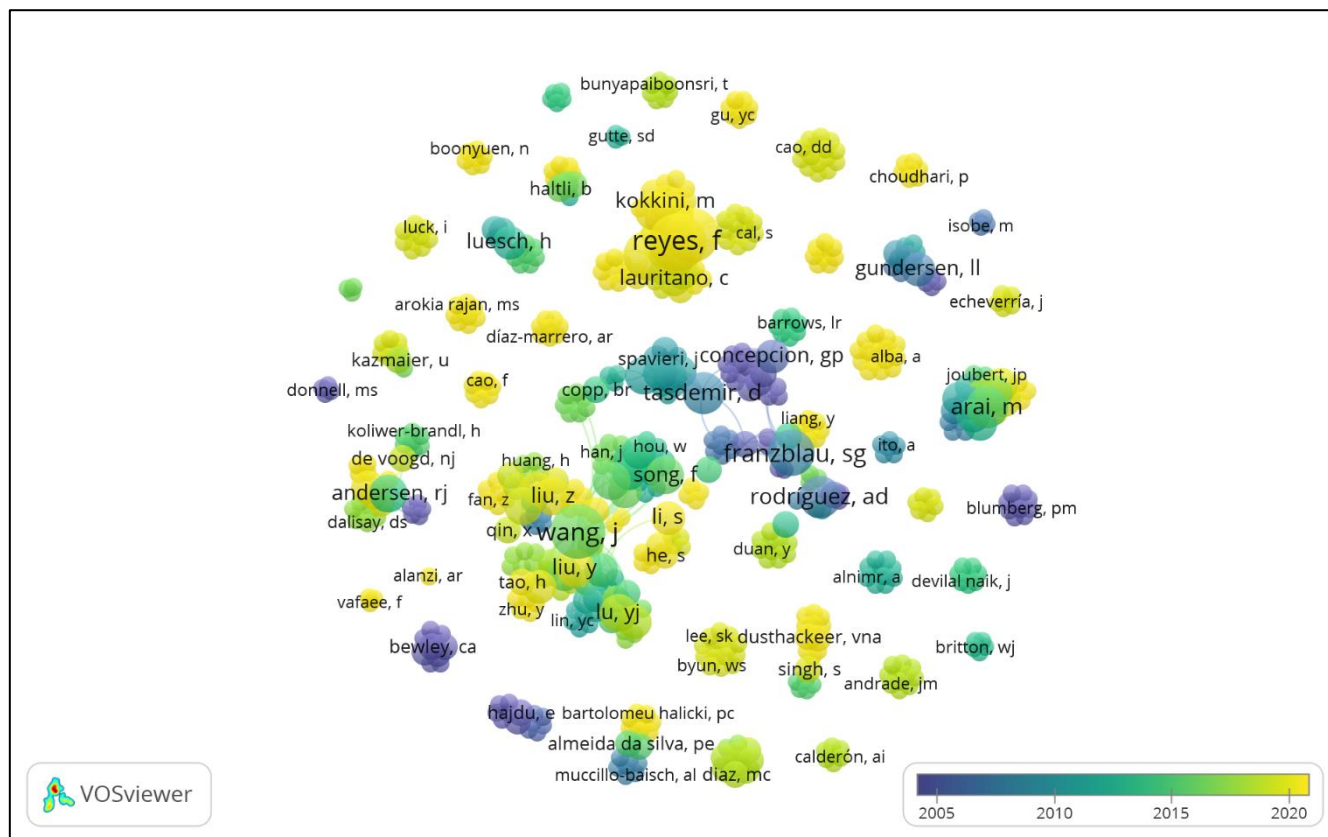
115

116

As produções dos autores apresentaram uma distribuição que corresponde a 81% dos daqueles com apenas um artigo publicado na área de produtos naturais marinhos anti-TB, seguida de 11,4% para autores com 2 artigos publicados, 4,4% para autores com três artigos publicados e 3,2% para autores com 4 ou mais artigos publicados.

A Figura 2 mostra a presença de clusters de relacionamento entre os autores e o ano de início das publicações pelo VOS Viewer.

117 Figura 2: Visualização em clusters dos autores presentes no resultado da busca realizada, suas relações e
118 períodos de publicação.



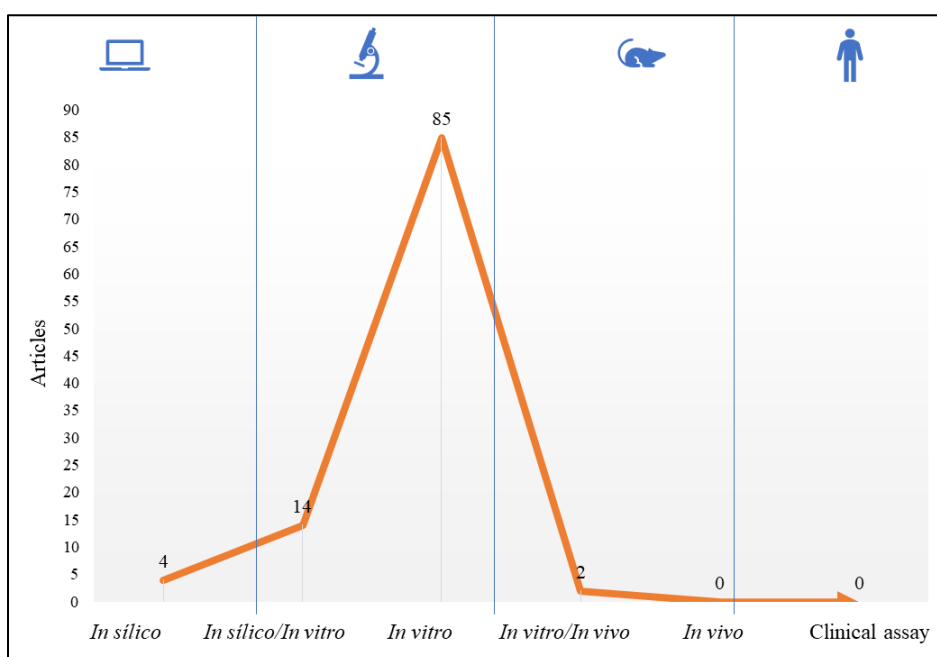
119
120 Embora o cluster de "Reyes, f" apresente publicações recentes, próximas à década de
121 2020, é possível notar que possui um dos maiores números de publicações e sem relação com
122 outros clusters com produções mais antigas. Diferente de autores como "Wang, J"; "De la Cruz,
123 M"; "Franzblau, SG"; "Tasdemir, D" e "Rodriguez, Ad" que estão presentes no mesmo cluster
124 e começaram a ser publicados antes de 2005, que até então este último citado é o maior cluster
125 de rede de autores sobre o assunto.

126 Os países presentes nas produções são mostrados na tabela 1S (material suplementar).
127 EUA, China, Índia, Reino Unido e Espanha lideram as origens das instituições nos artigos. No
128 entanto, é notável que EUA, Reino Unido e Espanha atingiram cerca de 30% das produções
129 com centros de pesquisa de diferentes países em um mesmo estudo. Mas, a China representa o

130 país com a maior produção de artigos sem parceria com outras instituições estrangeiras, uma
131 produção quase três vezes maior do que seu número de artigos com parcerias (Figura S2).

132 Artigos que apresentam unicamente ensaios *in vitro* representaram cerca de 81% da
133 busca, seguido dos manuscritos com ensaios *in silico* e *in vitro*, equivalente a 13,3%. Somente
134 3,8% dos artigos apresentam apenas ensaios *in silico* e publicações com ensaios *in vitro* e *in*
135 *vivo* atingiu 1,9% das buscas (Figura 3).

136 Figura 3: Métodos utilizados para avaliação antimicobacteriana presentes nos artigos
137 científicos incluídos na análise



138

139 As palavras-chave mais utilizadas estão presentes na figura 1S (material suplementar).
140 onde é possível notar as diferenças entre as determinadas pelo autor e as registradas no
141 vocabulário MeSH em gráficos de barras.

142

143 DISCUSSÃO

144 As publicações ao longo do tempo, apresentaram crescimentos de forma a atingir um
145 ápice em 2019, no entanto, sofreram declínio no ano posterior. Um estudo identificou uma

146 diminuição significativa em artigos fora do tema COVID-19 publicados durante o período
147 pandêmico iniciado em 2020, onde identificaram uma diminuição de 18% em revistas no
148 intervalo observado¹⁸. O mesmo estudo simulou que, em determinadas revistas, a produção de
149 artigos de revistas da área de medicina chegaria a mais de 1600 trabalhos se não houvesse
150 pandemia do novo coronavírus. Além disso, o número de casos diagnosticados de tuberculose
151 durante o período pandêmico diminuiu em até 37% nos 10 países com alta carga de
152 tuberculose¹⁹, além dos impactos no investimento no combate à TB no mundo²⁰.

153 Publicações em periódicos de acesso aberto são artigos científicos disponíveis
154 gratuitamente para leitura e até mesmo para compartilhamento. Nas ciências da saúde, artigos
155 em acesso aberto são componentes essenciais para investigação e tomada de decisão,
156 permitindo a reprodutibilidade dos métodos e reduzindo a duplicação de estudos por meio da
157 otimização do tempo e da qualidade da pesquisa²¹.

158 Apesar do maior percentual de documentos em acesso fechado, observa-se que os picos
159 no número de artigos em acesso aberto aparecem a partir de 2009, com maior pico em 2019.
160 Concomitantemente, o número de revistas científicas médicas de acesso aberto aumentou
161 drasticamente, passando de 22 revistas registradas na PubMed em 2002 para mais de 1700 em
162 2021²². Isso se deve a fatores como a mudança dos periódicos para as versões on-line, que
163 reduziram os custos de publicação no início do século XXI, o surgimento das agências de
164 fomento, a necessidade de acesso a artigos biomédicos como chave central para a tomada de
165 decisão em saúde e também do grande interesse em redirecionar os custos da acessibilidade das
166 pesquisas publicadas para os autores ou financiadores²³.

167 Ao analisar as relações entre os países das instituições dos artigos apresentado na figura
168 3, duas considerações importantes podem ser observadas: os países representados por barras
169 coloridas possuem elevados casos de tuberculose e apresentam regiões estratégicas para a

170 prospecção de produtos naturais marinhos. Nações como Índia, China, Brasil, Indonésia, entre
171 outros, apresentam elevados dados de tuberculose³, ao passo que estão localizados em regiões
172 conhecidas como hotspots de biodiversidade, que os classificam como ricos em diversidade de
173 espécies e que também estão ameaçadas de extinção^{6,24}.

174 Ambas as características atraem países com maiores recursos em pesquisa de novos
175 fármacos, como EUA e Reino Unido. Em contrapartida, a China, além de apresentar alto
176 investimento em pesquisas de desenvolvimento de novos fármacos (mais de 180 milhões entre
177 2010 e 2016)²⁵, detém números elevados de casos de tuberculose e ainda se encontra em uma
178 região de *hotspot* marinho^{6,24}.

179 A Índia liderou as taxas de incidência de tuberculose em 2021 com mais de 2 milhões
180 de casos registrados, seguido da Indonésia e Filipinas com 1 milhão de casos, África do Sul e
181 Nigéria com 500 mil e Brasil com 100 mil casos notificados³. Além disso, alguns desses países
182 estão incluídos em regiões de alta concentração de espécies marinhas ainda desconhecidas pela
183 ciência, como a região da Sonda e Wallacea, que compreendem as dimensões entre a Ásia
184 e Oceania. Ambas concentram a maior região de *hotspots* marinhos do planeta,. O Brasil, ainda
185 que não inserido em um *hotspot* marinho, apresenta uma das maiores diversidades de
186 ecossistemas costeiros em seu território de dimensões continentais^{26, 27}.

187 Assim como encontrado na pesquisa de produtos naturais vegetais, a maioria dos
188 estudos antimicobacterianos de produtos naturais marinhos se detêm majoritariamente nas fases
189 pré-clínicas, principalmente nos estudos *in vitro*. Há alguns fatores que promovem a retenção
190 estudos de produtos naturais candidatos a fármacos, como a complexidade da obtenção dos
191 compostos, que demanda quantidades elevadas de material para avaliação farmacológica e o
192 mínimo possível de oscilações de parâmetros ambientais da espécie produtora, a
193 inadequabilidade das propriedades farmacocinéticas, como por exemplo a baixa
194 biodisponibilidade, absorção ou metabolismo acelerado, a alta instabilidade dos extratos, que

195 comumente apresenta precipitações, imiscibilidade em solventes, reações de hidrólise,
196 oxidação em curtos períodos de tempo, além de outros obstáculos^{28,29}.

197 No cenário da pesquisa de produtos naturais antimicobacterianos, há ainda mais
198 barreiras. Devido ao elevado risco de trabalho envolvendo agente infeccioso de alta
199 patogenicidade, são necessários ambientes laboratoriais de nível 3 de biossegurança para
200 execução dos ensaios antimicrobianos com *M. tuberculosis*, o que reduz a produção de
201 manuscritos com métodos que envolvem diretamente o manuseio da bactéria. Além disso, os
202 ensaios *in vitro* antituberculose com *M. tuberculosis* exigem meios de cultura e suplementos de
203 alto custo, e as cepas apresentam lento crescimento microbiano, tornando a pesquisa ainda mais
204 desafiadora^{30,31}.

205 A principal palavra-chave, com maior ocorrência e presença nas três classificações
206 (Figura S1) encontrada foi “*Mycobacterium tuberculosis*”. Além disso, a maioria das palavras
207 chave selecionadas estão registradas no MeSH, no entanto, é observado que há ausência de
208 palavras-chave representativas de produtos naturais marinhos, encontrada apenas nas palavras-
209 chave utilizadas nos estudos escolhidas pelo do autor. O Termo “produto natural marinho”
210 apesar de não ser recente, cuja data mais antiga encontrada na Pubmed aproxima-se de 1980,
211 passou a ser mais utilizado com mais frequência em 2002.

212 As palavras-chave são componentes importantes para o desenvolvimento de uma
213 pesquisa bibliográfica de qualidade³². O MeSH é uma linguagem controlada criada pela
214 biblioteca nacional de medicina dos Estados Unidos da América, com o objetivo de permitir o
215 uso de terminologia comum em inglês. A carência de termos relacionados a produtos naturais
216 marinhos enfatiza a falta de padronização de uma estratégia de busca do tema, prejudicando a
217 coleta de dados e informações sobre estudos da área.

