

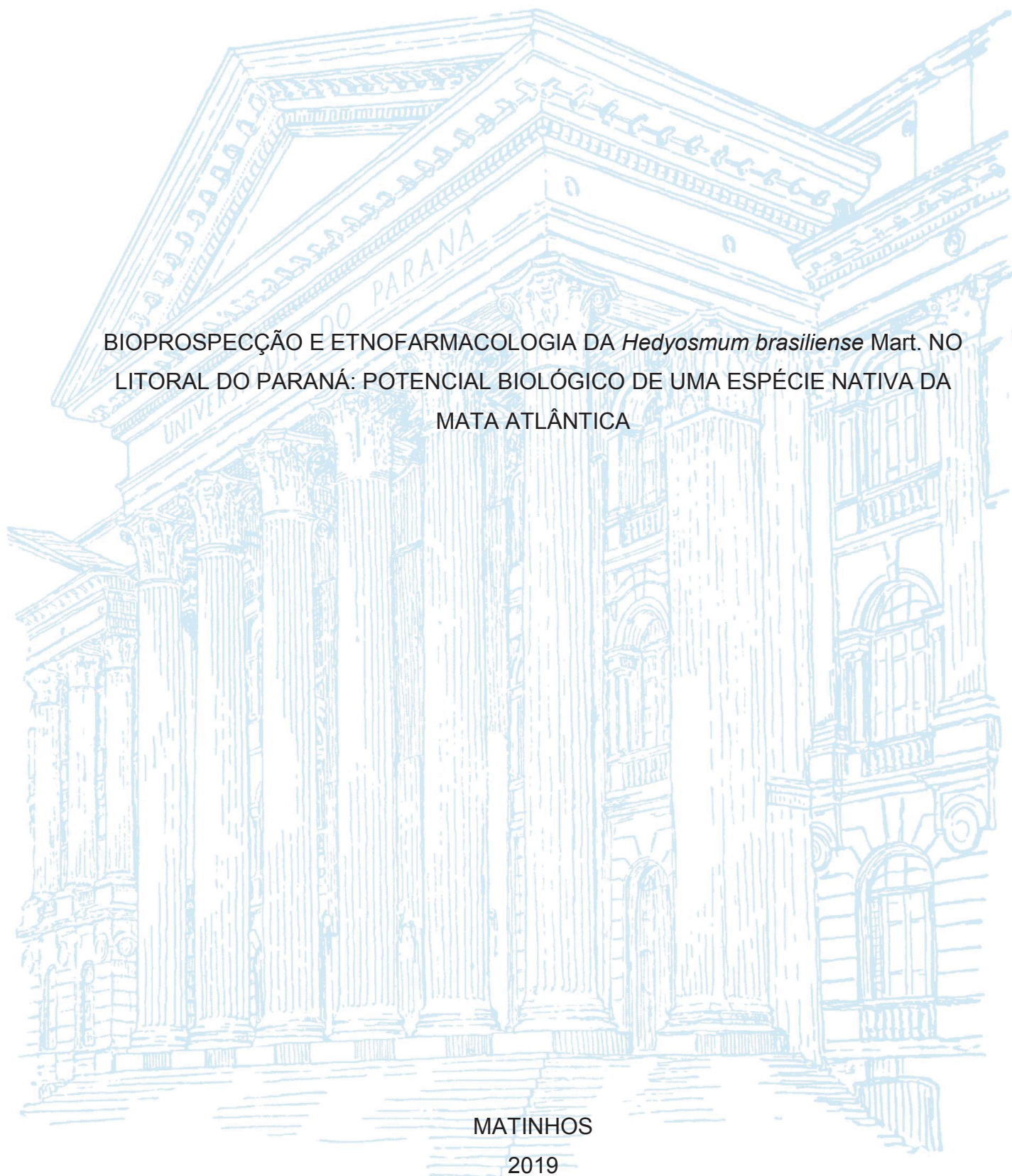
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JENIFER PRISCILA DE ARAUJO

BIOPROSPECÇÃO E ETNOFARMACOLOGIA DA *Hedyosmum brasiliense* Mart. NO
LITORAL DO PARANÁ: POTENCIAL BIOLÓGICO DE UMA ESPÉCIE NATIVA DA
MATA ATLÂNTICA

MATINHOS

2019



JENIFER PRISCILA DE ARAUJO

BIOPROSPECÇÃO E ETNOFARMACOLOGIA DA *Hedyosmum brasiliense* Mart. NO
LITORAL DO PARANÁ: POTENCIAL BIOLÓGICO DE UMA ESPÉCIE NATIVA DA
MATA ATLÂNTICA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável - Setor Litoral, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Territorial Sustentável.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Everson da Silva.

Coorientador: Dr. Wanderlei do Amaral.

MATINHOS

2019

Araujo, Jenifer Priscila de

Bioprospecção e etnofarmacologia da *Hedyosmum brasiliense* Mart. no litoral do Paraná [recurso eletrônico] : potencial biológico de uma espécie nativa da mata atlântica / Jenifer Priscila de Araujo. – Matinhos, 2019.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Litoral, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável, 2019.

Orientador: Luiz Everson da Silva.

Coorientador: Wanderlei do Amaral.

1. *Hedyosmum brasiliense* Mart. 2. Essenciais e óleos essenciais. 3. Etnofarmacologia. I. Silva, Luiz Everson da. II. Amaral, Wanderlei do. III. Universidade Federal do Paraná. Setor Litoral. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável. IV. Título.

CDD 615



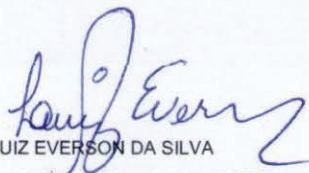
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR LITORAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DESENVOLVIMENTO
TERRITORIAL SUSTENTÁVEL - 40001016081P3

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em DESENVOLVIMENTO TERRITORIAL SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JENIFER PRISCILA DE ARAUJO** intitulada: **BIOPROSPECÇÃO E ETNOFARMACOLOGIA DA *Hedyosmum brasiliense* Mart. NO LITORAL DO PARANÁ: potencial biológico de uma espécie nativa da Mata Atlântica**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

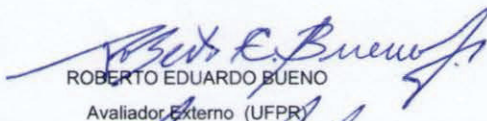
A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

MATINHOS, 24 de Abril de 2019.



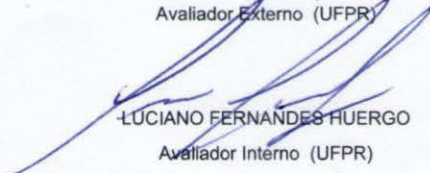
LUIZ EVERSON DA SILVA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



ROBERTO EDUARDO BUENO

Avaliador Externo (UFPR)



LUCIANO FERNANDES HUERGO

Avaliador Interno (UFPR)

Às populações em situação de floresta, as quais com o pouco detêm muito e com ampla humildade contribuem com a ciência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, o criador.

Aos meus pais, Maria e Ismael, e irmã Jaqueline, pelo amor, cuidado, compreensão, apoio emocional e financeiro durante toda trajetória acadêmica.

Ao doutor, professor, orientador e amigo Luiz Everson pelo apoio durante todo processo de criação da dissertação e análise de dados, assim como, pelas excelentes orientações e críticas construtivas.

Ao doutor, coorientador e amigo Wanderlei do Amaral por estar presente durante as distintas coletas apoiando e fornecendo as informações botânicas pertinentes sobre a espécie estudada.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável pelo privilégio de adquirir novos conhecimentos por meio das disciplinas cursadas. Ademais, aos colegas de mestrado que estiveram presentes nessa trajetória.

A biomédica, futura mestra e amiga Camila Confortin, por estar presente no laboratório em momentos difíceis, auxiliando com apoio emocional e na criação dos ensaios antibacterianos.

Aos participantes da comunidade do Parati que contribuíram significativamente com suas habilidades e bases culturais essenciais para a concretização desta pesquisa.

Ao ICMBio e Mata Atlântica Park Hotel por disponibilizar o acesso à trilha para a realização da coleta no material vegetal.

A FURB pela parceria e realização dos ensaios de inibição enzimática.

A URCA pela parceria e realização dos ensaios antifúngicos.

Enfim, a todos que acreditaram que essa realização científica seria possível.

Imensamente, grata!

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”

Antoine Lavoisier

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi conhecer a espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* Mart. no Litoral do Paraná, explorando seu uso etnofarmacológico, identificando os compostos químicos presentes no óleo essencial, bem como, efetuou-se ensaios microbiológicos e de inibição enzimática para inferir sobre as potencialidades do óleo essencial da espécie. Primeiramente, foi realizado um levantamento etnobotânico na comunidade do Parati em Serra da Prata – Guaratuba - PR, onde se aplicou entrevistas semi-estruturadas juntamente com o percurso de trilhas em companhia de informantes. A amostragem e seleção dos informantes para o estudo foi realizada segundo a técnica bola de neve, na qual os informantes indicam os possíveis colaboradores da pesquisa. Constatou-se, com os resultados etnobotânicos, que os moradores da comunidade possuem técnicas próprias de uso da espécie nativa. Posteriormente iniciou-se um estudo fitoquímico e de sazonalidade a fim de avaliar a variação do teor e composição química do óleo essencial de *Hedyosmum brasiliense* Mart. A coleta do material foi realizada no Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange- Matinhos- PR. Os óleos essenciais da espécie de estudo foram obtidos através da hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger. Para análise foram considerados apenas os constituintes iguais ou superiores a 1%. Ao total foram identificados 14 compostos no inverno, 17 na primavera, 14 no verão e 11 no outono. Dentre eles o *Biciclogermacrene* destaca-se como majoritário nas amostras analisadas. Ademais, durante a pesquisa também foram realizados ensaios microbiológicos (antibacterianos e antifúngicos) e de inibição enzimática para explorar o potencial biológico da espécie. Constatou-se, na etapa dos ensaios microbiológicos que o óleo advindo da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. mostrou-se ativo frente a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, entretanto, não apresentou atividade frente à bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*. No ensaio de inibição enzimática, observou-se que o óleo da espécie inibiu a enzima acetilcolinesterase, enquanto que não foi ativo frente à alfa-glucosidade. No mais, os ensaios antifúngicos evidenciaram que a junção do óleo com o antifúngico *Fluconazol* apresentou melhor ação fungicida que o fármaco isolado frente à cepa URM 4262 de *Candida tropicalis*. Por fim, cabe salientar que as informações etnobotânicas e fitoquímicas são oportunas ferramentas para a preservação da espécie e subsidiar cientificamente à implementação de políticas públicas saudáveis e estratégias de Desenvolvimento Territorial Sustentável na região.

Palavras-chave: Bioprospecção. Óleo essencial. Etnofarmacologia. *Hedyosmum brasiliense* Mart. Desenvolvimento Territorial Sustentável.

ABSTRACT

The objective of this research was to know the native species *Hedyosmum brasiliense* Mart. in the Paraná Coastal region, exploring its ethnopharmacological use, identifying the chemical compounds present in the essential oil, as well as carrying out microbiological and enzymatic assays to infer about the potentials of the essential oil of the species. First, an ethnobotanical survey of the Parati community was carried out in Serra da Prata - Guaratuba - PR, where semi - structured interviews were applied together with the trajectory of tracks in the company of informants. Sampling and selection of the informants for the study was performed according to the snowball technique, in which the informants indicate the possible collaborators of the research. It was observed, with the ethnobotanical results, that the residents of the community have own techniques of use of the species native. Subsequently a phytochemical and seasonal study was started to evaluate the variation of the content and chemical composition of the essential oil of *Hedyosmum brasiliense* Mart. The material was collected in the Saint-Hilaire / Lange-Matinhos-PR National Park. The essential oils of the study species were obtained by hydrodistillation in Clevenger type graduated apparatus. For analysis were considered only constituents equal to or greater than 1%. In total, 14 compounds were identified in the winter, 17 in the spring, 14 in the summer and 11 in the autumn. Among them, the *Biciclogermacrene* stands out as the majority in the samples analyzed. In addition, microbiological tests (antibacterial and antifungal) and enzymatic inhibition were also carried out during the research to explore the biological potential of the species. It was verified, in the microbiological assays that the oil from *Hedyosmum brasiliense* Mart. showed to be active against Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*, however, showed no activity against Gram-negative bacteria *Escherichia coli*. In the enzymatic inhibition assay, it was observed that the oil of the species inhibited the enzyme acetylcholinesterase, whereas it was not active against alpha-glucosidase. In addition, the antifungal assays showed that the junction of the oil with the antifungal Fluconazole presented better fungicidal action than the drug isolated against the URM 4262 strain of *Candida tropicalis*. Finally, it should be noted that ethnobotanical and phytochemical information are timely tools for the preservation of the species and scientifically subsidize the implementation of healthy public policies and strategies for Sustainable Territorial Development in the region.

Keywords: Bioprospecting. Essential oil. Ethnopharmacology. *Hedyosmum brasiliense* Mart. Sustainable Territorial Development.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – IMAGEM DE SATÉLITE DO PARQUE NACIONAL SAINT-HILAIRE/LANGE NO LITORAL DO PARANÁ - BRASIL.....	38
FIGURA 2 – ESPÉCIE NATIVA <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. NA MATA ATLÂNTICA (PARQUE NACIONAL SAINT-HILAIRE/LANGE-PR)....	39
FIGURA 3 – FRUTIFICAÇÃO DA <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. NO MÊS DE MARÇO DE 2018.....	40
FIGURA 4 – PROCEDIMENTO DE HIDRODESTILAÇÃO.....	48
FIGURA 5 – ÓLEO EXTRAÍDO COM APARELHO GRADUADO TIPO CLEVANGER	48
FIGURA 6 – PLACAS CULTIVADAS EM INCUBADORA VERTICAL PELO PERÍODO DE 24 H.....	52
FIGURA 7 – SERRA DA PRATA ONDE ESTÁ SITUADA A COMUNIDADE DO PARATI	57
FIGURA 8 – ACESSO AOS MORADORES NA COMUNIDADE DO PARATI	58
FIGURA 9 – AMOSTRA DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. ENCONTRADA NA COMUNIDADE DO PARATI- SERRA DA PRATA.....	58
FIGURA 10 – IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO MAJORITÁRIO <i>Biciclogermacreno</i> POR ANÁLISE DE PICOS NO SOFTWARE “GC-MS POSTRUN ANALYSIS”	76
FIGURA 11 – ESPECTROS E DADOS DA LITERATURA UTILIZADA PARA A IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO <i>Biciclogermacreno</i>	76
FIGURA 12 – IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO MAJORITÁRIO <i>Carotol</i> POR ANÁLISE DE PICOS NO SOFTWARE “GC-MS POSTRUN ANALYSIS”	77
FIGURA 13 – ESPECTROS E DADOS DA LITERATURA UTILIZADA PARA A IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO <i>Carotol</i>	77
FIGURA 14 – PLACA APÓS O PERÍODO DE 24 HORAS INCUBAÇÃO (SEM HALO DE INIBIÇÃO).	80
FIGURA 15 – PLACA APÓS O PERÍODO DE 24 HORAS INCUBAÇÃO (COM A PRESENÇA DO HALO DE INIBIÇÃO)..	82
FIGURA 16 – <i>Candida albicans</i> cepa INCQS 40006..	86
FIGURA 17 – <i>Candida albicans</i> cepa URM 4127.....	87

FIGURA 18 – <i>Candida tropicalis</i> cepa INQS 40042.....	87
FIGURA 19 – <i>Candida tropicalis</i> cepa URM 4262.....	88

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL POR ESTAÇÃO DO ANO	63
GRÁFICO 2 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO INVERNO (%)	68
GRÁFICO 3 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO PRIMAVERA (%)	70
GRÁFICO 4 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO VERÃO (%)	72
GRÁFICO 5 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO OUTONO (%).....	74
GRÁFICO 6 – INIBIÇÃO DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. EM MM, FRENTE À CEPA DE <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) POR ESTAÇÃO DO ANO	83
GRÁFICO 7 – INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ACETILCOLINESTERASE POR ESTAÇÃO DO ANO.....	91
GRÁFICO 8 – INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ALFA-GLUCOSIDASE POR ESTAÇÃO DO ANO	93

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – SÍNTESE CONCEITUAL DE DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA..	25
QUADRO 2 – COORDENADAS GEOGRÁFICAS DE COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	46
QUADRO 3 – FASES OCORRENTES DURANTE O PROCEDIMENTO DE HIDRODESTILAÇÃO.....	47
QUADRO 4 – PERFIL GERAL DOS PARTICIPANTES DA PESQUISA DE ETNOBOTÂNICA NA COMUNIDADE DO PARATI - SERRA DA PRATA, LITORAL DO PARANÁ.....	59
QUADRO 5 – USO DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. NA COMUNIDADE DO PARATI - SERRA DA PRATA, LITORAL DO PARANÁ.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DATA DE COLETAS DO MATERIAL PARA A EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO PERÍODO DE JULHO DE 2017 A JUNHO DE 2018	47
TABELA 2 – RENDIMENTO DO ÓLEO EXTRAÍDO DAS FOLHAS FRESCAS DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. POR ESTAÇÃO DO ANO	63
TABELA 3 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart., <i>Chloranthaceae</i> COLETADAS NO INVERNO DE 2017	67
TABELA 4 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart., <i>Chloranthaceae</i> COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2017	69
TABELA 5 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart., <i>Chloranthaceae</i> COLETADAS NO VERÃO DE 2018.....	71
TABELA 6 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart., <i>Chloranthaceae</i> COLETADAS NO OUTONO DE 2018	73
TABELA 7 –ANÁLISE DO ENSAIO ANTIBACTERIANO DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. EM CM, FRENTE À CEPA DE <i>Escherichia coli</i> (NCM3722).....	79
TABELA 8 –ANÁLISE DO ENSAIO ANTIBACTERIANO DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. EM CM, FRENTE À CEPA DE <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).	81
TABELA 9 – IC ₅₀ (µg/mL) DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. FRENTE À DIFERENTES ESTIRPES DE <i>Candida</i>	88
TABELA 10 – CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM µg/mL) DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. FRENTE À DIFERENTES ESTIRPES DE <i>Candida</i>	89
TABELA 11 – RESULTADO DO ENSAIO DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ACETILCOLINESTERASE	91

TABELA 12 –RESULTADO DO ENSAIO DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ALFA-GLUCOSIDASE.....	93
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Abs	- Absorbância
AChE	- Acetilcolinesterase
AT	- Antibiótico <i>Tetraciclina</i>
CA	- <i>Candida albicans</i>
CFM	- Concentração Fungicida Mínima
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
CT	- <i>Candida tropicalis</i>
DP	- Desvio Padrão
<i>E. coli</i>	- <i>Escherichia coli</i>
FURB	- Universidade Regional de Blumenau
FCZ	- <i>Fluconazol</i>
HB	- <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart.
IA	- Índice de Retenção Calculado
IA teórico	- Índice de Retenção da Literatura
IC	- Concentração Inibitória
IK	- Índice de Kovats
MO	- Massa do Óleo
MS	- Massa Seca
OEHB	- Óleo Essencial <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart.
OM	- Óleo Mineral
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PNPIC	- Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	- Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
<i>S. aureus</i>	- <i>Staphylococcus aureus</i>
SISGEN	- Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SISBIO	- Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SNC	- Sistema Nervoso Central
SUS	- Sistema Único de Saúde
URCA	- Universidade Regional do Cariri

LISTA DE SÍMBOLOS

α - alfa

β - beta

\geq - igual ou superior

% - Por cento

® - Registrado

μL - microlitro

μg - micrograma

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO 1: SÍNTESE E REVISÃO DA PESQUISA DE BIOPROSPECÇÃO E ETNOFARMACOLOGIA NO LITORAL PARANAENSE	22
1.1	OBJETIVOS	26
1.1.1	Objetivo geral	26
1.1.2	Objetivos específicos	26
1.2	PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICAS	27
1.3	RECURSOS NATURAIS, BIOPROSPECÇÃO E SABER AMBIENTAL	30
1.4	LITORAL DO PARANÁ, COMUNIDADES E DESENVOLVIMENTO TERRITORIAL SUSTENTÁVEL	33
1.5	FLORESTA OMBRÓFILA Densa NO CONTEXTO DA MATA ATLÂNTICA	36
1.6	CARACTERÍSTICAS FITOFISIONÔMICAS DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart.	39
1.7	USO SUSTENTÁVEL E POTENCIALIDADES DA ESPÉCIE	41
2	CAPÍTULO 2: ASPECTOS E PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	43
2.1	CONHECIMENTO ETNOBOTÂNICO	43
2.1.1	Coleta dos dados Etnofarmacológicos	45
2.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	46
2.2.1	Coleta do Material Vegetal	46
2.2.2	Identificação Botânica	47
2.2.3	Extração do Óleo Essencial e instrumentos	47
2.2.4	Cálculo do rendimento do Óleo Essencial	49
2.2.5	Identificação dos Compostos Químicos	50
2.3	ENSAIOS ANTIBACTERIANOS	51
2.3.1	Preparo dos Meios de Cultura	51
2.3.2	Semeadura da Bactéria	51
2.4	ENSAIOS ANTIFÚNGICOS	53
2.4.1	Cepas e Meios de Cultura	53
2.4.2	Drogas, reagentes e preparação de soluções	53
2.4.3	Determinação do efeito Antifúngico Intrínseco	54
2.4.4	Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)	54
2.4.5	Avaliação do efeito modificador da ação do <i>Fluconazol</i> por combinação	54

