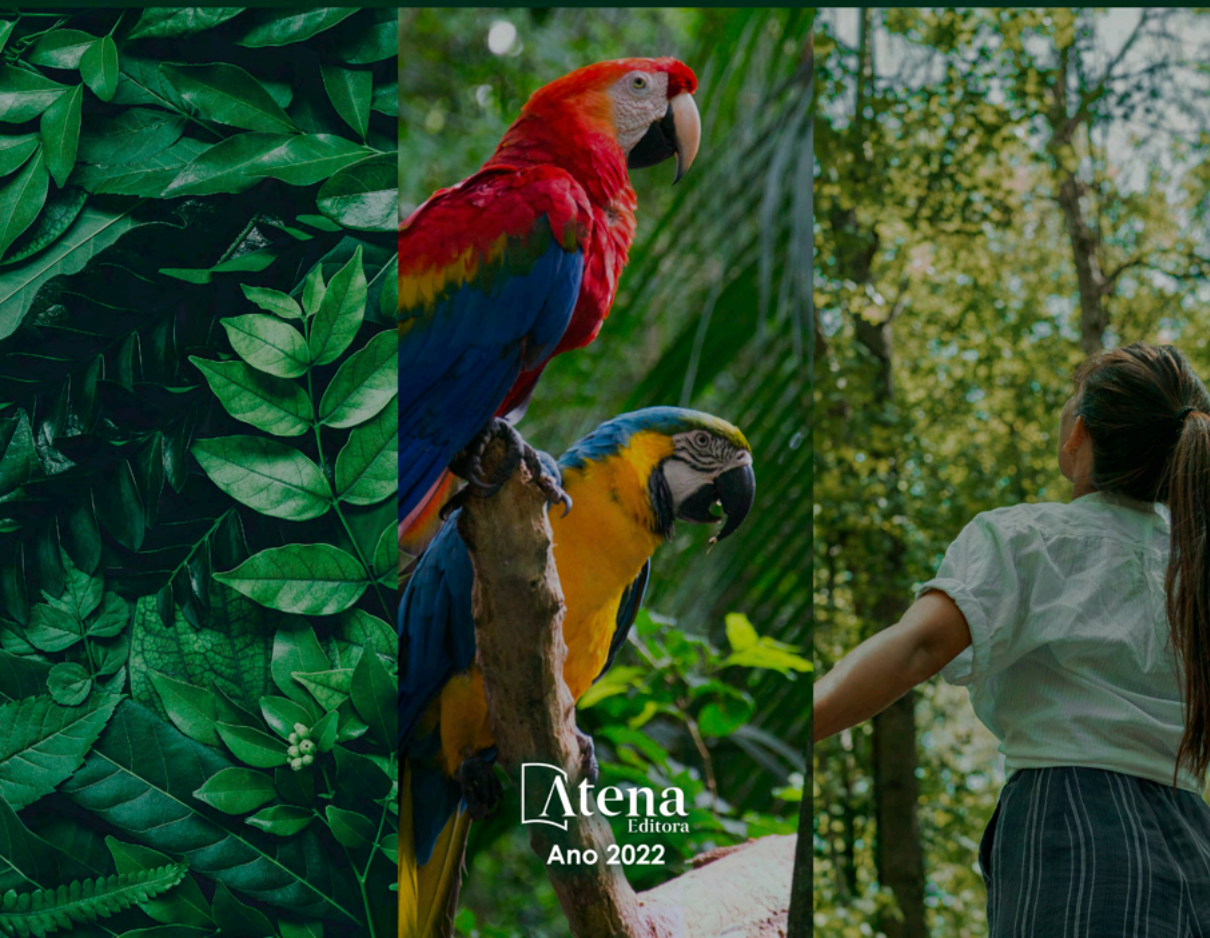


Clécio Danilo Dias da Silva Danyelle Andrade Mota
(Organizadores)

Ciências da vida:

Estudo das plantas, animais e seres humanos



Atena
Editora
Ano 2022

Clécio Danilo Dias da Silva Danyelle Andrade Mota
(Organizadores)

Ciências da vida:

Estudo das plantas, animais e seres humanos



Atena
Editora
Ano 2022

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Biológicas e da Saúde**

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás



Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
Prof^o Dr^a Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Prof^o Dr^a Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^o Dr^a Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Prof^o Dr^a Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^o Dr^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^o Dr^a Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^o Dr^a Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Prof^o Dr^a Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Prof^o Dr^a Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^o Dr^a Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Prof^o Dr^a Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Prof^o Dr^a Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^o Dr^a Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
Prof^o Dr^a Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Prof^o Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^o Dr^a Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Prof^o Dr^a Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^o Dr^a Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará
Prof^o Dr^a Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense
Prof^o Dr^a Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Prof^o Dr^a Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^o Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^o Dr^a Welma Emídio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco



Ciências da vida: estudo das plantas, animais e seres humanos

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Yaidy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Clécio Danilo Dias da Silva
Danyelle Andrade Mota

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569 Ciências da vida: estudo das plantas, animais e seres humanos / Organizadores Clécio Danilo Dias da Silva, Danyelle Andrade Mota. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-847-9

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.479221301>

1. Biología. 2. Ciências da vida. I. Silva, Clécio Danilo Dias da (Organizador). II. Mota, Danyelle Andrade (Organizadora). III. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br



Atena
Editora
Ano 2022

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



APRESENTAÇÃO

O segmento Ciências da Vida passa por constantes transformações, sendo responsável por avanços tecnológicos que afetam a vida de milhares de pessoas pelo mundo. Esse campo da Ciência é interdisciplinar e envolve o estudo de organismos vivos como plantas, animais e seres humanos. Sendo que, um dos objetivos desta área é a busca pelo desenvolvimento tecnológico e formação de um cidadão crítico, com posicionamentos científicos que possibilitem práticas dinâmicas e mais significativas.

Neste contexto, o papel das Ciências da Vida é o de colaborar para a compreensão do mundo e suas transformações, situando o homem como indivíduo participativo e parte integrante do Universo. Os conceitos e procedimentos desta área contribuem para a ampliação das explicações sobre os fenômenos da natureza, para o entendimento e o questionamento dos diferentes modos de nela intervir e, ainda, para a compreensão das mais variadas formas de utilizar os recursos naturais.

Nessa perspectiva, o e-book “Ciências da Vida: Estudo das Plantas, Animais e Seres Humanos”, é uma obra composta de treze capítulos com uma série de investigações e contribuições nas diversas áreas de conhecimento que interagem com as Ciências da Vida. Os autores compartilham dados resultantes de pesquisas, formação profissional, relatos de experiências, ensaios teóricos e revisões da literatura de diversas áreas relacionadas às Ciências da Vida. É importante destacar sua integração com a saúde humana.

Agradecemos aos autores pelas contribuições que tornaram essa edição possível, e juntos, convidamos os leitores para desfrutarem as produções desta obra. Tenham uma ótima leitura!

Clécio Danilo Dias da Silva
Danyelle Andrade Mota

SUMÁRIO


CAPÍTULO 1..... 1

PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS NO TRATAMENTO DA RINITE ALÉRGICA

Anna Livia Campos Torquato

Thais Margarida Silva Santos


Tiberio Cesar Lima de Vasconcelos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213011>

CAPÍTULO 2..... 10

PLANTAS MEDICINAIS DURANTE A GESTAÇÃO: PRÁTICAS E SABERES

Letícia de Araújo Almeida Freitas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213012>


CAPÍTULO 3..... 22

RISCOS NA UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS POR GESTANTES ACOMPANHADAS PELO PROGRAMA SAÚDE DA FAMÍLIA EM SÃO JOAQUIM DO MONTE – PE

Ana Carla da Silva

Thaís Gabrielle Andrade Brandão Silva

Lidyane da Paixão Siqueira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213013>


CAPÍTULO 4..... 33

ANÁLISE DA MUCUNA PRURIENS NO TRATAMENTO DA DISFUNÇÃO ERÉTIL

Maria Rhayssa Silva Bezerra

Gabrielle Maria Silva Sousa

João Paulo Guedes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213014>

CAPÍTULO 5..... 44


ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO UMBUZEIRO (*Spondias tuberosa*)

Angela Ribeiro do Nascimento

Genivaldo José Santos Júnior

Thamyres Samara dos Santos Melo

João Paulo de Mélo Guedes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213015>

CAPÍTULO 6..... 56

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E IMPRESSÃO DIGITAL CROMATOGRÁFICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* PROVENIENTE DA CHAPADA DIAMANTINA-BA

Karen Aline Azevedo de Souza


Lilian Aniceto Gomes

Icaro da Silva Freitas

Samuel Carvalho Silva

Ademar Rocha da Silva


Carine Lopes Calazans
Joseane Damasceno Mota
Morganna Thinesca Almeida Silva
Salvana Priscylla Manso Costa
José Marcos Teixeira de Alencar Filho

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213016>

CAPÍTULO 7..... 69

PERFIL FITOQUÍMICO, TOXICOLÓGICO E FARMACOLÓGICO DE *Platonia insignis* Mart.: UMA REVISÃO INTEGRATIVA


Samyra Lima Ferreira
Sarah Tallya Sousa Vieira
Lyghia Maria Araújo Meirelles

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213017>

CAPÍTULO 8..... 85

PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO DE *Trichoderma harzianum* (5A13) E *Hypocrea lixii* (5A7) ASSOCIADOS À ASCÍDIA *Botrylloides giganteus*