218

219

220

221 CONCLUSÃO

222 Esta análise bibliométrica descreveu tendências na investigação global sobre produtos
223 naturais marinhos com ação antituberculose entre 1975 e 2023. Os resultados discutidos nesse
224 trabalho revelam observações e características que permeiam e moldam o perfil de produção de
225 estudos sobre o referido tema de busca. Apesar das limitações como uma quantidade
226 relativamente baixa de artigos encontrados, e a realização da busca somente em uma base de
227 dados, os dados encontrados implicam significativamente no campo de produtos naturais
228 marinhos com ação antituberculose, como a identificação de relações geográficas e
229 epidemiológicas entre os países envolvidos e os motivos da retenção dos estudos encontrados
230 nas fases pré-clínicas de desenvolvimento de fármacos. Portanto, destaca-se aqui a apresentação
231 de um cenário novo de pesquisas de descobertas de novos fármacos antituberculose, a fim de
232 contribuir com fatores que facilitem e promovam mais produções sobre a temática e que
233 reflitam na busca de novas ferramentas de combate a doença.

234

235 REFERÊNCIAS

- 236 1. World Health Organization. Global lists of high burden countries for tuberculosis (TB),
237 TB/HIV and multidrug/rifampicin-resistant TB (MDR/RR-TB), 2021-2025: background
238 document. World Health Organization; 2021.
- 239 2. World Health Organization. Global tuberculosis report 2023. World Health Organization;
240 2023.
- 241 3. Stephanie F, Saragih M, Tambunan USF. Recent Progress and Challenges for Drug-Resistant
242 Tuberculosis Treatment. *Pharmaceutics* 2021;13(5):592.

- 243 4. Afranie Appiah M, Appiah Arthur J, Gborgblorvor D, Asampong E, Kye-Duodu G, Mberu
244 Kamau E, et al. Barriers to tuberculosis treatment adherence in high-burden tuberculosis
245 settings in Ashanti region, Ghana: a qualitative study from patient's perspective. BMC Public
246 Health 2023;23(1).
- 247 5. Alipanah N, Jarlsberg L, Miller C, Linh NN, Falzon D, Jaramillo E, et al. Adherence
248 interventions and outcomes of tuberculosis treatment: A systematic review and meta-analysis
249 of trials and observational studies. PLOS Medicine 2018;15(7):e1002595.
- 250 6. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four
251 decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products 2020;83(3).
- 252 7. Montaser R, Luesch H. Marine natural products: a new wave of drugs? Future Medicinal
253 Chemistry 2011;3(12):1475–89.
- 254 8. Mayer AMS, Pierce ML, Howe K, Rodríguez AD, Taglialatela-Scafati O, Nakamura F, et al.
255 Marine pharmacology in 2018: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal,
256 anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis and antiviral activities; affecting the immune
257 and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. Pharmacological
258 Research 2022;183(106391):106391.
- 259 9. Fernandes Ramos D, Cristina Bartolomeu Halicki P, da Silva Canielles Caprara C, Pereira
260 Borges P, D'oca C, de Fátima Santos M, et al. Chemical Profile and Antimicrobial Activity of
261 the Marine Diatom *Chaetoceros muelleri*. Chemistry and Biodiversity 2022;19(5).
- 262 10. Azevedo LG, Muccillo-Baisch A, Filgueira D, Boyle R, Fernandes Ramos D, Soares AD,
263 et al. Comparative cytotoxic and anti-tuberculosis activity of *Aplysina caissara* marine sponge
264 crude extracts. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology
265 2008;147(1):36–42.
- 266 11. Kong D-X, Jiang Y-Y, Zhang H-Y. Marine natural products as sources of novel scaffolds:
267 achievement and concern. Drug Discovery Today 2010;15(21-22):884–6.
- 268 12. Voser TM, Campbell MD, Carroll AR. How different are marine microbial natural products
269 compared to their terrestrial counterparts? Natural Product Reports 2022;39(1):7–19.
- 270 13. Gerwick W, Moore B. Lessons from the Past and Charting the Future of Marine Natural
271 Products Drug Discovery and Chemical Biology. Chemistry & Biology 2012;19(1):85–98.

272 14. Nurgul A, Smagulova GA, Rachina S, Mussina AZ, Zare A, Mussin NM, et al. Bibliometric
273 Analysis of Global Research Output on Antimicrobial Resistance among Pneumonia Pathogens
274 (2013–2023). *Antibiotics* 2023;12(9):1411–1.

275 15. Xiong Y, Wei J, Cai Y, Zhang Y, Feng L, Zhang Y. Analysis of the Research Hotspot of
276 Drug Treatment of Tuberculosis: A Bibliometric Based on the Top 50 Cited Literatures.
277 *BioMed Research International* 2022;2022(9542756):e9542756.

278 16. Kumar M, George RJ, P.S A. Bibliometric Analysis for Medical Research. *Indian Journal*
279 *of Psychological Medicine* 2022;45(3):277–82.

280 17. Sweileh WM, AbuTaha AS, Sawalha AF, Al-Khalil S, Al-Jabi SW, Zyoud SH. Bibliometric
281 analysis of worldwide publications on multi-, extensively, and totally drug – resistant
282 tuberculosis (2006–2015). *Multidisciplinary Respiratory Medicine* 2016;11(1).

283 18. Raynaud M, Goutaudier V, Louis K, Al-Awadhi S, Dubourg Q, Truchot A, et al. Impact of
284 the COVID-19 pandemic on publication dynamics and non-COVID-19 research production.
285 *BMC Medical Research Methodology* 2021;21(1).

286 19. Maciel E, Golub J, Lapa e Silva JR, Chaisson R. Tuberculosis: a deadly and neglected
287 disease in the COVID-19 era. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 2022;48(3):e20220056.

288 20. Spigelman MK. Shortfall in TB Research and Development Funding Persists as COVID-
289 19 Erodes Hard-Won Gains. *TB Alliance*. 2022.

290 21. Logullo P, Beyer JA de, Kirtley S, Schlüssel MM, Collins GS. Open access journal
291 publication in health and medical research and open science: benefits, challenges and
292 limitations. *BMJ Evidence-Based Medicine* 2023.

293 22. Booth CM, Ross JS, Detsky AS. The Changing Medical Publishing Industry: Economics,
294 Expansion, and Equity. *Journal of General Internal Medicine* 2023;38(14):3242–6.

295 23. Haug CJ. No Free Lunch — What Price Plan S for Scientific Publishing? *New England*
296 *Journal of Medicine* 2019;380(12):1181–5.

297 24. Verma M, Symes WS, Watson JEM, Jones KR, Allan JR, Venter O, et al. Severe human
298 pressures in the Sundaland biodiversity hotspot. *Conservation Science and Practice* 2020;2(3).

299 25. Stevens AJ, Benson DE, Dodson SE, Jensen JJ, Rohrbaugh ML. Role of global public sector
300 research in discovering new drugs and vaccines. *The Journal of Technology Transfer* 2023.

- 301 26. Sant’Ana C. Marine Protected Areas and Artisanal Fisheries in Brazil. 2008.
- 302 27. Serra C, Oriel Bonilla Herrera. Halophytic Life in Brazilian Salt Flats: Biodiversity, Uses
303 and Threats. *Tasks for Vegetation Science* 2016;11–27.
- 304 28. Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig E-M, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, et
305 al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A
306 review. *Biotechnology Advances* 2015;33(8):1582–614.
- 307 29. Dias DA, Urban S, Roessner U. A Historical Overview of Natural Products in Drug
308 Discovery. *Metabolites* 2012;2(2):303–36.
- 309 30. Ssengooba W, Gelderbloem SJ, Mboowa G, Wajja A, Namaganda C, Musoke P, et al.
310 Feasibility of establishing a biosafety level 3 tuberculosis culture laboratory of acceptable
311 quality standards in a resource-limited setting: an experience from Uganda. *Health Research*
312 *Policy and Systems* 2015;13(1).
- 313 31. Jaglal P, Pillay M, Mlisana K. Resazurin microtitre plate assay and Sensititre® MycoTB
314 for detection of Mycobacterium tuberculosis resistance in a high tuberculosis resistance setting.
315 *African Journal of Laboratory Medicine* 2019;8(1).
- 316 32. Pellizzon R de F. Pesquisa na área da saúde: 1. Base de dados DeCS (Descritores em
317 Ciências da Saúde). *Acta Cirurgica Brasileira* 2004;19(2):153–63.

SUPLEMENTO: A pesquisa global de produtos naturais marinhos antituberculose: uma análise bibliométrica

Tabela S1: Literatura selecionada para análise bibliométrica de produtos naturais marinhos antimicobacterianos

Ano	Autores	Nome	País	Revista	Acesso
1975	Sims, JJ	Antimicrobial agents from marine algae.	Estados Unidos da América	Antimicrob Agents Chemother.	Aberto
1997	Gerard	Massetolides A-H, antimycobacterial cyclic depsipeptides produced by two pseudomonads isolated from marine habitats.	Canadá	J Nat Prod.	Fechado
1999	Rodriguez	Novel antimycobacterial benzoxazole alkaloids, from the west Indian Sea whip Pseudopterogorgia elisabethae.	Porto Rico	Org Lett.	Fechado
2000	Rodríguez	A marine diterpene with a novel tetracyclic framework from the West Indian gorgonian octocoral Pseudopterogorgia elisabethae.	Porto Rico	Org Lett.	Fechado
2000	Konig	Assessment of antimycobacterial activity of a series of mainly marine derived natural products.	Alemanha Estados Unidos da América	Planta Med.	Fechado
2000	Mangalindan	Agelasine F from a Philippine Agelas sp. sponge exhibits in vitro antituberculosis activity.	Filipinas Estados Unidos da América	Planta Med.	Fechado
2002	Nicholas	Bromotyrosine-derived natural and synthetic products as inhibitors of mycothiol-S-conjugate amidase.	Estados Unidos da América	Bioorg Med Chem Lett.	Fechado
2003	Nicholas	Inhibition and kinetics of mycobacterium tuberculosis and mycobacterium smegmatis mycothiol-S-conjugate amidase by natural product inhibitors.	Estados Unidos da América	Bioorg Med Chem.	Fechado
2004	Carballeira	2-methoxylated fatty acids in marine sponges: defense mechanism against mycobacteria?	Porto Rico	Lipids.	Fechado
2004	Pettit	Antineoplastic agents. 499. Synthesis of hystatin 2 and related 1H-benzo[de][1,6]-naphthyridinium salts from aaptamine.	Estados Unidos da América	J Med Chem.	Fechado
2004	Davis	Microcionamides A and B, bioactive peptides from the philippine sponge Clathria (Thalysias) abietina.	Estados Unidos da América Filipinas	J Org Chem.	Fechado
2004	Oliveira	Ingenamine G and cyclostelletamines G-I, K, and L from the new Brazilian species of marine sponge Pachychalina sp.	Brasil Alemanha	J Nat Prod.	Fechado

2005	Bakkestuen	Synthesis and antimycobacterial activity of agelasine E and analogs.	Noruega	Org Biomol Chem.	Fechado
2006	Oliveira et al.	Antimycobacterial brominated metabolites from two species of marine sponges.	Brasil	Planta Med.	Fechado
2007	Tasdemir	Marine natural products from the Turkish sponge <i>Agelas oroides</i> that inhibit the enoyl reductases from <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and <i>Escherichia coli</i> .	Reino Unido Turquia Suíça Estados Unidos da América	Bioorg Med Chem.	Fechado
2007	Proszenyák	Synthesis, antimicrobial and antineoplastic activities for agelasine and agelasimine analogs with a beta-cyclocitral derived substituent.	Noruega Suécia	Arch Pharm (Weinheim).	Fechado
2007	Suntornchashwej	Malyngamide X: the first (7R)-lyngbic acid that connects to a new tripeptide backbone from the Thai sea hare <i>Bursatella leachii</i> .	Tailândia Japão	Chem Asian J.	Fechado
2008	Arai	Halicyclamine A, a marine spongean alkaloid as a lead for anti-tuberculosis agent.	Japão Estados Unidos da América	Bioorg Med Chem.	Fechado
2008	Azevedo	Comparative cytotoxic and anti-tuberculosis activity of <i>Aplysina caissara</i> marine sponge crude extracts.	Brasil	Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.	Fechado
2008	Zhang	Isolation, Structure elucidation, and antimycobacterial properties of dimeric naphtho-gamma-pyrones from the marine-derived fungus <i>Aspergillus carbonarius</i> .	China	Chem Biodivers.	Fechado
2008	Wei	Synthesis and in vitro biological evaluation of ring B abeo-sterols as novel inhibitors of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Estados Unidos da América	Bioorg Med Chem Lett.	Aberto
2009	Chlipala	Investigation of antimicrobial and protease-inhibitory activity from cultured cyanobacteria.	Estados Unidos da América	Pharm Biol.	Aberto
2010	Allmendinger	Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of twenty-three British and Irish red algae.	Reino Unido Suíça	Phytother Res.	Fechado
2010	Pruksakorn	Trichoderins, novel aminolipopeptides from a marine sponge-derived <i>Trichoderma</i> sp., are active against dormant mycobacteria.	Japão Estados Unidos da América África do Sul	Bioorg Med Chem Lett.	Fechado
2010	Spavieri	Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of some british green algae.	Reino Unido Suíça	Phytother Res.	Fechado