2.4.6	Análise Estatística	55
2.5	ENSAIOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA	55
2.5.1	Avaliação da atividade anticolinesterásica	55
2.5.2	Avaliação da atividade Alfa-glucosidase.....	56
3	CAPÍTULO 3 : RESULTADOS ETNOFARMACOLÓGICOS E QUÍMICOS	
	DA <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart	57
3.1	ETNOBOTÂNICA NA COMUNIDADE DO PARATI.....	57
3.2	ÓLEO ESSENCIAL: RENDIMENTO E FATORES ABIÓTICOS.....	62
3.3	IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS.....	66
3.4	RESULTADOS DOS ENSAIOS ANTIBACTERIANOS.....	79
3.4.1	Ensaio com a bactéria <i>Escherichia coli</i>	79
3.4.2	Ensaio com a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	81
3.4.3	Discussão dos resultados Antibacterianos	83
3.5	RESULTADOS DOS ENSAIOS ANTIFÚNGICOS.....	85
3.6	RESULTADOS DOS ENSAIOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA	89
3.6.1	Atividade Inibitória frente à enzima acetilcolinesterase	90
3.6.2	Atividade Inibitória frente à enzima α -glucosidase	92
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
	REFERÊNCIAS	98
	APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E	
	ESCLARECIDO.....	106
	APÊNDICE 2 –QUESTIONÁRIO DE CARACTERIZAÇÃO	108
	ANEXO 1 – CONSTITUINTES E ESTRUTURAS QUÍMICAS DO ÓLEO	
	ESSENCIAL DA ESPÉCIE <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart (ADAMS, 2017)	111

APRESENTAÇÃO

A pesquisa de produtos naturais tem alcançado nos últimos anos uma larga amplitude e diversificação na área das ciências ambientais. A sua importância revela-se por sua aplicação nos mais diversos campos de conhecimento, com os estudos direcionados ao entendimento e uso da biodiversidade. Além do interesse econômico, visando à utilização desses metabólitos na produção de perfumes, corantes, medicamentos, pesticidas, e entre outros, devem ser considerados os conhecimentos científicos que contribuem para o desenvolvimento de diversas áreas da ciência, tais como: Farmacologia, Botânica, Química Orgânica, Evolução e Ecologia Química. É importante ressaltar que toda a pesquisa relacionada à química de produtos naturais, deve ser desenvolvida no sentido de se evitar a exploração da natureza sem conservação da biodiversidade.

Os resultados desta dissertação originam-se de uma estratégia de pesquisa que parte de informações etnobotânicas e etnofarmacológicas, e seguem com a realização de extração e isolamento dos constituintes químicos do óleo essencial, prosseguindo com o isolamento e identificação estrutural dos compostos.

Nesse aspecto, é importante salientar que para uma espécie se tornar um fitoterápico é necessário passar por distintos processos de análise, dentre eles, a identificação das substâncias, assim como a identificação dos marcadores químicos.

O estudo da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. foi realizado no período de 24 meses com visitas à comunidade e coleta do material vegetal nas quatro estações do ano, coletando-se as folhas mais jovens para a extração do óleo essencial. Assim, o objetivo é apresentar o uso da espécie, bem como, seu potencial biológico.

Primeiramente, no **capítulo 1** é apresentada uma síntese e revisão sobre a temática discutida nesta dissertação, que abrange uma discussão sobre plantas medicinais, bioprospecção, desenvolvimento sustentável, bem como, informações sobre os objetivos da pesquisa e características da área de estudo.

A seguir, no **capítulo 2** são apresentados os aspectos metodológicos utilizados na pesquisa. Inicia-se com a abordagem etnobotânica, a metodologia de extração do óleo essencial da espécie, a formulação dos ensaios microbiológicos e por fim a descrição dos ensaios de inibição enzimática realizados com os óleos advindos da planta nas quatro estações do ano.

Prosseguindo, no **capítulo 3** apresentam-se os resultados da pesquisa etnofarmacológica no entorno da Serra da Prata, caracterizando o uso da espécie na região. Além disso, expõem-se os resultados da análise do óleo essencial, os ensaios antibacterianos, antifúngicos e de inibição enzimática.

E por fim, nas considerações finais é articulada uma discussão referente aos resultados obtidos, assim como, alguns apontamentos que podem subsidiar futuras pesquisas com a espécie em questão nas comunidades do litoral do Paraná, além de fundamentar com evidências científicas a implementação de políticas públicas saudáveis e de desenvolvimento territorial sustentável.

CAPÍTULO 1: SÍNTESE DA PESQUISA DE BIOPROSPECÇÃO E ETNOFARMACOLOGIA NO LITORAL DO PARANÁ.

No Litoral do Paraná está localizada uma grande porção de biodiversidade rica em recursos naturais, a Mata Atlântica. Este bioma tem sido alvo de interesses comerciais devido aos seus diversos atributos naturais. Nesse viés, é importante salientar que com o processo de globalização surgem novas instituições com atividades portuárias, comerciais e imobiliárias, essas que têm impactado significativamente as regiões costeiras e as comunidades residentes nesse território. Essas organizações se instalam no Litoral Paranaense sob a égide do desenvolvimento, mas distantes da preocupação com os ecossistemas e a conservação local.

Nesse aspecto, o uso desapoderado dos recursos pode gerar a escassez dos mesmos no ambiente natural e por consequência levar aos mais sérios desequilíbrios ambientais. “O crescimento equivale à tendência a produzir mais do que aquilo que foi gasto anteriormente (WEBER & BAILLY, 2002, p. 277)”. Esse procedimento é o grande causador da instabilidade no ambiente natural e resultante dos evidentes conflitos na sociedade contemporânea. Ademais, impactam de maneira negativa no bioma, pois alteram a paisagem e também influenciam diretamente na qualidade de vida da população.

Segundo a OMS, a saúde é “o estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doença (OMS,1946).” Ou seja, as condições de existência do ser humano e o risco o qual é exposto também é fator determinante para sua qualidade de vida. Sobre essa perspectiva, os fatores ambientais atuam, influenciam e modificam a sociedade.

Ademais, para a Organização Mundial da Saúde,

Saúde ambiental são todos aqueles aspectos da saúde humana, incluindo a qualidade de vida, que estão determinados por fatores físicos, químicos, biológicos, sociais e psicológicos no meio ambiente. Também se refere teoria e prática de valorar, corrigir, controlar e evitar aqueles fatores do meio ambiente que, potencialmente, possam prejudicar a saúde de gerações atuais e futuras (OMS, 1993).

Entretanto, a necessidade de consumo e exploração tem seguido contra esse ideal. “A utopia desenvolvimentista/industrialista prometeu que o desenvolvimento

das forças produtivas e a expansão da esfera econômica libertariam a humanidade da escassez, da injustiça e do mal-estar (RIGOTTO, 2002, pg. 254).” Contudo, sabe-se que esse processo evidenciou diversos conflitos socioambientais, de maneira que a exploração da natureza passou a ser o fator incômodo da sociedade moderna, gerando diversos problemas para a humanidade e predominantemente dentre eles a escassez dos recursos naturais e a desigualdade social.

Uma proposta de desenvolvimento só foi efetivada formalmente em 1987 por meio do relatório de *Brundtlandt*, que já previa a necessidade de nova relação entre o ser humano e o meio ambiente. O modelo imposto na década de 80 já listava as ações necessárias para preservação dos recursos naturais e promoção do desenvolvimento sustentável. Entretanto, as dificuldades de adaptação à sustentabilidade ainda é evidente até os dias atuais, em diversos setores.

Dentre eles, o progresso urbano para áreas rurais ainda é ocorrente em grande escala, desvalorizando a vida e as necessidades das populações que vivem em áreas de floresta.

Bem como relata Diegues. “A situação desses sistemas tradicionais de acesso a espaços e recursos de uso comum passou a ser ameaçada pelo processo relativamente recente de expansão urbano-industrial e abertura de novas fronteiras agrícolas (DIEGUES, 2002, p.415)”.

Segundo Leff (2011) as identidades étnicas passaram a definir distintos “sistemas de recursos naturais”.

É nesse sentido que a cultura está integrada dentro das condições gerais de uma produção sustentável; as identidades étnicas e valores culturais, assim como as práticas comunitárias para o manejo coletivo da natureza foram e são base para o desenvolvimento do potencial ambiental para o desenvolvimento sustentável de cada região e cada comunidade (LEFF, 2011, p.332).

Para Albuquerque (2005),

É esta valorização do conhecimento tradicional que dá à etnobotânica um caráter “subversivo”, do qual comunga a etnoecologia, por exemplo, reduzindo as diferenças entre o saber popular e o saber científico, porque são formas úteis de conhecimento que respondem às necessidades de grupos específicos (ALBUQUERQUE, 2005, p. 57).

Neste contexto, a presente pesquisa trata da investigação quanto ao uso de uma espécie nativa originária do bioma Mata Atlântica, bem como, conhecer as suas potenciais ações biológicas.

O enfoque principal é fornecer subsídios essenciais para elaboração de estratégias de desenvolvimento local e medidas de conservação, levando em consideração o conhecimento empírico referente à espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. e num programa de triagem de atividades biológicas, apresentar os resultados para a preservação da integridade cultural e social desse ecossistema.

A espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* Mart. é uma árvore nativa muito ocorrente no litoral paranaense. A planta popularmente conhecida como “Cidreira do Mato” pertence à família *Chloranthaceae* e possui distintas características, tais como: espécie vegetal dióica; heliófita (dependente da exposição solar); altura de aproximadamente 3-6 metros; folhas aromáticas e glândulas secretoras de óleos essenciais presentes nas folhas. A família *Chloranthaceae* é amplamente utilizada na medicina popular, entretanto, ainda é pouco investigada (VIDO, 2009).

Nesse sentido, é importante salientar que a família *Chloranthaceae* surge em locais específicos, sendo pouco encontrada como bem relata Souza & Lorenzi (2005) ao afirmar que “recentes estudos em filogenia têm sugerido que essa é uma família relativamente isolada, podendo ser considerada como a única representante de uma ordem à parte ou não ser incluída em qualquer ordem (SOUZA & LORENZI, p. 65, 2005)”.

Entre as comunidades do Litoral Paranaense já foi constatado em pesquisas anteriores (MACHADO, 2018), que a espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. é muito utilizada para o tratamento de dores de cabeça. Este levantamento reforça a necessidade de um plano mais abrangente de validação dos conhecimentos oriundos das comunidades tradicionais.

Sendo assim, parece oportuno a realização de identificação dos componentes ativos presentes na planta por meio do seu óleo essencial no intuito de explorar as propriedades biológicas da espécie, bem como, salientar a importância do uso adequado da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. na Mata Atlântica no Litoral do Paraná para viabilizar subsídios para a conservação da espécie e o Desenvolvimento Territorial Sustentável na região.

A síntese conceitual deste trabalho pode ser observada no **QUADRO 1** que contém as principais bases teóricas utilizadas para a fundamentação teórica.

QUADRO 1 – SÍNTESE CONCEITUAL DE DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

CONCEITOS	CONTEXTOS	PRINCIPAIS AUTORES
<i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart.	1. Caracterização da planta 2. Uso sustentável 3. Potencial Medicinal	1. LORENZI (2016) 2. LEITMAN (2010) 3. VIDO (2009), MURAKAMI <i>et al</i> (2017).
Bioprospecção	1. Conceito de bioprospecção 2. Acesso ao patrimônio genético	1. SANT'ANA (2002) 2. SILVA <i>et al</i> (2016)
Recursos Naturais	1. Importância da Mata Atlântica 2. Racionalidade Ambiental	1. TONHASCA JUNIOR (2005) 2. LEFF (2011)
Conservação	1. Estratégias de ecodesenvolvimento; 2. Preservação da Mata Atlântica	1. SACHS (1986) 2. LEI 11.428 (2006)
Etnobotânica	1. Conceituação 2. A importância cultural	1. ALBUQUERQUE (2005) 2. LEFF (2009)
Desenvolvimento Territorial Sustentável	1. Concepção de território 2. Construção do território	1. HAESBAERT (2008) 2. SAQUET (2009)
Plantas Medicinais e Fitoterápicas	1. Sistematização da indústria farmacêutica 2. Plantas medicinais 3. Preservação das espécies	1. FERNANDES (2004) 2. FONTE (2004) 3. SCHEFFER & JUNIOR (2004)
Sazonalidade	1. Fatores abióticos	1. MORAIS (2009)
Ensaio Microbiológicos	1. Ensaio antibacterianos 2. Ensaio antifúngicos	1. KIRCHNER <i>et al</i> (2009); LUCHESI (2017) 2. GIOLO & SVIDZINSKI (2010)
Atividade de inibição enzimática	1. Acetilcolinesterase; Alfa-glucosidase	1. GARETH (2003); RANG <i>et al</i> (2007).

Fonte: a autora, 2019.

Ademais, o presente estudo possui o seguinte problema ou questão de pesquisa: “O conhecimento químico e etnofarmacológico da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. no contexto do litoral Paranaense se configura em uma estratégia de conservação da diversidade biológica nesta região?”. Pensando nisso, buscou-se responder os seguintes itens de pesquisa:

- I. Disponibilidade da planta para a comunidade;
- II. Utilização e benefícios da espécie;
- III. Identificação e variação dos componentes químicos do óleo essencial;
- IV. Influência qualitativa e quantitativa da sazonalidade sob o óleo essencial;
- V. Potencial biológico da espécie.

Dessa forma, a partir destas questões, foram estabelecidos os objetivos para a concretização da pesquisa.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Aprofundar o conhecimento etnofarmacológico sobre a espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. no bioma Mata Atlântica no litoral do Paraná.

1.1.2 Objetivos Específicos

- I. Compreender as formas e técnicas de utilização da planta por uma comunidade tradicional no litoral do Paraná;
- II. Identificar os componentes químicos encontrados na espécie nativa por meio da análise do seu óleo essencial;
- III. Realizar um estudo de sazonalidade para verificar a variação da composição química e do rendimento do óleo essencial extraído da espécie de acordo com as distintas épocas do ano;
- IV. Realizar ensaios antimicrobianos e antifúngicos com o óleo essencial da espécie;

- V. Realizar ensaios biológicos de inibição enzimática do óleo essencial frente às enzimas alfa-glucosidase e acetilcolinesterase;
- VI. Validar o conhecimento empírico do uso da espécie em uma comunidade no litoral do Paraná.

1.2 PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICAS

As plantas medicinais são ervas que possuem atividades capazes de auxiliar no tratamento e cura das doenças. Segundo Fonte (2004), “substâncias farmacologicamente ativas fazem com que uma determinada planta seja considerada medicinal, sendo que tais substâncias passam a ser chamadas de princípios ativos (FONTE, 2004, p.29)”.

A prática terapêutica por meio de plantas medicinais sempre foi realizada pela humanidade, por meio de distintas formas de uso e medicação. Entretanto, durante o processo de evolução da indústria farmacêutica e o aumento da fabricação dos medicamentos sintéticos a eficácia da flora medicinal passou a ser colocada em segundo plano.

Fernandes (2004) destaca a influência negativa após introdução da terapêutica sintética sobre a terapêutica natural e uso das plantas medicinais como forma de tratamento de enfermidades.

as indústrias farmacêuticas brasileiras foram, em sua maioria, desativadas ou substituídas por empresas multinacionais, modificando então a prática médico-terapêutica que se afastou e, mesmo negligenciou a utilização de plantas medicinais (FERNANDES, 2004, p.13).

Nesse sentido, o pensamento de Lorenzi corrobora com essa reflexão ao afirmar que,

O acesso a medicamentos sintéticos e o pouco cuidado com a comprovação das propriedades farmacológicas das plantas tornou o conhecimento da flora medicinal sinônimo de atraso tecnológico, muitas vezes, charlatanismo (LORENZI, 2008, p.13).

Após algumas adversidades na área, o conhecimento referente às plantas com propriedades medicinais passa a ser sistematizado.

As novas tendências globais de uma preocupação com biodiversidade e as ideias de desenvolvimento sustentável trouxeram novas áreas ao estudo das plantas medicinais brasileiras, que acabaram despertando novamente um interesse geral na fitoterapia (LORENZI, 2008, p.14).

Assim, a fitoterapia abrange a terapêutica que visa à cura de enfermidades por meio das plantas medicinais e trata-se de uma forma de tratamento utilizada há muito tempo. “Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diferentes doenças (BRASIL, 2015, pg.22)”. Entretanto, sua importância passou a ser pleiteada recentemente.

Em 2006 foi criada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), essa que dentre os seus tratamentos alternativos visa à inclusão da terapêutica por meio de fitoterápicos. No mesmo ano, foi criado o “Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos” (PNPMF) por meio do decreto Nº 5.813, que estabelece em seus princípios a importância da valorização do conhecimento tradicional, do uso sustentável da biodiversidade brasileira e da ampliação das opções terapêuticas para a melhoria da atenção à saúde da população. Ademais, o programa estabelece a relevância do acesso da população aos fitoterápicos por meio do Sistema Único de Saúde (SUS) e da realização de novas pesquisas científicas de desenvolvimento tecnológico no quesito de plantas medicinais.

Conseqüentemente houve o aumento de estudos referente às potencialidades dos recursos naturais, do uso farmacológico das plantas, juntamente com a busca por novos fitoterápicos.

A fitoterapia utiliza-se das diversas partes das plantas, como raízes, cascas, folhas, frutos e sementes, de acordo com a erva em questão. Há também diferentes formas de preparação destas plantas, sendo o chá a mais utilizada, preparado por meio da decocção ou infusão. No primeiro processo a planta a ser utilizada é fervida junto à água, já no segundo a água é fervida sozinha e depois colocada sobre a planta, quando são liberados os seus princípios terapêuticos (BRASIL, 2009).

Reforça-se que os fitoterápicos são medicamentos produzidos por substâncias naturais, que quando não utilizados da forma correta, podem ser prejudiciais à saúde.

Para Lorenzi (2008), plantas medicinais somente por ser utilizadas como medicamento se de maneira adequada. Ademais afirma que,

a recomendação do seu uso como verdadeiramente medicinal ou, em outras palavras, como planta medicinal validada e incluída na Farmacopeia requer, numa condição ideal, ter identificado seu princípio ativo ou tê-lo evidenciado farmacologicamente (LORENZI, 2008, p. 16).

Ou seja, para a utilização racional das espécies medicinais também se faz necessário o conhecimento da real ação farmacológica da espécie utilizada.

Segundo Fonte (2004),

Não se pode esquecer que as plantas medicinais têm uma importância econômica que atinge dois extremos: de um lado a rentabilidade representada pela indústria farmacêutica e que concentra os lucros em poucos indivíduos e poucos países. De outro, a economia representada pela utilização das plantas medicinais visando atender à grande população mundial que não tem acesso ao medicamento, ou mesmo que tem acesso mas que prefere uma opção farmacêutica natural (FONTE, 2004, p.80).

Considerando que há esses dois extremos, surge ainda a preocupação com a biodiversidade e os recursos naturais.

Em meio a tantos avanços e também muitas preocupações e acompanhando as tendências globais de atenção e cuidado com a biodiversidade e o desenvolvimento sustentável – observa-se um gradativo retorno às fontes naturais de recursos e outras práticas, erroneamente chamadas de alternativas (FONTE, 2004, p.43).

Nesse aspecto, os estudos fitoquímicos têm avançado significativamente nas últimas décadas, esses que consistem em realizar um levantamento dos componentes químicos existentes nas plantas. Nesse sentido, as novas descobertas de potencialidades têm despertado interesse na indústria farmacêutica para fabricação de novos medicamentos de origem natural.

