



COMPOSTOS SINTÉTICOS INIBIDORES DA α -HEMOLISINA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Arthur van Lauter Albuquerque Pereira¹, Karla Crystina Costa dos Santos¹, Maria Emanuelle de Oliveira Queirós¹, Diego Santa Clara Marques¹, Maria do Carmo Alves de Lima¹, Iranildo José da Cruz Filho¹

¹Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil (arthur.vanlauter@ufpe.br)

Resumo: A resistência antimicrobiana tem sido uma problemática emergente nos últimos anos, com destaque para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), cepa multirresistente presente em ambientes hospitalares. A cepa MRSA apresenta diversos fatores de virulência como toxinas e enzimas capazes de favorecer a disseminação bacteriana nos tecidos e a lise celular do hospedeiro durante o processo infeccioso. Dentre as toxinas produzidas, a de maior destaque é a α -hemolisina, um monômero solúvel em água de 33 kDa que forma um pré-poro ao oligomerizar em um homoheptâmero de 232 kDa, que forma um poro na membrana uma grande variedade de células hospedeiras, especialmente eritrócitos, levando à eventual lise da membrana e morte celular. Por essa razão o desenvolvimento de compostos sintéticos capazes de inibir o poro formado por essa toxina é válido. Desse modo, esta revisão integrativa objetivou buscar na literatura estudos com compostos sintéticos que apresentaram inibição do poro da α -hemolisina. Foi realizada uma busca nas bases de dados: PubMed, Google acadêmico ScienceDirect e Scopus, elencando dados nos últimos 10 anos. A amostra final desta revisão foi constituída por 5 artigos científicos, selecionados pelos critérios de inclusão previamente estabelecidos. Destes, 2 foram encontrados na base de dados PubMed, um no google acadêmico, um no Scopus e um no ScienceDirect. O efeito dos compostos 1,3-Bis-(2-hidroxi-fenil)-propenona (O-OH), 3-(3-hidroxi-fenil)-1-(2-hidroxi-fenil)-propenona (M-OH) e 3-(4-hidroxi-fenil)-1-(2-hidroxi-fenil)-propenona (P-OH) na inibição de α -hemolisina em isolados clínicos obtiveram inibição pelos valores de CIM média $\pm$ DP: O-OH (CIM = $37,5 \pm 13,2$ μ g/ml) > M-OH (CIM = $97,5 \pm 27,5$ μ g/ml) > P-OH (CIM = $110,8 \pm 21,1$ μ g/ml). No caso do complexo de cobre (II) isatina-base de shiff com perclorato [Cu(isapn)](ClO₄)₂ ou sulfonato [Cu(isapn)](SO₄)₂ em ensaios de hemólise e experimentos de canal único apresentaram T50% de 0,80 μ g/ml e 1,5 μ g/ml respectivamente, prolongando o efeito citoprotetor por 45min. Para os derivados de indolo[3,2-b] quinolinas como potenciais inibidores da α -hemolisina e ALH o composto 4 apresentou melhor resultado, com redução da atividade da toxina na concentração de 1 μ g/mL, maior que o controle de baicalina onde os compostos de 1 e 2 apresentaram uma melhor atividade na concentração de 25 μ g/mL para a α -hemolisina e para a ALH. No caso do 14-O-[(4,6-Diaminopirimidina-2-il)tioacetil]mutilina (DPTM), para avaliação da atividade inibitória contra a α -hemolisina apresentou uma relação dose-dependente, destacando-se as concentrações 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16 da CIM de DPTM em comparação com o grupo controle, com taxas de 97,2%, 96,4%, 73,9% e 31,5%. Por fim as quinoxalinedionas (QDS) como inibidores potentes da α -hemolisina de modo que QDS H831 e H052 demonstraram eficácia impedindo o influxo de cálcio em monócitos CD14+ com EC50 de 30 nM e 90 nM, e com valores de 110 nM e 830 nM respectivamente em células endoteliais pulmonares. Portanto, de acordo com os dados levantados conclui-se que os compostos sintéticos são agentes importantes na busca de novas estratégias terapêuticas para a inibição da α -hemolisina.

Palavras-chave: α -hemolisina, MRSA, compostos sintéticos, inibição



INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um aumento significativo de microrganismos resistentes a medicamentos de modo superior ao desenvolvimento de novos medicamentos antimicrobianos. Esse fenômeno, chamado de resistência antimicrobiana (RAM), levou a um aumento na taxa de mortalidade e custos com saúde, sendo frequentemente atrelado ao uso inadequado de antibióticos que causam uma certa pressão seletiva nos organismos (HALAPPANAVAR *et al.*, 2025). Como resultado desse quadro há uma previsão que, até 2050, a taxa de mortalidade por infecções causadas por bactérias resistentes a antibióticos aumentará, excedendo potencialmente o número de mortes relacionadas ao câncer, tendo como um dos principais patógenos *Staphylococcus aureus*, principalmente em sua forma mais resistente (LIU *et al.*, 2024).