2011	Roggen	Antimicrobial and antineoplastic activities of agelasine analogs modified in the purine 2-position.	Noruega Suécia	Arch Pharm (Weinheim).	Fechado
2011	Montaser	Pitipeptolides C-F, antimycobacterial cyclodepsipeptides from the marine cyanobacterium <i>Lyngbya majuscula</i> from Guam.	Estados Unidos da América	Phytochemistry.	Aberto
2011	Montaser	Pitiprolamide, a proline-rich dolastatin 16 analogue from the marine cyanobacterium <i>Lyngbya majuscula</i> from Guam.	Estados Unidos da América	J Nat Prod.	Aberto
2011	Süzgeç-Selçuk	Evaluation of Turkish seaweeds for antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic activities.	Turquia Suíça Reino Unido	Phytother Res.	Fechado
2011	Pan	Antimycobacterial activity of fusaric acid from a mangrove endophyte and its metal complexes.	China	Arch Pharm Res.	Fechado
2012	Rane et al.	Synthesis and evaluation of novel 1,3,4-oxadiazole derivatives of marine bromopyrrole alkaloids as antimicrobial agent.	Índia	Bioorg Med Chem Lett.	Fechado
2012	McCulloch	Evaluation of pseudopteroxazole and pseudopterosin derivatives against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and other pathogens.	Canadá	Mar Drugs.	Aberto
2012	McCracken	Synthesis and antimalarial and antituberculosis activities of a series of natural and unnatural 4-methoxy-6-styryl-pyran-2-ones, dihydro analogues and photo-dimers.	Nova Zelândia Suíça Estados Unidos da América	Bioorg Med Chem.	Aberto
2012	Song	Brevianamides with antitubercular potential from a marine-derived isolate of <i>Aspergillus versicolor</i> .	China Austrália	Org Lett.	Fechado
2012	Kottakota	Synthesis and biological evaluation of purpurealidin E-derived marine sponge metabolites: aplysamine-2, aplyzanzine A, and suberedamines A and B.	Austrália Estados Unidos da América Reino Unido	J Nat Prod.	Fechado
2013	Wang	Anti-mycobacterial activity of marine fungus-derived 4-deoxybostrycin and nigrosporin.	China	Molecules.	Aberto
2013	Chen	Three antimycobacterial metabolites identified from a marine-derived <i>Streptomyces</i> sp. MS100061.	China	Appl Microbiol Biotechnol.	Fechado
2013	Giltrap	Total synthesis of fellutamide B and deoxy-fellutamides B, C, and D.	Austrália	Mar Drugs.	Aberto
2013	Avilés	Two rare-class tricyclic diterpenes with antitubercular activity from the Caribbean sponge <i>Svenzea flava</i> . Application of	Porto Rico	J Org Chem.	Aberto

		vibrational circular dichroism spectroscopy for determining absolute configuration.			
2014	Canché	Synthesis and anti-tuberculosis activity of the marine natural product caulerpin and its analogues.	México	Mar Drugs.	Aberto
2014	Lin	Structure and activity of lobophorins from a turrid mollusk-associated <i>Streptomyces</i> sp.	Estados Unidos da América Filipinas	J Antibiot (Tokyo).	Aberto
2014	Murali	Denigrins A-C: new antitubercular 3,4-diarylpyrrole alkaloids from <i>Dendrilla nigra</i> .	Índia	Nat Prod Res.	Fechado
2015	Arai	Anti-dormant mycobacterial activity and target analysis of nybomycin produced by a marine-derived <i>Streptomyces</i> sp.	Japão	Bioorg Med Chem.	Fechado
2015	Garrisom	Halogenated Phenazines that Potently Eradicate Biofilms, MRSA Persister Cells in Non-Biofilm Cultures, and <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Estados Unidos da América	Angew Chem Int Ed Engl.	Fechado
2015	Daletos	Callyaerins from the Marine Sponge <i>Callyspongia aerizusa</i> : Cyclic Peptides with Antitubercular Activity.	Alemanha Holanda China	J Nat Prod.	Fechado
2015	Yadav	Synthesis, antimalarial and antitubercular activities of meridianin derivatives.	Índia Arábia Saudita Estados Unidos da América	Eur J Med Chem.	Fechado
2016	Wang	Biologically Active Acetylenic Amino Alcohol and N-Hydroxylated 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carboline Constituents of the New Zealand Ascidian <i>Pseudodistoma opacum</i> .	Nova Zelândia França	J Nat Prod.	Fechado
2016	Huang	Anti-MRSA and anti-TB metabolites from marine-derived <i>Verrucosipora</i> sp. MS100047.	Egito China Nigéria	Appl Microbiol Biotechnol.	Fechado
2016	Barbie	Total synthesis of cyclomarins A, C and D, marine cyclic peptides with interesting anti-tuberculosis and anti-malaria activities.	Alemanha	Org Biomol Chem.	Fechado
2016	Visamsetti	<i>Penicillium chrysogenum</i> DSOA associated with marine sponge (<i>Tedania anhelans</i>) exhibit antimycobacterial activity.	Índia	Microbiol Res.	Fechado
2016	Chen	Identification of Bostrycin Derivatives as Potential Inhibitors of	China	Med Chem.	Fechado

		Mycobacterium tuberculosis Protein Tyrosine Phosphatase (MtpB).			
2016	Nieves	Natural product-based synthesis of novel anti-infective isothiocyanate- and isoselenocyanate-functionalized amphilectane diterpenes.	Estados Unidos da América Porto Rico	Bioorg Med Chem Lett.	Aberto
2017	Felix et al.	Selective Killing of Dormant Mycobacterium tuberculosis by Marine Natural Products.	Estados Unidos da América	Antimicrob Agents Chemother.	Aberto
2017	Chen	Sclerotiorin inhibits protein kinase G from Mycobacterium tuberculosis and impairs mycobacterial growth in macrophages.	China	Tuberculosis (Edinb).	Fechado
2017	Luo	Antituberculosis compounds from a deep-sea-derived fungus Aspergillus sp. SCSIO Ind09F01.	China	Nat Prod Res.	Fechado
2017	Williams	Aminorifamycins and Sporalactams Produced in Culture by a Micromonospora sp. Isolated from a Northeastern-Pacific Marine Sediment Are Potent Antibiotics.	Canadá Filipinas	Org Lett.	Fechado
2017	Ma	Biosynthesis of ilamycins featuring unusual building blocks and engineered production of enhanced anti-tuberculosis agents.	China	Nat Commun.	Aberto
2018	Lauritano	First identification of marine diatoms with anti-tuberculosis activity.	Itália Espanha	Sci Rep.	Aberto
2018	Perez-Bonilla	Phocoenamicins B and C, New Antibacterial Spirotetronates Isolated from a Marine Micromonospora sp.	Espanha	Mar Drugs.	Aberto
2018	Hu	Identification and Proposed Relative and Absolute Configurations of Niphimycins C-E from the Marine-Derived Streptomyces sp. IMB7-145 by Genomic Analysis.	China	J Nat Prod.	Fechado
2018	Chokpaiboon	Salicylaldehyde and dihydroisobenzofuran derivatives from the marine fungus Zopfiella marina.	Tailândia	Nat Prod Res.	Fechado
2018	Simithy	Mechanism of irreversible inhibition of Mycobacterium tuberculosis shikimate kinase by ilimaquinone.	Estados Unidos da América Reino Unido	Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.	Fechado
2018	Dai	Peptides from the Soft Coral-associated Fungus Simplicillium sp. SCSIO41209.	China	Phytochemistry.	Fechado
2018	Andrade	Antitubercular and anti-inflammatory properties screening of natural products from Plectranthus species.	Portugal Itália	Future Med Chem.	Fechado

2019	Felix et al.	Plakinamine P, A Steroidal Alkaloid with Bactericidal Activity against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Estados Unidos da América Brasil	Mar Drugs.	Aberto
2019	Carretero-Molina et al.	New Napyradiomycin Analogues from <i>Streptomyces</i> sp. Strain CA-271078.	Espanha	Mar Drugs.	Aberto
2019	Cao et al.	Antimicrobial Lavandulylated Flavonoids from a Sponge-Derived <i>Streptomyces</i> sp. G248 in East Vietnam Sea.	Vietnã Estados Unidos da América	Mar Drugs.	Aberto
2019	Martinez	Amphidinol 22, a New Cytotoxic and Antifungal Amphidinol from the Dinoflagellate <i>Amphidinium carterae</i> .	Itália Reino Unido	Mar Drugs.	Aberto
2019	Sudomová	A Microbiological, Toxicological, and Biochemical Study of the Effects of Fucoxanthin, a Marine Carotenoid, on <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and the Enzymes Implicated in Its Cell Wall: A Link Between Mycobacterial Infection and Autoimmune Diseases.	Cazaquistão Chile Romênia Irã República Checa	Mar Drugs.	Aberto
2019	Kiefer	Synthesis of New Cyclomarin Derivatives and Their Biological Evaluation towards <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> and <i>Plasmodium Falciparum</i> .	Alemanha	Chemistry.	Fechado
2019	Quan	Bengamides display potent activity against drug-resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Austrália Índia	Sci Rep.	Aberto
2019	Branã	Desertomycin G, a New Antibiotic with Activity against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and Human Breast Tumor Cell Lines Produced by <i>Streptomyces althoticus</i> MSM3, Isolated from the Cantabrian Sea Intertidal Macroalgae <i>Ulva</i> sp.	Espanha	Mar Drugs.	Aberto
2019	Sharma	Elucidation of marine fungi derived anthraquinones as mycobacterial mycolic acid synthesis inhibitors: an in silico approach.	Índia	Mol Biol Rep.	Fechado
2019	Ding	Production of New Antibacterial 4-Hydroxy- α -Pyrone by a Marine Fungus <i>Aspergillus niger</i> Cultivated in Solid Medium.	China	Mar Drugs.	Aberto
2019	Kim	Characterization of the Ohmyungsamycin Biosynthetic Pathway and Generation of Derivatives with Improved Antituberculosis Activity.	Coreia do Sul	Biomolecules.	Aberto

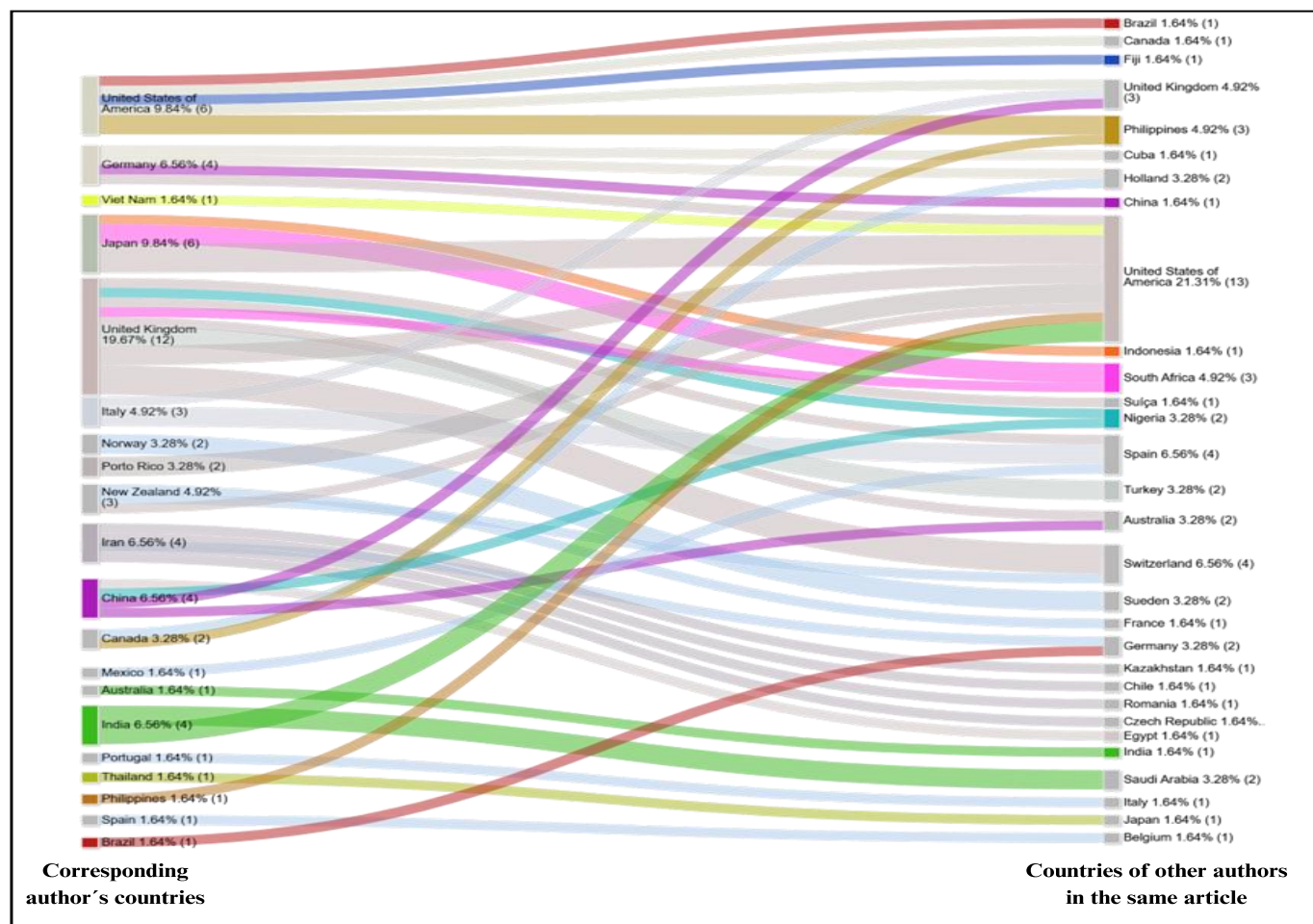
2020	Oliveira et al.	Diterpenoids isolated from the Samoan marine sponge <i>Chelonaplysilla</i> sp. inhibit <i>Mycobacterium tuberculosis</i> growth.	Canadá Estados Unidos da América	J Antibiot (Tokyo).	Fechado
2020	Liang et al.	Discovery of an Isothiazolinone-Containing Antitubercular Natural Product Levesquamide.	Canadá	J Org Chem.	Fechado
2020	Dinarvand et al.	Pharmacodynamic Functions of Synthetic Derivatives for Treatment of Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) and <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Austrália	Front Microbiol.	Aberto
2020	Sun et al.	Antitubercular Ilamycins from Marine-Derived <i>Streptomyces atratus</i> SCSIO ZH16 Δ ilaR.	China	J Nat Prod.	Fechado
2020	Sumii et al.	3-(Phenethylamino)demethyl(oxy)aaptamine as an anti-dormant mycobacterial substance: Isolation, evaluation and total synthesis.	Japão Estados Unidos da América Indonésia	Tetrahedron Lett.	Aberto
2020	Lauritano	First evidence of anticancer and antimicrobial activity in Mediterranean mesopelagic species.	Itália	Sci Rep.	Aberto
2020	García-Davis	Antimycobacterial Activity of Laurinterol and Aplysin from <i>Laurencia johnstonii</i> .	Espanha México	Mar Drugs.	Aberto
2020	Liu	Bioactive Metabolites from the Deep-Sea-Derived Fungus <i>Diaporthe longicolla</i> FS429.	China	Mar Drugs.	Aberto
2020	Kumar	Fatty acids-carotenoid complex: An effective anti-TB agent from the chlorella growth factor-extracted spent biomass of <i>Chlorella vulgaris</i> .	Índia	J Ethnopharmacol.	Fechado
2020	Waghmode	Exploring the Pharmacological Potentials of Biosurfactant Derived from <i>Planococcus maritimus</i> SAMP MCC 3013.	Índia	Curr Microbiol.	Fechado
2021	Oluwabusola	Isolation and characterization of new phenolic siderophores with antimicrobial properties from <i>Pseudomonas</i> sp. UIAU-6B.	Reino Unido Espanha Nigéria África do Sul	Beilstein J Org Chem.	Aberto
2021	Intaradom	Chromone derivatives, R- and S- taenioline, from the marine-derived fungus <i>Taeniolella</i> sp. BCC31839.	Tailândia	Nat Prod Res.	Fechado
2021	Chao	Targeted Isolation of Asperheptatides from a Coral-Derived Fungus Using LC-MS/MS-Based Molecular Networking and Antitubercular Activities of Modified Cinnamate Derivatives.	China Reino Unido		Fechado