Fernandes (2004) afirma que

A indústria farmacêutica, por ocupar o terceiro lugar no comércio internacional entre os diversos setores industriais, em termos de volume de recursos, é considerada um setor atraente para investimentos, constituindo-se como mercado em potencial (FERNANDES, 2004, p.163).

Nesse sentido, muitas instituições se apropriam dos recursos vegetais para a criação de novos medicamentos de base natural, esses que são “fortes aliados para tratamentos de pessoas que preferem não ingerir medicamentos sintéticos e/ou não tem acesso aos mesmos (FONTE, 2004, p.80)”.

Reforça-se que a Mata Atlântica é uma das formações florestais mais ameaçadas no Brasil. Em contraste com sua enorme Biodiversidade e exuberância Natural, mais de 70% da população brasileira vive no território deste bioma, o que reforça a pressão antrópica sofrida.

Dessa forma, parece oportuno pensar não somente na cadeia produtiva de fitoterápicos, mas também no uso sustentável da biodiversidade dos ecossistemas.

Segundo Heinzmann & Barros (2007) é importante adotar medidas de conservação da biodiversidade “uma vez que a exploração de plantas nativas de uso medicinal, através da extração direta nos ecossistemas (extrativismo), tem levado a reduções drásticas das populações naturais dessas espécies (HEINZMANN & BARROS, 2007, p.46)”. Sheffer & Junior reforçam essa ideia ao afirmarem que,

A resistência ao cultivo das espécies nativas é grande, por sua aparente abundância e pela inexpressiva fiscalização no cumprimento de legislação, fazendo com que a matéria-prima oriunda de cultivos, embora de melhor qualidade, concorra com a obtida por extrativismo, de preço menor. Entretanto, a contínua exploração predatória destes recursos naturais torna escassa essa matéria-prima, o que refletirá num futuro aumento de seu preço (SCHEFFER & JUNIOR, 2004, p.10).

As espécies nativas são extraídas sem muita precaução, devido a sua ampla disponibilidade no interior da Mata Atlântica. Porém, os sistemas de reprodução das espécies são influenciados por diversos fatores ambientais e de consumo. É importante manter a integridade dos recursos naturais no Litoral do Paraná por meio de ações que visem o desenvolvimento sustentável da região e a preservação das espécies locais, uma vez que as plantas medicinais são utilizadas como matéria-prima para a fabricação de medicamentos, para o uso tradicional, ademais, são exportadas para outros países desprovidos da biodiversidade existente nesse território.

1.3 RECURSOS NATURAIS, BIOPROSPECÇÃO E SABER AMBIENTAL

Os recursos naturais são patrimônios da natureza essenciais para a sobrevivência do ser humano na sociedade moderna. Entretanto, o uso de forma acelerada dos elementos naturais ocasiona o desequilíbrio dos ecossistemas e potencializa a escassez da biodiversidade local. Desse modo, parece oportuno

repensar nas formas desenvolvidas pelo homem sob a gestão e uso dos recursos naturais.

Para Godard,

(...) a promoção de uma gestão integrada de recursos naturais e do meio ambiente pode nos levar não só ao questionamento de certas modalidades técnicas de exploração, mas também estimular a busca de transformações das condições sociais que cercam seu exercício (GODARD, 2002, p.209).

Segundo Sachs (1986, p. 25), a conservação dos recursos naturais é um elemento integrante das estratégias do ecodesenvolvimento. Ou seja, para que haja um processo criativo de sustentabilidade, se faz necessário primeiramente praticar a conservação dos recursos naturais. Aderir lógicas prudentes de utilização do meio ambiente, evitando desperdícios e mobilizando a sociedade para a efetivação do desenvolvimento sustentável.

Dentre as riquezas encontradas no Litoral Paranaense pode-se destacar a significativa porção de espécies nativas utilizadas para fins medicinais.

O litoral do Paraná apresenta uma grande diversidade de plantas com ação biológica não identificada e que precisam ser estudadas e valorizadas quanto a sua preservação nesse bioma. Essas iniciativas podem contribuir com a inovação tecnológica e introdução de novos produtos menos impactantes do ponto de vista socioambiental. No entanto, as mesmas requerem ações estratégicas, competências tecnológicas e esforços coletivos. (SILVA et al, 2016, p.230).

Sabe-se que não se trata somente da utilização das espécies, mas sim da forma de manejo e durabilidade no espaço onde é conservada. Nesse aspecto, se faz importante ressaltar a importância dos estudos na área para a conservação florestal da Mata Atlântica encontrada nesse território. Amaral e colaboradores (2016) destacam que

A prospecção de espécies aromáticas na Floresta Atlântica sinaliza a descoberta de novos óleos com grande potencial aromático ou farmacológico, com isso aumentará a viabilidade de manejo sustentável nesse ecossistema tão agredido e com tanta necessidade de preservação (AMARAL et al, 2016, p.126).

Silva & colaboradores apresentam a ideia de bioprospecção para o uso sustentável dos recursos naturais e afirmam que a bioprospecção é

uma fonte de novos compostos de origem natural com baixa toxicidade; possibilidade de geração de produtos com alto valor agregado que possam ser utilizados como material de partida em diferentes ramos da química fina; e, finalmente, novos produtos para melhoria da saúde humana e do meio ambiente (SILVA *et al*, 2016, p.231).

Segundo Almeida *et al* (2016), a bioprospecção “envolve um trabalho minucioso e guiado, a fim de escanear na natureza plantas, micro-organismos e metabólitos com potencial terapêutico para o tratamento de diversas doenças (ALMEIDA *et al*, p.155, 2016)”.

Para Sant’ana (2002), a bioprospecção corresponde ao setor de fitomedicamento, alimentação, cosmético e outros. Trata-se da investigação das diversidades biológicas por meio de recursos bioquímicos de valor comercial, mas também pode fazer uso do conhecimento tradicional. O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos tem sido uma prática constante entre a população residente entorno das áreas florestais. Estas espécies e ecossistemas são manejados de diversas formas e intensidades, o que confere a esta biodiversidade um caráter peculiar, academicamente chamado de *sociobiodiversidade*.

A sociobiodiversidade está relacionada às interações do homem com a natureza e suas territorialidades, o que compreende as diversidades culturais e dos ecossistemas, o que Diegues (2005) denomina *etno-bio-diversidade*.

Desta forma, destaca-se a importância dos significados atribuídos pelo ser humano aos recursos naturais. A integridade da biodiversidade local não somente depende das comunidades que a cercam como também são construídas por meio das atividades cotidianas de manejo e apropriação da natureza.

Segundo Leff (2000) devem-se considerar as experiências e os diversos modos de vida dentro do território. E contribui com o debate ao afirmar que

Os princípios de diversidade cultural e de racionalidade ambiental fundamentam a construção de um novo conceito de produtividade sustentável, que rompe a oposição entre conservação e crescimento. Não se trata só de preservar espaços de conservação de recursos e microeconomias marginais de subsistência. Não basta incorporar tecnologias limpas e programas de recuperação ecológica a processos produtivos contaminadores, redutores da biodiversidade e destruidores da fertilidade dos solos. A racionalidade ambiental gera espaços de produção sustentada, fundados na gestão participativa dos povos e na capacidade ecológica de sustentação da base de recursos de cada região. Estes processos estruturam um sistema de recursos naturais culturalmente definido e geram um conjunto de práticas de produção e consumo sustentáveis a longo prazo (LEFF, 2000, p. 127-128).

Evidentemente, o contínuo sistema de saberes contido no território gera subsídios para o desenvolvimento territorial sustentável e conseqüentemente a conservação da Mata Atlântica do litoral paranaense.

Para Leff (2011),

a valorização dos recursos naturais está sujeita a temporalidades ecológicas de regeneração e produtividade que não correspondem aos ciclos econômicos; da mesma maneira os valores e interesses sociais que definem o significado cultural, as formas de acesso e os ritmos de extração e transformação dos recursos naturais constituem processos simbólicos e sociais, de caráter extraeconômico, que não se traduzem nem se reduzem a valores e preços do mercado (LEFF, 2011, p. 65).

Dessa forma, é importante pensar em um novo plano de desenvolvimento que vise à sustentabilidade, essa que “fundada em princípios de equidade, diversidade e democracia, abre perspectivas sociais mais amplas que o simples reverdecimento da economia através do cálculo dos custos da preservação e da restauração ambiental (LEFF, 2011, p.66-67)”.

Segundo LEFF (2011) a racionalidade ambiental,

internaliza a incomensurabilidade dos processos que a constituem (potencial ecotecnológico, diversidade étnica, significado cultural), como um princípio epistemológico e político, rompendo com a ordem homogeneizante e dominante, incluindo os enfoques críticos da economia ecológica (LEFF, 2011, p.74).

A racionalidade ambiental descrita pelo autor cria pontes para a nova compreensão e estruturação social, que “se orienta por valores culturais diversos e se defronta com interesses sociais opostos; nela se entrelaçam relações de poder pela reapropriação da natureza e pela autogestão dos processos produtivos (LEFF, 2011, p.75)”.

1.4 LITORAL DO PARANÁ, COMUNIDADES E DESENVOLVIMENTO TERRITORIAL SUSTENTÁVEL

O litoral Paranaense em toda sua extensão possui um potencial biológico imensurável. Contudo, Horochovski, Silva & Ferreira (2016) salientam que “o litoral do Paraná é uma região com grande disparidade socioambiental, notadamente na

área rural (HOROCHOVSKI, SILVA & FERREIRA, 2016, p.17)". Nesse aspecto, pode ser destacado que muitas empresas expandem suas atividades comerciais distantes da preocupação ambiental e da conversação local.

Leff (2009) destaca a importância da sustentabilidade ecológica para evitar a escassez dos recursos naturais. "O princípio da sustentabilidade emerge, assim, no contexto da globalização econômica, como uma nova visão do processo civilizatório da humanidade (LEFF, 2009, p. 206)." Ademais, salienta que "o desenvolvimento sustentável está vinculado, desta maneira, a um processo político de mudanças teóricas, técnicas e sociais (LEFF, 2009, p. 222)".

As culturas e suas práticas tradicionais de convivência e manejo sustentável da natureza vêm sendo reconhecidas, não só por seu valor econômico na bioprospecção de novas intervenções tecnológicas nos organismos biológicos, como também na sustentabilidade ecológica do planeta (LEFF, 2009, p. 272).

Para Leff (2009) o território se trata de um "lugar onde a sustentabilidade se fundamenta em bases ecológicas e em identidades culturais (LEFF, 2009, p. 274)". O autor em sua abordagem destaca que nesse espaço "surgem tempos diferenciados, onde se articulam identidades culturais e potencialidades ecológicas (LEFF, 2009, p. 274)".

Haesbaert (2008) afirma que o território não deve ser visto apenas como um objeto em sua materialidade, bem como deve ser reconhecido em sua dimensão simbólica. "Portanto, todo território é, ao mesmo tempo e obrigatoriamente, em diferentes combinações, funcional e simbólico, pois exercemos domínio sobre o espaço tanto para realizar "funções" quanto para produzir "significados" (HAESBAERT, 2008, p. 21)".

Segundo a abordagem de Saquet (2009) é extremamente importante compreender como interagem os atores na construção do território.

No que se refere ao caráter social do território, é extremamente relevante identificar, demonstrar e explicar as mudanças e permanências, as desigualdades (ritmos), as diferenças, o processo histórico, enfim, aspectos das tramas efetivadas na forma de tempos e territórios, temporalidades e territorialidades, numa perspectiva de compreensão espaço-temporal-territorial destacando a combinação território-redelugar, por sua vez; centrada na conjugação entre heterogeneidade e traços comuns da vida cotidiana no campo e na cidade, no rural e no urbano. (SAQUET, 2009, p. 91).

No litoral paranaense há muitas populações que fazem parte da construção desse espaço territorial. Segundo Araujo *et al* (2018),

No litoral do Paraná, há outras comunidades tradicionais que, mesmo não organizadas em um Movimento propriamente dito, se reconhecem e são reconhecidos pela sociedade por suas identidades específicas, por exemplo, caiçaras, indígenas guaranis, quilombolas, cipozeiros. Todos estes povos/comunidades fazem uso da biodiversidade para o auto-sustento e/ou para geração de renda, desde plantas alimentícias e medicinais, pequenos animais, recursos pesqueiros, até, em uma escala maior, ecossistemas florestais, restingas, manguezais, estuários e do ambiente marinho. (ARAUJO *et al*, 2018, p.891).

Devido a isso, as territorialidades construídas por populações são imprescindíveis para desenvolvimento sustentável, pois as comunidades litorâneas contribuem para a conservação da biodiversidade local e da Mata Atlântica.

Logo o papel das comunidades locais, que necessitam dos recursos naturais, tem sido reconhecido em vários aspectos: como colaboradoras na implementação e sucesso de propostas de manejo e uso sustentável; como provedoras de informações biológicas e ecológicas do ambiente como um todo, ou de espécies em particular; e mais especificamente no aspecto social, como uma forma de melhorar a qualidade de vida das pessoas que dependem dos recursos naturais, implantando uma base para o desenvolvimento local e a gestão participativa dos recursos naturais.

Apesar do avanço científico e acúmulo de informações biológicas e ecológicas na esfera acadêmica, notadamente nos últimos anos, as abordagens pouco têm contribuído de modo eficaz, objetivo, rápido e direto para a conservação dos recursos naturais, principalmente em regiões de Mata Atlântica como o litoral do Paraná.

Sobretudo, há também uma necessidade de conservação dos recursos biológicos no sentido de reconhecer as práticas de manejo da biodiversidade e sua relação com o território tradicionalmente ocupado. Isso tudo se configura em uma maneira de contribuir academicamente com possíveis iniciativas de desenvolvimento sustentável dos territórios e comunidades litorâneas.

1.5 FLORESTA OMBRÓFILA DENSA NO CONTEXTO DA MATA ATLÂNTICA

No litoral do Paraná está situada a porção de Mata Atlântica mais preservada do Brasil, nesse território estão localizadas áreas protegidas que visam assegurar a integridade dos recursos naturais.

Dentre as unidades de conservação pode-se destacar o Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange. O Litoral do Estado do Paraná está situado na parte sul do Brasil e sua vegetação apresenta uma Floresta Ombrófila Densa (Mata Atlântica), que abrange grande parte desse território, sendo sua biodiversidade utilizada para fins de diversos interesses comerciais e para a comunidade em geral.

A Mata Atlântica no litoral do Paraná em toda sua extensão possui um grande potencial biológico. À vista disso, pode-se destacar como exemplo a *Cordia verbenácea*, mas conhecida como Erva Baleeira, uma espécie nativa muito utilizada no litoral paranaense. Esta espécie possui propriedades medicinais e apresenta ação antiinflamatória.

Para Varjabedian (2010),

a Mata Atlântica é considerada um dos maiores repositórios de biodiversidade do planeta e detém o recorde de plantas lenhosas (angiospermas) por hectare (450 espécies no sul da Bahia), e cerca de 20 mil espécies vegetais, sendo oito mil delas endêmicas, além de recordes de quantidade de espécies e endemismo em vários outros grupos de plantas (VARJABEDIAN, 2010, p.147).

O domínio da Mata Atlântica é uma rica área em biodiversidade, tanto em sua fauna quanto em sua flora. Os atributos naturais das áreas florestais são atrativos para a especulação comercial e têm sido exploradas por décadas as vistas do interesse financeiro. Para Tonhasca Junior (2005) “as ações predatórias contra este patrimônio biológico da humanidade estão menos sujeitas à impunidade devido a reações por parte de organizações não governamentais de defesa do ambiente, imprensa e órgãos públicos (TONHASCA JUNIOR, 2005, p.3)”.

Notadamente, o bioma não obteve um prudente tratamento de área ameaçada, conseqüentemente se intensificou a necessidade de uma proteção ecológica para acompanhar o avanço industrial. A intensa pressão antrópica sobre esse bioma reativou a preocupação com as ameaças que o cercavam e a relevância de uma proteção ambiental.

O art. 7 da Lei 11.428/2006 apresenta condições para as dinâmicas de proteção ao Bioma Mata Atlântica. A lei em si tem por objetivo assegurar a recuperação e a manutenção da biodiversidade das áreas florestais pensando nas presentes e nas futuras gerações. Além disso, a “Lei da Mata Atlântica” assegura a proteção e utilização consciente do bioma e sua biodiversidade.

Nesse aspecto, considera-se como efeito da Lei da Mata Atlântica (2006) a prospecção sustentável, de maneira a garantir a perenidade dos recursos, mantendo a biodiversidade presente nos ecossistemas de forma socialmente justa e economicamente viável.

A Mata Atlântica ocupa um espaço significativo dentro do território brasileiro, a diversidade desse ecossistema traz uma discussão preservacionista e de grande relevância para estratégias de conservação desse bioma.

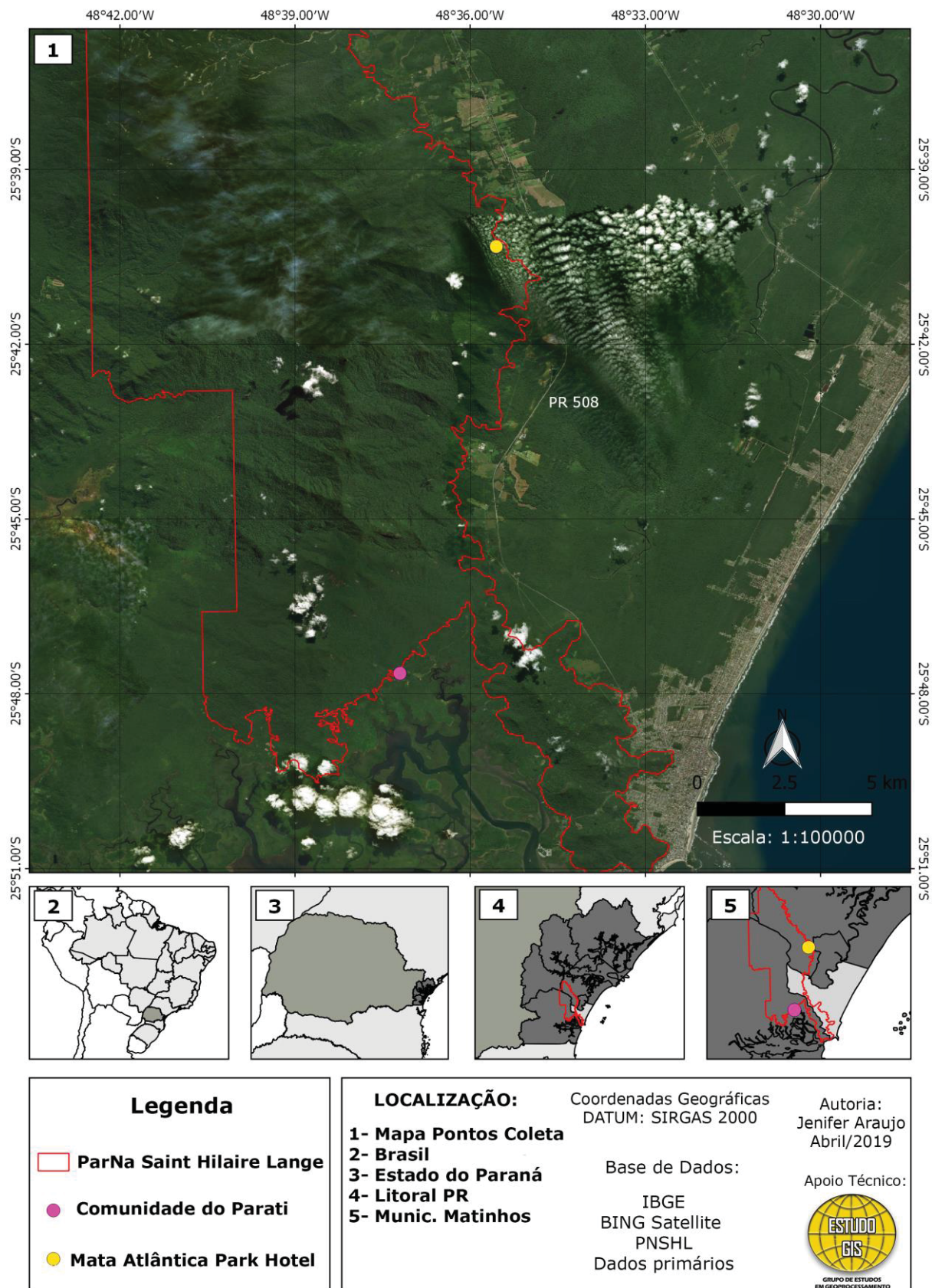
Uma grande parte da Mata Atlântica preservada no litoral paranaense encontra-se protegida pelo Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange- Serra da Prata, área situada a 100 km de Curitiba capital do estado do Paraná. “O parque Nacional Saint-Hilaire/Lange está localizado na porção sul do litoral do Estado do Paraná, abrangendo parte dos municípios de Matinhos, Guaratuba, Morretes e Paranaguá, ocupando uma área de, aproximadamente, 25.000 hectares (BUZZATO, 2009, p. 26)”.