Wanderson Zuza Cosme
Rita Cássia Nascimento Pedroso
Lucas Antônio de Lima Paula
Sabrina Ketrin Targanski
Kátia Aparecida de Siqueira
Marcos Antônio Soares
Marlus Chorilli
Gustavo Muniz Dias
Héctor Henrique Ferreira Koolen
Lizandra Guidi Magalhães Caldas
Marcio Luís Andrade e Silva
Wilson Roberto Cunha
Patrícia Mendonça Pauletti
Ana Helena Januário

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213018>

CAPÍTULO 9..... 105

CRESCIMENTO INICIAL DE TRÊS PROCEDÊNCIAS DE PARICARANA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) MONITORADO EM CERRADO DE BOA VISTA, RORAIMA

Oscar José Smiderle
Jane Maria Franco de Oliveira
Dalton Roberto Schwengber


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4792213019>

CAPÍTULO 10..... 112

ESTUDO ETNOBOTÂNICO DA COMUNIDADE RURAL DA VILA DO RANGEL DE RIACHO DAS ALMAS – PE BRASIL

Karen Millena Da Silva Souza
Mônica Maria Cordeiro de Souza

Lidiany da Paixão Siqueira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47922130110>

CAPÍTULO 11..... 123

COBERTURA DA ATENÇÃO PRIMÁRIA EM UMA REGIÃO DE SAÚDE CEARENSE


Ellayne Maria Chaves Martins

Anna Thaís Martins Cardoso

Luana Cysne Gomes Paiva

Luiz Carlos Costa Madeira Alves

Paulo Leonardo Ponte Marques

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47922130111>

CAPÍTULO 12..... 132


O MAPEAMENTO PSICOSSOCIAL COMO INSTRUMENTO DE INVESTIGAÇÃO-AÇÃO COM GRUPO DE MULHERES NA CIDADE DE FORTALEZA

Vitória Régia Abrantes Lopes

Aline Maria Barbosa Domício Sousa

Ada Raquel Teixeira Mourão

Aurélia Oliveira de Lima

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47922130112>

CAPÍTULO 13..... 144

UTILIZAÇÃO DE MAPA CONCEITUAL NA FIXAÇÃO DO CONHECIMENTO: RELATO DE EXPERIÊNCIA

Charlyane Diógenes Brito

Ítalo Rigoberto Cavalcante Andrade

Emanuel Alves do Nascimento

Daiany Dântara de Sousa Barbosa

Gisele Martins Goes Bezerra

Larissa Bandeira Chaves

Karla Priscylla Feitosa Paiva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47922130113>

SOBRE OS ORGANIZADORES 149

ÍNDICE REMISSIVO..... 150

CAPÍTULO 8

PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO DE *Trichoderma harzianum* (5A13) E *Hypocrea lixii* (5A7) ASSOCIADOS À ASCÍDIA *Botrylloides giganteus*

Data de aceite: 10/01/2022

Wanderson Zuza Cosme

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-0081-367X>

Rita Cássia Nascimento Pedroso

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-7169-7720>

Lucas Antônio de Lima Paula

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-8990-3166>

Sabrina Ketrin Targanski

Departamento de Botânica e Ecologia,
Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT)
Cuiabá, MT, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-2348-3768>

Kátia Aparecida de Siqueira

Departamento de Botânica e Ecologia,
Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT)
Cuiabá, MT, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-4765-0487>

Marcos Antônio Soares

Departamento de Botânica e Ecologia,
Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT)
Cuiabá, MT, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-8938-3188>

Marlus Chorilli

Departamento de Drogas e Farmacêutica-
Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Araraquara, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-6698-0545>

Gustavo Muniz Dias

Centro de Ciências Naturais e Humanas,
Universidade Federal do ABC (UFABC)
São Bernardo do Campo, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-2180-6399>

Héctor Henrique Ferreira Koolen

Laboratório de Química Bioorgânica, Escola
Superior de Ciências da Saúde, Universidade
do Estado do Amazonas (UEA)
Manaus, AM, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-0181-348X>

Lizandra Guidi Magalhães Caldas

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-2959-6752>

Marcio Luís Andrade e Silva

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-9442-4757>

Wilson Roberto Cunha

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-1952-1944>

RESUMO: Os invertebrados marinhos têm se destacado como uma fonte promissora na busca de novos compostos bioativos de ampla aplicabilidade nos setores farmacêutico, biotecnológico, nutracêutico, cosmético e ambiental. Neste aspecto, as ascídias tem ocupado uma posição relevante na prospecção de compostos farmacologicamente ativos, especialmente por serem capazes de produzir substâncias com grande variedade estrutural. A ascídia *Botrylloides giganteus* é uma espécie exótica de ampla ocorrência no litoral Paulista no Brasil, cuja microbiota e bioatividade têm sido pouco investigadas. Neste trabalho os extratos metanólicos livres e nanoencapsulados das linhagens fúngicas *Trichoderma harzianum* (5A13) e *Hypocrea lixii* (5A7), associadas à ascídia *B. giganteus* foram avaliados quanto a sua toxicidade *in vivo* nos modelos alternativos *Galleria mellonella* e *Caenorhabditis elegans* e seu potencial antiparasitário *in vitro* (esquistossomicida). Os extratos foram testados na forma livre e incorporados em sistemas lipídicos nanoestruturados (SLN) e poliméricos (SP). Em 24 horas de incubação, o extrato metanólico de *H. lixii* (5A7) incorporando em SLN, reduziu a atividade motora dos vermes adultos de *Schistosoma mansoni* em 67% na concentração de 100 µg/mL e matou 100% dos vermes na concentração de 200 µg/mL. Por sua vez, a fração 100% metanol de *T. harzianum* (5A13) na concentração de 200 µg/mL inibiu a viabilidade dos vermes em 89% e 94% após 24 e 72 horas, respectivamente. Os extratos e frações avaliados não foram tóxicos nos dois modelos animais alternativos avaliados. A análise por HPLC-MS/MS, MS² e *molecular networking* direcionou a anotação das substâncias, 6-*n*-pentenil- α -pirona (5A13-1) e 3,4-difenilfuranona (5A13-2) na fração 5A13-100% MeOH, como também a anotação do ácido harziânico (5A7-3), da trichoharzina (5A7-2) e do dipeptídeo trichodermamida (5A7-1) na fração 5A7-100% MeOH, sendo este último composto também presente na fração 5A7-70% MeOH.

PALAVRAS-CHAVE: Ascidiacea, *Caenorhabditis elegans*, *Galleria mellonella*, *Molecular networking*, *Schistosoma mansoni*.

CHEMICAL PROFILE AND ANTIPARASITIC POTENTIAL OF *Trichoderma harzianum* (5A13) AND *Hypocrea lixii* (5A7) ASSOCIATED WITH THE ASCIDIAN *Botrylloides giganteus*

ABSTRACT: Marine invertebrates have stood out as promising sources of new bioactive compounds with wide applicability in the pharmaceutical, biotechnology, nutraceutical,

cosmetic, and environmental sectors. In this sense, ascidians have occupied a relevant position in the prospection of pharmacologically active compounds, especially due to their ability to produce compounds with varied structures. *Botrylloides giganteus* is an exotic ascidian species that widely occurs on the coast of São Paulo State, Brazil, whose microbiota and bioactivity have been poorly investigated. This study prepared methanol extracts from the fungi strains *Trichoderma harzianum* (5A13) and *Hypocrea lixii* (5A7) associated with *B. giganteus*, and examined their *in vivo* toxicity in the alternative models *Galleria mellonella* and *Caenorhabditis elegans* and *in vitro* antiparasitic potential (schistosomicidal). The extracts were tested in the free form and incorporated into nanostructured lipidic (SLN) and polymeric carriers (SP). The 24-hour of incubation with *H. lixii* (5A7) extract nanoencapsulated into lipidic carrier SLN reduced the motor activity of *Schistosoma mansoni* adult worms by 67% at 100 µg/mL, and killed 100% of them at 200 µg/mL. On the other hand, the *T. harzianum* (5A13) 100% methanol fraction at 200 µg/mL inhibited the viability of worms by 89% and 94% after 24 and 72 hours, respectively. The extracts and fractions were not toxic to *G. mellonella* and *C. elegans*. HPLC-MS/MS, MS², and molecular network analyses guided identification of 6-*n*-pentenyl- α -pyrone (5A13-1) and 3,4-diphenylfuranone (5A13-2) in the *T. harzianum* (5A13) 100% methanol fraction, and harzianic acid (5A7-3), trichoharzine (5A7-2), and trichodermamide dipeptide (5A7-1) in the *H. lixii* (5A7) 100% methanol fraction; the last compound was also identified in the *H. lixii* (5A7) 70% methanol fraction.

KEYWORDS: Ascidiacea, *Caenorhabditis elegans*, *Galleria mellonella*, Molecular networking, *Schistosoma mansoni*.