Staphylococcus aureus é um patógeno gram-positivo da família *Staphylococcaceae* com o formato esférico de 1 μm de diâmetro que se aglomera em forma de cachos capaz de colonizar cerca de 30% da população de forma assintomática, mas também é gera infecções que variam de infecções leves de pele e tecidos moles a infecções invasivas (TAM; TORRES, 2019). Desde a década de 60, a cepa *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) foi clinicamente identificada e com o passar do tempo se tornou responsável por pelo menos 25 a 50% das infecções dessa espécie em ambientes hospitalares devido à alta morbidade e mortalidade, bem como à sua resistência a todas as penicilinas outros medicamentos lactâmicos, com exceção da ceftarolina e ceftobiprole (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

A cepa MRSA expressa múltiplas toxinas e enzimas extracelulares que facilitam a disseminação tecidual e a lise celular do hospedeiro durante o curso da infecção. Um grupo importante é o das toxinas formadoras de poros em barril β , incluindo a α -

hemolisina (Hla) (JIANG *et al.*, 2023). A Hla é secretada como um monômero solúvel em água de 33 kDa que forma um pré-poro ao oligomerizar em um homoheptâmero de 232 kDa, que forma um poro na membrana uma grande variedade de células hospedeiras, como células epiteliais, células endoteliais, eritrócitos, monócitos e queratinócitos (AHMAD-MANSOUR *et al.*, 2021; SHEKHAR *et al.*, 2025). O heptâmero da Hla assemelha-se a um cogumelo e possui três domínios principais: um domínio de capa extracelular, um domínio de haste que forma o poro do barril β e um domínio de borda que confere especificidade ao receptor (TAM; TORRES, 2019).

O principal receptor proteico da Hla é o ADAM10, o que perturba a função de barreira tecidual, a diferenciação celular e o controle da ativação celular regulados por este receptor. Com a formação do poro, há a restrição de passagem de macromoléculas na região, permitindo o rápido efluxo de íons K^+ e ATP pela membrana ao mesmo tempo que ocorre o influxo extracelular de Ca^{2+} (SHAHID; RAFIQ, 2021). A principal consequência do aumento da concentração de Ca^{2+} é responsável pela ativação de reações celulares deletérias como a hidrólise de fosfolipídios da membrana e a liberação de mediadores lipídicos potentes originados da cascata de araquidonato resultando na apoptose das células-alvo do hospedeiro (AHMAD-MANSOUR *et al.*, 2021).

A Hla não é apenas letal, mas também pode modular outras respostas celulares como a liberação de óxido nítrico de células endoteliais e epiteliais, a produção de citocinas pró-inflamatórias e a piroptose de monócitos (TAM; TORRES, 2019). Além disso, a interação da Hla com o ADAM10 é capaz de ativar sua ação enzimática desfosforila a proteína de junção E-caderina, principalmente nas células epiteliais, rompendo a barreira epitelial de tecido entre as células



adjacentes ligando-as à membrana basal e resultando em lesão (SHAHID; RAFIQ, 2021).

Por conta dessa problemática emergente com a resistência da cepa MRSA, a prospecção de novos compostos sintéticos com ação antimicrobiana tem se mostrado uma alternativa viável (Guo *et al.*, 2023; Haraguchi *et al.*, 2024). Dentre os alvos possíveis, levando em consideração os efeitos danosos e riscos à saúde causados pela α -hemolisina, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas tendo essa toxina como alvo tem sido desenvolvida através da elaboração de novos compostos sintéticos capazes de reduzir os efeitos deletérios mediante o bloqueio do poro, auxiliando no fator citoprotetor das células do organismo.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo trata-se de uma revisão integrativa, mediante busca nas bases de dados: PubMed, Google acadêmico ScienceDirect e Scopus. Foram utilizados os descritores na língua inglesa: alpha hemolysin inhibition synthetic compounds; alpha hemolysin inhibition; alpha hemolysin inhibition compounds. Os critérios de inclusão definidos para a seleção dos artigos foram: artigos publicados em português, inglês e espanhol; artigos na íntegra que retratassem a temática referente à correlação da inibição da α -hemolisina por compostos sintéticos e artigos publicados bancos de dados nos últimos 10 anos. A amostra final desta revisão foi constituída por 5 artigos científicos, selecionados pelos critérios de inclusão previamente estabelecidos. Destes, 2 foram encontrados na base de dados PubMed, um no google acadêmico, um no Scopus e um no ScienceDirect. As metodologias utilizadas no trabalho para atingir os objetivos propostos deverão ser explicadas sucintamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo feito por BOŽLČ *et al.* (2015), o objetivo foi investigar o efeito de 1,3-Bis-(2-hidroxi-fenil)-propenona (O-OH), 3-(3-hidroxi-fenil)-1-(2-hidroxi-fenil)-propenona (M-OH) e 3-(4-hidroxi-fenil)-1-(2-hidroxi-fenil)-propenona (P-OH) na inibição de α -hemolisina em isolados clínicos de cepas multirresistentes e geneticamente diversas de MRSA. Desse modo, as chalconas testadas exerceram atividade inibitória contra MRSA, com a seguinte ordem de potência (CIM média $\pm$ DP): O-OH (CIM = $37,5 \pm 13,2$ $\mu\text{g/ml}$) > M-OH (CIM = $97,5 \pm 27,5$ $\mu\text{g/ml}$) > P-OH (CIM = $110,8 \pm 21,1$ $\mu\text{g/ml}$). A inibição dose-dependente mais significativa da hemólise foi observada em sobrenadantes de MRSA cultivados com chalcona O-OH.