O parque nacional existente nesse território foi criado por meio da Lei Nº 10.227, de 23 de maio de 2001, a fim de assegurar a estabilidade ambiental, manter a conservação dos ecossistemas da região, bem como, certificar a qualidade de vida da população existente nas litorâneas.

Em todo entorno florestal da área de conservação da Serra da Prata podem ser observadas diversas espécies nativas úteis para a população da região. A fauna e flora local são ricas em espécies, inclusive em extinção. Dentre a ampla diversidade existente nesse território, pode ser encontrada a árvore *Hedyosmum brasiliense* Mart., que se destaca por ser extraída e manejada para uso medicinal.

A **FIGURA 1** apresenta a área que abrange o parque Nacional Saint-Hilaire/Lange e a localização dos pontos de coleta do material vegetal e dos dados etnobotânicos da HB para a presente pesquisa.

FIGURA 1 – IMAGEM DE SATÉLITE DO PARQUE NACIONAL SAINT-HILAIRE/LANGE NO LITORAL DO PARANÁ- BRASIL



1.6 CARACTERÍSTICAS FITOFISIONÔMICAS DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart.

A espécie nativa em estudo é denominada cientificamente *Hedyosmum brasiliense* Mart. e conhecida popularmente como, Cidreira do mato; erva de soldado; chá de bugre e entre outras denominações.

Entre suas características mais marcantes está o fato de ser uma árvore pioneira e heliófita, planta que para o seu desenvolvimento necessita de total exposição solar, sua altura pode atingir até 6 metros e seu diâmetro médio é de 20 centímetros (**FIGURA 2**).

FIGURA 2 – ESPÉCIE NATIVA *Hedyosmum brasiliense* Mart. NA MATA ATLÂNTICA (PARQUE NACIONAL SAINT-HILAIRE/LANGE-PR)



Fonte: a autora, 2019.

A *Hedyosmum brasiliense* Mart. pertence à família *Chloranthaceae*, que é constituída por 4 gêneros com 80 espécies. Segundo Vido (2009) a *Chloranthaceae* é “uma família botânica muito utilizada na medicina popular, logo com amplas possibilidades de possuir potencial farmacológico, porém relativamente pouco investigada (VIDO, 2009, p. 12)”. A família *Chloranthaceae* possui características de plantas arbóreas, medianas e com células de óleos essenciais.

Lorenzi (2016) relata suas características morfológicas,

Altura de 3-6 m, dioica, dotada de copa irregular, com folhagem decídua, ramos nodosos e carnosos, de tronco tortuoso, de 15-25 cm de diâmetro, revestido por casca áspera e partida, de cor acinzentada. Folhas mais ou menos carnosas, aromáticas, com bainha peciolar frouxa e parte livre do pecíolo de 0,7-1,6 cm; lâmina glabra em ambas as faces, de 8-9 cm de comprimento por 2,5-5,0 cm de largura (LORENZI, 2016, p.79).

Nesse aspecto, cabe destacar que a *Hedyosmum brasiliense* Mart. apresenta características de espécie vegetal díoica, ou seja, que apresenta sexos feminino e masculino em indivíduos distintos.

A floração da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. ocorre entre os meses de agosto e novembro. Lorenzi (2016) caracteriza as inflorescências da espécie como “axilares e terminais, as masculinas compostas por 3-8 espigas e as femininas paniculadas e envoltas por brácteas florais carnosas unidas na base (LORENZI, 2016, p.79)”. Ademais, caracteriza o fruto da planta como “do tipo drupa globosa, levemente trígona, leitosa, com cálice persistente envolvido por brácteas carnosas (LORENZI, 2016, p.79)”.

A frutificação da espécie ocorre entre os meses de dezembro a março (**FIGURA 3**).

FIGURA 3 – FRUTIFICAÇÃO DA *Hedyosmum brasiliense* Mart. NO MÊS DE MARÇO DE 2018



Fonte: a autora, 2018.

A *Hedyosmum brasiliense* Mart. pode ser observada em áreas brejosas. Lorenzi (2016) ainda destaca sua ocorrência entre o "sul do Pará até o Paraná, principalmente na Mata Atlântica, estendendo-se para a região central do país nas matas de galeria (LORENZI, 2016, p.79)". Entre os locais de seu habitat destacam-se as seguintes áreas: Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica, na floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista e Floresta Estacional Semidecidual. "A árvore produz muitos frutos apreciados pela avifauna, podendo ser incluída em reflorestamentos heterogêneos destinados a áreas de preservação, principalmente de terrenos brejosos (LORENZI, 2016, p.79)."

1.7 USO SUSTENTÁVEL E POTENCIALIDADES DA ESPÉCIE

Segundo Sachs (2009) é necessário à promoção de estratégias para fomentar o desenvolvimento sustentável. "Subsídios bem dimensionados podem ter um importante papel na promoção de padrões de aproveitamento de recursos sustentáveis (SACHS, 2009, pg. 56)". O uso empírico de maneira ecologicamente sustentável garante a conservação da espécie nativa e também o aproveitamento dos seus compostos para fins medicinais.

A *Hedyosmum brasiliense* Mart. apresenta distintas formas de uso sustentável utilizado pelas comunidades tradicionais no litoral paranaense, tais como: chá, infusão, maceração de suas folhas, óleos essenciais entre outras formas de uso.

Ademais, informações etnobotânicas indicam que os amentilhos e folhas são utilizados na medicina popular, sendo usadas como antirreumática, analéptica, febrífuga, antidiarréica, e antidisentérica. Na forma de vinho, é tônica e afrodisíaca. Há indicações desta planta também para cefalalgias, dores de cabeça, doenças do ovário, frieiras, afecções estomacais, doenças pulmonares e urinárias e feridas em geral (LEITMAN, 2010).

Os óleos essenciais da espécie também são amplamente utilizados em pesquisas fitoquímicas. Nesse aspecto, é importante salientar o potencial farmacêutico da *Hedyosmum brasiliense* Mart. obtido com a análise das suas folhas.

Vido (2009) em sua pesquisa com as folhas da espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* Mart., conclui que os óleos essenciais extraídos das folhas apresentam respostas antimicrobianas frente à *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*,

Escherichia coli e *Pseudomonas aeruginosa*. “Estes resultados, agregados ao bom rendimento, justificam a continuidade das investigações dos óleos essenciais desta espécie para fins farmacêuticos (VIDO, 2009, p. 64)”.

Segundo Guedes (1997) a espécie “possui importantes atividades analgésicas e antimicrobianas, o que vem de encontro a sua utilização na medicina popular (GUEDES, p.120, 1997)”.

O estudo realizado por Murakami *et al* (2007), na Ilha do Cardoso em São Paulo, com o óleo essencial da *Hedyosmum brasiliense* Mart. revela uma potencial atividade antifúngica e antioxidante da espécie.

Furtado (2018) em seu estudo destaca que os óleos da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. são possíveis “promissores agentes citotóxicos frente a células tumorais de mama triplo-negativas (MDA-MB-231) (FURTADO, p.64, 2018)”.

Ainda, segundo Furtado (2018),

estes óleos são fontes de moléculas que podem desempenhar um importante papel na descoberta de novas terapêuticas para o tratamento de tumores estrógeno-negativos, que são mais agressivos e não responsivos aos tratamentos hormonais (FURTADO, p.64, 2018).

Ferreira & Alves (2008) efetivaram um teste de atividade diurética da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. no qual verificaram sua eficácia e aumento da diurese sem alteração da pressão arterial, o que valida à indicação para tratamentos de problemas renais.

Escassos ainda são os estudos que tem como objetivo identificar os princípios ativos responsáveis por atividades farmacológicas de *Hedyosmum brasiliense* Mart.

Destaca-se o estudo de Trentin e colaboradores (1999) com o extrato hidroalcolico e a lactona sesquiterpênica isolada do mesmo extrato denominada 13-HDS (13-hidroxi-8,9- dehidro-shizukanolida). Esses produziram pronunciado efeito analgésico dose-dependente em ensaios de constrição abdominal induzida por injeção intraperitoneal de ácido acético em ratos, sendo esta última mais efetiva que aspirina, acetaminofeno e dipirona, porém menos efetiva que a morfina.

CAPÍTULO 2: ASPECTOS E PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Este capítulo, de modo geral, expõe tecnicamente o processo realizado para a concretização dessa pesquisa.

A metodologia do estudo foi efetivada cinco etapas cruciais:

- I. Análise do conhecimento etnobotânico da espécie;
- II. Extração do óleo essencial e caracterização química;
- III. Ensaio antibacterianos;
- IV. Ensaio antifúngicos;
- V. Ensaio de inibição enzimática.

Primeiramente, foi realizado um estudo etnobotânico para obtenção de dados oportunos para maior compreensão sobre a espécie.

Em um segundo momento, realizou-se uma coleta e extração dos óleos essenciais advindos da *Hedyosmum brasiliense* Mart., dos quais foram identificados os compostos e realizados os ensaios antibacterianos, antifúngicos e de inibição enzimática.

2.1 CONHECIMENTO ETNOBOTÂNICO

A etnobotânica é a ciência que investiga as interações humanas com os recursos naturais disponíveis. Segundo Albuquerque (2005) o termo Etnobotânica,

insere-se no domínio mais amplo da etnobiologia, e esta compreende, entre outras coisas, o estudo dos sistemas de classificações do mundo vivo por qualquer cultura. Ou melhor dito, é o estudo do conhecimento e das conceituações desenvolvidas por qualquer cultura sobre os seres vivos e os fenômenos biológicos (ALBUQUERQUE, 2005, p.4).

As comunidades utilizam de métodos próprios de uso das espécies. “Muitas plantas, sejam isoladas ou em combinação com outros elementos, podem ter um papel no mecanismo de regulação social de uma sociedade (ALBUQUERQUE, 2005, p. 11).”

Para Albuquerque (2005), “é desejável que o investigador se envolva com o investigado, com uma ênfase participativa, produzindo conhecimento pela interação do saber tradicional com o saber científico (ALBUQUERQUE, 2005, p. 57)”.

Segundo Leff (2009) “estudos etnobotânicos adquirem uma importância relevante nesta construção historiográfica das relações entre as diferentes culturas e seus recursos bióticos, merecendo, por isso, especial atenção (LEFF, 2009 p. 105).”
E ainda sistematiza,

A etnobotânica analisa as inter-relações entre a evolução das comunidades florísticas e a viabilidade histórica dos diferentes cultivos, assim como a interdependência entre a estrutura global do ecossistema e a capacidade de exploração e aproveitamento do meio vegetal por uma cultura (LEFF, 2009, p. 108).

Dessa maneira, se insere como uma importante ferramenta para compreensão das dinâmicas entre o homem e a natureza. Leff (2009) expõe a influência das populações para continuidade e integridade dos ecossistemas, ao descrever que,

A preservação e o aproveitamento produtivo da biodiversidade dependem das organizações culturais que vivem em ecossistemas particulares e desenvolvem estilos próprios de manejo do seu ambiente, gerando formas particulares de seleção e regeneração de espécies que transformam os ecossistemas, para convertê-los em sistemas de recursos com uma oferta de satisfactores para a comunidade (LEFF, 2009, p. 132).

As comunidades são de fato provedoras de informações biológicas e ecológicas do ambiente como um todo, ou de espécies em particular e mais especificamente no aspecto social, como uma forma de melhorar a qualidade de vida das pessoas que dependem dos recursos naturais, implantando uma base para o desenvolvimento local e a gestão participativa dos recursos naturais.

O Brasil é reconhecido por sua biodiversidade. Essa riqueza biológica torna-se ainda mais importante porque está aliada a uma sociodiversidade que envolve vários povos e comunidades, com visões, saberes e práticas culturais próprias. Na questão do uso terapêutico das plantas, esses saberes e práticas culturais estão intrinsecamente relacionados aos territórios e seus recursos naturais, como parte integrante da reprodução sociocultural e econômica desses povos e comunidades. Nesse sentido, é imprescindível promover o resgate, o reconhecimento e a valorização das práticas tradicionais e populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros, como elemento para a promoção da saúde, conforme preconiza a Organização Mundial da Saúde (BRASIL, 2009, p.47).

Evidentemente, que esse processo informativo no qual são repassadas as formas de utilização e manejo da natureza é precursor de uma divulgação cultural onde se expõe a importância e eficácia terapêutica dos recursos vegetais para a população. Entretanto, sabe-se que quando se trata de áreas florestais além dos benefícios existentes, há certos riscos que não se encontram em evidência, como as espécies que precisam ser consumidas em poucas dosagens e as que são ingeríveis ou tóxicas.

Sendo assim, primeiramente, parece oportuno conhecer as formas de uso da espécie e sua influência na comunidade investigada.

2.1.1 Coleta dos Dados Etnofarmacológicos

A coleta de dados foi realizada na comunidade do Parati, área protegida pelo Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange, litoral do Paraná, Brasil. O acesso à comunidade do Parati é realizado somente por meio de embarcações por volta de 40 minutos, ou estrada de chão por um período de 2 horas de caminhada.

A pesquisa etnoecológica foi de natureza descritiva-explicativa e qualitativa, envolvendo cinco participantes, sendo três mulheres e dois homens, que colaboraram com os seus conhecimentos referente à espécie. Foi utilizada uma amostra da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. para o reconhecimento da comunidade sobre os métodos e usos da planta. Durante o processo de identificação foram visitadas 5 residências locais para a aplicação das entrevistas. Para os questionários aplicados solicitou-se aos participantes assinar o termo de autorização, permitindo a realização da pesquisa. Sendo necessário o participante aceitar voluntariamente participar do estudo e assinar o Termo de Consentimento Livre e esclarecido, antes de responder ao questionário.

As técnicas utilizadas para o desenvolvimento desse trabalho foram: contato inicial com a comunidade e com os informantes/parceiros da pesquisa por meio de visita as residências; entrevistas semi-estruturadas contendo perguntas fechadas e/ou abertas; anotações durante os relatos e gravações, abordando aspectos do uso da planta; anotações de informações adicionais, contemplando inclusive a história da comunidade e percurso de trilhas no ambiente em companhia de informantes.

A amostragem e seleção dos informantes para o estudo foi realizada segundo a técnica Bola de neve (“Snow Ball”), onde os informantes indicam os possíveis colaboradores da pesquisa (BAILY, 1994). Os informantes-chave reconhecem mosaicos de unidades de paisagem, com biodiversidade e dinâmicas próprias. O principal intuito de visita constituiu em identificar os distintos métodos e usos da espécie existentes na região.

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

2.2.1 Coleta do Material Vegetal

Para coleta do material vegetal optou-se pela trilha com aproximadamente 100 metros de altitude, situada dentro do Mata Atlântica Park Hotel, área protegida pelo Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange, Paraná, Brasil. Para extração do óleo essencial foram coletadas folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart. de quatro pontos da Mata Atlântica, sendo o primeiro com elevação de 25 metros, o segundo a 26 metros, o terceiro a 48 metros e o quarto a 98 metros de altitude. Conforme **QUADRO 2**.

QUADRO 2 – COORDENADAS GEOGRÁFICAS DE COLETA DO MATERIAL VEGETAL

ELEVAÇÃO	LOCAL
25 M	25° 67'17"S 48° 58' 29"
26 M	25° 67'17"S 48° 58' 29"
48 M	25° 67'17"S 48° 58' 29"
98 M	25° 67'17"S 48° 58' 29"

Fonte: a autora, 2019.

As coletas da espécie foram realizadas em cada uma das quatro estações do ano, sendo a primeira no mês de julho de 2017, a segunda no mês de novembro de 2017, a terceira no mês de março de 2018 e por fim no mês junho de 2018. Conforme **TABELA 1**.

TABELA 1 – DATA DE COLETAS DO MATERIAL PARA A EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO PERÍODO DE JULHO DE 2017 A JUNHO DE 2018

ESTAÇÃO DO ANO	DATA DA COLETA	PERÍODO
INVERNO	07.07.2017	Tarde
PRIMAVERA	24.11.2017	Manhã
VERÃO	10.03.2018	Manhã
OUTONO	18.06.2018	Manhã

Fonte: a autora, 2019.

Após a coleta as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Ciências e Anato-Morfologia da Universidade Federal do Paraná- Setor Litoral em Matinhos-PR para a realização do processo de extração do óleo.

2.2.2 Identificação Botânica

Para a confirmação da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart, foi realizada uma exsicata do material vegetal coletado (folhas, galhos e frutos) e depositada no herbário da UFPR. Um especialista botânico realizou a identificação por meio das estruturas fitofisionômicas da planta.

A espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. possui cadastro no SISGEN sob o número A216E5A e autorização de coleta do SISBIO número 49770-4.

2.2.3 Extração do Óleo Essencial e Instrumentos

Durante o procedimento de extração, o material recolhido foi submetido à hidrodestilação ainda fresco. Para a obtenção dos óleos essenciais foi utilizado o método de hidrodestilação que consiste em um ciclo que compreende sequencialmente 5 estágios, como relatado no **Quadro 3** a seguir.

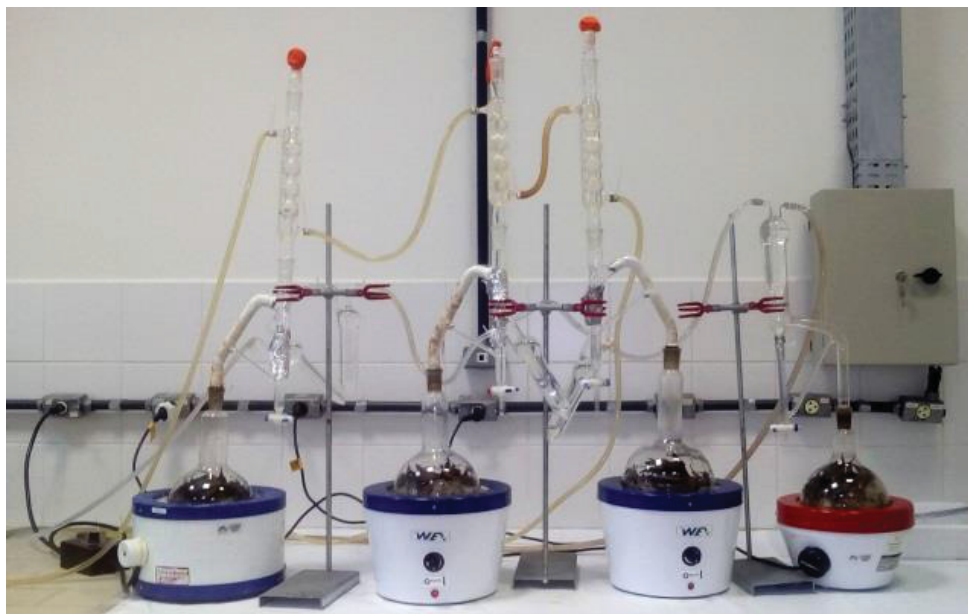
QUADRO 3 – FASES OCORRENTES DURANTE O PROCEDIMENTO DE HIDRODESTILAÇÃO

ESTÁGIO	FASE	FENÔMENO
A	Aquecimento	Aumento da temperatura
B	Evaporação	Arraste dos componentes voláteis do óleo essencial
C	Condensação	Sistema de resfriamento
D	Liquefação	Retorno do material ao estado líquido
E	Decantação	Separação da água e óleo por diferença de densidade

Fonte: a autora, 2019.

Na figura **FIGURA 4** abaixo, a hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger acoplado ao balão.

FIGURA 4 – PROCEDIMENTO DE HIDRODESTILAÇÃO.



Fonte: a autora, 2019.

Durante o processo é ocorrido simultaneamente à separação da água e óleo por meio da decantação como demonstra a **FIGURA 5** a seguir.

FIGURA 5 – ÓLEO EXTRAÍDO COM APARELHO GRADUADO TIPO CLEVANGER.



Fonte: a autora, 2019.

Para o processo de hidrodestilação foram pesadas 100 g do material em balança eletrônica de alta precisão modelo AD33OS e colocadas em balão de 2000 mL, a seguir adicionou-se 1000 mL de H₂O destilada.