2021	Chen	Identification of fusarielin M as a novel inhibitor of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase B (MtpB).	China	Bioorg Chem.	Fechado
2021	Liu	A new antibacterial chromone from a marine sponge-associated fungus <i>Aspergillus</i> sp. LS57.	China	Fitoterapia.	Fechado
2021	Wang	Structures and absolute configurations of phomalones from the coral-associated fungus <i>Parengyodontium album</i> sp. SCSIO 40430.	China	Org Biomol Chem.	Fechado
2022	Ramos et al.	Chemical Profile and Antimicrobial Activity of the Marine Diatom <i>Chaetoceros muelleri</i> .	Brasil	Chem Biodivers.	Fechado
2022	Sumii	Study of the Structure-Activity Relationship of an Anti-Dormant Mycobacterial Substance 3-(Phenethylamino)Demethyl(oxy)apptamine to Create a Probe Molecule for Detecting Its Target Protein.	Japão	Mar Drugs.	Aberto
2022	Quintero	In vitro biological activity of extracts from marine bacteria cultures against <i>Toxoplasma gondii</i> and <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Alemanha Colombia	J Appl Microbiol.	Fechado
2022	kokkini	Exploring <i>Micromonospora</i> as Phocoenamicins Producers.	Espanha	Mar Drugs.	Aberto
2022	Sahile	Screening of diverse marine invertebrate extracts identified Lissoclinotoxin F, Discodermin B, and other anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> active compounds.	Holanda Canadá	J Antibiot (Tokyo).	Fechado
2022	Song	Unique Cyclized Thiolopyrrolones from the Marine-Derived <i>Streptomyces</i> sp. BTBU20218885.	China	Mar Drugs.	Aberto
2023	Rodriguez et al.	Identification and Characterization of Three New Antimicrobial Peptides from the Marine Mollusk <i>Nerita versicolor</i> (Gmelin, 1791).	Alemanha Cuba	Int J Mol Sci.	Aberto
2023	Nalli	Bacillibactin class siderophores produced by the endophyte <i>Bacillus subtilis</i> NPROOT3 as antimycobacterial agents.	Índia	Lett Appl Microbiol.	Fechado
2023	Zhao	(±)-Dibrevianamides Q1 and Q2, the key precursors of asperginulin A from a marine-derived fungus.	China	Appl Microbiol Biotechnol.	Fechado
2023	Khatri	Isolation and Characterization of Anti-Mycobacterial Natural Products from a <i>Petrosia</i> sp. Marine Sponge.	Estados Unidos da América Fiji	J Nat Prod.	Aberto

2023	Alanzi	Computational evaluation of marine demospongiae sponges metabolites activity as mycolic acid biosynthesis inhibitors in <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Arábia Saudita	Int J Mycobacteriol.	Fechado
2023	Fu	Marine-Fungi-Derived Gliotoxin Promotes Autophagy to Suppress <i>Mycobacteria tuberculosis</i> Infection in Macrophage.	China	Mar Drugs.	Aberto
2023	Kokkini	New Phocoenamicin and Maklamicin Analogues from Cultures of Three Marine-Derived <i>Micromonospora</i> Strains.	Espanha	Mar Drugs.	Aberto
2023	Arokia	Identification of the Seaweed Metabolites as Potential Anti-tubercular Agents Against Human Pantothenate synthetase: An In Silico Approach.	Índia Arábia Saudita Estados Unidos da América	Curr Microbiol.	Fechado

SUPLEMENTO: A pesquisa global de produtos naturais marinhos antituberculose: uma análise bibliométrica

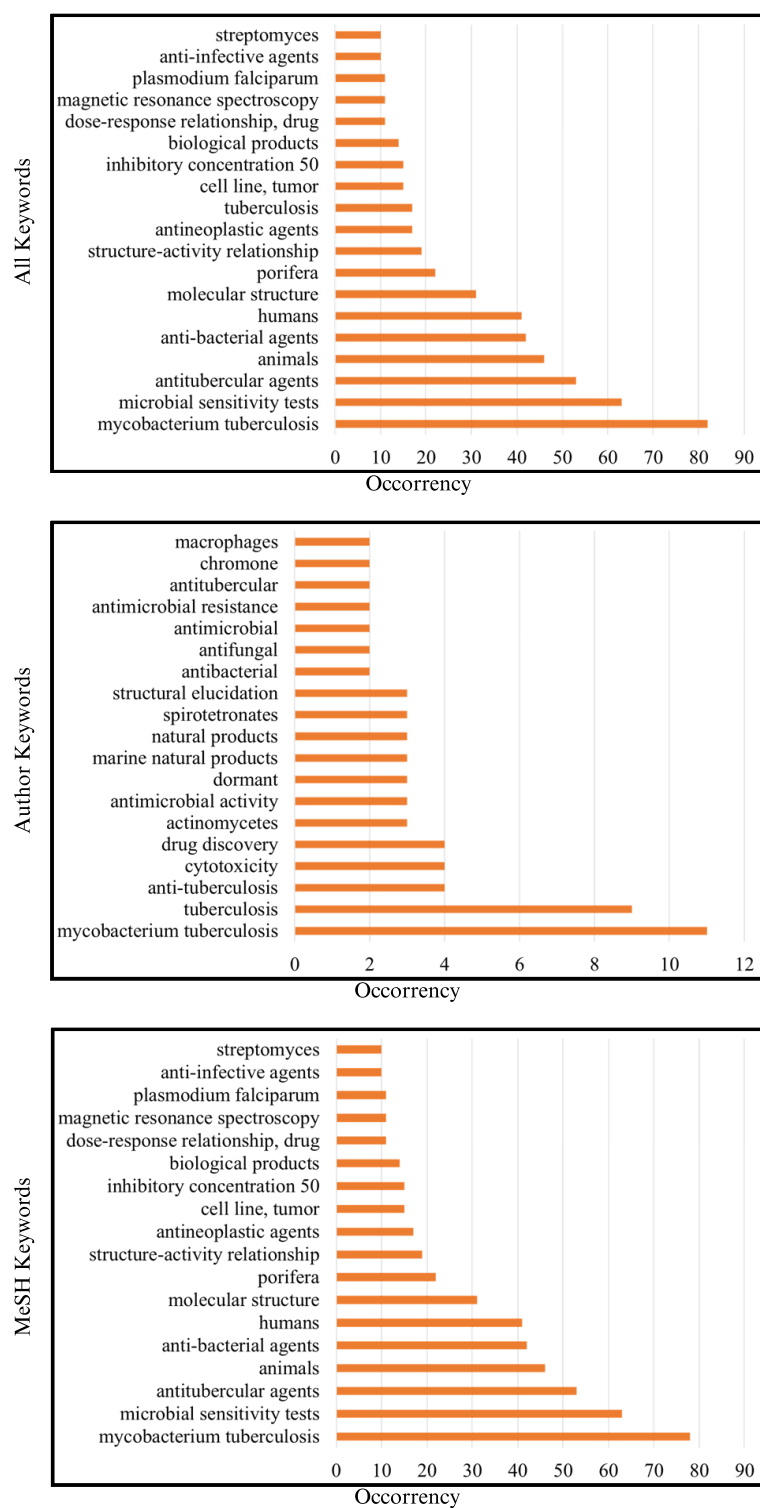
Figura S1: Diagrama de Sankey das relações de autores correspondentes e demais autores dos respectivos manuscritos



*as linhas coloridas representam a relação de países de elevados casos de tuberculoses com países de baixos número de casos da doença segundo dados da OMS em 2022

SUPLEMENTO: A pesquisa global de produtos naturais marinhos antituberculose: uma análise bibliométrica

Figura S2: Frequência e classificação das palavras-chave identificadas nos artigos



MANUSCRITO 3

Lipídios antimicobacterianos de *Schinus terebinthifolius*: ensaios *in silico* e *in vitro*

Artigo a ser submetido em língua inglesa, a definir revista.

A versão em língua portuguesa encontra-se nas páginas seguintes desta dissertação.

1 **Lipídios antimicrobianos de *Schinus terebinthifolius*: ensaios *in silico* e *in vitro***

2 Rodolfo Moreira Baptista¹, Marcelle Oliveria Garcia¹, Manuel Macedo de Souza², César Serra
3 Bonifácio Costa², Karina dos Santos Machado³, Marcelo Gonçalves Montes D’oca⁴, Rafael
4 Garrett Dolatto⁴, Pedro Eduardo Almeida Silva⁵, Daniela Fernandes Ramos¹

5 ¹ Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais Costeiros, Universidade Federal do Rio Grande, Rio
6 Grande, RS, Brasil;

7 ²Laboratório de Biotecnologia de Halófitas, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande RS, Brasil;

8 ³Laboratório de Biologia Computacional, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil;

9 ⁴Laboratório Kolbe de Síntese Orgânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

10 ⁵Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil;

11

12 **RESUMO**

13 Os ecossistemas costeiros são fontes de espécies de plantas halófitas, que desenvolvem
14 produtos biológicos para garantir sua sobrevivência diante de parâmetros estressantes
15 promovido por esse ambiente. Esses compostos são alvos de pesquisas de candidatos a
16 fármacos no combate a doenças de relevância mundial, como a tuberculose. Assim, este estudo
17 avaliou a atividade antimicrobiana de extrato lipídico preparado em clorofórmio-metanol (2:1)
18 da halófita *Schinus terebinthifolius* frente ao agente causador da tuberculose, *Mycobacterium*
19 *tuberculosis*. Para isso, inicialmente foram realizados ensaios de caracterização química para
20 identificação dos componentes presentes na amostra. Após, o extrato foi aplicado em ensaios
21 *in vitro* e *in silico* frente a *M. tuberculosis* e ao fator de virulência da bactéria, a proteína tirosina
22 fosfatase B (MPTPB). O extrato apresentou majoritariamente os ácidos graxos saturados e
23 insaturados de cadeia longa: 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- **(1)**, 2-methyloctacosane **(2)**, E-
24 6-Octadecen-1-ol acetate **(4)** e (Z)-14-Tricosenyl formate **(5)** além de um composto terpenoide
25 Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy- **(3)**. A concentração inibitória mínima do
26 extrato frente a *M. tuberculosis* foi observada na concentração de 400µg/mL. Além disso, os
27 componentes identificados no extrato também apresentaram interação no sítio de ligação da
28 proteína MPTPB, principalmente os compostos 1 e 3. Este estudo demonstrou que os lipídios
29 presentes em uma planta halófita desenvolvida em um ambiente costeiro são candidatos
30 promissores a fármacos antituberculose.

31

32 INTRODUÇÃO

33 As Halófitas compreendem um grupo de espécies vegetais que ocupam menos de 2%
34 da flora mundial. São capazes de se desenvolver em habitats de elevada concentração de sal
35 nos substratos aos quais se inserem, e em outros fatores estressantes para sua condição ideal de
36 crescimento. Para neutralizar os efeitos estressantes da salinidade, temperatura e ventos fortes
37 essas espécies desenvolvem mecanismos como isolamento íons em vacúolos, acúmulo de
38 solutos compatíveis, síntese e ativação de enzimas e síntese de metabólitos secundários e
39 substâncias vitais que regulam a concentração intracelular de sais (FLOWERS, 1985, 2008).
40 Os compostos produzidos por essas plantas têm demonstrado potenciais propriedades
41 terapêuticas, tornando-as uma importante fonte de compostos medicinais (GIODIANO et al.,
42 2021; RUGAIE et al., 2023; RAHMAN et al., 2021). Tal aspecto desperta grande interesse na
43 pesquisa de produtos naturais candidatos a fármacos, principalmente na descoberta de classes
44 de elevada demanda, como a dos antibióticos.

45 Os ecossistemas costeiros, por apresentar tais parâmetros ambientais, são uma zona
46 propícia para o desenvolvimento dessas espécies. Nesse contexto, a espécie nativa da América
47 do Sul *Schinus terebinthifolius* (Família Anacardiaceae), conhecida como aroeira-mansa, é um
48 destaque promissor (EL-NASHAR et al., 2021; BRASIL, 2014). Na pesquisa
49 etnofarmacológica, os usos de folhas, caules e frutos são utilizados na terapia anti-inflamatória,
50 anti-cicatrizante e contra infecções do aparelho respiratório, além de promover ação
51 expectorante. Consequentemente, extratos da espécie são utilizados em pesquisas de novos
52 candidatos a fármacos (VASCONCELOS et al., 2022), como por exemplo em avaliações
53 antimicrobianas de agentes causadores de doenças infecciosas do sistema respiratório, como a
54 tuberculose (ROBLES-ZEPEDA et al., 2013; BERNARDES et al., 2014).