1 | INTRODUÇÃO

Aproximadamente 70% da superfície terrestre é coberta por mares e oceanos e seus diferentes *habitats*. O ecossistema marinho tem sido considerado um recurso único e uma das biosferas mais complexas da Terra devido aos seus enormes intervalos de luz (escuridão completa em contraste ao brilho extenso), temperatura oscilando entre -2 °C a 300 °C, variação de pressão (1 a mais de 1000 atmosferas), níveis de salinidade e condições de nutrientes (escassez ou excesso). Tais circunstâncias permitem a existência de numerosas espécies capazes de produzir metabólitos especializados extremamente diversos e complexos com uma ampla gama de atividades biológicas (LIU *et al.*, 2017). A biodiversidade marinha é unanimemente reconhecida como uma fonte ainda inexplorada de recursos biológicos, importantes para diversos ramos da biotecnologia incluindo a indústria farmacêutica, cosmética e nutracêutica. Esforços cada vez maiores estão sendo realizados visando a obtenção de novos materiais, enzimas e compostos químicos de origem biológica de fonte marinha (LEAL *et al.*, 2020).

As ascídias são uma classe de animais marinhos produtores de inúmeros compostos bioativos, vários metabólitos com ação anticâncer provenientes destes invertebrados marinhos se encontram em fase clínica (DOU & DONG 2019). Além disso, estes invertebrados sésseis se nutrem de matérias orgânicas, fornecendo nichos únicos e férteis que abrigam vários microrganismos, como bactérias, cianobactérias, actinobactérias e

fungos. Diversos produtos naturais, incluindo alcalóides, peptídeos cíclicos e policetídeos, foram isolados deles, os quais apresentam diversas propriedades, como atividades antibacteriana, antifúngica, antitumoral e anti-inflamatória (CHEN *et al.*, 2018). Por sua vez, os microrganismos associados às ascídias também representam uma fonte potencial de produtos naturais. Fortes evidências mostram que cerca de 8% dos produtos naturais que inicialmente se pensava serem originários das ascídias são, na verdade, produzidos por microrganismos associados a elas (CASERTANO *et al.*, 2020).

Nos últimos anos, um número crescente de microrganismos associados às ascídias incluindo fungos, bactérias, actinobactérias e cianobactérias foram isolados (CHEN *et al.*, 2018, CARROL *et al.*, 2019, CARROL *et al.*, 2020). Atualmente tem-se aproximadamente 5000 substâncias naturais isoladas de microrganismos marinhos, com projeção de chegar a mais de 9000 substâncias em 2024 (CARROL *et al.*, 2020). Muitos metabólitos isolados de microrganismos associados às ascídias atuam como agentes antimicrobianos (incluindo antibióticos, antivirais, antifúngicos e antiprotzoários) e que certamente são ferramentas essenciais para o tratamento de doenças infecciosas (CASERTANO *et al.*, 2020). Portanto, os oceanos são fontes promissoras de substâncias ativas de origem marinha, e no Brasil o Oceano Atlântico, devido a sua grande extensão, constitui um vasto bioma que permanece sem ser completamente investigado (IÓCA *et al.*, 2018).

Neste contexto, as linhagens *T. harzianum* (5A13) e *H. lixii* (5A7) isoladas da ascídia *B. giganteus* foram pesquisadas quanto o seu potencial antiparasitário *in vitro*, em especial esquistossomicida e também tiveram sua toxicidade *in vivo* avaliadas em dois modelos animais alternativos. Portanto, este trabalho traz contribuições que ampliam o conhecimento químico e biológico do bioma marinho brasileiro.

1.1 Espécie Selecionada para Estudo *Trichoderma harzianum* (5A13)

O gênero *Trichoderma* pertence à família *Hypocreaceae*, sendo distribuído em todo o mundo e em *habitats* variados, tanto terrestre como marinho (LI *et al.*, 2019). As espécies de *Trichoderma* são conhecidas por sua capacidade de produzir metabólitos especializados bioativos, incluindo policetídeos, alcalóides, terpenóides e peptaibols. Logo, *Trichoderma* tem-se mostrado uma fonte natural valiosa para produtos naturais estruturalmente novos com diversas bioatividades (KHAN *et al.*, 2020, LI *et al.*, 2019).

Nos últimos anos o interesse nos estudos de *Trichoderma* tem sido ampliado devido a capacidade de espécies de *Trichoderma* atuarem positivamente no controle do crescimento e proliferação de patógenos de plantas, assim, este microrganismo apresenta potencial como agente de biocontrole de pragas e doenças ambientais de forma amigável. Os três principais mecanismos de biocontrole de *Trichoderma* spp, são microparasitismo, antibiose e competição por nutrientes ou espaço entre outros que podem operar de forma independente ou em conjunto para suprimir os patógenos de plantas (MUKHOPADHYAY & KUMAR, 2020, SOOD *et al.*, 2020). No entanto, em 2004, OZBAY & NEWMAN já descreviam

o uso de *T. harzianum* em biocontrole de pragas e mencionam a presença desta espécie em diversos produtos comerciais americanos, suíços e da República Tcheca usados para o controle de patógenos de solo (OZBAY & NEWMAN, 2004).

Quanto a constituição química de *Trichoderma* de ambiente marinho, como exemplo pode-se citar que quatro lipídeos e seus enantiômeros, todos contendo 13 carbonos, denominados harzianumols A–H, foram isolados de *T. harzianum* HMS-15-3, associado à esponja *Petrospongia nigra* (LI *et al.*, 2015). Recentemente, a literatura descreve que a linhagem *T. harzianum* (XS-20090075) derivada de coral produziu os diterpenos ácido harzianólico e harzianona-E, bem como vários sesquiterpenos, dos quais onze já são conhecidos (SHI *et al.*, 2020). Em 2018, o mesmo grupo de pesquisa isolou da mesma cepa, duas novas hidroxiantraquinonas, harzianumnonas A (1) e B (2), juntamente com sete análogos conhecidos (SHI *et al.*, 2018). FANG *et al.*, 2019 relatam o isolamento de três sesquiterpenos do tipo ciclonerano, incluindo o conhecido ciclonerodiol (1), juntamente com seus novos derivados, (10E)-12-acetoxi-10-cicloneren-3,7-diol (2) e 12-acetoxicicloneran-3,7-diol (3), produzidos das culturas do fungo *T. harzianum* P1-4 derivado de sedimentos marinhos.

1.2 Espécie Selecionada para Estudo *Hypocrea lixii* (5A7)

O gênero *Hypocrea* é pouco explorado quanto ao seu potencial biológico e metabólico, existem alguns relatos de estudos do gênero sobre biorremediação, bioissorção e síntese de nanopartículas de cobre II (MARANGONI, 2016). SALVADORI 2013 investigou a biomassa não viável da espécie fúngica *H. lixii*, isolada a partir da água procedente de rejeitos de uma lagoa, verificando assim sua capacidade de absorção de cobre iônico sintetizando nanopartículas de cobre.

Quanto ao aspecto químico, a literatura relata o isolamento do cajanol, oriundo do fungo *H. lixii*, o qual apresentou citotoxicidade em relação à célula A549 (carcinoma de pulmão humano), revelando-se uma promissora alternativa para a produção em larga escala de um medicamento natural anticancerígeno (ZHAO *et al.*, 2013). A literatura relata também uma variedade de metabólitos pertencentes a classes estruturais diferenciadas. Dentre elas podemos citar os peptídeos como a aurocitrina, que apresenta atividade microbiana relevante, bem como a hypelcin-A-II e a hypomurocin A-1 que também apresentam atividade antifúngica e bactericida (BECKER *et al.*, 1997). Os terpenoides são representados pelo sesquiterpeno HA-toxin e dentre as substâncias alifáticas, pode-se citar o álcool avellaneol. Este último, com atividade antimicrobiana. Alcaloides, lactonas e cromonas, com atividades bactericidas e antifúngicas são também descritos na espécie. Em 2015, dois novos derivados furânicos hipofurans A e B e três novos derivados ciclopentenonas (hipocrenonas A-C) foram isolados do fungo marinho *H. koningii* PF04 associado a esponja *Phakellia fusca* (DING *et al.*, 2015). Mais recentemente, KATOCH e colaboradores estudaram a linhagem fúngica *Trichoderma lixii* (IIIM-B4) que apresentou 99% de similaridade com a cepa *H.*

lixii FJ462763, constatando a produção de pequenos peptídeos contendo 11 aminoácidos, denominados peptaibols. Dentre estes, o tribacopin AV foi considerado novo, tendo uma sequência única: Ac-Gly-Leu-Leu-Leu-Ala-Leu-Pro-Leu-Aib-Val-Gln-OH, e apresentou propriedades antifúngicas contra *Candida albicans* (MIC 25 µg/mL) (KATOCH *et al.*, 2019).

Na figura 1 é mostrada uma foto ilustrativa das linhagens fúngicas *T. harzianum* (5A13) e *H. lixii* (5A7), investigadas neste trabalho.

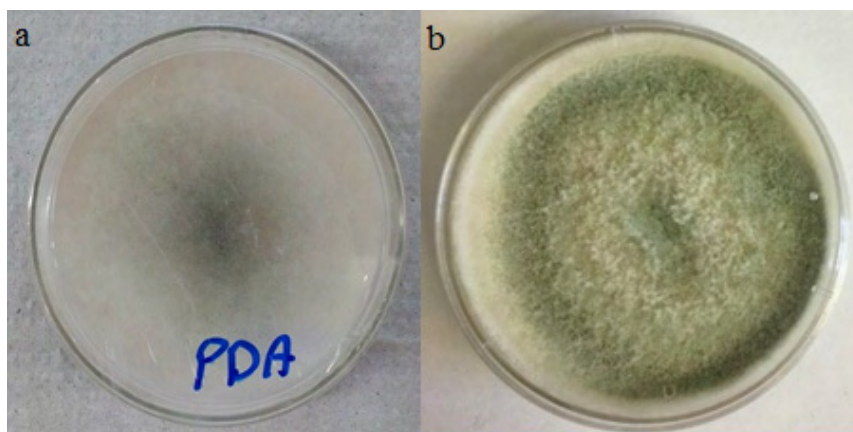


Figura 1: Linhagens fúngicas *Trichoderma harzianum* (5A13) (a) e *Hypocrea lixii* (5A7) (b). Acervo: Grupo de Pesquisas GPNUF (Unifran).