Durante o procedimento foi utilizado aparelho graduado tipo clewenger (5ml/35cm), isolado com papel alumínio para evitar que a luz entrasse em contato com o material extraído e para o funcionamento do sistema de resfriamento foram usados condensadores de vidro (15cm). Desse modo, foram realizadas triplicadas (R1, R2, R3) em temperatura máxima até atingir a fervera, reduzindo-se a temperatura da manta térmica, posteriormente. O período de hidrodestilação foi de aproximadamente 4 h (o tempo pode variar de acordo com a espécie em questão).

Os óleos foram coletados com pipeta de 1000 µL, posteriormente armazenados em eppendorf plástico de 1,5 ml numerado e por fim, refrigerados em congelador vertical para garantir a integridade do óleo essencial. Para a secagem do material foi utilizada centrífuga e micropipeta de 200 µL.

Ademais, após as triplicadas foram realizadas extrações das folhas da *Hedyosmum brasiliense* Mart. e armazenados em âmbar de vidro para a realização dos ensaios.

Os óleos foram mantidos fora do alcance de luz e livre de impurezas insolúveis no laboratório de Ciências e Anato-Morfologia da Universidade Federal do Paraná- Setor Litoral em Matinhos-PR.

2.2.4 Cálculo Rendimento do Óleo Essencial

Primeiramente, para o cálculo de rendimento realizou-se a pesagem do eppendorf vazio (peso inicial) e eppendorf com o óleo extraído (peso final), efetuando a diminuição dos valores.

Posteriormente, para o cálculo da massa do óleo foi realizada a pesagem de 10g do material vegetal (folhas frescas) em balança eletrônica de alta precisão modelo AD33OS, logo após foram armazenadas em envelope de papel kraft e levado para estufa para secagem até massa constante à 50°C por um período de 24 h.

A fórmula consiste em:

MASSA DO ÓLEO	MASSA SECA	RENDIMENTO FINAL
$R = \frac{MO1 + MO2 + MO3}{3}$	$R = \frac{MS1 + MS2 + MS3}{3} \cdot 10$	$R = \frac{MO}{MS} \cdot 100$

Após a realização do cálculo foi possível obter o rendimento do óleo extraído da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. durante o período de julho de 2017 a junho de 2018.

2.2.5 Identificação dos Compostos Químicos

Após a extração e obtenção do óleo essencial da espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* Mart., as amostras foram encaminhadas para identificação. Para o procedimento de análise dos compostos, foram separados com micropipeta 200 µL triplicadas utilizando apenas 10 µL das amostras e colocadas em recipiente adequado e numerado e por fim enviadas para cromatografia. As amostras de óleos foram encaminhadas ao Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná em Curitiba-PR.

A análise dos compostos foi realizada por meio de Cromatografia. “A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária (DEGANI, CASS & VIEIRA, 1998, pg.21)”.

A separação dos constituintes foi obtida na coluna ca-pilar de HP-5MS (5% fenil -95% - dimetilpolissiloxano, 30 m × 0,25 mm x 0,25 µm) e utilizando hélio como gás carreador (1,0 mL min⁻¹). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240 ° C a uma taxa de 3 ° C min⁻¹. O detector de massa foi operado em modo de ionização de elétrons (70 eV) a uma taxa de 3,15 min⁻¹ de varredura e faixa de massa de 40 a 450 u. A linha de transferência foi mantida a 260 ° C, a fonte de íons a 230 ° C e o analisador (quadrupolo) a 150 ° C. As amostras diluídas foram injetadas em um cromatógrafo Agilent 7890A equipado com detector de ionização de chama (FID), operado a 280 ° C para quantificação. A mesma coluna e as condições analíticas descritas acima foram empregadas, exceto para o gás transportador utilizado, que era hidrogênio a uma vazão de 1,5 mL min⁻¹. A composição

percentual foi obtida pela integração eletrônica do sinal FID dividindo a área de cada componente pela área total (área%).

A identificação dos constituintes foi obtida comparando seus espectros de massa com os da biblioteca do Adams (2017) e também com seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C7 - C26) e comparados com dados da literatura. A análise de picos foi feita no Software "GCMS Postrun Analysis".

2.3 ENSAIOS ANTIBACTERIANOS

Os ensaios antibacterianos foram realizados no laboratório de Pré-Análise Química e Biológica da UFPR (Universidade Federal do Paraná - Setor Litoral) em Matinhos-PR.

2.3.1 Preparo dos Meios de Cultura

Foram utilizados frascos Becker com 1000mL de H₂O destilada para realização dos meios com a seguinte composição:

- I. O meio de cultura LB: extrato de levedura 5g/L, cloreto de sódio 10g/L e triptona 10g/L.
- II. O meio de cultura LA: extrato de levedura 5g/L, cloreto de sódio 10g/L, triptona 10g/L e 15g/L de ágar.

A esterilização foi realizada por meio de autoclave vertical a 100°C por 20 minutos.

2.3.2 Semeadura da Bactéria

As bactérias utilizadas para o estudo são a *Escherichia Coli* cepa NCM3722, que está associada a infecções extra-intestinais e a *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 25923 que pode provocar desde simples até mais graves infecções de pele. A

semeadura das bactérias para ensaio antibacteriano foi realizada em capela de fluxo laminar modelo CFLH-09M para evitar contaminação dos materiais utilizados. Foram colocados 10 mL do meio LB em frasco de vidro com 10 µL das bactérias em glicerol 10%. Sendo assim, as amostras foram pré-cultivadas em incubadora vertical, a 37° C em sistema aeróbico, utilizando agitador magnético modelo 752A por 24 horas.

Para realização das placas o meio sólido foi derretido em forno elétrico modelo CMW30ABANA por 5 minutos. Posteriormente, foram colocadas 100 mL de meio de LA na placa de vidro (9cm/2cm) para solidificar.

Para a solução do antibiótico foram pipetadas 980 por 24 µL de H₂O destilada e 20 µL de *Tetraciclina* (C₂₂H₂₄N₂O₈). Segundo Howland & Mycek (2007), “as tetraciclina são eficazes contra bactérias gram-positivas e gram-negativas bem como contra outros microrganismos que não bactérias (HOWLAND & MYCEK, p. 368, 2007)”.

Foi realizada a diluição de 2mL da bactéria inoculada em 8mL de meio LB, utilizando posteriormente, somente 100 µL na placa e espalhada com alça plástica (21,5 cm / 3cm). Posteriormente, foram realizados três furos no meio de cultura solidificado com pipeta pasteur ponta curta (150mm) esterilizada, sendo pipetados no primeiro furo 60 µL de óleo mineral (controle negativo), no segundo 60 µL do óleo essencial da *Hedyosmum brasiliense* Mart. e no terceiro 60 µL do antibiótico (controle positivo). E por fim, foram incubadas em temperatura de 37° C pelo período de 24 horas. A **FIGURA 6** a seguir demonstra as placas prontas para a incubação.

FIGURA 6 – PLACAS CULTIVADAS EM INCUBADORA VERTICAL PELO PERÍODO DE 24 HORAS.



Fonte: a autora, 2019.

Após o período de 24 horas as amostras de *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus* foram analisadas e o meio utilizado para o ensaio antibacteriano foi descartado.

2.4 ENSAIOS ANTIFÚNGICOS

Os ensaios antifúngicos foram realizados na Universidade Regional do Cariri - CE (URCA).

2.4.1 Cepas e Meios de Cultura

Foram utilizadas linhagens de fungos do gênero *Candida* (*Candida albicans* e *Candida tropicalis*) do tipo padrão - (CA INCQS 40006, CA URM 4127, CT INQS 40042 e CT URM 4262), obtidas da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária-CMRVS, da FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro e isolados clínicos obtidos da Micoteca URM (University Recife Mycology) da Universidade Federal de Pernambuco. As cepas foram inicialmente inoculadas em Sabouraud Dextrose Ágar (SDA, KASVI) e incubadas durante 24 h a 37 °C. No preparo da suspensão fúngica para o teste, alíquotas de levedura foram transferidas para tubos de ensaio contendo cada um 3 mL de solução de Cloreto de Sódio estéril (0,9%), sendo a concentração padronizada comparando-se à escala 0.5 de McFarland (NCCLS, 2002). O meio líquido Caldo Sabouraud Dextrose (CSD, HIMEDIA), duplamente concentrado foi utilizado nos testes de microdiluição.

2.4.2 Drogas, reagentes e preparação de soluções

O óleo foi diluído inicialmente em dimetilsulfóxido (DMSO, Merck, Darmstadt, Alemanha) e em seguida em água destilada estéril. O antifúngico comercial *Fluconazol* (Flucovil), diluído em água, foi utilizado como medicamento de referência, sendo diluído em água. A concentração matriz foi de 16.384 µg/mL, preparada de modo que a concentração de DMSO não interfira farmacologicamente nos testes (STOPPA *et al.*, 2009).

2.4.3 Determinação do efeito Antifúngico Intrínseco

O método de microdiluição em caldo em placas de 96 poços foi aplicado, sendo cada poço preenchido com 100 μ L de CSD contendo 10% de inóculo fúngico. Foram adicionados 100 μ L do óleo ou do *Fluconazol* ao primeiro poço e procedida a diluição em série, com as concentrações variando de 8.192 a 8 μ g/mL. O último poço foi utilizado como controle de crescimento (JAVADPOUR *et al.*, 1996, com modificações nas concentrações). Foram preparados controles para o diluente dos produtos (com solução de Cloreto de sódio 0,9% substituindo a suspensão fúngica) e controle de esterilidade do meio. Todos os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 37° C durante 24 h e posteriormente lidas em espectrofotômetro ELISA (Thermoplate®) a um comprimento de onda de 430 nm. Os resultados obtidos na leitura ELISA foram utilizados para obtenção de curva de viabilidade celular e de IC₅₀ dos produtos avaliados (MORAIS-BRAGA *et al.*, 2016)

2.4.4 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

O subcultivo da microdiluição foi realizado em placa de Petri contendo SDA com auxílio de uma cartela guia fixada ao fundo, utilizando-se haste estéril que foi inserida em cada poço da placa do teste (exceto no controle de esterilidade). Após 24 h de incubação, as placas foram analisadas quanto à formação de colônias de *Candida* (ERNST *et al.*, 1999, com modificações). A concentração em que não houve crescimento de colônias fúngicas foi considerada a CFM do produto avaliado.

2.4.5 Avaliação do efeito modificador da ação do *Fluconazol* por combinação

A combinação óleo/droga foi avaliada, para verificação de efeito potencializador ou antagônico. Utilizou-se o óleo em concentração subinibitória (CFM/16), de acordo com a metodologia utilizada por Coutinho *et al.* (2008, com modificações nas concentrações). As placas foram preenchidas com 100 μ L de meio + inóculo + óleo e em seguida microdiluídas com 100 μ L do *Fluconazol* (16.384 μ g/mL), com diluição seriada em concentrações de 8.192 a 8 μ g/mL. Os mesmos controles do teste de atividade intrínseca foram utilizados. As placas foram

incubadas a uma temperatura de 37 °C por 24 horas, sendo a leitura realizada em aparelho de espectrofotometria (430 nm) de ELISA (Thermoplate®).

2.4.6 Análise Estatística

Utilizou-se o programa estatístico GraphPad Prisma 6.0 para análise dos dados. Foi aplicada na amostra uma ANOVA de duas vias. Os dados obtidos da leitura espectrofotométrica foram verificados quanto a sua distribuição normal e em seguida analisados por ANOVA, comparando os valores de cada concentração do produto natural, com o teste post hoc de Bonferroni. Os valores de IC₅₀ foram obtidos por regressão não linear para a finalidade de interpolação de valores a partir de curvas padrão.

2.5 ENSAIOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

Os ensaios de inibição enzimática dos óleos essenciais são realizados no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, localizado no campus 3, no Departamento de Ciências Farmacêuticas da FURB. Os reagentes foram obtidos da SIGMA-Aldrich Saint Louis (MO-USA) e utilizados sem prévia purificação.

2.5.1 Avaliação da atividade anticolinesterásica

A atividade anticolinesterásica é determinada *in vitro* através do método espectroscópico de Ellman e colaboradores (1961). As amostras são diluídas em metanol na concentração de 1 mg mL⁻¹. Em cada tubo de ensaio são adicionados 325 µL de Tampão Tris-HCl, para manter o pH do meio, em aproximadamente 8. Uma alíquota 100 µL de amostra e 20 µL de solução de enzima acetilcolinesterase diluída em tampão Tris-HCl adicionado de 0,1% de Soro Albumina Bovina (0,25 U mL⁻¹) sendo esta mistura incubada em temperatura ambiente durante 15 minutos. Em seguida, são adicionados 70 µL de solução de iodeto de acetilcolina (0,021 mg mL⁻¹), e 470 µL de Reagente de Ellman (ácido 5,5-ditiobis (2- Nitrobenzóico), preparado em Tampão Tris HCl adicionado de NaCl 0,1 M e MgCl₂.6H₂O 0,02 M).

Depois de homogeneizados, os tubos de ensaio são incubados a abrigo de luz durante 25 minutos. Após, adiciona-se 1000 μL de solução tampão Tris-HCl e a absorbância da solução é medida em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 405 nm. Como controle positivo utiliza-se uma solução de cloridrato de *Neostigmina* ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) e como controle negativo apenas o solvente utilizado para a diluição das amostras. A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase é calculada através da equação:

Atividade Inibitória (%) =
$\frac{100 - (\text{Abs Amostra} - \text{Abs Branco}) * 100}{\text{Média das Abs do C. Negativo}}$

2.5.2 Avaliação da atividade Alfa-glucosidase

O ensaio de inibição da alfa-glucosidase é realizado conforme descrito por Kim *et al.* (2004). São preparadas soluções das amostras em metanol, na concentração de 1 mg mL^{-1} . Na hora do teste, cada solução é diluída com tampão fosfato de potássio (pH 6,8) para $500 \mu\text{g mL}^{-1}$. Uma alíquota de $50 \mu\text{L}$ de solução de alfa-glucosidase (1 U mL^{-1}) foi pré-misturada com $20 \mu\text{L}$ das soluções da amostra, e foram adicionados $570 \mu\text{L}$ de tampão fosfato de potássio (pH 6,8) ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Todos os tubos foram agitados em vortex e incubados em banho-maria a $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos. Após, $100 \mu\text{L}$ de *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo (pNPG, 1 mmol L^{-1}) é adicionado como substrato e a reação terá início. Os tubos são novamente agitados e a mistura é incubada durante 30 min em banho-maria a $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$, seguida da adição de $650 \mu\text{L}$ de solução de Na_2CO_3 1 M para o término da reação. A quantidade de *p*-nitro-fenol formada é medida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 410 nm, para a estimativa da atividade enzimática. Como padrão é utilizado uma solução de *Acarbose* a 50 ug mL^{-1} . Um controle negativo utilizando apenas solvente, no lugar da amostra, é o utilizado. Para cada amostra realiza-se um teste em branco, onde adiciona-se $20 \mu\text{L}$ da solução da amostra (500 ug mL^{-1}) em $570 \mu\text{L}$ de tampão fosfato de potássio (pH 6,8) ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). A atividade inibitória da enzima alfa-glucosidase é calculada através da equação:

Atividade Inibitória (%) =
$\frac{\text{Abs C. Neg.} - (\text{Abs Amostra} - \text{Abs Branco}) * 100}{\text{Abs C. Neg}}$

CAPÍTULO 3: RESULTADOS ETNOFARMACOLÓGICOS E QUÍMICOS DA *Hedyosmum brasiliense* Mart.

3.1 ETNOBOTÂNICA NA COMUNIDADE DO PARATI

O termo etnobotânica é utilizado para denominar o estudo referente às inter-relações das populações tradicionais e as plantas. “É através dela que se mostra o perfil de uma comunidade e seus usos em relação às plantas, pois cada comunidade tem seus costumes e peculiaridades, visando extrair informações que possam ser benéficas sobre usos medicinais de planta (MARTINS *et al*, 2005, p.21)”.

A comunidade do Parati situada no litoral paranaense abrange aproximadamente 12 famílias que residem ou possuem imóveis na região. O acesso é realizado somente por meio de barco (**FIGURA 7**) ou trilha e os moradores da região necessitam se deslocar até o município mais próximo para suprir as necessidades cotidianas.

FIGURA 7 – SERRA DA PRATA ONDE ESTÁ SITUADA A COMUNIDADE DO PARATI



Fonte: a autora, 2019.

Na **FIGURA 8**, uma das pontes de acesso à residência dos moradores da comunidade.

FIGURA 8 – ACESSO AOS MORADORES NA COMUNIDADE DO PARATI



Fonte: a autora, 2019.

A espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. pode ser observada em todo entorno da comunidade, em suas trilhas e abundantemente. Na **FIGURA 9** a amostra utilizada para a identificação da planta durante a entrevista com os participantes.

FIGURA 9 – AMOSTRA DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart. ENCONTRADA NA COMUNIDADE DO PARATI- SERRA DA PRATA



Fonte: a autora, 2019.

Para manter o anonimato dos participantes, optou-se por não realizar registros fotográficos durante as entrevistas. Os participantes da pesquisa serão identificados nas citações pela letra “P” seguido pelo número de entrevista e a idade no momento das entrevistas (**QUADRO 4**).

QUADRO 4 – PERFIL GERAL DOS PARTICIPANTES DA PESQUISA DE ETNOBOTÂNICA NA COMUNIDADE DO PARATI - SERRA DA PRATA, LITORAL DO PARANÁ

Nº P	GÊNERO	IDADE	OCUPAÇÃO	TEMPO DE RESIDÊNCIA
1	F	65	Do lar	23
2	F	76	Do lar	27
3	F	62	Do lar	46
4	M	60	Pescador	60
5	M	68	Aposentado	20

Fonte: a autora, 2019.

Pôde-se observar que todos os participantes da pesquisa são antigos moradores da comunidade, o que de fato, influencia em singularidades culturais que são construídas com o tempo. A população local sobrevive acessando alguns recursos disponíveis na natureza, bem como plantam o seu próprio alimento, utilizam plantas medicinais para o tratamento de doenças e praticam atividades pesqueiras.

Para adquirir mantimentos básicos, ter acesso à saúde e a educação os moradores necessitam se deslocar até o município mais próximo (Guaratuba), pois a região não possui instituição ou abastecimento que supra essas necessidades. Entretanto, mesmo com as dificuldades eles possuem motivação para realizar suas práticas culturais de manejo da natureza.

Buscou-se a identificação da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. por meio de uma amostra encontrada na comunidade. No Parati, tanto os homens quanto as mulheres conhecem a espécie pelo nome popular de “Erva Cidreira” ou “Cidreira do Mato”. Todos os entrevistados declararam de modo unânime que a espécie existe em abundância na comunidade, sendo de fácil acesso na floresta, contendo até mesmo em seu próprio quintal.

O **QUADRO 5** apresenta a descrição do uso da espécie pela Comunidade.

QUADRO 5 – USO DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart. NA COMUNIDADE DO PARATI - SERRA DA PRATA, LITORAL DO PARANÁ

Nº P	FREQUÊNCIA	PARTE	UTILIDADE	MÉTODO
1	Raramente	Folha	Dor de cabeça	Esquenta na mão/aplicação no local
2	Algumas vezes	Folha	Dor de cabeça	Aplicação no local
3	Algumas vezes	Folha	Dor de cabeça	Maceração; aplicação no local.
4	Sempre	Folha	Dor de cabeça/ Pressão alta	Emplasto e aplicação no local/ Chá uma vez por dia
5	Algumas vezes	Folha	Dor de cabeça	Aquecimento no fogo utiliza álcool e aplicação no local

Fonte: a autora, 2019.

A participante Nº 1 relata conhecer a espécie há muito tempo, por meio da cultura familiar. Segundo a dona do lar as folhas da “erva cidreira” são boas para o tratamento de dores de cabeça quando aplicada no local, a participante relata “nós esquenta na mão, a folha é canforada né?! (P1, 65 anos)”.

Em relato semelhante, a entrevistada Nº 2 diz que utiliza para o mesmo fim e acrescenta: “coloca na testa e puxa a febre, com o uso da planta fica escura (P2, 76 anos)”. Segundo a entrevistada quando colocada sobre a cabeça, a planta possui poder de baixar a temperatura, inibindo a dor poucos minutos após o uso e promovendo alívio imediatamente. Enfatiza ainda, que conheceu o potencial medicinal da planta por meio dos seus pais que ensinaram a utilizar quando necessário.

Já participante da pesquisa de Nº3, aprendeu como utilizar a *Hedyosmum brasiliense* Mart. através de sua avó e bisavó que ensinaram a amassar a folha e colocar na cabeça. “Tem que usar na hora, porque a folha fica bem sequinha, dai pegamos outra na hora, uma fresquinha (P3, 62 anos)”. Para a dona do lar, a técnica só é eficaz se utilizada no mesmo momento da coleta.