55 A tuberculose é doença infecciosa causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*
56 que ocasiona grande preocupação da Organização Mundial da Saúde. Responsável por milhões
57 de mortes anuais, a doença é prevalente em países emergentes como Índia, Indonésia e Brasil.
58 Seu tratamento medicamentoso atual oferece baixa efetividade, pois envolve um longo período
59 de uso e riscos de muitos efeitos colaterais ao paciente (WHO, 2021; 2023). Consequentemente,
60 tem sido cada vez mais relatado casos de resistência de *M. tuberculosis* aos fármacos
61 disponíveis atualmente no mercado. Essas características tornam a doença um importante alvo
62 de combate e impulsionam novas buscas por fármacos e mecanismos de ação capazes de

63 combater a infecção e contornar os obstáculos que ocorrem no tratamento (STEPHANIE et al.,
64 2021).

65 Nesse contexto, a proteína tirosina fosfatase B secretada por *M. tuberculosis* (MPTPB),
66 cuja ação consiste na intervenção das vias de sinalização de macrófagos do hospedeiro
67 garantido a sobrevivência intracelular da micobactéria, tem sido destacada em pesquisas de
68 novas alternativas de combate a tuberculose. A MPTPB mostra-se como um atraente alvo de
69 inibição de *M. tuberculosis* na infecção, a ausência de ortólogos da proteína em humanos
70 minimizam os efeitos colaterais. Como sua síntese e liberação ocorre exclusivamente no
71 citoplasma de macrófagos, estudos consideram que sua inibição provocaria uma menor pressão
72 seletiva, reduzindo assim o risco de resistência adquirida. Por fim, por se tratar de um fator
73 excretado pela bactéria, os possíveis candidatos a fármacos não necessitariam de ser permeáveis
74 ao envoltório celular da bactéria, considerada um obstáculo para compostos já testados. Além
75 Além disso, estudos *in silico* e *in vitro* de produtos naturais de espécies costeiras exibiram
76 resultados de inibição da proteína, apresentando possíveis alternativas de combate a infecção
77 (SILVA et al., 2010; DUTTA et al., 2016; KOOUL et al., 2000).

78 Portanto, a bioprospecção de produtos naturais da espécie de halófita *S. terebinthifolius*
79 apresenta-se estrategicamente promissora. Apesar de apresentar estudos com ação
80 antimicobacteriana de diversas classes da espécie coletada em várias regiões costeiras, não há
81 estudos sobre o a ação antituberculose do perfil lipídico da aroeira-mansa oriunda de região
82 estuarina no extremo sul do Brasil, assim como a ausência de estudos *in silico* com a proteína
83 MPTPB. Assim, pretendeu-se nessa pesquisa investigar a ação antimicobacteriana *in vitro* e *in*
84 *silico* de lipídios produzidos por *S. terebinthifolius* frente a *M. tuberculosis*.

85

86 **MÉTODOS**

87 **Coleta**

88 As folhas de *S. terebinthifolius* foram coletadas de árvores adultas saudáveis localizadas na
89 Estação Marinha de Aquicultura da Federal do Rio Grande em Rio Grande, Rio Grande do Sul,
90 extremo sul do Brasil em abril de 2022 (-32.20394468505128, -52.17789887522545). Foram
91 secas à temperatura controlada em estufa (50 °C) até estabilidade da massa. Após foram moídas
92 em moinho de facas e, em seguida, armazenadas em temperatura ambiente até o uso. Os

procedimentos de coleta e preparação da amostra foram realizados no Laboratório de Biotecnologia de Halófitas da Estação Marinha de Aquicultura, localizada na Universidade Federal do Rio Grande, coordenado pelo Prof. Dr. César Serra Bonifácio Costa.

96

97

98 **Extração**

99 O método de extração de ácidos graxos foi adaptado de Metcalfe, Schmitz e Pelka
100 (1966), e D'oca et al. (2011). Proporcionalmente, 1g das folhas secas e moídas foram extraídas
101 em 6 mL de clorofórmio-metanol (2:1) (Dinâmica, COD. 1691) com agitação magnética (200
102 rpm) em 3 ciclos por 20 minutos. A cada ciclo, a fase orgânica era renovada e transferida para
103 outro recipiente, totalizando ao final 18 mL de solução extrativa. O conteúdo foi filtrado,
104 transferido para um frasco de destilação e evaporado em evaporador rotativo (Fisatom, São
105 Paulo, Brasil). Esta etapa foi realizada no Laboratório do Grupo Kolbe de Síntese Orgânica, do
106 Departamento de Química localizado na Universidade Federal do Paraná, coordenado pelo
107 Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Montes D'oca.

108 Para o ensaio antimicobacteriano, o extrato foi solubilizado em Dimentilsulfóxido
109 (DMSO) 80% de forma a atingir a concentração de 30mg/mL e armazenado sob refrigeração e
110 ao abrigo de luz. No momento de execução do ensaio, a solução foi novamente diluída em água
111 destilada até atingir a concentração de 800µg/mL ao final do experimento.

112

113 **Caracterização**

114 **Derivatização**

115 A esterificação dos lipídeos presentes na amostra foi realizada segundo o método
116 proposto por Metcalfe, Schmitz e Pelka (1966). A amostra (preparada conforme item
117 “Extração”) foi adicionada em um tubo de ensaio contendo 3 mL de trifluoreto de boro a 14%
118 em metanol (Sigma-Aldrich®). A mistura foi aquecida em banho-maria a 70 °C por 20 minutos
119 e lavada em um funil de separação com 15 mL de hexano e 20 mL de água destilada para
120 recuperar os ácidos graxos. As fases orgânica e aquosa foram então separadas e a fase orgânica
121 contendo os ésteres graxos foi novamente seca em rotaevaporador. Por fim, a amostra de
122 lipídeos seca foi solubilizada em hexano para submissão no equipamento.

123 **Análise no CG-EM**

124 As determinações cromatográficas para frações lipídicas esterificadas foram realizadas
125 por CG-EM. Para tal, foi utilizado cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas
126 (Shimadzu modelo GC-2010 plus – QP2010 SE) com auto injetor modelo AOC-20i. As
127 amostras foram injetadas em 1 µL de hexano, em modo split (1:10), sem pulso de pressão e
128 injetor mantido a 250 °C. A separação foi realizada em uma coluna capilar (Varian modelo VX-
129 5ms, de dimensões 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) utilizando Hélio analítico 99,999% como gás
130 de arraste em vazão de 1,30 mL/min. A coluna foi mantida inicialmente a 80 °C seguida por
131 rampa de aquecimento de 10 °C/min até 180 °C e nova rampa de 7 °C/min até 300 °C sendo
132 mantida por 5 min, totalizando 32,14 min de tempo de corrida. As temperaturas de interface e
133 fonte de íons foram 230 e 280 °C, respectivamente. Os compostos foram monitorados em modo
134 Fullscan em razões massa/carga, m/z entre 30 – 500. Por fim, os resultados foram apresentados
135 em cromatograma e espectros de massa dos compostos majoritários determinados pelo seu
136 tempo de retenção e pela biblioteca existente no equipamento.

137

138 **Avaliação *in vitro***

139 Cepa e inóculo

140

141 A cepa de *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) foi cultivada em Ogawa-Kudoh, por
142 até 21 dias a 37°C sem fornecimento de CO₂. A suspensão da cepa foi preparada em tubo de
143 vidro contendo esferas de vidro, em água destilada estéril até obter a escala 1.0 de McFarland
144 (3×10^8 UFC/mL) (Woods et al., 2011). Após esse processo, para obtenção do inóculo, a
145 suspensão foi diluída na proporção de 1:20 em caldo Middlebrook 7H9. Os ensaios foram
146 realizados nos Laboratórios da Área Interdisciplinar de Ciências Biomédicas da Faculdade de
147 Medicina da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), sob rigorosas condições exigidas
148 para o manejo.

149

150 Atividade antimicobacteriana

151

152 A atividade antimicobacteriana *in vitro* foi determinada de acordo com o ensaio REMA
153 (Resazurin Microtiter Assay) seguindo o método de Palomino e colaboradores (2002). Para
154 determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos foram utilizadas
155 microplacas de 96 poços, nas quais foram adicionados 100 µL de meio Middlebrook 7H9

156 suplementado com 10% OADC (ácido oleico, albumina, dextrose e catalase). Após, foi
157 adicionado 100 µL do extrato, preparado conforme item “Extração”. Foi realizada uma
158 microdiluição seriada (1:2) dos extratos, resultando em um faixa de concentração de 25 a 800
159 µg/mL. Após isso, foi adicionado em todos os poços 100 µL de inóculo bacteriano da cepa *M.*
160 *tuberculosis* H37Rv, previamente preparada conforme descrito em “Cepa e Inóculo”. Controles
161 de crescimento bacteriano (meio + inóculo), esterilidade (apenas meio) e referência (avaliação
162 da atividade dos antibióticos isoniazida e rifampicina) também foram incluídos. Após a
163 incubação a 37°C em estufa por sete dias, 30 µL de resazurina (0,02%) foi adicionado e usado
164 como um revelador de atividade celular nos poços. O resultado da inibição foi revelado por
165 meio mudança de cor dos poços após 48 horas da aplicação do revelador. A coloração rosa
166 indica crescimento bacteriano no meio, concluída como resultado negativo de inibição, ao passo
167 que a coloração azul indica inibição do crescimento, indicando um resultado positivo quanto a
168 inibição bacteriana. A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração
169 capaz de promover a inibição do crescimento bacteriano. O experimento foi realizado em
170 triplicata.

171 **Avaliação *in silico***

172 A simulação de acoplamento foi realizada pela ferramenta computacional Audodock
173 Vina versão 1.1.2 (2010) (TROTT; OLSON, 2009), usando a estrutura cristalizada da MPTPB
174 com inibidor como modelo de proteína. A estrutura foi obtida do *Protein Data Bank* (PDB) de
175 código 2OZ5, e os compostos ligantes presentes no extrato identificados conforme descrito no
176 tópico “Caracterização” foram obtidos diretamente do banco online de compostos *PubChem*. A
177 interação entre proteína e os ligantes foram avaliados na região de ligação do inibidor da
178 MPTPB, o composto (oxalilamino-metileno)-tiofeno sulfonamida (OMTS) (GRUNDNER et
179 al., 2007). Nos cálculos de *docking*, foi considerado a energia de ligação em kcal/mol dos
180 acoplamentos. O *docking* com OMTS foi utilizado comparativamente.

181 O software *Discovery Studio Visualizer 2021* foi utilizado para análise e elaboração de
182 apresentação visual das interações dos compostos com o local alvo da proteína receptora na
183 configuração 2D e 3D, respectivamente. Este ensaio foi realizado com auxílio do Grupo de
184 Biologia Computacional da FURG, sob coordenação da Prof^a. Dr^a Karina Machado.

185

186

187 **Resultados e discussão**

188

189 Rendimento do processo extrativo

190 Este estudo é pioneiro na avaliação antimicobacteriana da fração lipídica de *S.*
191 *terebinthifolius* oriunda de região estuarina do Brasil. Outros estudos de extração e
192 determinação de lipídios de halófitas utilizaram o método proposto por Metcalfe, Schmitz e
193 Pelka (1966) (COSTA et al., 2014; REBOUÇAS et al., 2017) assim como em outra pesquisa
194 com espécies no Brasil (RAMOS et al., 2022). O método utilizado para extrair os lipídios
195 presentes em *S. terebinthifolius* neste estudo proporcionou um rendimento de 6,32% (p/p).
196 Resultados concordantes foram encontrados em estudo de Ennigrou et al. (2018), onde
197 utilizaram a mesma proporção de solventes, obtendo 4,65% das folhas da espécie. Outro
198 resultado semelhante foi o encontrado por Scheid et al. (2018). Nesse estudo, foi utilizado o
199 método de extração por maceração em diclorometano, n-hexano, metanol e acetato de etila das
200 folhas da espécie coletadas em ambiente não costeiro do Rio Grande do Sul, resultando na
201 extração em metanol o rendimento de 5,3%, o maior entre os solventes utilizados.

202 Caracterização química

203 A composição detalhada de ácidos graxos e lipídios encontrados no extrato das folhas
204 de *S. terebinthifolius* é apresentada na Tabela 1, e o cromatogramas está representado na Figura
205 1. Quatro ácidos graxos, incluindo ácido graxo saturado (SFA) e insaturados (UFA), foram
206 identificados. O SFA encontrados foi identificado como 2-methyloctacosane (2). Os UFAs
207 corresponderam ao 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (1), (Z)-14-Tricosenyl formate (5)
208 e principalmente E-6-Octadecen-1-ol acetate (4). Em maior porcentagem o composto
209 terpenoide triciclo[20.8.0.0(7,16)]triacontano, 1(22),7(16)-diepoxi- (3) também foi
210 identificado.