No caso do estudo realizado por Melo *et al.* (2015), foram testados dois sais diferentes de um complexo de cobre (II) isatina-base de shiff com perclorato [Cu(isapn)](ClO₄)₂ ou sulfonato [Cu(isapn)](SO₄)₂ em ensaios de hemólise e experimentos de canal único em membranas artificiais. Desse modo, ambos complexos inibiram a hemólise provocada pela enzima de forma dose-dependente, com T50% de 0,80 $\mu\text{g/ml}$ para [Cu(isapn)](ClO₄)₂ e 1,5 $\mu\text{g/ml}$ para [Cu(isapn)](SO₄)₂, prolongando o efeito citoprotetor por 45min. No que se refere aos experimentos de canal único, o [Cu(isapn)](ClO₄)₂ induziu um rápido bloqueio do poro, impedindo a passagem de 60% da corrente alternada.

Para Takahashi *et al.* (2016), um estudo foi realizado com o intuito de examinar os efeitos dos derivados de indolo[3,2-b] quinolinas como potenciais inibidores da α -hemolisina do *S. aureus* e da aerolisina similar à hemolisina (ALH) sintetizada pelo gênero *Aeromonas* sp. representado pelas espécies *A. hydrophila* e *A. sobria*. Os testes do efeito inibitório foram realizados nas concentrações de 1, 2, 5 e 25 $\mu\text{g/mL}$ com as duas



toxinas. Para a α -hemolisina, o composto 4 apresentou melhor resultado, com redução da atividade da toxina na concentração de 1 $\mu\text{g/mL}$, maior que o controle de baicalina. Os compostos de 1 a 3 apresentaram uma melhor atividade na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$. Para a ALH, os compostos 1 e 2 também foram mais efetivos à concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$.

Para o estudo realizado por FU *et al.* (2021), foi sintetizado e testado um novo derivado da pleuromutilina com uma fração pirimidina intitulado 14-O-[(4,6-Diaminopirimidina-2-il)tioacetil]mutilina (DPTM), no que se refere à sua atividade inibitória contra a Hla e o efeito protetor em células Raw264.7 contra lesões induzidas pela cepa MRSA. De acordo com as análises da concentração inibitória mínima (CIM), as concentrações subinibitórias de DPTM apresentaram atividade notável na proteção de eritrócitos de coelhos contra a hemólise causada por Hla, com uma relação dose-dependente, destacando-se as concentrações 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16 da CIM de DPTM em comparação com o grupo controle, inibindo a hemólise de Hla nas células, com taxas de 97,2%, 96,4%, 73,9% e 31,5%, respectivamente.

Por fim, Shekhar *et al.* (2025) identificou em seu estudo que as quinoxalinedionas (QDS) podem atuar como inibidores potentes da α -hemolisina de *Staphylococcus aureus*, oferecendo proteção contra a patogenicidade associada a essa toxina principalmente contra pneumonia hospitalar. Os QDS H831 e H052 demonstraram eficácia tanto in vitro quanto in vivo, sendo capazes de impedir o influxo de cálcio em monócitos CD14+ com EC50 de 30 nM e 90 nM, respectivamente. Para células endoteliais pulmonares, as EC50 foram de 110 nM e 830 nM. Para os modelos in vivo, o tratamento com H052 (60 mg/kg) melhorou a taxa de sobrevivência em camundongos infectados com redução da carga bacteriana nos pulmões de 9,5 CFU/g para 6,48 CFU/g após tratamento.