Para o participante Nº 4 a planta pode ser utilizada de duas formas, tais como: emplasto (Dor de Cabeça) e Chá (Pressão Alta). O pescador de 60 anos que nasceu na comunidade relata que utiliza com frequência e de ambas as formas, desse modo fornece detalhes de como é realizado o preparo: “Faz o chá com a folha, pega de manhã com o sereno da noite, não precisa lavar, toma uma xícara por dia (P4, 60

anos)”. Segundo o entrevistado o chá não pode ser armazenado, tendo que ser consumido na mesma hora. Em relação ao uso das folhas relata “para nós que mora na floresta é muito bom, tira a quentura da cabeça (P4, 2018)” e diz que utiliza com mais frequência durante o verão, em qualquer situação e até mesmo no meio da floresta.

O último participante da pesquisa relata saber de uma possível eficácia da planta contra o câncer. “Isso foi descoberto para o câncer (P5, 68 anos)”, segundo ele soube após um tempo de uso, o que não foi relatado pelos demais participantes. Em relação ao uso da espécie apresentou uma técnica própria de preparo. “Passa no fogo e no álcool e põe na testa, as folhas novinhas eliminam a dor de cabeça (P5, 68 anos)”. Por fim, o aposentado diz que adquiriu o conhecimento através da sua mãe que já utilizava a planta para cessar as dores.

Conforme relatado por Albuquerque (2005), podemos observar na pesquisa junto à comunidade que “nos preparos medicamentosos da medicina popular existe toda uma lógica subjacente ao conhecimento empírico fitoterápico, que possibilita a eficácia dos preparos (ALBUQUERQUE, 2005. p. 9)”.

Constatou-se com os resultados etnobotânicos que os moradores da comunidade possuem técnicas próprias de uso da espécie nativa, utilizando para o tratamento de doenças como dores de cabeça (aplicação no local) e pressão alta (chá das suas folhas), esses métodos advindos da cultura familiar. Esses resultados qualitativos estão em concordância com o postulado por Fernandes e colaboradores (2014) ao afirmarem que o conhecimento tradicional surge “da relação direta estabelecida entre as sociedades tradicionais com outros seres que compõe a biodiversidade, da consideração do ser humano em sua totalidade, da espiritualidade e da prática coletiva (LEMOS, KERNTOPF & FERNANDES 2014, p.90)”.

Pode então ser destacado que o uso de espécies medicinais e a descoberta de outros usos estão em estreita relação com os hábitos da comunidade, considerando a diversidade local. Com isso podemos inferir que “O desenvolvimento sustentável colocou o ser humano no centro de seus objetivos, propondo entre suas metas a qualidade de vida e o desenvolvimento pleno de suas potencialidades (LEFF, 2011, pg. 311)”.

Evidentemente, a execução de pesquisas que visem o desenvolvimento sustentável representa uma abertura para a melhoria das políticas já existentes.

Pensando em longo prazo, os subsídios para a conservação de espécies nativas contribuem para o desenvolvimento sustentável. Por outro lado, “há que se lembrar de que as plantas têm o seu metabolismo extremamente variável em função das condições gerais a que são submetidas (FONTE, 2004, p.30)”. Ou seja, o perfil fitoquímico das espécies é função das variações de acordo com o seu habitat natural e condições do ambiente. Parece oportuno ressaltar, que o modelo vigente da biodiversidade local pode ser modificado com base nas alterações das práticas de manejo sustentável. É interessante considerar que a forma sustentável de uso pode servir como intervenção para as futuras gerações. Considerando que existem vários elementos que podem alterar as características originais do ambiente natural, a preservação da área florestal junto à comunidade parece ser oportuna ferramenta para estratégias desenvolvimento sustentável. Por fim, o resgate dos conhecimentos tradicionais traz elementos importantes que contribuem para o desenvolvimento científico, cultural e tecnológico no campo das ciências naturais e da saúde com possibilidades de desenvolvimento de produtos que possam beneficiar a população brasileira, com respeito aos direitos e benefícios à população tradicional, conforme estabelecido na legislação da biodiversidade.

3.2 ÓLEO ESSENCIAL: RENDIMENTO E FATORES ABIÓTICOS

Para Heinzmann, Spitzer e Simões (2017) os óleos voláteis “são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, em geral odoríferas e líquidas, obtidas de matérias-primas vegetais”. Essas misturas são importantes objetos de estudo, nas quais podem ser identificados diversos compostos eficazes para novas finalidades terapêuticas.

Segundo Ribeiro, Bonilla & Lucena (2018),

O rendimento do óleo essencial é um fator extremamente importante para determinar a viabilidade de estudo das espécies como fontes de substâncias bioativas, caso seja necessário o isolamento desta, ou ainda que o óleo essencial apresente atividade equiparada à da substância isolada. Dessa forma, o estudo do rendimento do óleo essencial torna-se uma ferramenta necessária para os produtores, pois a partir desse estudo é possível estimar quanto de biomassa é necessária para produzir uma quantidade de óleo satisfatória (RIBEIRO, BONILLA & LUCENA, 2018, p.34).

Considerando existirem vários fatores que podem alterar a estrutura da planta buscou-se primeiramente concretizar a análise do rendimento do óleo nas distintas estações do ano. O estudo de sazonalidade realizado com a espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* Mart. apresentou uma alteração no rendimento do teor do óleo essencial entre os períodos de coleta, conforme apresentado na **TABELA 2** a seguir.

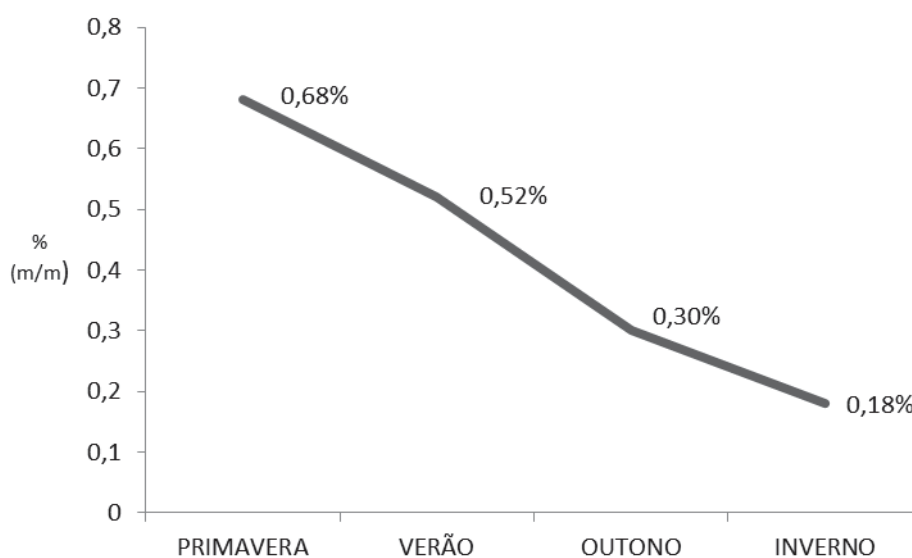
TABELA 2 – RENDIMENTO DO ÓLEO EXTRAÍDO DAS FOLHAS FRESCAS DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart. POR ESTAÇÃO DO ANO

DATA DE COLETA	TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL (%)
INVERNO	0,18
PRIMAVERA	0,68
VERÃO	0,52
OUTONO	0,30

Fonte: a autora, 2019.

Com base no cálculo do rendimento do óleo pode-se constatar que maior rendimento ocorreu das amostras colhidas durante a primavera (0,68%), seguidas pelo verão (0,52%). O rendimento do óleo cai consideravelmente nos meses de outono (0,30%) e inverno (0,18%). Conforme demonstra o **GRÁFICO 1** a seguir.

GRÁFICO 1 - TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL POR ESTAÇÃO DO ANO



Fonte: a autora, 2019.

Em relação à redução dos teores de óleo, principalmente no outono e inverno, pode ser explicada pelo acionamento do mecanismo natural de fonte-dreno, que degrada metabólitos secundários e direciona seus compostos químicos para a manutenção do metabolismo primário (MORAIS, 2009). Essa relação entre fonte e dreno é controlada por fatores ambientais e atua na sinalização de diversos genes que controlam os metabólitos produzidos nos tecidos, sendo determinante na produtividade (ROLLAND *et al*, 2006, TONINI *et al*, 2010). Este comportamento fisiológico dos vegetais justifica o menor rendimento de óleo essencial da *Hedyosmum brasiliense* Mart. durante o período do inverno.

Cabe ressaltar, que a época com maior produção de biomassa pode não ser a mesma de maior teor de compostos ativos. Segundo Heinzmann, Spitzer & Simões (2017), “a composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie, pode variar significativamente de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo (HEINZMANN, SPITZER & SIMÕES, 2017, p. 167)”.

Por outro lado, “Os principais eventos na vida das plantas tais como brotamento, florescimento e frutificação são sazonais, ou seja, ocorrem em épocas do ano mais ou menos previsíveis (TONHASCA JUNIOR, 2005, p.70)”.

Há alterações no teor do óleo essencial de acordo com os fatores abióticos aos quais as espécies estão expostas, tais como: luminosidade, precipitações (chuvas), nutrição da planta e entre outros fatores (MORAIS, 2009). “A radiação solar intervém diretamente sobre o crescimento e desenvolvimento da planta, e indiretamente, pelos efeitos no regime térmico, sendo fundamental à produção de fitomassa (MORAIS, S4051, 2009)”.

Morais (2009) afirma que,

Apesar de as espécies terem se adaptado ao seu habitat natural, os vegetais são capazes de resistir a variações de temperatura. Estas variações são responsáveis pelas alterações na produção de metabólitos secundários (MORAIS, S1051, 2009).

Morais (2009) também salienta a importância da intensidade das chuvas para o rendimento e composição química do óleo essencial ao destacar que “podem resultar na perda de substâncias hidrossolúveis presentes principalmente nas folhas e flores (MORAIS, S4055, 2009)”.

Nesse aspecto, a maior produção de metabólitos secundários ocorre sob altos níveis de radiação solar devido às reações biossintéticas que são realizadas por meio de processos fotossintéticos (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Em relação aos princípios ativos, Martins e Rodrigues (2016) destacam que a concentração dos mesmos “depende de diversos fatores, como controle genético, estímulos proporcionados pelo meio (fatores climáticos, edáficos), exposições a micro-organismos, insetos e herbívoros, poluentes etc. (MARTINS & RODRIGUES, p.26, 2016)”.

Para Martins e Rodrigues (2016),

Dentre os fatores climáticos, o fotoperíodo, a temperatura e o estresse hídrico podem determinar a época ideal de colheita de algumas espécies, momento em que se poderá obter maior quantidade do princípio ativo desejado (alcaloides, óleos essenciais, taninos, saponinas, glicosídeos, flavonoides etc.) (MARTINS & RODRIGUES, p.26, 2016).

Ademais, reforçam que “a composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, estágio de desenvolvimento, condições climáticas e de solo (MARTINS & RODRIGUES, p.26, 2016)”.

O maior rendimento da *Hedyosmum brasiliense* Mart. durante a primavera e verão pode ser explicado pelo fato de se tratar de uma espécie heliófita, ou seja, que necessita de exposição solar para melhor adaptação. Nesse sentido, a espécie se encontra em condições menos favoráveis durante as estações do outono e inverno.

3.3 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS

Os óleos essenciais constituem substâncias voláteis naturais, que podem variar de acordo com a planta em questão e como salientado anteriormente pelos fatores sazonais.

Para Moraes (2009),

Os óleos essenciais constituem um dos mais importantes grupos de matérias primas para as indústrias de alimentos, farmacêutica, perfumaria e afins. São constituídos por uma mistura complexa de diversas classes de substâncias, dentre elas os fenilpropanóides, mono e sesquiterpenos, pertencentes ao metabolismo secundário das plantas (MORAIS, 2009, p. S4050).

Segundo Heinzmann, Spitzer & Simões (2017),

O número de componentes de um óleo volátil costuma variar de 20 a 200, sendo chamados, de acordo com a concentração na mistura, de constituintes majoritários (de 20 a 95%), constituintes secundários (1 a 20%) e componentes-traço (abaixo de 1%) (HEINZMANN, SPITZER & SIMÕES, 2017, p. 167).

Lima, Kaplan & e Cruz destacam que a “identificação de quimiotipos deve ser considerada um item importante para a manutenção da qualidade, planejamento de cultivos e obtenção de fitofármacos (LIMA, KAPLAN & CRUZ, p.75, 2003)”.

Para o presente estudo dos componentes voláteis do óleo foram considerados apenas os compostos que estavam presentes nos óleos em um percentual igual ou superior a 1%. Após a análise do óleo essencial oriundo das folhas da espécie, foram identificados 14 compostos no inverno, 17 na primavera, 14 no verão e 11 no outono, os demais são inferiores ao valor estabelecido ($\geq 1\%$).

Na **TABELA 3** a seguir, encontra-se a descrição dos constituintes químicos do óleo essencial no período do inverno.

TABELA 3 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE *Hedyosmum brasiliense* Mart., *Chloranthaceae* COLETADAS NO INVERNO DE 2017

Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>Sabineno</i>	969	975	975	5,54
<i>β-Pineno</i>	974	978	979	1,76
<i>1,8-Cineol</i>	1026	1033	1031	3,07
<i>Pinocarvona</i>	1160	1165	1164	1,97
<i>Terpinel-4-ol</i>	1174	1180	1177	1,36
<i>β-Elemeno</i>	1389	1395	1390	1,35
<i>γ-Muuroleno</i>	1478	1484	1479	4,11
<i>Biclogermacreno</i>	1500	1501	1500	50,63
<i>Cadineno</i>	1522	1528	1523	1,31
<i>Germacreno B</i>	1559	1561	1561	2,15
<i>Espatuleno</i>	1577	1581	1578	2,68
<i>Globulol</i>	1590	1588	1590	1,16
<i>Carotol</i>	1594	1601	1594	19,06
<i>Ferula lactona I</i>	1974	1998	1974	1,90
Monoterpenos hidrocarbonetos				7,44
Monoterpenos oxigenados				6,52
Sesquiterpenos hidrocarbonetos				60,75
Sesquiterpenos oxigenados				25,29
Total identificado %		98,05		

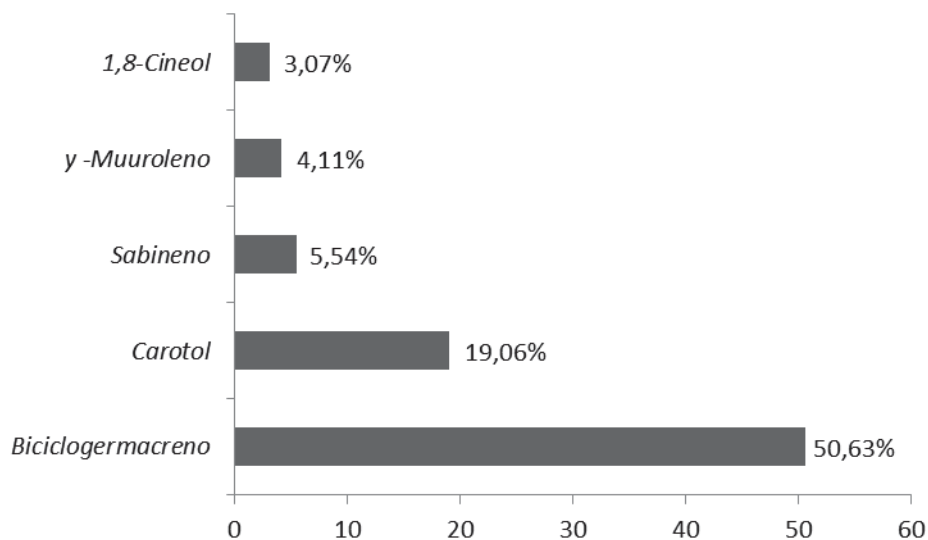
*IA: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Aritimetical *Index Teorical Aritimetical.

Fonte: a autora, 2019.

Com base dos compostos identificados na coleta de 07 de julho de 2017, destacam-se os constituintes predominantes durante a estação do inverno conforme **GRÁFICO 2** abaixo.

GRÁFICO 2 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO INVERNO (%)



Fonte: a autora, 2019.

O *Biciclogermacreno* é o principal constituinte do óleo extraído no inverno de 2017, com uma concentração média de 50,63%.

O próximo componente mais abundante foi o *Carotol* com a concentração de 19,06%. Óleo essencial advindo das folhas ainda indicou a presença de *Sabineno* (5,54%) e *Muroleno* (4,11%) como principais componentes. O *1,8 Cineol* surge na sequência com 3,07%.

A **TABELA 4** a seguir, expõe os constituintes identificados durante a estação da primavera, referente à coleta realizada no dia 24 de novembro de 2017.

TABELA 4 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE *Hedyosmum brasiliense* Mart., *Chloranthaceae* COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2017

Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>α-Pineno</i>	932	945	939	2,71
<i>Sabineno</i>	969	986	975	12,40
<i>β-Pineno</i>	974	990	979	5,19
<i>Limoneno</i>	1024	1039	1029	1,12
<i>1,8-Cineol</i>	1026	1043	1031	20,16
<i>Pinocarvona</i>	1160	1175	1164	2,66
<i>Terpinel-4-ol</i>	1174	1191	1177	2,21
<i>α-Terpinil acetato</i>	1346	1365	1349	2,50
<i>γ-Muuroleno</i>	1478	1497	1479	2,87
<i>Biciclogermacreno</i>	1500	1513	1500	28,94
<i>Germacreno B</i>	1559	1574	1561	1,92
<i>Espatulanol</i>	1577	1594	1578	3,15
<i>Globulol</i>	1590	1602	1590	3,22
<i>Viridiflorol</i>	1592	1609	1592	2,01
<i>Carotol</i>	1594	1614	1594	3,89
<i>Epi-α-Muurolol</i>	1640	1661	1642	1,85
<i>Ferula lactona I</i>	1974	1998	1974	1,94
Monoterpenos hidrocarbonetos				21,69
Monoterpenos oxigenados				27,88
Sesquiterpenos hidrocarbonetos				34,17
Sesquiterpenos oxigenados				16,26
Total identificado %				98,74

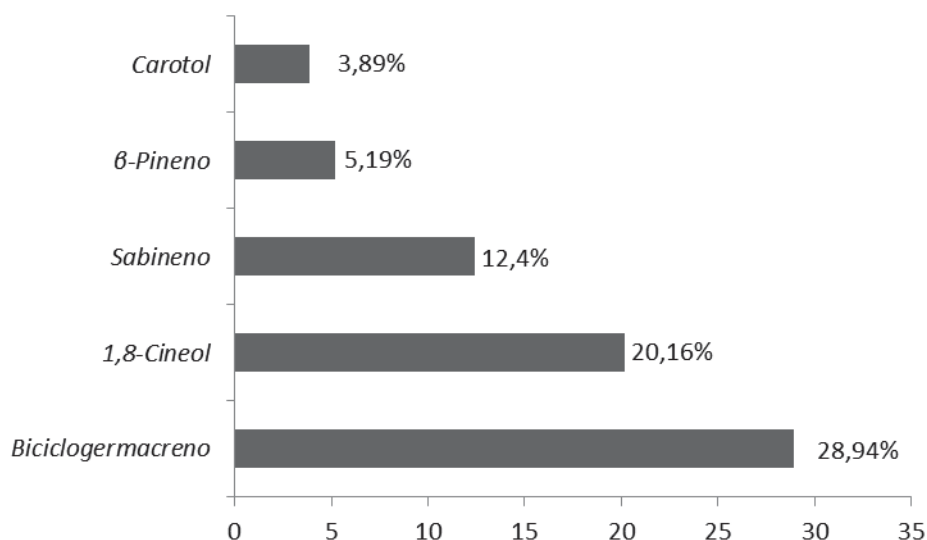
*IA: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Aritimetical *Index Teorical Aritimetical.

Fonte: a autora, 2019.

No **GRÁFICO 3** pode ser observado os compostos majoritários encontrados durante a estação da primavera.

GRÁFICO 3 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DA PRIMAVERA (%)



Fonte: a autora, 2019.

Na estação da primavera, os compostos *Bicycloterpeno*, *1,8-Cineol*, *Sabineno*, *β -Pineno* e *Carotol* aparecem como majoritários nesse período. Dentre eles, com 28,94% o *Bicycloterpeno*. O composto *1,8 Cineol* encontra-se em 20,16% da amostra. Em terceiro lugar o *Sabineno* também se encontra em destaque com 12,40%. O *Carotol* aparece apenas em 3,89% durante o período da primavera.