211

212

213

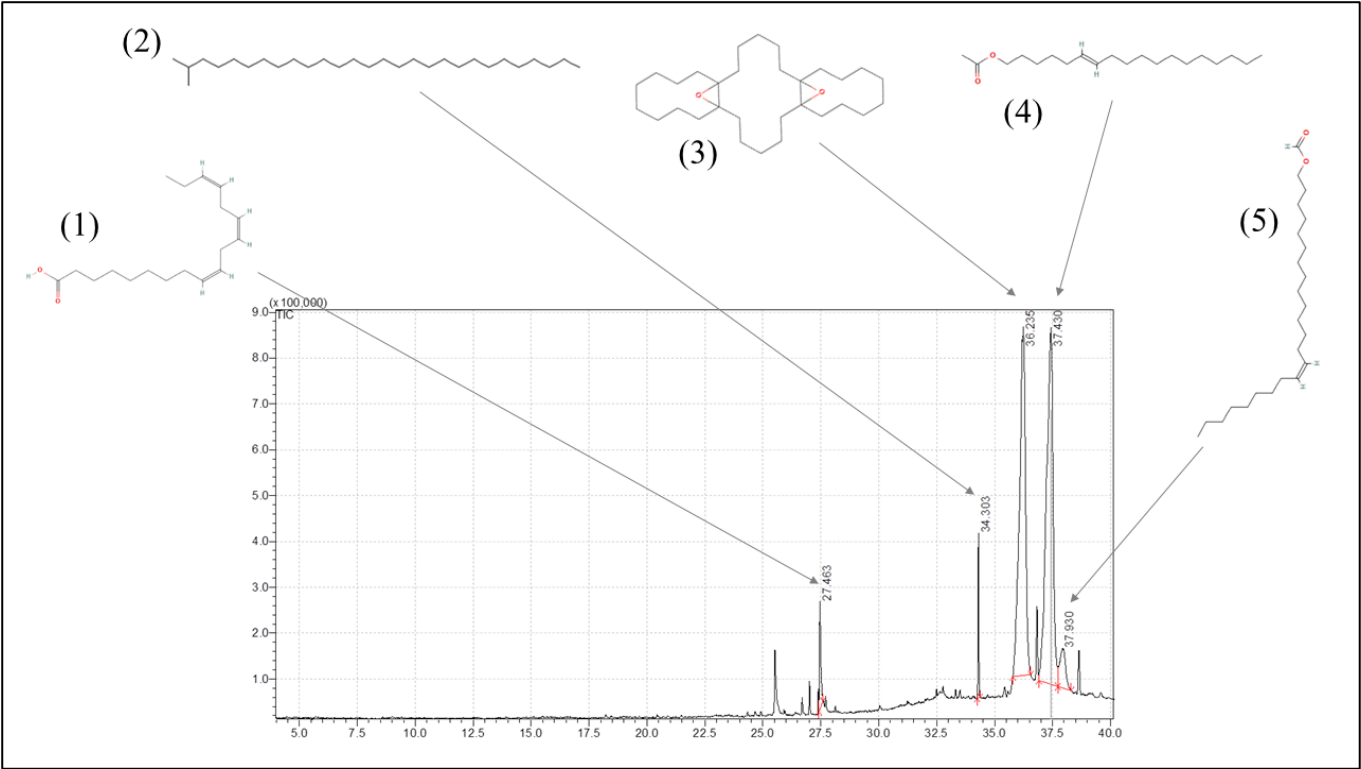
214

215

216

217

Figura 1: Cromatograma do extrato em clofórmio:metanol esterificado de *S. terebinthifolius*



218

219

220

Tabela 1: Compostos presentes na fração lipídica de *S. terebinthifolius*

nº	TR*	Área	%	Altura	Composto	Fórmula molecular
1	27.463	954002	2.95	234874	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (C18:3)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂
2	34.303	851127	2.63	360513	2-methyloctacosane (C29:0)	C ₂₉ H ₆₀
3	36.235	13503915	41.72	760327	Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy-	C ₃₀ H ₅₂ O ₂
4	37.430	15536451	48.00	774732	E-6-Octadecen-1-ol acetate (C20:1)	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
5	37.930	1519604	4.70	86705	(Z)-14-Tricosenyl formate (C24:1)	C ₂₄ H ₄₆ O ₂

221

*Tempo de retenção em minutos

222

223

224

225

226

Divergindo de estudos de caracterização química de *S. terebinthifolius*, nos resultados encontrados neste trabalho foi observado menor variedade de SFA nas amostras da espécie (ENNIGROU et al. 2018). Além disso, houve discordância também sobre os tipos de compostos saturados encontrados quando comparados com a literatura (SALEM, ALI & EL-

SHANNHOREY, 2014). O composto 2, que representou 2.63 % dos lipídeos encontrado em nosso estudo, foi descrito em apenas um estudo do gênero *Schinus*, representando 0,94% da amostra das folhas de *S. polygamus* extraída em hexano tendo sido coletadas no Egito, em uma região não costeira (EL-NASHAR et al. 2021).

O composto 3, apesar de ser um dos compostos majoritários em nossa amostra, não foi identificado em nenhum estudo com extratos da espécie. Porém, em estudos de caracterização química de plantas medicinais o composto 3 foi identificado em extratos de diversas plantas halófitas, apesar da concentração do composto nos estudos citados apresentar-se inferiores ao encontrado por nosso grupo. Como por exemplo em *Cyperus compressus* Rottb, coletada em ambiente costeiro na Índia, o composto 3 compôs 0,129% da amostra de extrato metanólico do rizoma. Em *Momordica cymbalaria* Fenzl a concentração do composto 3 não superou 1,9% nas folhas e caules da halófitas. (GOPU et al., 2021). No extrato metanólico dos frutos de *Solanum aculeastrum* Dunal foi identificado 1,57% do composto. (PENDER et al., 2024). Por fim, no óleo essencial do rizoma de *Cyperus rotundus* coletado em ambiente terrestre também foi identificado o composto 3, que representou 1,85% da composição do produto de extração.

Em plantas não tolerantes a salinidade, o composto 3 foi encontrado em alguns estudos. De forma semelhante, o extrato metanólico do rizoma de *Curcuma decipiens* apresentou 0,38% do composto 3 em sua composição (MEHRA, JAIN, 2019). Já em *Zanthoxylum rhetsa* a concentração de 3 no extrato metanólico dos frutos alcançou 38,3% da amostra (GURAV et al. 2018). E nas sementes de *Parkia platycephala* coletada no Brasil, a concentração do composto na fração metanólica chegou a 100% da amostra (RACHEL et al., 2021).

Concentrações de UFAs como as dos composto 1 e 4 são comumente encontradas em caracterizações de frações lipídicas, como apresentado em outros estudos de *S. terebinthifolius* coletada em outras regiões (ENNIGROU et al., 2018, GOMES et al., 2020). Esses constituintes são fundamentais pois exercem papel estrutural celular e funcional nas folhas e tecidos fotossintéticos (SOMERVILLE et al. 2020). Em plantas halófitas, os UFAs conjugados como o composto 1 e 4 são fundamentais pois são responsáveis pelo controle da permeabilidade celular, condicionado a alterações ambientais externas às quais a planta se encontra. Por exemplo, um aumento na salinidade no ambiente acarreta a um aumento da produção de UFAs, que provoca instabilidade na membrana e assim diminui o fluxo de substratos para o interior da célula vegetal (UPCHURCH et al., 2008).

258 Atividade antituberculose

259 De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, o extrato lipídico de *S.*
260 *terebinthifolius* apresentou atividade inibitória frente micobactéria *M. tuberculosis* a 400µg/mL.
261 Dos poucos estudos antimicobacterianos de *Schinus* sp. encontrados, o extrato metanólico dos
262 frutos da espécie presente na região sudeste do Brasil apresentou CIM de 280 µg/mL frente a
263 *M. bovis* (BERNARDES et al., 2014). Robles-Zepeda et al. (2013) não identificaram ação
264 inibitória do extrato metanólico a 1mg/mL obtido por maceração das folhas de *S. molle* coletada
265 em uma cidade do México contra *M. tuberculosis* H37Rv. Ambos os estudos realizaram coleta
266 do material vegetal em regiões não costeiras. O resultado da pesquisa de Bernardes et al. (2014)
267 pode ser justificado devido a variedade de compostos fenólicos e terpenos presentes nos frutos
268 da espécie, que por sua vez exerce efeito antimicobacteriano por meio de perturbações na parede
269 celular e promoção do estresse oxidativo pela produção de espécies reativas de oxigênio
270 (EROs).

271 No estudo de Robles-Zepeda et al. (2013) o extrato em clorofórmio da espécie de
272 halófita *Ambrosia confertiflora* coletada em ambiente não costeiro apresentou a menor CIM
273 frente a *M. tuberculosis* H37Rv (90µg/mL), quando comparado com outros solventes como
274 acetato de etila e diclorometano. De forma semelhante, outros estudos apresentaram resultados
275 promissores de extratos em clorofórmio de plantas halófitas com ação antimicobacteriana
276 (Dulger et al., 1999, Cantrell et al. 1998). Assim, apesar das influências dos ecossistemas é
277 possível notar que frações em clorofórmio de halófitas podem apresentar lipídios que
278 promovem inibição do bacilo em determinadas concentrações.

279 Estudos que ácidos graxos de cadeia longa foram capazes de promover atividade
280 inibitória em *Mycobacterium* sp. (RAMOS et al, 2022. MUKHERJEE et al., 2012). Isso pode
281 ocorrer devido a facilidade de permear e causar instabilidade na parede celular de micobactérias,
282 visto que sua composição principal são lipídios de cadeia longa como ácido micólico e ácido
283 araquidônico. No entanto, Morbidoni et al. (2006) consideram que alguns SFAs podem ser
284 produzido por *Mycobacterium smegmatis* pela metabolização do ácido 2-hexadecínico e ácido
285 octadecínico, utilizados na síntese de ácido micólico para constituição da parede celular na
286 bactéria. No entanto, em determinadas concentrações os SFAs são capazes de inibir a
287 degradação desses ácidos por gradiente de concentração, prejudicando a disponibilidade de
288 ácido micólico. Este mecanismo impede outras vias de metabolização importantes para a
289 sobrevivência da micobactéria.

290 Alguns estudos apresentam em seus resultados atividade antimicrobiana de extratos
291 contendo o composto 3 (RAHMAN et al., 2023, SOULIMAN et al. 2019), onde foi observado
292 ação antimicrobiana na bactéria Gram-positiva *Enterococcus faecalis*. SFAs como ácido láurico
293 (C12:0) testado frente a espécies Gram positivas e negativas apresentou maior potencial de
294 inibição em Gram-positivas, principalmente em *S. aureus*. (NITBANI et al., 2016; HUANG et
295 al., 2014). O que se constatou até então sobre a atividade antimicrobiana de compostos
296 orgânicos saturados é a capacidade estressante da membrana plasmática de *S. aureus* sensível
297 e resistente, comprometendo as funções vitais do microrganismo. (YOON et al. 2015).

298 Um estudo realizado com óleo essencial de *S. terebinthifolius* cuja composição química
299 majoritária é formada por UFAs, como 1 e 4, apresentou atividade antimicrobiana frente a
300 bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Novamente, os melhores resultados de inibição
301 bacteriana restringiram-se em bactérias gram-positivas (ENNIGROU et al., 2018). Kenny et al.
302 (2009) concluíram que ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) como o composto 1 exercem
303 alterações em genes responsáveis pela síntese de peptideoglicano, componente essencial na
304 constituição da parede celular de bactérias, principalmente nas gram-positivas. Um outro estudo
305 exibiu resultados seletivos na inibição de proteínas essenciais na biossíntese de ácidos graxos,
306 onde, comparativamente com os SFAs, apenas os PUFAs apresentaram tal efeito (ZHENG et
307 al., 2005). Desta forma, pode-se pressupor outros possíveis mecanismos de ação
308 antimycobacterianos dos PUFAs.

309

310 **Avaliação *in silico***

311 Na tabela 2 é apresentado o resultado do acoplamento computacional da proteína
312 MPTPB com os compostos encontrados no perfil lipídico de *S. terebinthifolius* em energia de
313 ligação. Na Figura 2, é ilustrado as interações intermoleculares entre os aminoácidos da MPTPB
314 e os ligantes. A proteína tem sido alvo de estudos que visam novas alternativas de inibição de
315 *M. tuberculosis* durante a infecção no hospedeiro (CAI et al., 2019; LI et al., 2014; XIA et al.,
316 2014; XIAO et al., 2015). Apesar de recente e ainda com poucos estudos publicados, a pesquisa
317 de PNCs frente a MPTPB tem se mostrado promissora e abre novas oportunidades na
318 descoberta de fármacos anti-TB.