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos com os animais foram desenvolvidos após a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade de Franca em 13/05/2014 (Comitê de Ética Animal). Projeto 008/14 “Produtos Naturais de Ascídias brasileiras para Doenças Tropicais Negligenciadas”.

2.1 Coleta e Identificação da Ascídia

A coleta e identificação da ascídia foi realizada pelo Prof. Dr. Gustavo Muniz Dias da Universidade Federal do ABC-Centro de Ciências Naturais e Humanas. A ascídia *Botrylloides giganteus* foi coletada em setembro de 2015 em Ilhabela-SP (Cadastro SISGEN nº A357371). A identificação das linhagens 5A13 e 5A7 foi realizada por características morfológicas, e sequenciamento parcial da região ITS do rDNA, pelo Prof. Dr. Marcos Antônio Soares do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) como *Trichoderma harzianum* e *Hypocrea lixii*, respectivamente. O DNA genômico total das linhagens foi extraído utilizando kit de extração e a região ITS amplificada de acordo com PIETRO-SOUZA *et al.*, 2017. Os amplicons foram sequenciados em sequenciador automático pelo método de Sanger e as sequências foram comparadas com aquelas depositadas no banco de dados GenBank utilizando o BLASTn (NCBI).

2.2 Cultivo dos Fungos e Preparação dos Extratos

Foram coletadas 50 gramas das ascídias e transportadas em frascos de vidro contendo água do mar sob refrigeração até a Universidade de Franca, onde foram previamente lavadas com água do mar, seguida por desinfecção superficial com EtOH 70% (v/v) por 45 segundos, em seguida foram lavadas com água do mar estéril (3 vezes) e transferidas para placas de Petri (90 x 90 mm) contendo meio de cultura água do mar artificial (AMA), suplementado com 30 g de extrato de malte e 15 g de ágar. Fragmentos (1,0 x 1,0 cm) foram inoculados no meio de cultura AMA contendo tetraciclina, cloranfenicol e estreptomicina na concentração de 50 mg/L de cada antibiótico. Pós-período de 4 dias, os fungos crescidos foram purificados e mantidos em meio ágar batata dextrose, sendo preservados em geladeira (PEDROSO, 2020).

As linhagens *T. harzianum* (5A13) e *H. lixii* (5A7) foram cultivadas separadamente em arroz parboilizado acrescentado de uma solução nutritiva composta por 1,2 g de nitrato de sódio (NaNO_3), 0,4 g de fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4), 0,2 g de sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 0,2 g de cloreto de potássio (KCl) e traços de sulfato ferroso (FeSO_4) dissolvidos em 400 mL de água destilada na proporção de 400 mL para 200 g de arroz e deixado em *overnight*. Foram utilizados 5 erlenmeyers de 500 mL, os quais foram 2 vezes autoclavados durante 30 min a 121°C com intervalo de 24 horas entre cada seção. Após o resfriamento, os fungos foram inoculados no meio de cultivo e incubados por 30 dias. Após este período de cultivo, foi realizada a extração com MeOH por maceração a frio (3 vezes), obtendo-se os respectivos extratos brutos, após a remoção do solvente em evaporador rotativo (COSME, 2021).

2.3 Fracionamento dos Extratos

Este procedimento cromatográfico foi realizado em fase reversa, separadamente para os extratos 5A7 (14 g) e 5A13 (13,7 g). Os extratos foram diluídos em 10 mL de solução 10% MeOH, o qual foi eluída na coluna ($h = 10,0$ cm; $\Phi = 8,0$ cm para 5A7 e $h = 9,5$ cm; $\Phi = 8,0$ cm para 5A13), sob pressão reduzida, contendo sílica C-18 como fase estacionária, previamente ativada com MeOH (500 mL) e condicionada com solução 10% MeOH (500 mL). A coluna foi então sequencialmente eluída com um gradiente decrescente de polaridade, utilizando-se como fases móveis 500 mL de misturas de MeOH/ H_2O nas proporções: 10%, 30%, 50%, 70% e 100% MeOH. As frações obtidas de cada extrato foram concentradas através da utilização de evaporadores rotativos sob pressão reduzida e as frações 70% e 100 % foram selecionadas para as análises de espectrometria massas de alta resolução posteriores.

2.4 Análises Por Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EM-AR)

As análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (CLAE-EM-AR) das amostras selecionadas

foram realizadas usando-se um espectrômetro ESI-TOF, modelo micrOTOF Q II (Bruker Daltonic) e um Sistema HPLC Shimadzu, modelo CBM-20A, bomba LC 20AD, sistema de injeção automática SIL 20AHT, detector de arranjo de diodo SPD-M20A (DAD) (200-600nm), degaseificador DGU-20A-5, usando uma coluna (Phenomenex® Luna, 5 µm, 250 × 4.6 mm). Os dados de ESI-EM-AR foram obtidos usando-se as condições: voltagem do capilar 3.5 kV, temperatura do gás de secagem 220°C, fluxo de 10L/min⁻¹, gás nebulizador à pressão de 5 bar e nitrogênio como gás de secagem, nebulização e colisão. A fase móvel foi um gradiente linear partindo de 95% de água/ 0,1% CH₃COOH (solvente A) e 5% de MeOH (solvente B) até 100% do solvente B em 40 min, seguido por 5 min de 100% do solvente B, com fluxo de 1 mL/min⁻¹. Bomba de infusão modelo Cole Parmer. A calibração interna empregando-se uma solução de NA-TFA (trifluoracetato de sódio) a 10 mg/mL, as análises foram realizadas nos modos positivo e negativo. Todas as análises foram processadas usando o software Bruker Daltonics Data Analysis 4.3.

2.5 Preparo de Nanopartículas poliméricas (NP) de Poli (ε-caprolactona) por Nanoprecipitação

Para a obtenção da fase orgânica, 9 mg do polímero poli (ε-caprolactona) (PCL) e 1 mg do extrato fúngico foram solubilizados em 5 mL de acetona e submetidos a banho de ultrassom. A fase aquosa foi constituída por 10 mL de solução tampão PBS pH 7,4 e poloxamer 407 1,5%. Após a dissolução dos componentes de ambas as fases, a fase orgânica foi adicionada lentamente sob a fase aquosa com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e sob agitação. A suspensão resultante foi mantida sob agitação a 300 rpm durante aproximadamente 8 horas, até a evaporação completa da acetona. Ao final o volume foi ajustado para 10 mL com a solução tampão, sendo a concentração final formulação foi de 100 µg/mL (YALLAPU, 2010).

2.6 Preparo de Sistema Lipídico Nanoestruturado (SLN)

O sistema lipídico nanoestruturado foi sintetizado com a composição: 10% de fase oleosa (óleo de semente de uva), 10% de surfactante (Brij O20 + fosfatidilcolina de soja 2:1) e 80 % de fase aquosa (tampão fosfato, pH 7,4). A mistura foi sonicada utilizando um sonicador de haste (Q700 de QSonica®, Newtown, CT, EUA), com potência de 700 W, amplitude de 20%, em modo descontínuo, durante 15 minutos com um intervalo de 30s a cada minuto, com banho de gelo durante todo o processo de sonicção. Após a obtenção da formulação, incorporou-se os extratos fúngicos através dos seguintes procedimentos: em um frasco adequado, adicionou-se 3 mg do extrato fúngico em 3 mL do sistema lipídico, a mistura foi homogeneizada em sonicador sob as mesmas condições, durante 2 minutos, a fim de se obter a formulação com extrato incorporado a uma concentração de 1000 µg/mL (BONIFÁCIO *et al.*, 2015).

2.7 Ensaio Esquistossomicida

2.7.1 Manutenção do Ciclo de Vida de *Schistosoma mansoni*

O ciclo biológico de *S. mansoni*, linhagem LE (Luiz Evangelista) é rotineiramente mantido pela passagem seriada em moluscos *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro invertebrado e em camundongos Balb/c como hospedeiro vertebrado no Biotério da Universidade de Franca de acordo com LEWIS, 2001; SMITHERS & TERRY, 1965.

Os ovos de *S. mansoni* presentes nas fezes ou fígados de camundongos previamente infectados com o parasita foram recuperados conforme descrito por LEWIS 2001 e expostos à luz por aproximadamente 1 hora, para a liberação dos miracídios. Os miracídios foram utilizados para infectar o hospedeiro intermediário, que após 38 a 43 dias liberaram a forma infectante do parasita, as cercárias, que por sua vez infectaram o hospedeiro vertebrado.

Para a manutenção do ciclo, 200 ± 10 cercárias foram inoculadas nos camundongos via subcutânea e após 49 ± 1 dias os vermes adultos são recuperados do sistema porta-hepático e das veias mesentéricas por perfusão do sistema porta-hepático (LEWIS, 2001; SMITHERS; TERRY, 1965). Todos os procedimentos envolvendo a manutenção do ciclo de vida do parasito *S. mansoni* estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais da Universidade de Franca, como previsto no protocolo 5199070417.