Na **TABELA 5** a seguir, os constituintes químicos evidenciados na coleta de 12 de março de 2018 (verão).

TABELA 5 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE *Hedyosmum brasiliense* Mart., *Chloranthaceae* COLETADAS NO VERÃO DE 2018

Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>Sabineno</i>	969	987	975	2,21
<i>Pinocarvona</i>	1160	1176	1164	1,26
<i>Terpinel-4-ol</i>	1174	1191	1177	1,32
<i>γ-Muuroleno</i>	1478	1497	1479	2,87
<i>Muurola-4(14),5-trans-dieno</i>	1493	1497	1493	2,68
<i>Biciclogermacreno</i>	1500	1514	1500	58,03
<i>Cadineno</i>	1522	1541	1523	2,20
<i>Germacreno B</i>	1559	1574	1561	2,67
<i>Espatulenol</i>	1577	1595	1578	4,07
<i>Globulol</i>	1590	1602	1590	2,86
<i>Viridiflorol</i>	1592	1609	1592	1,82
<i>Carotol</i>	1594	1615	1594	9,94
<i>β-Eudesmol</i>	1649	1669	1650	3,84
<i>Ferula lactona I</i>	1974	1998	1974	2,12
Monoterpenos hidrocarbonetos				2,25
Monoterpenos oxigenados				2,65
Sesquiterpenos hidrocarbonetos				69,92
Sesquiterpenos oxigenados				25,18
Total identificado %		97,89		

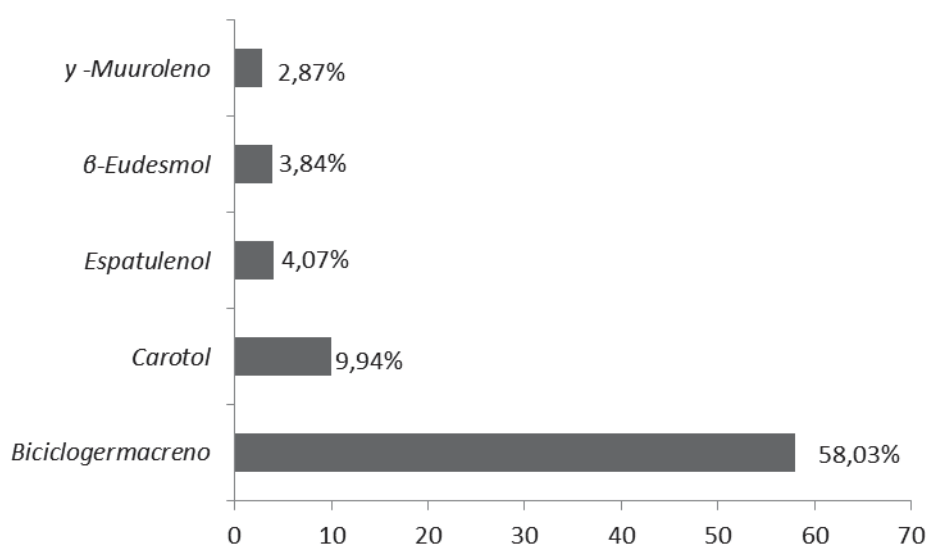
*IA: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

*Index Aritimetical *Index Teorical Aritimetical.

Fonte: a autora, 2019.

Durante o período do verão o composto químico *Biciclogermacreno* também surge como majoritário, superando o percentual dos demais. Em seguida, o *Carotol* com 9,94%, em terceiro o *Espatuleno* (4,07%) também apresenta um percentual considerável na amostra, tendo ainda o *β -Eudesmol* com 3,84%, surgindo como o quarto composto predominante nesta amostra. Por fim, o *γ -Muuroleño* apresenta-se em um teor mais baixo com apenas 2,87 % do total identificado, conforme **GRÁFICO 4**.

GRÁFICO 4 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO VERÃO (%)



Fonte: a autora, 2019.

A **TABELA 6** a seguir evidencia os compostos identificados durante a estação do outono, referente à coleta realizada no dia 18 de junho de 2018.

TABELA 6 – CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS DE FOLHAS DE *Hedyosmum brasiliense* Mart., *Chloranthaceae* COLETADAS NO OUTONO DE 2018

Constituintes	IA teórico*	IA*	IK*	%
<i>Sabineno</i>	969	986	975	5,25
<i>β-Pineno</i>	974	990	979	1,04
<i>Pinocarvona</i>	1160	1175	1164	1,21
<i>γ-Muuroleno</i>	1478	1496	1479	2,43
<i>Biclogermacreno</i>	1500	1514	1500	60,64
<i>Cadineno</i>	1522	1540	1523	1,04
<i>Germacreno B</i>	1559	1574	1561	2,31
<i>Espatuleno</i>	1577	1594	1578	1,64
<i>Carotol</i>	1594	1614	1594	15,62
<i>Atractilona</i>	1657	1710	1658	5,45
<i>Ferula lactona I</i>	1974	1998	1974	2,20
Monoterpenos hidrocarbonetos				6,36
Monoterpenos oxigenados				1,24
Sesquiterpenos hidrocarbonetos				67,20
Sesquiterpenos oxigenados				25,20
Total identificado %		98,83		

*IA: Índice de retenção calculado; IA teórico: Índice de retenção da literatura; IK: Índice de Kovats.

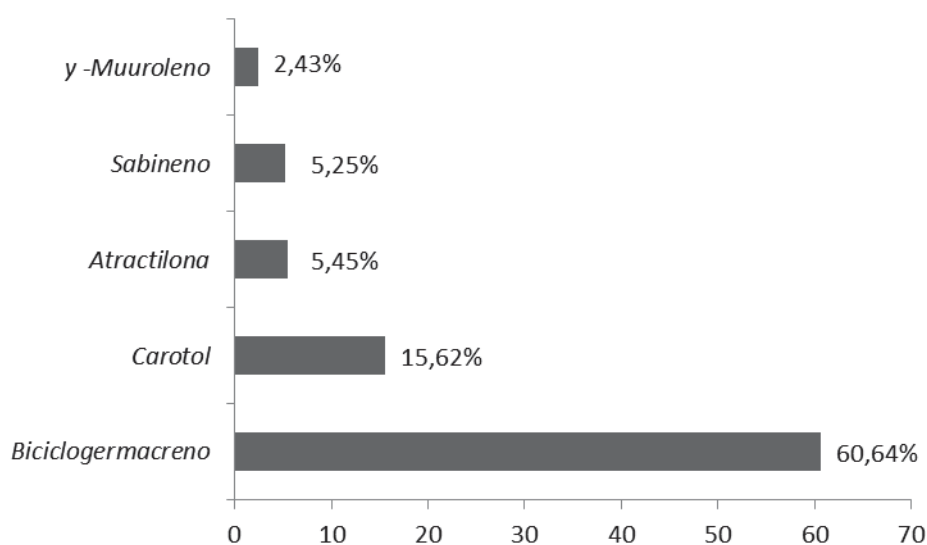
*Index Aritimetical *Index Teorical Aritimetical.

Fonte: a autora, 2019.

Dentre todas as estações o *Biciclogermacreno* se sobressai em 60,64% durante o outono, em seguida, o *Carotol* como nas demais estações apresenta valores significativos (15,62%) em relação aos constituintes identificados.

O *Atractilona*, composto não predominante surge nesta estação com valor de 5,45%, seguido do *Sabineno* (5,25%) e γ -*Muuroleno* (2,43%). A seguir, o **GRÁFICO 5** mostra esses resultados.

GRÁFICO 5 – CONSTITUINTES QUÍMICOS MAJORITÁRIOS NO PERÍODO DO OUTONO (%)



Fonte: a autora, 2019.

Após a análise de todos os constituintes do óleo da *Hedyosmum brasiliense* Mart., constataram-se os Terpenos em suas diferentes classes.

I. **Monoterpenos:** O composto *Sabineno* foi identificado em todas as estações com variação entre 2,21 % e 12,40%. Enquanto, β -*Pineno* aparece em três das estações, sendo elas inverno (1,76%), primavera (5,19%) e outono (1,04%). Os constituintes químicos α -*Pineno* (2,71 %) e *Limoneno* (1,12%) foram identificados com baixa concentração, isoladamente na estação da primavera.

II. **Monoterpenos Oxigenados:** com significativa variação, o *1,8-Cineol* foi identificado somente nas estações do inverno (1,76%) e primavera (20,16). Contudo, o constituinte químico *Pinocarvona* foi constatado nas quatro estações do ano com variações entre 1,21% e 2,66%. O composto *Terpinel-4-ol* foi detectado em

três estações do ano sendo elas inverno (1,36%), primavera (2,21%) e verão (1,32%). Ademais, com concentração de 2,50%, o α -Terpinil acetato foi identificado somente na estação da primavera.

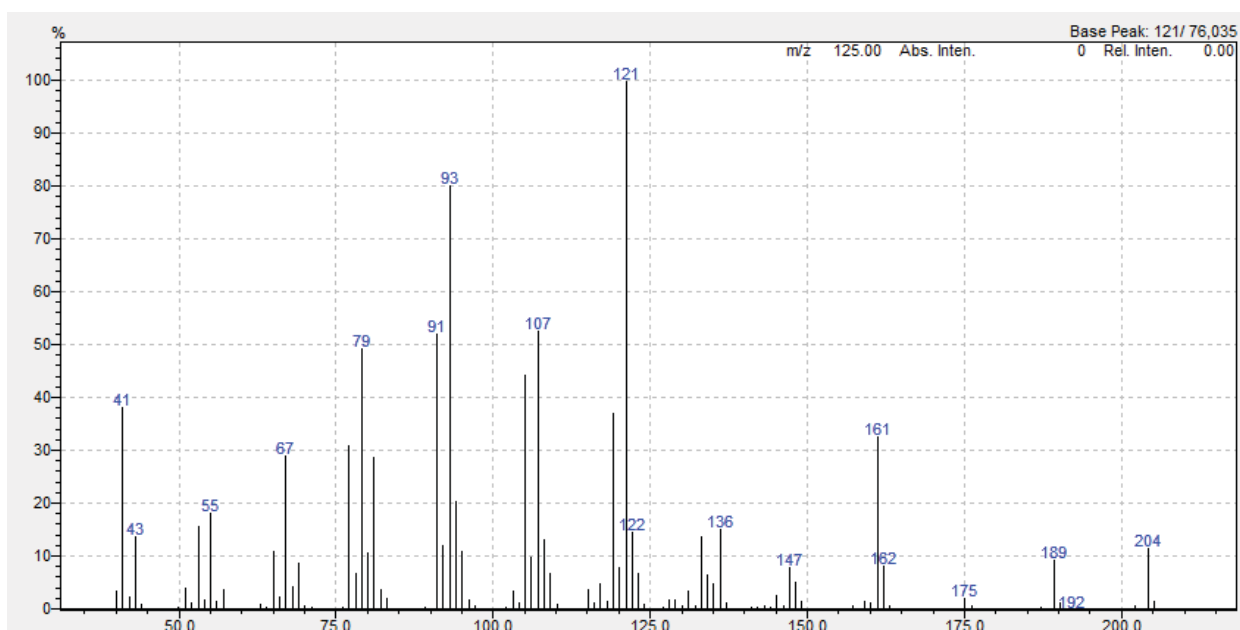
III. **Sesquiterpenos:** O constituinte β -Elemeno foi identificado somente na estação do inverno com baixa concentração de 1,35%. Enquanto, o γ -Muuroleno foi encontrado em todos os períodos, com variação entre 2,43% e 4,11%. Com concentração média de 2,68% o *Muurolo-4(14),5-trans-dieno* foi encontrado apenas no mês março durante a estação do verão. O *Biciclogermacreno* foi identificado com 50,63% durante o mês de julho, 28,94% em novembro, 58,03% em março e 60,64% no mês de junho, sendo assim, o constituinte majoritário em todas as estações. Por outro lado, o *Cadineno* é encontrado em baixas concentrações em 3 períodos do ano, inverno (1,31%), verão (2,20%) e outono (1,04%). O *Germacreno B*, presente em todas as estações, sofreu variações entre 1,92% a 2,67%.

IV. **Sesquiterpenos Oxigenados:** Foi identificado também em todas as estações o constituinte químico *Espatuleno*, que pode variar de 1,64% a 4,07% sendo a maior concentração no mês de março (verão). O *Globulol* foi identificado nas estações do inverno (1,16%), primavera (3,22%) e verão (2,86%), estando ausente ou com concentração inferior a 1% durante o outono. O constituinte *Viridiflorol* foi encontrado somente em novembro (2,01%) e março (1,82%). O *Carotol*, segundo constituinte com maiores concentrações e mais visível durante as estações, foi identificado com 19,06% durante o inverno, 3,89% na primavera, 9,94% no verão e 15,62% no outono. Ademais, outros compostos são observados isoladamente durante as estações do ano, como o *Epi- α -Muurolo* (1,85%) durante a primavera, β -*Eudesmol* (3,84%) no verão e *Atractilona* (5,45%) no outono. Por fim, o *Ferula lactona I*, foi identificado de julho (inverno) a junho (outono) entre 1,90% e 2,20%.

Observa-se que os constituintes com maiores concentrações durante as estações são *Biciclogermacreno* e *Carotol*. O constituinte *Biciclogermacreno* pode variar durante as estações entre 28,94% e 60,64%, porém, sempre como majoritário em todos os períodos. Enquanto, que o *Carotol* sofre uma significativa variação entre 3,89 e 19,06 durante as estações do ano, identificado em uma concentração menor durante a estação de primavera.

Nas **FIGURAS 10 e 11** a seguir, é possível verificar o perfil de fragmentação da amostra em relação ao espectro da literatura Adams (2017) do composto *Biciclogermacreno* e as **FIGURAS 12 e 13** referentes ao composto *Carotol*.

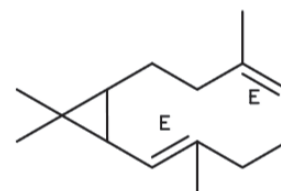
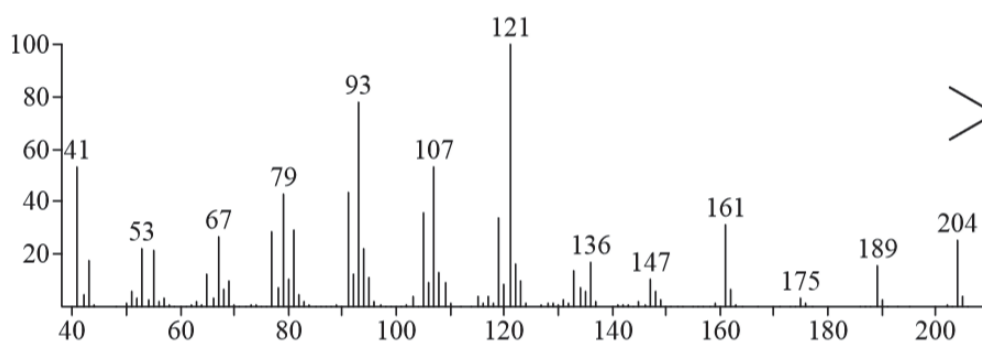
FIGURA 10 – IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO MAJORITÁRIO *Biciclogermacreno* POR ANÁLISE DE PICOS NO SOFTWARE “GC-MS POSTRUN ANALYSIS”



Fonte: Software GC-MS POSTRUN ANALYSIS, 2019.

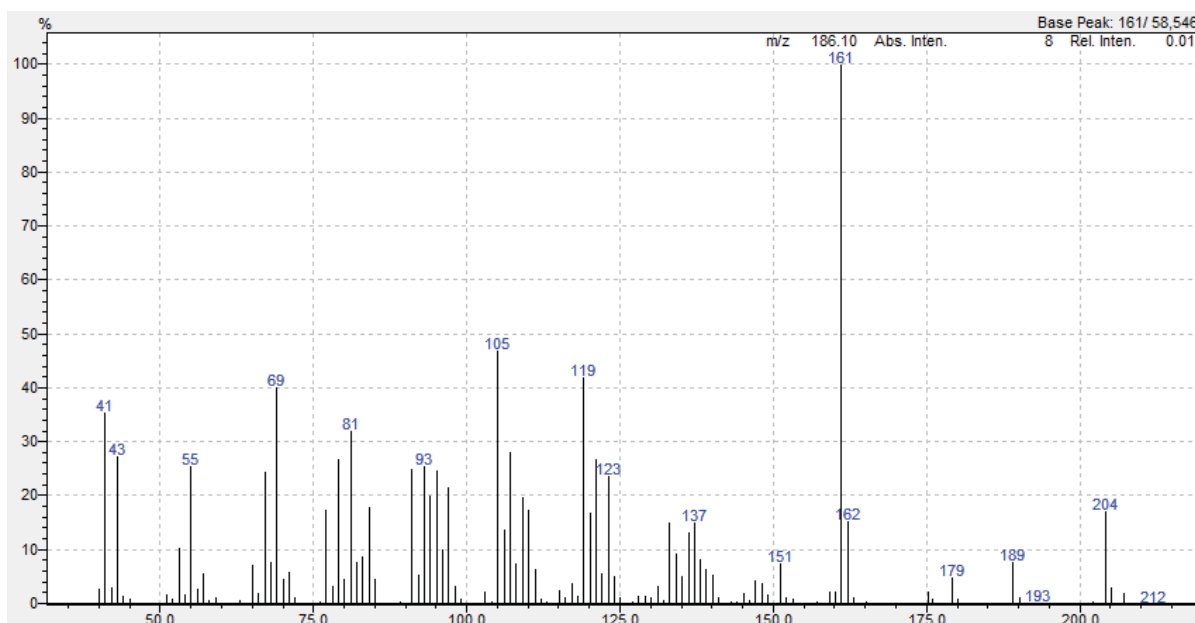
FIGURA 11 – ESPECTROS E DADOS DA LITERATURA UTILIZADA PARA A IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO *Biciclogermacreno*

RT: 28.83 AI: 1500 KI: 1500 **Biciclogermacreno**
 CAS#: 24703-35-3 MF: C₁₅H₂₄ FW: 204 MSD LIB#: 1359
 CN: bicyclo(8.1.0)undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1S-(1R*,2E,6E,10S*))-
 Synonyms: none
 Source: *Podocarpus*, Rimu G#4 ex Don Clark; 48.00% *Idiospermum australiense*,
 FFJ 7:79(1992); 37.92% *Origanum laevigatum*; 36.00% *Panax ginseng*



Fonte: Adams, 2017.

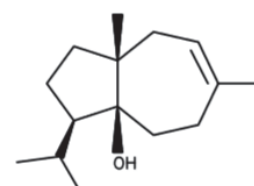
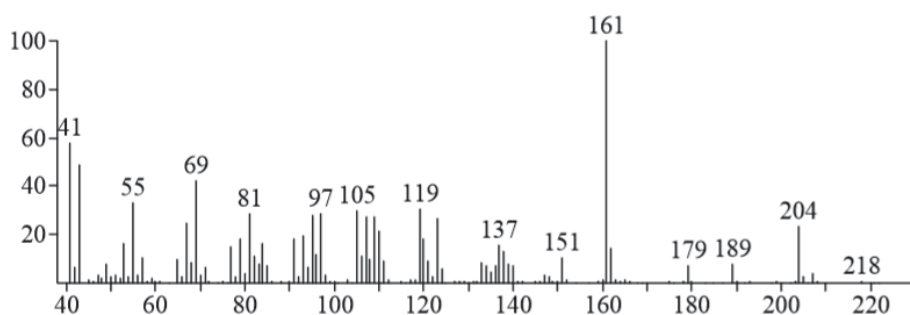
FIGURA 12 – IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO MAJORITÁRIO *Carotol* POR ANÁLISE DE PICOS NO SOFTWARE “GC-MS POSTRUN ANALYSIS”



Fonte: Software GC-MS POSTRUN ANALYSIS, 2019.

FIGURA 13 – ESPECTROS E DADOS DA LITERATURA UTILIZADA PARA A IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO *Carotol*

RT: 32.67 AI: 1594 KI: 1594 **Carotol**
 CAS#: 465-28-1 MF: C₁₅H₂₆O FW: 222 MSD LIB#: 1233
 CN: 3a(1H)-azulenol,2,3,4,5,8,8a-hexahidro-6,8a-dimethyl-3-(1-methylethyl)-, (3R-(3α,3α,8α))-
 Synonyms: none
 Source: distilled from fresh parsley leaves, RP Adams #5440; 67.24% *Daucus carota* (Pakistan),
 Pakistan J. Sci. Ind. Res., 20:103(1977); 0.80% *Petroselinum crispum*; 0.50% *Cuminum cyminum*



Fonte: Adams, 2017.