CONCLUSÃO

Portanto, de acordo com os dados levantados é válido ressaltar que os compostos sintéticos são agentes importantes na busca de novas estratégias terapêuticas para a inibição da α -hemolisina por apresentarem bons resultados in vitro e in vivo, mostrando-se útil no desenvolvimento de agentes antimicrobianos promissores.

AGRADECIMENTOS

Queremos agradecer à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

REFERÊNCIAS

- AHMAD-MANSOUR, Nour; LOUBET, Paul; POUGET, Cassandra; DUNYACH-REMY, Catherine; SOTTO, Albert; LAVIGNE, Jean-Philippe; MOLLE, Virginie. *Staphylococcus aureus* Toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. **Toxins**, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 677-699, 23 set. 2021.
- FU, Yunxing; YANG, Zhen; ZHANG, Hongjuan; LIU, Yu; HAO, Baocheng; SHANG, Ruofeng. 14-O-[(4,6-Diamino-pyrimidine-2-yl) thioacetyl] mutilin inhibits α -hemolysin and protects Raw264.7 cells from injury induced by methicillin-resistant *S. aureus*. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 161, p. 105229-105236, dez. 2021.
- GUO, Jiaojiao; XIE, Zhouling; RUAN, Wei; TANG, Qidong; QIAO, Dan; ZHU, Wufu. Thiazole-based analogues as potential antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and their SAR elucidation. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, [S.L.], v. 259, n. 1, p. 1-21, nov. 2023.



- HALAPPANAVAR, Vishwanath; TELI, Sangappa; SANNAKKI, Hanamant B.; TELI, Dharyappa. Quinazoline scaffold as a target for combating microbial resistance: synthesis and antimicrobial profiling of quinazoline derivatives. **Results In Chemistry**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 101955-101974, jan. 2025.
- HARAGUCHI, Tamami; HAYASHI, Saki; NAKASAKA, Seira; HATANAKA, Yoshiro; NAGAO, Toshihiro; TANAKA, Shigemitsu; YOSHII, Miki; HARA, Fumiko; HAGIMORI, Masayori; YOSHIDA, Miyako. Antimicrobial Activity of 2-(Piperazin-1-yl)naphtho[2,3-d]thiazole-4,9-dione against Staphylococcus Strains. **Molecules**, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 1277-1289, 13 mar. 2024.
- JIANG, Jih-Hang; CAMERON, David R.; NETHERCOTT, Cara; AIRES-DE-SOUSA, Marta; PELEG, Anton Y.. Virulence attributes of successful methicillin-resistant Staphylococcus aureus lineages. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 1-52, 20 dez. 2023.
- LAKHUNDI, Sahreena; ZHANG, Kunyan. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: molecular characterization, evolution, and epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 1-103, out. 2018.
- LIU, Chang; HOU, Juan; REN, Xinran; GUO, Xuerui; WANG, Bingmei; SONG, Wu; WANG, Li; WANG, Guangshu. Norwogonin aids in fighting MRSA-induced pneumonia by targeting agrAC to inhibit α -hemolysin production. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 40, n. 9, p. 1-13, 11 jul. 2024.
- MELO, Maria C. A.; TEIXEIRA, Luciana R.; POL-FACHIN, Laercio; RODRIGUES, Claudio G.. Inhibition of the hemolytic activity caused by Staphylococcus aureus α -hemolysin through isatin-Schiff copper(II) complexes. **Fems Microbiology Letters**, [S.L.], v. 363, n. 1, p. 1-10, 29 out. 2015.
- TAM, Kayan; TORRES, Victor J.. Staphylococcus aureus Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiology Spectrum**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 1-34, 12 abr. 2019.
- VON HOVEN, Gisela; QIN, Qianqian; NEUKIRCH, Claudia; HUSMANN, Matthias; HELLMANN, Nadja. Staphylococcus aureus α -toxin: small pore, large consequences. **Biological Chemistry**, [S.L.], v. 400, n. 10, p. 1261-1276, 4 abr. 2019.
- SHAHID, Adnan; RAFIQ, Afsheen. Effects of Staphylococcus aureus hemolysin toxins on blood cells and association with skin and soft tissue infections. **Abasyn Journal Life Sciences**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 152-160, 11 set. 2021.
- SHEKHAR, Aditya; LUCREZIA, Raffaella di; JERYE, Karoline; KOROTKOV, Vadim S.; HARMROLFS, Kirsten; ROX, Katharina; WEICH, Herbert A.; GHAI, Ishan; DELHOMMEL, Florent; BECHER, Isabelle. Highly potent quinoxalinediones inhibit α -hemolysin and ameliorate Staphylococcus aureus lung infections. **Cell Host & Microbe**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 560-572, abr. 2025.