2.7.2 Avaliação das Amostras em Vermes Adultos de *Schistosoma mansoni*

Após a perfusão, vermes adultos (49 ± 1 dias) foram lavados em RPMI 1640 (Gibco) tamponado com HEPES $20 \mu\text{M}$, pH 7,5, suplementado com penicilina (100U/mL), estreptomicina ($100 \mu\text{g/mL}$) e 10% de soro bovino fetal (Gibco) e um casal de vermes adultos foi transferido, para uma placa de cultura de 24 poços contendo o mesmo meio descrito anteriormente e incubados em atmosfera umidificante a 37°C na presença de 5% CO_2 . Após 24 horas de incubação, as amostras previamente dissolvidas foram adicionadas ao meio RPMI 1640 em diferentes concentrações. Os parasitas foram incubados nas mesmas condições descritas anteriormente por 72 horas e monitorado a cada 24 horas usando um microscópio invertido (Leitz Diavert). A viabilidade dos parasitos foi determinada de acordo com as alterações fenotípicas observadas e classificadas em uma escala de severidade fenotípica (0-3) sendo: (3=vermes com movimentação normal, 2= atividade motora diminuída, 1= atividade motora mínima com movimentos ocasionais; 0= total ausência de movimento por mais de 2 minutos de observação) (RAMIREZ et al., 2007). Os resultados foram calculados em relação a porcentagem de inibição da viabilidade em relação ao controle negativo. Como controle negativo, foram utilizados vermes adultos

mantidos em meio RPMI 1640 ou em meio RPMI 1640 com o solvente das amostras e como controle positivo, foram utilizados vermes adultos incubados com 1,6 μM (0,5 $\mu\text{g/mL}$) de praziquantel. Foram avaliados seis casais de vermes adultos (12 vermes adultos) por concentração (MAGALHÃES *et al.*, 2009).

2.8 Toxicidade em *Galleria mellonella*

A toxicidade dos extratos foi avaliada frente à larvas de *G. mellonella*. O inseto foi mantido em laboratório de acordo com o protocolo estabelecido por HARDING *et al.*, 2013. Larvas saudáveis (coloração clara e homogênea) com massa entre 0,2-0,3 g foram selecionadas. Aplicou-se 10 μL de amostra na última *proleg* da larva com $n=5$ no ensaio 1. Como controle negativo foi utilizado DMSO (10%) e (20%) diluído em água ultrapura autoclavada. Após a aplicação, as larvas foram mantidas no escuro a temperatura ambiente de 28-30°C. O número de larvas mortas e melanizadas foram avaliadas diariamente por um período de sete dias para obtenção da curva de sobrevivência. O ensaio foi repetido com 10 larvas para as amostras que apresentaram mortalidade (ensaio 2). As amostras foram avaliadas na concentração de 2 mg/mL, solubilizadas em água ultrapura + DMSO (20%).

2.9 Toxicidade em *Caenorhabditis elegans*

A toxicidade dos extratos foi também investigada em nematóides da espécie *C. elegans* - linhagem N2 em população sincronizada de vermes em estágio L4. Os nematóides foram transferidos para placas estéreis de 12 poços contendo meio K e tratados com a amostra na concentração de 2 mg/mL. Nematóides tratados com volumes equivalentes de meio K foram usados como grupo controle. As placas foram devidamente seladas e incubadas por 24 horas, a 20°C. Após este período a sobrevivência dos nematóides foram analisadas usando uma lupa e estímulos de contato quando necessário. Como controle negativo foi utilizado Meio K + DMSO (10%), 10 larvas foram utilizadas neste ensaio (PORTA-DE-LA-RIVA *et al.*, 2012).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Perfil Químico de *Trichoderma harzianum* (5A13)

A linhagem *T. harzianum* (5A13) foi investigada por HPLC-MS e MS² para a desrepliação das substâncias minoritárias presentes. As massas de alta resolução obtidas por HPLC-MS, juntamente com os padrões de fragmentação revelados nos espectros de massas, e MS² foram comparados com bases de dados em sílico GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking) e Antimarin (Antimarin 2012), permitindo a anotação dos compostos presentes nas amostras. Para esta abordagem selecionou-se as frações 5A13-70% MeOH e 5A13-100% MeOH, no entanto, apenas nesta última foi possível a anotação de dois componentes químicos sendo a 6-*n*-pentenil- α -pirona (5A13-1) e

3,4-difenilfuranona (5A13-2).

A substância 6-*n*-pentenil- α -pirona (5A13-1) apresentou fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$ e exibiu $t_R = 20,6$ min e íon molecular com relação massa carga m/z 165,0915 $[M+H]^+$, correspondente a fórmula molecular ($C_{10}H_{13}O_2$).

Adicionalmente, a lactona 3,4-difenilfuranona (5A13-2) de fórmula molecular ($C_{16}H_{12}O_2$) e $t_R = 26,3$ min mostrou íon molecular m/z 237,0916 $[M+H]^+$ e respectivo aduto de sódio com m/z 259,0634 $[M+Na]^+$ ($C_{16}H_{13}O_2$).

A pirona 5A13-1 foi previamente isolada do fungo marinho *Botrytis sp* coletada da praia de Dadaepo em Busan (ZHANG *et al.*, 2007) e isolada também do fungo *Trichoderma harzianum* (SERRANO-CARREON *et al.*, 1992, KHAN *et al.*, 2020). Além disso, a estrutura de 5A13-1 foi confirmada por síntese (DOBLER & REISER, 2016).

Por sua vez, a lactona 5A13-2 foi antecipadamente isolada do fungo endofítico *Aspergillus flavipes* AIL8 derivado da planta de mangue *Acanthus ilicifolius* (BAI *et al.*, 2014).

As estruturas químicas das substâncias 5A13-1 e 5A13-2, estão apresentadas na figura 2. Na tabela 1 tem-se os respectivos dados de massas para as substâncias 5A13-1 e 5A13-2, e o cromatograma por HPLC-MS, está mostrado na figura 3.

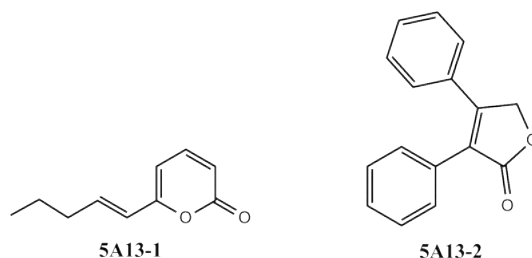


Figura 2: Estruturas químicas das substâncias 6-*n*-pentenil- α -pirona (5A13-1) e 3,4-difenilfuranona (5A13-2).

Substâncias (ID Antimarin)	Identificação	Tempo de Retenção (t_R) min.	Fórmula Molecular $[M+H]$	Massa Exata Calculada	Ion (m/z) Literatura $[M+H]^+$	Ion (m/z) Experimental $[M+H]^+$	Erro da massa (ppm)	Referência
5A13-1 (16763)	6- <i>n</i> -pentenil- α -pirona	20,6	$C_{10}H_{13}O_2$	165,0915	165,091	165,0912	-1,82	SERRANO-CARREON <i>et al.</i> , 1992
5A13-2	3,4-difenilfuranona	26,3	$C_{16}H_{13}O_2$	237,0915	237,091	237,0916	0,42	BAI <i>et al.</i> , 2014

Tabela 1: Análise da fração 5A13-100% MeOH por HPLC-MS e molecular networking em comparação com a base de dados Antimarin 2012.

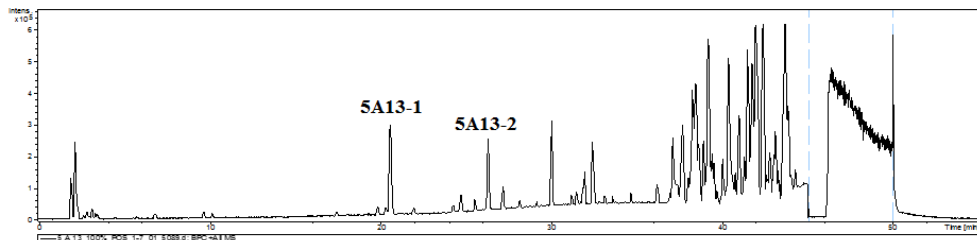


Figura 3: Cromatograma dos íons totais por HPLC/MS para 5A13-100% MeOH e anotação das substâncias 6-n-pentenil- α -pirona (5A13-1) e 3,4-difenilfuranona (5A13-2).

3.2 Perfil Químico de *Hypocrea lixii* (5A7)

O extrato metanólico 5A7 obtido em meio de arroz, após ser submetido à purificação em fase reversa forneceu 5 frações com perfis químicos distintos. As frações 5A7-70% e 5A7-100% foram selecionadas para análise por HPLC-MS e MS², sendo possível a anotação do ácido harziânico (5A7-3) e da trichoharzina (5A7-2) na fração 5A7-100% e do dipeptídeo trichodermamida A (5A7-1) nas frações 5A7-70 e 5A7-100%, conforme mostrado na tabela 2 e figura 4. O cromatograma por HPLC-MS, está mostrado na figura 5.