319

320

321

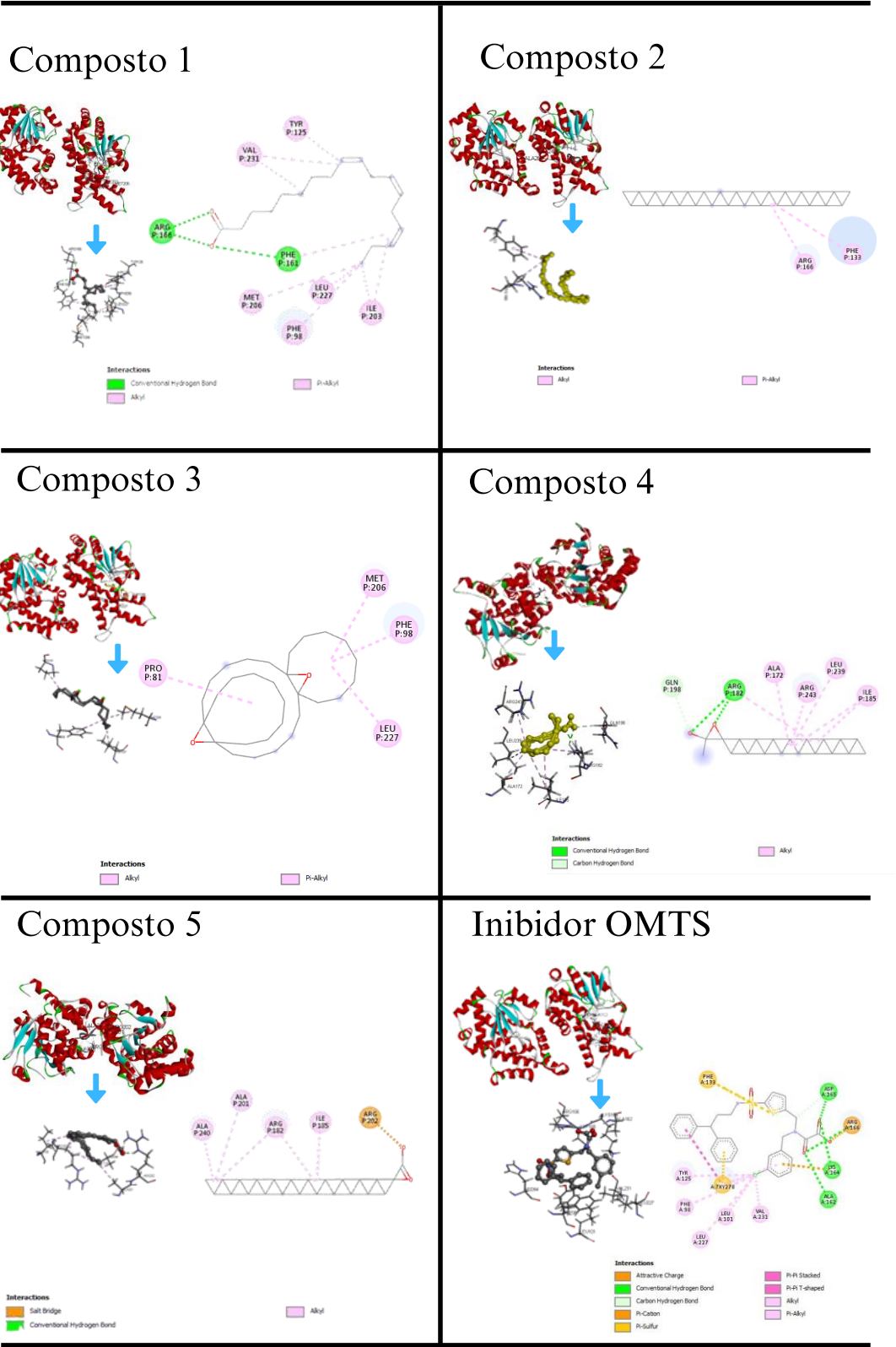
322

323 Tabela 2: Energia e tipos de interação entre os ligantes presentes no extrato de *S. terebonthifolius* e MPTPB

N °	Composto	Energia de ligação em kcal/mol	Tipos de interação
1	Ácido linolênico (C18:3)	-5,0 kcal/mol	Argenina P166: Ligação de Hidrogênio Aspartato P165: Ligação alquil Alanina P162: Ligação alquil Tyrosina P125: Ligação alquil Leucina P227: Ligação alquil Valina P213: Ligação alquil Fenilalanina P161: Ligação de Hidrogênio
2	isononacosano (C29:0)	-5,1 kcal/mol	Argenina P166: Ligação alquil Fenilalanina P133: Ligação alquil
3	Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy- (C30:0)	-10,7 kcal/mol	Fenilalanina P98: Ligação alquil Leucina P227: Ligação alquil
4	Acetado de octadecenol (C20:1)	-6,2 kcal/mol	Argenina P182: Ligação de Hidrogênio Glicina P198: Ligação covalente Alanina P172: Ligação alquil Arginina P243: Ligação alquil Leucina P239: Ligação alquil Isoleucina P185: Ligação alquil
5	Tricosenil formato (C24:1)	-6,1 kcal/mol	Alanina P24: Ligação alquil Alanina P201: Ligação alquil Arginina P182: Ligação alquil Isoleucina P185: Ligação alquil Arginina P202: Ligação iônica
6	OMTS	-11 kcal/mol	Fenilalanina P133: Interação π -sulfur Aspartato P165: Ligação de Hidrogênio Arginina P166: Interação cátion- π Lisina P164: Ligação de Hidrogênio Alanina P162: Ligação de Hidrogênio Valina P231: Ligação alquil Leucina P101: Ligação alquil Leucina P227: Ligação alquil Fenilalanina P98: Ligação alquil Tirocina P125: Ligação alquil

324

325 Figura 2: Ilustração da angoragem dos compostos e as interações realizadas no sítio de ligação da MPTPB



326

327 Nota-se que, comparavelmente ao inibidor OMTS, cujas interações provocam
328 rearranjos estruturais na proteína (VINTONYAK et al., 2011), o composto 3 apresentou
329 semelhante energia de ligação em kcal/mol. No entanto, o constituinte 1, na região carboxílica
330 e nas insaturações, realizou tipos de interações intermoleculares semelhantes ao inibidor com
331 os aminoácidos Arginina 166, Fenilalanina 98, Tirosina 125, Valina 231 e Leucina 227, que
332 também interagem com o OMTS. Assim, enquanto as ligações alquil são as únicas presentes
333 em 3, que torna a interação mais fraca entre o ligante e receptor, ligações de hidrogênio ocorrem
334 em 1, que intensifica a interação com o sítio de ligação da MPTPB.

335 Estudos realizados com ácidos graxos como a configuração *cis* e *trans* do ácido
336 eicosenoico (C20:1) obtiveram valores de energia variando entre -55 e -60 kcal/mol em sítios
337 da MPTPB, indicando menor força de ligação de ácidos *trans*. Assim como no composto 1, que
338 apesar de configura-se como *cis*, os ácidos graxos *trans* estabeleceram ligações de hidrogênio
339 semelhantes com os aminoácidos fenilalanina 161 e arginina 166 (SAVALAS et al., 2021). Em
340 contrapartida, o mesmo estudo executou ensaios *in vitro* com a MPTPB, cujo melhor resultado
341 de inibição da proteína se deu pela interação com o composto *cis*, que promoveu uma
342 diminuição da atividade da proteína representada diminuição pelos valores de energia de
343 $4,5 \times 10^{-4}$ U para $1,5 \times 10^{-4}$ U.

344 De forma semelhante, no estudo de Liu et al. (2018) foi realizado ancoragem molecular
345 e ensaio *in vitro* entre MPTPB e PNCs. Nesta pesquisa, dois lipídeos sesquiterpenos
346 apresentaram resultados distinto da interação com a proteína. O composto denominado
347 “ergosterol A” apresenta mais ramificações longas em sua estrutura e demonstrou valor de
348 constante de inibição (K_i) 267,3; enquanto que “ergosterol B” apresenta mais grupos metil e
349 obteve valor de K_i de 34,05, assim “ergosterol B” apresentou maior afinidade de ligação. Desta
350 forma, em concordância com o resultado da interação do composto 4 e com os achados na
351 literatura, o sítio de ligação da proteína demonstra maior afinidade por alcanos cíclicos, como
352 os terpenos.

353 Todavia, nos resultados *in vitro* frente a MPTPB realizados no mesmo estudo, o
354 composto ergosterol A apresentou melhor concentração inibitória, no valor de IC_{50} 15,1 μ M,
355 comparado com ergosterol B, que mesmo se destacando no ensaio *in silico*, apresentou IC_{50} de
356 30,1 μ M frente a proteína. Essa divergência reflete em algumas desvantagens e desafios das
357 avaliações *in silico*, como a baixa acurácia de afinidade, pois esse parâmetro pode ser
358 influenciado por vários fatores não simulados pelos programas de ancoragem; Possíveis

359 interações solvente-ligante, onde não é possível determinar influências de determinados
360 solventes; limitações de flexibilidade do receptor, visto que em alguns ensaios não é possível
361 determinar adequadamente os ângulos de flexibilidade das proteínas; entre outros (SAIKIA,
362 BORDOLOI et al., 2019; PINZI; RASTELLI, 2019).

363

364 **Conclusão**

365 Este foi o primeiro estudo a avaliar o potencial antimicobacteriano de lipídios presentes
366 no extrato preparado em clorofórmio-metanol de uma planta halófito oriunda de ecossistema
367 estuarino no extremo-sul do Brasil. Os resultados permitiram inferir uma ação inibitória *in vitro*
368 do extrato em clorofórmio: metanol (2:1) de *S. terebinthifolius* frente a *M. tuberculosis* H37Rv
369 a 400 µg/mL. Assim, como a possível interação *in silico* dos ácidos graxos saturados,
370 insaturados e terpenos presentes no extrato com o fator de virulência MPTPB aqui relatados,
371 demonstrando o potencial desta espécie no desenvolvimento de novas estratégias para o
372 tratamento da tuberculose. Apesar dos resultados promissores, pretende ainda caracterizar e
373 avaliar a ação de outras frações de extrato, assim como estabelecer uma comparação com ensaio
374 *in vitro* frente a MPTPB. Espera-se que estes achados aqui discutidos favoreçam a pesquisa de
375 produtos naturais oriundos de ambientes pouco explorado como os ecossistemas costeiros
376 frente ao agente causador da tuberculose.

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386 **Referências**

- 387 BERNARDES, Natalia R.; HEGGDORNE-ARAÚJO, Marlon; BORGES, Isabela F.J.C.;
388 ALMEIDA, Fabricio M.; AMARAL, Eduardo P.; LASUNSKAIA, Elena B.; MUZITANO,
389 Michelle F.; OLIVEIRA, Daniela B.. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and
390 antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus*
391 *terebinthifolius*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 24, n. 6, p. 644-650, nov.
392 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2014.10.012>.
- 393 BRASIL. **Monografia da Espécie *Schinus Terebinthifolius* Raddi (Aroeira-da-Praia)**.
394 Brasília, DF: Ministério da Saúde/Anvisa, 2014.
- 395 COSTA, César S.B.; VICENTI, Juliano R.M.; MORÓN-VILLARREYES, Joaquín A.;
- 396 CALDAS, Sergiane; CARDOSO, Liziane V.; FREITAS, Ricardo F.; D'OCA, Marcelo G.M..
397 Extraction and characterization of lipids from *Sarcocornia ambigua* meal: a halophyte biomass
398 produced with shrimp farm effluent irrigation. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**,
399 [S.L.], v. 86, n. 2, p. 935-943, jun. 2014. FapUNIFESP (SciELO).
400 <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130022>.
- 401 D'OCA, M. G. M. et al. Production of FAMES from several microalgal lipidic extracts and
402 direct transesterification of the *Chlorella pyrenoidosa*. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 4, p.
403 1533–1538, abr. 2011.
- 404 DÜLGER, BAŞARAN; CEYLAN, MURAT; ALITSAOUS, MOUSTAFA; and UĞURLU,
405 EMİN. Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* L.," Turkish Journal of Biology 1999:
406 Vol. 23: No. 3, Artigo 13. Disponível em: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol23/iss3/13>
407
- 408 DUTTA, Noton K.; HE, Rongjun; PINN, Michael L.; HE, Yantao; BURROWS, Francis;
409 ZHANG, Zhong-Yin; KARAKOUSIS, Petros C.. Mycobacterial Protein Tyrosine Phosphatases
410 A and B Inhibitors Augment the Bactericidal Activity of the Standard Anti-tuberculosis
411 Regimen. **Acs Infectious Diseases**, [S.L.], v. 2, n. 3, p. 231-239, 7 jan. 2016. American
412 Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00133>.
- 413 EL-NASHAR, Heba A. S.; MOSTAFA, Nada M.; ELDAHSHAN, Omayma A.; SINGAB,
414 Abdel Nasser B.. Chemical Composition, Cytotoxic and Anti-arthritic Activities of Hexane
415 Extracts of Certain *Schinus* Species. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [S.L.], v. 9,

416 n. 11, p. 1-9, 28 nov. 2021. David Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.17265/2328->
417 2150/2021.11.004.

418 EL-NASHAR, Heba A. S.; MOSTAFA, Nada M.; EL-GHFFAR, Eman A. Abd; ELDAHSHAN,
419 Omayma A.; SINGAB, Abdel Nasser B.. The genus *Schinus* (Anacardiaceae): a review on
420 phytochemicals and biological aspects. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 36, n. 18, p.
421 4833-4851, 9 dez. 2021. Informa UK Limited.
422 <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2021.2012772>.

423 ENNIGROU, Asma; CASABIANCA, Hervé; VULLIET, Emmanuelle; HANCHI, Belgacem;
424 HOSNI, Karim. Assessing the fatty acid, essential oil composition, their radical scavenging and
425 antibacterial activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves and twigs. **Journal Of Food**
426 **Science And Technology**, [S.L.], v. 55, n. 4, p. 1582-1590, 3 fev. 2018. Springer Science and
427 Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-018-3049-6>.

428 FLOWERS, T. J.. Physiology of halophytes. *Plant And Soil*, [S.L.], v. 89, n. 1-3, p. 41-56, fev.
429 1985. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02182232>.

430 FLOWERS, Timothy J.; COLMER, Timothy D.. Salinity tolerance in halophytes*. *New*
431 *Phytologist*, [S.L.], v. 179, n. 4, p. 945-963, 6 ago. 2008. Wiley.
432 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x>.

433 GIORDANO, Rocco; SAIL, Zeinab; FREDSGAARD, Malthe; HULKKO, Laura Sini Sofia;
434 POULSEN, Thomas Bouet Guldbæk; THOMSEN, Mikkel Eggert; HENNEBERG, Nanna;
435 ZUCOLOTTI, Silvana Maria; ARENDT-NIELSEN, Lars; PAPENBROCK, Jutta.
436 Pharmacological Insights into Halophyte Bioactive Extract Action on Anti-Inflammatory, Pain
437 Relief and Antibiotics-Type Mechanisms. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 11, p. 3140, 24 maio
438 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26113140>.

439 GOMES, Rodrigo Borges de Araujo; SOUZA, Erica Santana de; BARRAQUI, Nataly Senna
440 Gerhardt; TOSTA, Cristina Luz; NUNES, Ana Paula Ferreira; SCHUENCK, Ricardo Pinto;
441 RUAS, Fabiana Gomes; VENTURA, José Aires; FILGUEIRAS, Paulo Roberto; KUSTER,
442 Ricardo Machado. Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi)
443 processing industry: chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital
444 bacteria. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 143, p. 111430, jan. 2020. Elsevier BV.
445 <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.079>.

446 GOPU, Chaitanya; CHIRUMAMILLA, Pavani; DARAVATH, Sunitha Bai; VANKUDOTH,
 447 Suvarchala; TADURI, Shasthree. GC-MS analysis of bioactive compounds in the plant parts of
 448 methanolic extracts of *Momordica cymbalaria* Fenzl. **Journal Of Medicinal Plants Studies**,
 449 [S.L.], v. 9, n. 3, p. 209-218, 1 maio 2021. AkiNik Publications.
 450 <http://dx.doi.org/10.22271/plants.2021.v9.i3c.1289>.

451 GRUNDNER, Christoph; PERRIN, Dominique; VAN HUIJSDUIJNEN, Rob Hoof;
 452 SWINNEN, Dominique; GONZALEZ, Jérôme; GEE, Christine L.; WELLS, Timothy N.;
 453 ALBER, Tom. Structural Basis for Selective Inhibition of Mycobacterium tuberculosis Protein
 454 Tyrosine Phosphatase PtpB. **Structure**, [S.L.], v. 15, n. 4, p. 499-509, abr. 2007. Elsevier BV.
 455 <http://dx.doi.org/10.1016/j.str.2007.03.003>.