A tricodermamida A (5A7-1) possui a rara funcionalidade *O*-alquil-oxima cíclica incorporada no anel de seis membros. Este dipeptídeo foi isolado do fungo marinho *Trichoderma virens* (GARO *et al.*, 2003). 5A7-1 foi isolado também dos fungos marinhos *Trichoderma lixii* coletado de esponja na Indonésia (TANG *et al.*, 2019) e *T. harzianum* coletado de mangue na China (ZHAO *et al.*, 2020).

O policetídeo trichoharzina (5A7-2) foi primeiramente isolado da esponja marinha *Micale cecilia* (KOBAYASHI *et al.*, 1993) e mais recentemente, isolado de *T. harzianum* (Yu *et al.*, 2021). O ácido harziânico foi identificado em uma amostra de água coletada em Hiroshima no Japão e apresentou atividade antimicrobiana contra a linhagem *Pasteurella piscicida* sp 6395 (SAWA *et al.*, 1994), sendo a configuração absoluta da estrutura estabelecida por estudos de difração de raio X por Vinale e colaboradores. Neste trabalho também foi demonstrada ação antifúngica do ácido harziânico, bem como sua atuação na promoção do crescimento de *Brassica napus* (canola) (VINALE *et al.*, 2009).

Substância (ID Antimarin)	Identificação	t _R (min)	Fórmula Molecular	Massa Exata Calculada	Ion (m/z) Literatura	Ion (m/z) Experimental	Erro da massa (ppm)	Referência
5A7-70%								
5A7-1 (29810)	Tricodermamida A	19,9	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₉	433,1247	433,124 [M+H] ⁺	433,1262 [M+H] ⁺	3,46	GARO <i>et al.</i> , 2003.
5A7-1 (15004/1) MarinLit	Tricodermamida A	19,9	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₉	431,1091	-	431,1100 [M-H] ⁻	2,08	GARO, <i>et al.</i> , 2003.
5A7-100%								
5A7-1 (29810)	Tricodermamida A	22,0	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₉	431,1091	431,11 [M-H] ⁻	431,1097 [M-H] ⁻	1,39	GARO <i>et al.</i> , 2003.
5A7-2 (14218)	Tricoharzina	30,1	C ₂₅ H ₃₈ O ₇	451,2696	451,269 [M+H] ⁺	451,2681 [M+H] ⁺	-3,32	KOBAYASHI <i>et al.</i> , 1993
5A7-3 (12424)	Ácido harzianico	38,4	C ₁₉ H ₂₇ NO ₆	364,1760	364,177 [M-H] ⁻	364,1777 [M-H] ⁻	4,66	SAWA <i>et al.</i> , 1994

Tabela 2: Análise da fração 5A7-70% e 5A7-100% MeOH por HPLC-MS e *molecular networking* em comparação com a base de dados Antimarin 2012.

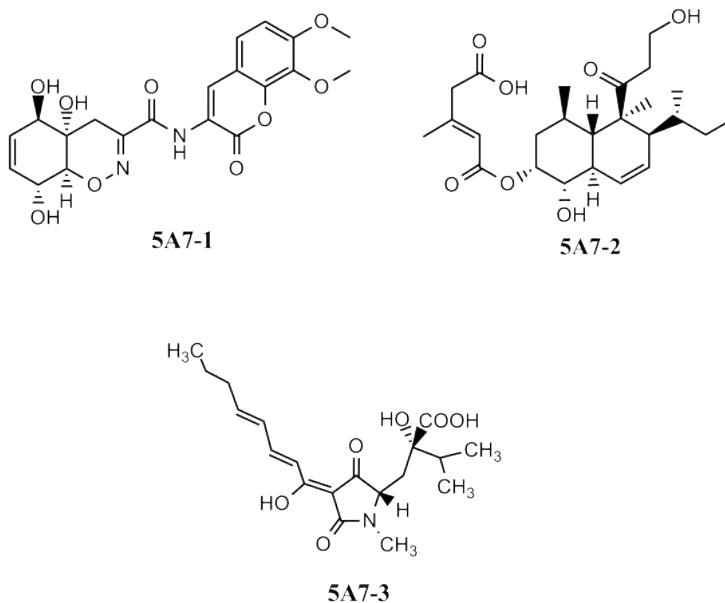


Figura 4: Estruturas químicas das substâncias 5A7-1 (Tricodermamida A), 5A7-2 (Tricoharzina) e 5A7-3 (Ácido harzianico).

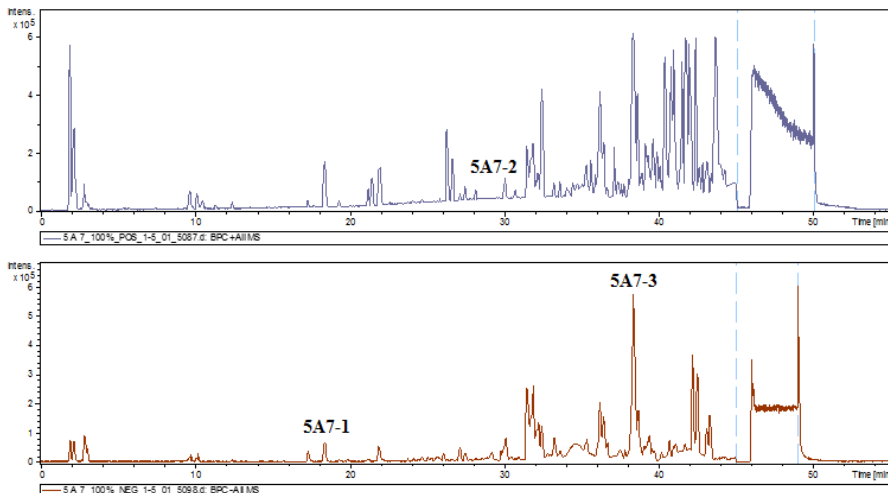


Figura 5: Cromatograma dos íons totais por HPLC/MS para 5A7-70% e 5A7-100% MeOH e anotação das substâncias 5A7-1 (Tricodermamida A), 5A7-2 (Trichoharzina) e 5A7-3 (Ácido harzianico).

3.3 Potencial Biológico de *Trichoderma harzianum* (5A13) e *Hypocrea lixii* (5A7)

Na avaliação do potencial esquistossomicida de *H. lixii* (5A7) frente aos vermes adultos de *S. mansoni*, a atividade do extrato 5A7 incorporado ao SLN se mostrou promissor em 24 horas na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, reduzindo em 67% a atividade motora dos vermes e causando 100% morte na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$, neste mesmo tempo de avaliação. No entanto, é possível notar que a microemulsão sem a incorporação do extrato também apresentou atividade frente aos vermes adultos de *Schistosoma*. Por outro lado, o extrato 5A7 na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ ou incorporado em sistema polimérico não apresentou resultados relevantes frente aos vermes adultos. Para *T. harzianum* (5A13) foi evidenciado que a fração 5A13-100% MeOH nas concentrações de 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ inibiu a viabilidade dos vermes em 50% e 88% em 24 horas e a partir de 72 horas, a viabilidade dos vermes foi severamente inibida em 94%. As demais frações 5A13-30%, 50% e 70% não se mostraram ativas neste ensaio.

Concernente a toxicidade, os extratos 5A13 e 5A7 na concentração de 2 mg/mL quando avaliados no ensaio de toxicidade *in vivo* usando o modelo alternativo de *C. elegans*, apresentaram alto índice de sobrevivência 84% e 94%, respectivamente, significando ter baixa toxicidade na dose avaliada frente a este organismo (Tabela 4).

Paralelamente, o extrato 5A13 na sua forma livre e nanoestruturada incorporado em SLN e SP, assim como o extrato 5A7 na sua forma livre, foram avaliados quanto à toxicidade no modelo animal alternativo *G. mellonella*. Os resultados obtidos apontaram que os extratos livres e nanoestruturados não apresentaram toxicidade neste modelo, com

taxa de sobrevivência de 100%. Os resultados obtidos estão expressos na (Tabela 4).

O uso de sistemas nanotecnológicos tem sido uma estratégia que vem ganhando espaço nas últimas décadas no combate a doenças negligenciadas, uma vez que estes sistemas apresentam biocompatibilidade (melhora na solubilidade, maior estabilidade). Estas características somadas a possibilidade da liberação controlada do fármaco e conferem alta versatilidade para aplicações analíticas e terapêuticas (BONIFÁCIO *et al.*, 2015, SOUTO *et al.*, 2019).

Amostras	Concentração (µg/mL)	Tempo de incubação (h)	Porcentagem de Inibição da viabilidade (%) + EP ^c
Controle Negativo^a	100	24	0,00 ± 0,00
		72	0,00 ± 0,00
	200	24	0,00 ± 0,00
		72	0,00 ± 0,00
Controle Positivo^b	0,5	24	100 ± 0,00*
		72	100 ± 0,00*
		24	100 ± 0,00*
		72	100 ± 0,00*
Controle SLN	100	24	33 ± 0,00*
		72	78 ± 4,73*
	200	24	67 ± 0,00*
		72	94 ± 3,74*
Controle NP	100	24	6 ± 3,74*
		72	6 ± 3,74*
	200	24	0,00 ± 0,00
		72	6 ± 3,74*
Extrato 5A7	50	24	0,00 ± 0,00
		72	17 ± 11,24 *
	100	24	n.t.
		72	n.t.
SLN + 5A7	100	24	67 ± 0,00*
		72	67 ± 0,00*
	200	24	100 ± 0,00*
		72	100 ± 0,00*
NP + 5A7	100	24	0,00 ± 0,00
		72	0,00 ± 0,00
	200	24	0,00 ± 0,00
		72	0,00 ± 0,00

5A13-100% MeOH	100	24	50 ± 5,02*
		72	67 ± 0,00*
	200	24	89 ± 4,73*
		72	94 ± 3,74*

^a Controle Negativo: Meio de cultura RPMI 1640

^b Controle Positivo: PZQ (Sigma-Aldrich) (0,5µg/mL ou 1,6 µM) causou 100 % de morte dos parasitas em 24 horas.

^c Dados expressos em média ± erro padrão.

* Significativamente diferente do controle negativo (P<0,001 n.t. – não testado).

Tabela 3: Avaliação *in vitro* da atividade esquistossomicida do extrato metanólico 5A7 e fração metanólica 5A13-100% contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.

Organismo	Amostra [2 mg/mL]	Nº de larvas testadas	% de Sobrevivência
<i>G. mellonella</i>	Controle negativo	10	100
	Controle NP	10	100
	Controle SLN	10	100
	Extrato 5A13	10	100
	SLN + 5A13	10	100
	NP + 5A13	10	100
	Extrato 5A7	15	100
<i>C. elegans</i>	Extrato 5A13	10	84
	Extrato 5A7	10	94

Tabela 4: Resultados dos ensaios de toxicidade *in vivo* realizados nos organismos *G. mellonella* e *C. elegans* para os extratos metanólicos 5A7 e 5A13.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, a ação esquistossomicida *in vitro* do extrato de *H. lixii* (5A7) foi potencializada após incorporação em SLN, ocasionando a morte do parasita em 24 horas na dose de 200 µg/mL. Por outro lado, a atenuação da viabilidade motora demonstrada pela fração 5A13-100% MeOH de *T. harzianum* (5A13), frente aos vermes adultos de *S. mansoni*, é um coeficiente notável no controle do ciclo deste parasita. A ausência de toxicidade do extrato 5A7 e fração 5A13-100% nos dois modelos alternativos empregados, releva o prosseguimento dos estudos destas linhagens na busca dos princípios ativos presentes. As análises por HPLC-MS e *molecular networking* se despontaram como ferramentas úteis na anotação das substâncias já conhecidas nas amostras investigadas, direcionando o estudo posterior visando o isolamento dos constituintes ativos e também compostos desconhecidos.

Os resultados obtidos neste estudo ampliaram o conhecimento, do potencial antiparasitário, especificamente, esquistossomicida *in vitro* de *T. harzianum* (5A13) e *H. lixii* (5A7) isolados de ambiente marinho, bem como do seu perfil químico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) Proc. n° 23038.009588/2013-68 CSF-PVEs 27/2014 e código 001) ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) Proc. n° 302340/2018-1 e a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) Proc. n° 2014/19184-7 e 2017/14261-1), pelo apoio financeiro.

Os autores também são gratos ao Yacht Clube de Ilhabela e ao Centro de Biologia Marinha da USP (CEBIMar) pelo suporte logístico.

REFERÊNCIAS

ANTIMARIN database (2012). Blunt, J. W., Munro, M. H. G., Laatsch, H., Editors. **AntiMarin Database**. Göttingen, Germany: University of Canterbury, Christchurch, New Zealand and University of Göttingen.

BAI, ZHI-QIANG. *et al.* New phenyl derivatives from endophytic fungus *Aspergillus flavipes* AIL8 derived of mangrove plant *Acanthus ilicifolius*. **Fitoterapia**, v. 95, p. 194-202, 2014.

BECKER, D; KIESS, M; BRÜCKNER, H. Structures of peptaibol antibiotics *hypomurocin* A and B from the ascomycetous fungus *Hypocrea muroiana* Hino et Katsumoto. **Liebigs Annalen**, v. 1997, n. 4, p. 767-772, 1997.

BONIFÁCIO, B. V. *et al.* Nanostructured lipid system as a strategy to improve the anti-Candida albicans activity of *Astronium sp.* **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 5081-5092, 2015.

CARROLL, ANTHONY R. *et al.* Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 1, p. 122-173, 2019.

CARROLL, ANTHONY R. *et al.* Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 37, n. 2, p. 175-223, 2020.

CASERTANO, M; MENNA, M; IMPERATORE, C. The ascidian-derived metabolites with antimicrobial properties. **Antibiotics**, v. 9, n. 8, p. 510, 2020.

COSME, WANDERSON. Z. **Avaliação do perfil química-biológica e do potencial antiparasitário de *Trichoderma harzianum* (5A13), associada à ascídia *Botrylloides giganteus***. Dissertação de Mestrado. Universidade de Franca. 2021.

CHEN, L. *et al.* Biological and chemical diversity of microorganisms associated with ascidia. **Marine Drugs**, v. 16, n. 10, p. 362, 2018.

DING, L. J. *et al.* New furan and cyclopentenone derivatives from the sponge-associated fungus *Hypocrea koningii* PF04. **Marine Drugs**, v. 13, n. 9, p. 5579-5592, 2015.

DOBLER, Daniel; REISER, Oliver. Synthesis of 6-substituted 2-pyrones starting from Renewable Resources: Total synthesis of sibirinone, (*E*)-6-(Pent-1-en-1-yl)-2 H-pyran-2-one, and (*E*)-6-(Hept-1-en-1-yl)-2 H-pyran-2-one. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 81, n. 21, p. 10357-10365, 2016.

DOU, X; DONG, B. Origins and bioactivities of natural compounds derived from marine ascidians and their symbionts. **Marine Drugs**, v. 17, n. 12, p. 670, 2019.

FANG, S. T. *et al.* Two new sesquiterpenoids from the marine-sediment-derived fungus *Trichoderma harzianum* P1-4. **Natural Product Research**, v. 33, n. 21, p. 3127-3133, 2019.

GARO, ELIANE. *et al.* Trichodermamides A and B, cytotoxic modified dipeptides from the marine-derived fungus *Trichoderma virens*. **Journal of natural products**, v. 66, n. 3, p. 423-426, 2003.

HARDING, C. R. *et al.* Use of *Galleria mellonella* as a model organism to study *Legionella pneumophila* infection. **Journal of Visualized Experiments: JoVE**, n. 81, 2013.

ÍÓCA, L. P.; NICACIO, K. J.; BERLINCK, R. G.S. Natural Products from marine invertebrates and microorganisms in Brazil between 2004 and 2017: Still the challenges, more rewards. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 5, p. 998-1031, 2018.

KATOCH, M. *et al.* *Trichoderma lixii* (IIIM-B4), an endophyte of *Bacopa monnieri* L. producing peptaibols. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2019.

KOBAYASHI, Motomasa *et al.* Trichoharzin, a new polyketide produced by the imperfect fungus *Trichoderma harzianum* separated from the marine sponge *Micale cecilia*. **Tetrahedron letters**, v. 34, n. 49, p. 7925-7928, 1993.

KHAN, Raja Asad Ali. *et al.* Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic fungi. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 817, 2020.

LEAL, MIGUEL C. *et al.* Fifty years of capacity building in the search for new marine natural products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 39, p. 24165-24172, 2020.

LEWIS F. Schistosomiasis. **Current Protocols in Immunology**. Chapter 19: Unit 19.1, 2001.

LI, B. *et al.* New C13 lipids from the marine-derived fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 17, n. 5, p. 468-474, 2015.

LI, M. F.; LI, G. H.; ZHANG, K. Q. Non-volatile metabolites of *Trichoderma* spp. **Metabolites**, v. 9, n. 3, p. 58, 2019.

LIU, J.; LI, X. W.; GUO, Y. W. Recent advances in the isolation, synthesis and biological activity of marine guanidine alkaloids. **Marine Drugs**, v. 15, n. 10, p. 324, 2017.

MAGALHÃES, LIZANDRA G. *et al.* *In vitro* schistosomicidal activity of curcumin against *Schistosoma mansoni* adult worms. **Parasitology Research**, v. 104, n. 5, p. 1197-1201, 2009.

MARANGONI, M. **Utilização de *Hypocrea lixii* para produção de nanopartículas de cobre em escala laboratorial**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016.

MUKHOPADHYAY, R; KUMAR, D. *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 1-8, 2020.

NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Acessado em 19 de fevereiro de 2021.

OZBAY, N.; NEWMAN, S. E. Biological control with *Trichoderma* spp. with emphasis on *T. harzianum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 4, p. 478-484, 2004.

PEDROSO, RITA. C. N. **Prospecção química biológica da linhagem fúngica marinha *Hypocrea lixii* (5A7), associada à ascídia *Botrylloides giganteus***. Tese de Doutorado. Universidade de Franca. 2020.

PIETRO-SOUZA, W. *et al.* Endophytic fungal communities of *Polygonum acuminatum* and *Aeschynomene fluminensis* are influenced by soil mercury contamination. **PLoS One**, v. 12, n. 7, p. e0182017, 2017.

PORTA-DE-LA-RIVA, M. *et al.* Basic *Caenorhabditis elegans* methods: synchronization and observation. **Journal of Visualized Experiments: JoVE**, n. 64, 2012.

RAMIREZ, Bernadette *et al.* Schistosomes: challenges in compound screening. **Expert opinion on drug discovery**, v. 2, n. sup1, p. S53-S61, 2007.