456 GURAV, Kuladip; (RATHOD), Varsha Jadhav. GAS CHROMATOGRAPHY–MASS
 457 SPECTROMETRY ANALYSIS OF METHANOL EXTRACT OF ZANTHOXYLUM
 458 RHETSA DC. FRUITS. **Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research**, [S.L.], v.
 459 11, n. 12, p. 247, 7 dez. 2018. Innovare Academic Sciences Pvt Ltd.
 460 <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i12.26821>.

461 HUANG, Wen-Cheng; TSAI, Tsung-Hsien; CHUANG, Lu-Te; LI, You-Yi; ZOUBOULIS,
 462 Christos C.; TSAI, Po-Jung. Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid
 463 against *Propionibacterium acnes*: a comparative study with lauric acid. **Journal Of**
 464 **Dermatological Science**, [S.L.], v. 73, n. 3, p. 232-240, mar. 2014. Elsevier BV.
 465 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.10.010>.

466 KENNY, John G.; WARD, Deborah; JOSEFSSON, Elisabet; JONSSON, Ing-Marie; HINDS,
 467 Jason; REES, Huw H.; LINDSAY, Jodi A.; TARKOWSKI, Andrej; HORSBURGH, Malcolm
 468 J.. The *Staphylococcus aureus* Response to Unsaturated Long Chain Free Fatty Acids: survival
 469 mechanisms and virulence implications. **Plos One**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 1-10, 2 fev. 2009. Public
 470 Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0004344>.

471 KOUL, Anil; CHOIDAS, Axel; TREDER, Martin; TYAGI, Anil K.; DRLICA, Karl; SINGH,
 472 Yogendra; ULLRICH, Axel. Cloning and Characterization of Secretory Tyrosine Phosphatases
 473 of *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal Of Bacteriology**, [S.L.], v. 182, n. 19, p. 5425-5432,
 474 out. 2000. American Society for Microbiology. [http://dx.doi.org/10.1128/jb.182.19.5425-](http://dx.doi.org/10.1128/jb.182.19.5425-5432.2000)
 475 [5432.2000](http://dx.doi.org/10.1128/jb.182.19.5425-5432.2000).

MEHRA, Neeranjna; JAIN, Navin Kumar. Comparative phytochemical screening of *Curcuma angustifolia*, *Curcuma decipiens* and *Curcuma longa* by using GC-MS. **Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry**, [s. l], v. 2, n. 8, p. 1227-1234, jan. 2019.

METCALFE, L. D.; SCHMITZ, A. A.; PELKA, J. R. Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipids for Gas Chromatographic Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 514–515, 1 mar. 1966.

MUKHERJEE, Koushik; TRIBEDI, Prosun; MUKHOPADHYAY, Balaram; SIL, Alok Kumar. Antibacterial activity of long-chain fatty alcohols against mycobacteria. **Fems Microbiology Letters**, [S.L.], v. 338, n. 2, p. 177-183, 30 nov. 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/1574-6968.12043>.

NITBANI, Febri Odel; JUMINA; SISWANTA, Dwi; SOLIKHAH, Eti Nurwening. Isolation and Antibacterial Activity Test of Lauric Acid from Crude Coconut Oil (*Cocos nucifera* L.). **Procedia Chemistry**, [S.L.], v. 18, p. 132-140, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2016.01.021>.

PENDER, Gift Crucifix; GUYAH, Bernard; MWITARI, Peter G.; LAGU, Inyani John L.; JEPKORIR, Mercy; OMBAKA, James H. *Solanum aculeastrum* Dunal berries: phytochemical profiling and gc-ms analysis of methanolic extract and n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol fractions. **International Journal Of Science And Research Archive**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1933-1958, 28 fev. 2024. GSC Online Press. <http://dx.doi.org/10.30574/ijrsra.2024.11.1.0250>.

PINZI, Luca; RASTELLI, Giulio. Molecular Docking: shifting paradigms in drug discovery. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 18, p. 4331, 4 set. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20184331>.

RACHEL, De Moura Nunes Fernandes; MARIA, Angelica Melo Rodrigues; JULIANE, Farinelli Panontin; DANIELA, Ribeiro Alves; SELENE, Maia Moraes; ILSAMAR, Mendes Soares; ELISANDRA, Scapin. Chemical investigation, toxic potential and acetylcholinesterase inhibitory effect of *Parkia platycephala* leaf and seed extracts. **Journal Of Medicinal Plants Research**, [S.L.], v. 15, n. 9, p. 401-412, 30 set. 2021. Academic Journals. <http://dx.doi.org/10.5897/jmpr2021.7158>.

505 RAHMAN, Md. Mezanur; MOSTOFA, Mohammad Golam; KEYA, Sanjida Sultana;
 506 SIDDIQUI, Md. Nurealam; ANSARY, Md. Mesbah Uddin; DAS, Ashim Kumar; RAHMAN,
 507 Md. Abiar; TRAN, Lam Son-Phan. Adaptive Mechanisms of Halophytes and Their Potential in
 508 Improving Salinity Tolerance in Plants. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.],
 509 v. 22, n. 19, p. 10733, 3 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms221910733>.

510 RAMOS, Daniela Fernandes; HALICKI, Priscila Cristina Bartolomeu; CAPRARA, Carolina
 511 da Silva Canielles; BORGES, Pedro; M.D'OCA, Caroline da R.; SANTOS, Maria de Fátima
 512 C.; D'OCA, Marcelo G. M.; ROSELET, Fabio; SILVA, Pedro Eduardo Almeida da; ABREU,
 513 Paulo Cesar. Chemical Profile and Antimicrobial Activity of the Marine Diatom *Chaetoceros*
 514 *muelleri*. **Chemistry & Biodiversity**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 1-10, 25 mar. 2022. Wiley.
 515 <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.202100846>.

516 REBOUÇAS, Deborah; SOUSA, Yuri de; BAGARD, Matthieu; COSTA, Jose; JOLIVET,
 517 Yves; MELO, Dirce de; REPELLIN, Anne. Combined Effects of Ozone and Drought on the
 518 Physiology and Membrane Lipids of Two Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)
 519 Cultivars. **Plants**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 14, 3 mar. 2017. MDPI AG.
 520 <http://dx.doi.org/10.3390/plants6010014>.

521 ROBLES-ZEPEDA, Ramón Enrique; CORONADO-ACEVES, Enrique Wenceslao;
 522 VELÁZQUEZ-CONTRERAS, Carlos Arturo; RUIZ-BUSTOS, Eduardo; NAVARRO-
 523 NAVARRO, Moisés; GARIBAY-ESCOBAR, Adriana. In vitro anti-mycobacterial activity of
 524 nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. **Bmc Complementary And**
 525 **Alternative Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-6, 25 nov. 2013. Springer Science and Business
 526 Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-13-329>.

527 RUGAIE, Osamah Al; MOHAMMED, Hamdoon A.; ALSAMANI, Salman; MESSAOUDI,
 528 Sabri; AROUA, Lotfi M.; KHAN, Riaz A.; ALMAHMOUD, Suliman A.; ALTALEB,
 529 Abdulrahman D.; ALSHARIDAH, Mansour; ALDUBAIB, Musaad. Antimicrobial,
 530 Antibiofilm, and Antioxidant Potentials of Four Halophytic Plants, *Euphorbia chamaesyce*,
 531 *Bassia arabica*, *Fagonia mollis*, and *Haloxylon salicornicum*, Growing in Qassim Region of
 532 Saudi Arabia: phytochemical profile and in vitro and in silico bioactivity
 533 investigations. **Antibiotics**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 501, 2 mar. 2023. MDPI AG.
 534 <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics12030501>.

SAIKIA, Surovi; BORDOLOI, Manobjyoti. Molecular Docking: challenges, advances and its use in drug discovery perspective. **Current Drug Targets**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 501-521, 5 mar. 2019. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389450119666181022153016>.

SALEM, Mohamed Z.M.; ALI, Hayssam M.; EL-SHANHOREY, Nader A.. Identification of Fatty Acids from Schinus terebinthifolius Raddi Leaves using Standard Fatty Acids with C2 - C25. **Journal Of Pure And Applied Microbiology**, Alexandria, v. 8, n. 1, p. 209-2014, maio 2014.

SAVALAS, Lalu Rudyat Telly; LESTARI, Asih; MUNIRAH, Munirah; FARIDA, Suryawati; SUHENDRA, Dedy; ASNAWATI, Dina; 'ARDHUHA, Jannatin; NINGSIH, Baiq Sari; SYAHRI, Jufrizal. Cis-2 and trans-2-eicosenoic Fatty Acids Inhibit Mycobacterium tuberculosis Virulence Factor Protein Tyrosine Phosphatase B. **Journal Of The Turkish Chemical Society Section A: Chemistry**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 873-882, 31 ago. 2021. The Turkish Chemical Society. <http://dx.doi.org/10.18596/jotcsa.896489>.

SCHEID, Taina; MORAES, Maira Silmara; HENRIQUES, Thiago Pereira; RIFFEL, Ana Paula Konzen; BELLÓ-KLEIN, Adriane; VON POSER, Gilsane Lino; ETHUR, Eduardo Miranda; PARTATA, Wania Aparecida. Effects of Methanol Fraction from Leaves of Schinus terebinthifolius Raddi on Nociception and Spinal-Cord Oxidative Biomarkers in Rats with Neuropathic Pain. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2018, p. 1-11, 2018. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/5783412>.

SILVA, Ana Pg; TABERNERO, Lydia. New strategies in fighting TB: targeting mycobacterium tuberculosis-secreted phosphatases mptpa & mptpb. **Future Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 2, n. 8, p. 1325-1337, ago. 2010. Future Science Ltd. <http://dx.doi.org/10.4155/fmc.10.214>.

SOMERVILLE C, BROWSE J, JAWORSKI JG, OHLROGGE JB. Lipídios. In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R, editores. **Bioquímica e biologia molecular de plantas**. Rockville: Sociedade Americana de Fisiologistas Vegetais; 2000. pp.

STEPHANIE, Filia; SARAGIH, Mutiara; TAMBUNAN, Usman Sumo Friend. Recent Progress and Challenges for Drug-Resistant Tuberculosis Treatment. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 592, 21 abr. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13050592>

565 TROTT, Oleg; OLSON, Arthur J.. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of
 566 docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal Of**
 567 **Computational Chemistry**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 455-461, 4 jun. 2009. Wiley.
 568 <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.21334>.

569 UPCHURCH, Robert G.. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response
 570 of plants to stress. **Biotechnology Letters**, [S.L.], v. 30, n. 6, p. 967-977, 29 jan. 2008. Springer
 571 Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-008-9639-z>.

572 VASCONCELOS, Priscilla Guimarães Silva; ALVES, Érika Ponchet; MAIA, Carolina
 573 Medeiros de Almeida; BRITO, Arella Cristina Muniz; SILVA, Diego Romário; FREIRES, Irlan
 574 Almeida; CAVALCANTI, Yuri Wanderley; REHDER, Vera Lucia Garcia; RUIZ, Ana Lúcia
 575 Tasca Gois; DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Biological properties of Schinus terebinthifolia
 576 Raddi essential oil. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 58, p. 1-14,
 577 2022. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902021000x2e20417>.

578 VINTONYAK, Viktor V.; WALDMANN, Herbert; RAUH, Daniel. Using small molecules to
 579 target protein phosphatases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 19, n. 7, p. 2145-
 580 2155, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.02.047>.

581 WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO global lists of high burden countries for
 582 tuberculosis (TB), TB/HIV and multidrug/rifampicin-resistant TB (MDR/RR-TB), 2021-
 583 2025: background document. [s.l.] **World Health Organization**, 2021.

584 WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global tuberculosis report 2023*. Geneva: **World**
 585 **Health Organization**, 2023. Disponível em:
 586 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240069119>. Acesso em: 10 jan. 2023.

587 YOON, Bo Kyeong; JACKMAN, Joshua A.; KIM, Min Chul; CHO, Nam-Joon. Spectrum of
 588 Membrane Morphological Responses to Antibacterial Fatty Acids and Related
 589 Surfactants. **Langmuir**, [S.L.], v. 31, n. 37, p. 10223-10232, 8 set. 2015. American Chemical
 590 Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02088>.

591 ZHENG, Chang Ji; YOO, Jung-Sung; LEE, Tae-Gyu; CHO, Hee-Young; KIM, Young-Ho;
 592 KIM, Won-Gon. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty
 593 acids. **Febs Letters**, [S.L.], v. 579, n. 23, p. 5157-5162, 26 ago. 2005. Wiley.
 594 <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2005.08.028>.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados exibidos nesta dissertação, foi possível discutir e identificar os Produtos Naturais Costeiros como fonte promissora de compostos antimicrobianos frente a *M. tuberculosis*. Este trabalho trouxe a apresentação dos Produtos Naturais Costeiros e Marinhos como possíveis candidatos a fármacos antituberculose, abordando lacunas da pesquisa e tendências mundiais das publicações da área, até a avaliação desses compostos presentes em uma espécie nativa do Brasil coletada em um ambiente costeiro de parâmetros ambientais únicos.

A investigação de potenciais produtos naturais costeiros para o tratamento da tuberculose, relatado aqui, tem mostrado resultados encorajadores. No entanto, há uma grande variedade de espécies e produtos naturais ainda desconhecidas. Um fator crucial a ser considerado é a escassez de informações sobre o ambiente de origem do produto natural nos estudos publicados. Como aqui discutido, o ambiente de desenvolvimento das espécies desempenha um papel fundamental na formação do perfil de seus metabólitos secundários.

Assim como o Núcleo de Desenvolvimento de Novos Fármacos da Universidade Federal do Rio Grande, outros grupos de pesquisa pelo mundo têm se dedicado a aprimorar pesquisas de novos candidatos a fármacos em espécies oriundas de ecossistemas costeiros. Países como o Brasil, onde se sabe da rica variedade de espécies costeiras, podem apresentar parâmetros que favorecem a produção de compostos bioativos únicos, como relatado na aroeira-mansa.

Além disso, a pesquisa de produtos naturais costeiros acompanha os avanços tecnológicos em pesquisa de avaliação antimicobacteriana, propondo ensaios e novas aplicações, como foi visto nos estudos de interação com a proteína MPTPB. Assim, espera-se que esta pesquisa fomente estudos de produtos naturais espécies em ambientes ainda inexplorados, como fonte promissora de candidatos a fármacos no combate a tuberculose.