SALVADORI, M. R. *et al.* Biosynthesis and uptake of copper nanoparticles by dead biomass of *Hypocrea lixii* isolated from the metal mine in the Brazilian Amazon region. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e80519, 2013.

SAWA, Ryuichi *et al.* Harzianic acid, a new antimicrobial antibiotic from a fungus. **The Journal of antibiotics**, v. 47, n. 6, p. 731-732, 1994.

SERRANO-CARREON, L. *et al.* Production of 6-pentyl- α -pyrone by *Trichoderma harzianum* from 18 α fatty acid methyl esters. **Biotechnology letters**, v. 14, n. 11, p. 1019-1024, 1992.

SHI, T. *et al.* Harzianumones A and B: two hydroxyanthraquinones from the coral-derived fungus *Trichoderma harzianum*. **RSC Advances**, v. 8, n. 49, p. 27596-27601, 2018.

SHI, T. *et al.* Terpenoids from the coral-derived fungus *Trichoderma harzianum* (XS-20090075) induced by chemical epigenetic manipulation. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 572, 2020.

SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. **Parasitology**, v. 55, n. 4, p. 695-700, 1965.

SOOD, M. *et al.* *Trichoderma*: the “secrets” of a multitalented biocontrol agent. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 762, 2020.

SOUTO, ELIANA B. *et al.* Therapeutic interventions for countering *leishmaniasis* and chagas's disease: From traditional sources to nanotechnological systems. **Pathogens**, v. 8, n. 3, p. 119, 2019.

TANG, RUI *et al.* Selective cytotoxicity of epidithiodiketopiperazine DC1149B, produced by marine-derived *Trichoderma lixii* on the cancer cells adapted to glucose starvation. **Journal of natural medicines**, v. 74, n. 1, p. 153-158, 2019.

VINALE, Francesco *et al.* Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 11, p. 2032-2035, 2009.

YALLAPU, M. M. *et al.* Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 351, n. 1, p. 19-29, 2010.

YU, Jia-Yin *et al.* Naphthalene derivatives and halogenate quinoline from the coral-derived fungus *Trichoderma harzianum* (XS-20090075) through OSMAC approach. **Journal of Asian natural products research**, v. 23, n. 3, p. 250-257, 2021.

ZHANG, DAHAI. *et al.* A new α -pyrone derivative, 6-[(*E*)-hept-1-enyl]- α -pyrone, with tyrosinase inhibitory activity from a marine isolate of the fungus *Botrytis*. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 28, n. 5, p. 887-888, 2007.

ZHAO, J. *et al.* *Hypocrea lixii*, novel endophytic fungi producing anticancer agent cajanol, isolated from pigeon pea (*C. ajanus cajan* [L.] M illsp.). **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 1, p. 102-113, 2013.

ZHAO, Dong-Lin *et al.* Antifungal Nafuredin and Epithiodiketopiperazine Derivatives from the Mangrove-Derived fungus *Trichoderma harzianum* D13. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1495, 2020.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Afrodisíaco 33, 35

Antibióticos 44, 45, 88

Aprendizagem significativa 144, 145

Ascidiacea 86, 87

Atenção básica 12, 20, 22, 30, 82, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130

Atenção farmacêutica 22, 29, 30, 31, 32, 112, 121

Atividade antimicrobiana 44, 45, 51, 52, 54, 55, 66, 68, 78, 89, 96

Atividade farmacológica 60, 69, 71, 72, 81

C

Cerrado 105, 106, 107, 110, 111, 120

Compostos bioativos 43, 75, 86, 87

Compostos químicos 58, 60, 63, 66, 71, 87

Cromatografia 50, 56, 57, 58, 59, 65, 68, 91

D

Disfunção erétil 33

Doenças 2, 3, 4, 5, 6, 11, 14, 15, 18, 23, 34, 36, 37, 39, 41, 44, 49, 68, 76, 88, 90, 99, 113, 119

E

Ecossistema marinho 87

Espécie nativa 105

Esquemas gráficos 145

Estimulante sexual 33, 35, 42

Etnobotânica 112, 114, 121

F

Farmacovigilância 19, 70

Fitoterapia 1, 2, 3, 8, 9, 12, 20, 21, 23, 101, 121

G

Gestação 10, 11, 12, 17, 19, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 120

Gestão em saúde 123

Grupo de mulheres 132, 136, 137, 138

I

Intervenção comunitária 132, 133, 134, 140, 141

Invertebrados marinhos 86, 87

Investigação ação-participativa 132

L

Leguminosa 105

M

Mapa conceitual 144, 147, 148

Medicina popular 32, 44, 51, 106

O

Óleos voláteis 57

P

Perfil fitoquímico 69, 71, 72, 74, 81

Plantas medicinais 1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 35, 42, 44, 45, 50, 57, 68, 70, 81, 83, 84, 112, 113, 114, 115, 118, 119, 120, 121, 122

R

Regionalização 123

Resistência antimicrobiana 44

Rinite alérgica 1, 2, 3, 9

S

Saúde da gestante 22

Savana 106, 107

Serviços de saúde 123, 124, 125, 128, 130, 131

Sistema imunológico 1, 78

Sistema único de saúde 19, 23, 24, 70, 120

T

Terpenos 47, 50, 56, 57, 59, 71, 74

Toxicidade 10, 12, 69, 71, 72, 79, 80, 81, 86, 88, 94, 98, 100

Tratamentos alternativos 33, 34, 57

U


Umbuzeiro 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54

Unidade básica de saúde 10, 22, 24, 31

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 


www.facebook.com/atenaeditora.com.br 


Ciências da vida:


Estudo das plantas, animais e seres humanos





Atena
Editora
Ano 2022

www.atenaeditora.com.br 

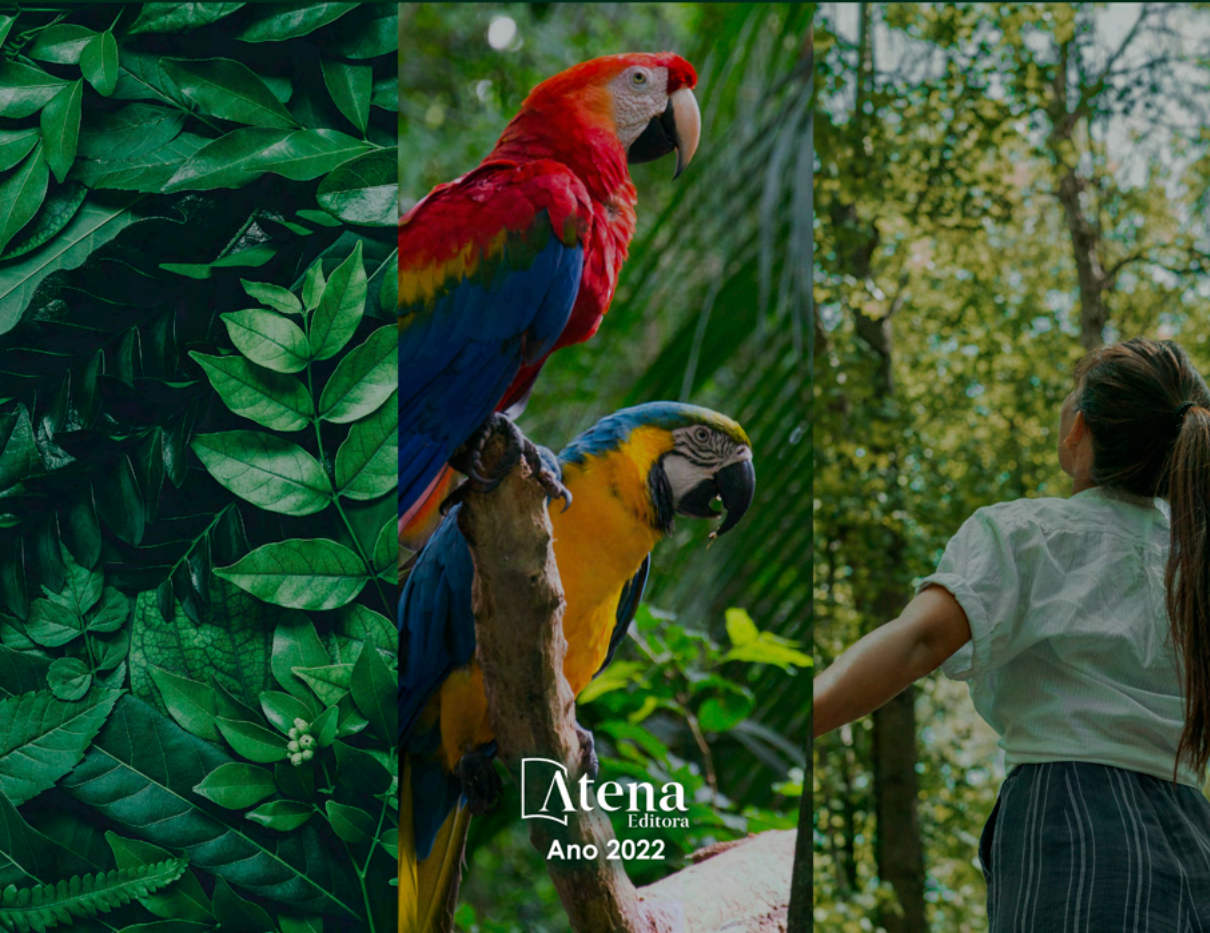
contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Ciências da vida:

Estudo das plantas, animais e seres humanos




Atena
Editora
Ano 2022