A composição química encontrada nessa pesquisa foi significativamente diferente do estudo realizado por Vido (2009), na área de Mata Atlântica em Paranapiacaba e Pindamonhangaba em São Paulo, Brasil, entre o período de novembro de 2007 a setembro de 2008.

Em Paranapiacaba foi identificado nas folhas frescas da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. o *Sabineno* que durante as estações pode sofrer variação entre 15,19% e 39,35%, o (E)- γ -*Bisaboleno*, com mudanças entre 0,00% e 24,36%, (Z)- β -*Guaieno* com variação de 2,53% a 31,38% e *Pinocarvona* de 4,81% a 9,89%.

Entretanto nas amostras de Pindamonhangaba, foram identificados o γ -*Muroleno* variando entre 5,21% e 20,33% entre as estações e o *Sabineno* entre 3,99% e 37,50%. Também foram identificados o γ -*Eudesmol* com até 10,08% e o (E)- γ -*Bisaboleno* com até 20,91% como majoritário.

Nesse aspecto, é importante destacar que a composição química das amostras pode variar de acordo com a localidade, condições climáticas e ações antrópicas.

O estudo de Kirchner *et al.* (2009) no Morro do Baú em Luis Alves, Santa Catarina, Brasil, identificou compostos majoritários distintos ao desse estudo sendo os principais encontrados o α -*terpineol* (10,2%), o *Curzereno* (8,9%), a *Pinocarvona* (8,4%) e β -*Thujeno* (7,1%). No estudo também foi verificado o *Carotol* (6,06%), *Espatuleno* (5,26), *Globulol* (1,16%) e *Viridiflorol* (0,92%) entre os compostos analisados, esses que também foram identificados nessa pesquisa.

Luchesi (2017) realizou um estudo com a espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. em uma fazenda situada em Canelinha, Santa Catarina, Brasil, onde em sua análise química se identificou os constituintes *Sabineno* (19,59%) e *Germacreno B* (31,6%) como majoritários no óleo essencial extraído da espécie. No estudo realizado por Luchesi (2017) também foram identificados compostos semelhantes a esta pesquisa, tais como, o *Carotol* (6,41%), *Pinocarvona* (5,67) o *Espatuleno* (4,08%) e entre outros constituintes químicos.

Um estudo realizado em setembro de 2015 na Ilha do Cardoso, São Paulo, Brasil por Murakami *et al.* (2017), identificou nas folhas masculinas e femininas da *Hedyosmum brasiliense* Mart. os compostos majoritários: *Curzereno* (17–18%), *Sabineno* (16%), *Carotol* (6%) e o β -*pineno* (5%). Nesse estudo realizado também foi identificado o *constituente Ferula Lactona I* em aproximadamente 1,89% nas folhas masculinas e 3,0% nas femininas, o que segundo Murakami *et al.* (2017) combinado com outros constituintes químicos pode ter sido atuante para efetivar sua atividade antifúngica, trata-se do mesmo constituinte que foi identificado nessa pesquisa entre 1,90% e 2,2% durante as quatro estações do ano.

3.4 RESULTADO DOS ENSAIOS ANTIBACTERIANOS

Foram realizados os ensaios com os óleos voláteis extraídos da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. das quatro estações do ano com as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

3.4.1 Ensaio com a bactéria *Escherichia coli*

Segundo Korb *et al* (2013), a *E. coli* é

o principal agente etiológico de infecções do trato urinário e grande responsável por gastos em fármacos pelos sistemas públicos e privados de saúde, além das perdas em produtividade no trabalho em função da morbidade gerada em pacientes (KORB *et al*, p. 72, 2013).

Pensando nisso, foi realizada no presente estudo, a avaliação bacteriana do óleo essencial da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. frente à *E.coli* (cepa NCM3722).

Os ensaios antibacterianos realizados demonstraram resultado nulo do óleo frente à cepa da *E. coli* em todas as estações do ano. Conforme a **TABELA 7** a seguir.

TABELA 7 – ANÁLISE DO ENSAIO ANTIBACTERIANO DO ÓLEO EXTRAÍDO DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart. EM cm, FRENTE À CEPAS DE *Escherichia coli* (NCM3722)

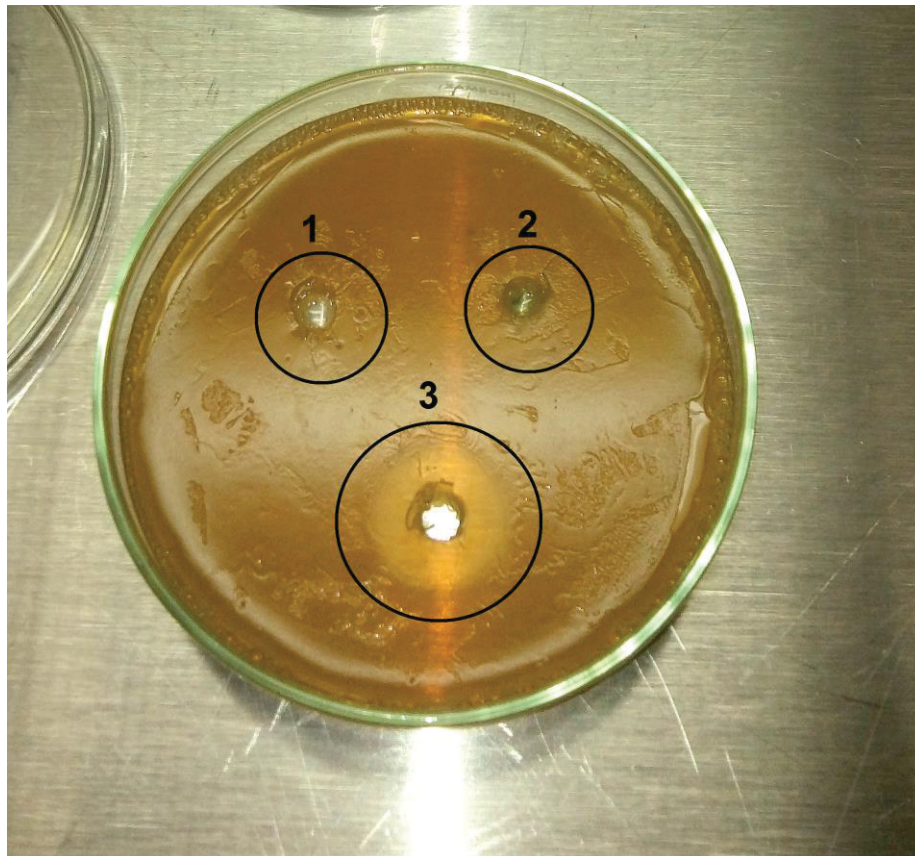
DATA DE COLETA	AT	OM	OEHB
INVERNO	2,2	0	0
PRIMAVERA	1,8	0	0
VERÃO	1,9	0	0
OUTONO	1,8	0	0

LEGENDA: **AT**= Antibiótico *Tetraciclina* (controle positivo); **OM**= Óleo mineral (controle negativo); **OEHB**= Óleo Essencial *Hedyosmum brasiliense* Mart.

Fonte: a autora, 2019.

A **FIGURA 14** a seguir, apresenta a inibição do antibiótico *Tetraciclina* (controle positivo) enquanto que para o óleo mineral (controle negativo) e óleo essencial (*Hedyosmum brasiliense* Mart.) não há halo inibitório.

FIGURA 14 – PLACA APÓS O PERÍODO DE 24 HORAS INCUBAÇÃO (SEM HALO DE INIBIÇÃO).



LEGENDA: 1= Óleo mineral (controle negativo); 2= Óleo Essencial *Hedyosmum brasiliense* Mart.; 3= Antibiótico (controle positivo).

Fonte: a autora, 2019.

Portanto, o óleo essencial advindo da *Hedyosmum brasiliense* Mart. não apresentou atividade contra a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* em nenhuma das estações analisadas.

3.4.2 Ensaio com a bactéria *Staphylococcus aureus*

Segundo Santos *et al* (2007),

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria do grupo dos cocos gram-positivos que faz parte da microbiota humana, mas que pode provocar doenças que vão desde uma infecção simples, como espinhas e furúnculos, até as mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia, entre outras. Essa bactéria foi uma das primeiras a serem controladas com a descoberta dos antibióticos, mas, devido a sua enorme capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância no quadro das infecções hospitalares e comunitárias (SANTOS *et al*, p.413, 2007).

Esta afirmação torna evidente a importância de estudos de novos potenciais de combate à bactéria. Nesse aspecto, foi efetuado o ensaio do óleo da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. frente à *S.aureus*.

Os ensaios antibacterianos realizados apresentam resultado positivo do óleo frente à *S. aureus* (ATCC 25923), como demonstrado na **TABELA 8** a seguir.

TABELA 8 – ANÁLISE DO ENSAIO ANTIBACTERIANO DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart. EM CM, FRENTE À CEPA DE *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

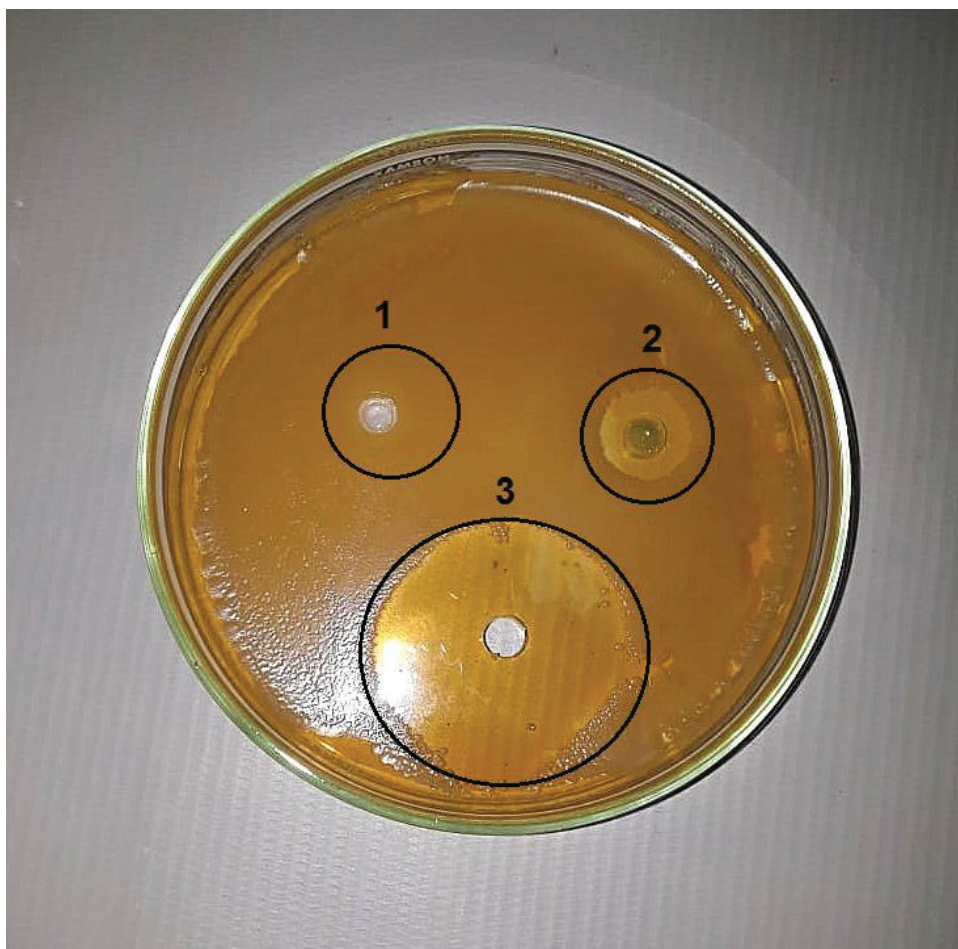
DATA DE COLETA	AT	OM	OEHB
INVERNO	3,0	0	1,2
PRIMAVERA	3,0	0	1,2
VERÃO	3,0	0	1,4
OUTONO	3,0	0	1,0

LEGENDA: **AT**= Antibiótico *Tetraciclina* (controle positivo); **OM**= Óleo mineral (controle negativo); **OEHB**= Óleo essencial *Hedyosmum brasiliense* Mart.

Fonte: a autora, 2019.

A placa testada frente à bactéria Gram-positiva apresentou halo de inibição após período estabelecido de incubação conforme **FIGURA 15**.

FIGURA 15 – PLACA APÓS O PERÍODO DE 24 HORAS INCUBAÇÃO (COM A PRESENÇA DO HALO DE INIBIÇÃO).

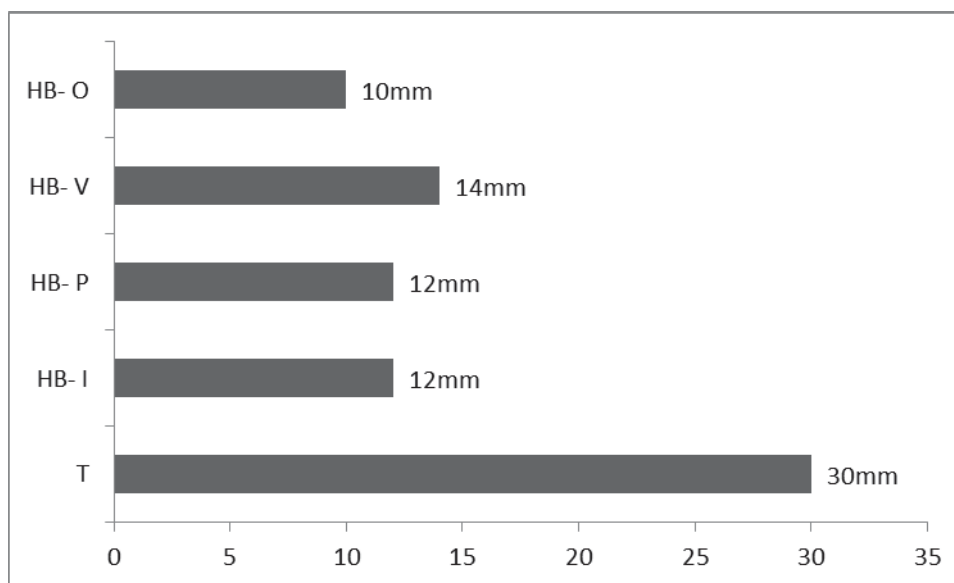


LEGENDA: 1= Óleo mineral (controle negativo); 2= Óleo Essencial *Hedyosmum brasiliense* Mart.; 3= Antibiótico (controle positivo).

Fonte: a autora, 2019.

O **GRÁFICO 6** a seguir mostra os resultados de inibição dos óleos essenciais em milímetros em relação ao padrão usado - o antibiótico “*Tetraciclina*” nas quatro estações do ano.

GRÁFICO 6 – INIBIÇÃO DA ESPÉCIE *Hedyosmum brasiliense* Mart. EM mm, FRENTE À CEPA DE *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) POR ESTAÇÃO DO ANO



LEGENDA: **HB-O**= *Hedyosmum brasiliense* Mart. no outono; **HB-V**= *Hedyosmum brasiliense* Mart. no verão; **HB-P**= *Hedyosmum brasiliense* Mart. na primavera; **HB-I**= *Hedyosmum brasiliense* Mart. no inverno. **T**= *Tetraciclina*.

Fonte: a autora, 2019.

Em relação ao potencial de inibição do óleo essencial pode-se destacar uma pequena diferença entre as estações do ano, mas cabe ressaltar que melhor resultado foi obtido com óleo coletado no verão (14 mm), enquanto o resultado menos significativo encontra-se no outono (10 mm).

3.4.3 Discussão dos Resultados Antibacterianos

Constatou-se nesta etapa pesquisa que o óleo das folhas advindas da espécie *HB* colhidas no do Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange no litoral paranaense não possuem atividade bacteriana frente à cepa de *E. coli* (cepa NCM3722). Entretanto, o óleo advindo da espécie mostra-se seletivo à bactéria *S. aureus* (cepa ATCC 25923).

O resultado do ensaio microbiológico desta pesquisa foi distinto da pesquisa realizada por Vido (2009), que utilizou óleo essencial da *Hedyosmum brasiliense* Mart. de duas localidades do estado de São Paulo (Pindamonhangaba e Paranapiacaba). VIDO (2009) alcançou resultados efetivos contra as bactérias testadas (*Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 8538))

utilizando meio Dextrose Agar o antibiótico *Cloranfenicol*. Destaca-se que “os óleos essenciais foram mais eficazes contra a bactéria Gram-positiva do que contra as Gram-negativas, resultados semelhantes à maioria das investigações do potencial antimicrobiano de voláteis (VIDO, p.57, 2009)”. Este resultado está relacionado ao fato de que microrganismos gram-positivos possuem paredes celulares mais propensas à passagem, enquanto os microrganismos gram-negativos são mais difíceis de acesso devido à espessura da membrana celular.

Vido (2009) afirma ainda em seu estudo que “contra *Staphylococcus aureus*, a maioria das inibições de óleos de folhas coletadas nos dois locais foi de 100% (VIDO, p.57, 2009)”. Ademais, acrescenta que contra *Escherichia coli*

a porcentagem de inibição chegou a 100% na primavera (com a maioria das respostas acima de 90%). Os óleos de folhas frescas de Paranapiacaba apresentaram uma heterogeneidade nas respostas inibitórias conferida pela mudança de estação: na primavera foram observados valores mais baixos (de 18,5 a 52%), aumentando gradativamente no inverno (49 a 52,9%) e outono (39,6 a 65,3%), atingindo valores altos no verão (63,6 a 93%). Nos óleos de Pindamonhangaba não foram detectadas variações tão expressivas das atividades em relação às estações (VIDO, p.57, 2009).

Kirchner *et al* (2009) em seu estudo realizou o ensaio com as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), preparada em 1 mL de Mueller-Hinton meio ágar (Difco). Destaca-se que o óleo da *Hedyosmum brasiliense* apresentou atividade contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus* (vol %: 0.312), enquanto nenhuma atividade frente à bactéria Gram-negativa *E.coli* foi identificada, até a maior concentração utilizada (2,5%).

Luchesi (2017) realizou um ensaio com o óleo essencial advindo da espécie em ágar Mueller Hinton e com os microrganismos *Staphylococcus aureus* INCQS 00015, *Escherichia coli* INCQS 00033, *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00025 e *Salmonella enteritidis* INCQS 00035. Segundo Luchesi (2017), o óleo da *Hedyosmum brasiliense*,

não apresentou atividade frente às bactérias em nenhuma concentração testada, este pode ser justificado por volatilização de algum composto, degradação ou ainda oxidação, de ativos principalmente monoterpênicos, muito embora em sua composição apresente 31,6% de *Germacreno-B*, 19,59% de *Sabineno*, 5,44% de α -*Pineno*, 7,23% de *Eucaliptol*, 6,41% de *Carotol* e outros compostos que totalizam o óleo (LUCHESE, p. 51, 2017).

Pode-se constatar que diversos são os fatores que influenciam a obtenção de um resultado positivo de ação antimicrobiana, como volatilização, oxidação ou mesmo degradação de algum componente do óleo, fatos que pode ter influenciado nesse resultado não positivo.

3.5 RESULTADOS DOS ENSAIOS ANTIFÚNGICOS

A *C.albicans* e *C.tropicalis* são espécies de fungos causadores de graves infecções oportunistas.

Segundo Giolo & Svidzinski (2010)

As leveduras do gênero *Candida* podem ser encontradas em variados ecossistemas, como solo, alimentos, água, fazendo parte da microbiota de homens e animais. Esses micro-organismos degradam proteínas e carboidratos para obterem carbono e nitrogênio, elementos essenciais para seu desenvolvimento (GIOLO & SVIDZINSKI, 2010, p. 226).

Segundo Giolo & Svidzinski (2010) a *Candida albicans* “é considerada a principal levedura patogênica oportunista por ser a espécie mais frequentemente isolada em humanos (GIOLO & SVIDZINSKI, 2010, p. 227)”.

Ademais, destacam que,

as infecções causadas por leveduras do gênero *Candida* são denominadas candidíase ou candidose. As micoses causadas por esses fungos mostram um amplo espectro de apresentações clínicas, podendo ser classificadas desde superficiais, com acometimento cutâneo e mucoso, até infecções profundas, disseminadas, de alta gravidade, como é o caso da candidemia (GIOLO & SVIDZINSKI, 2010, p. 228).

À luz destes fatos, foram realizados ensaios antifúngicos para analisar o potencial biológico da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart, frente a quatro cepas dos fungos *C. albicans* e *C. tropicalis*.

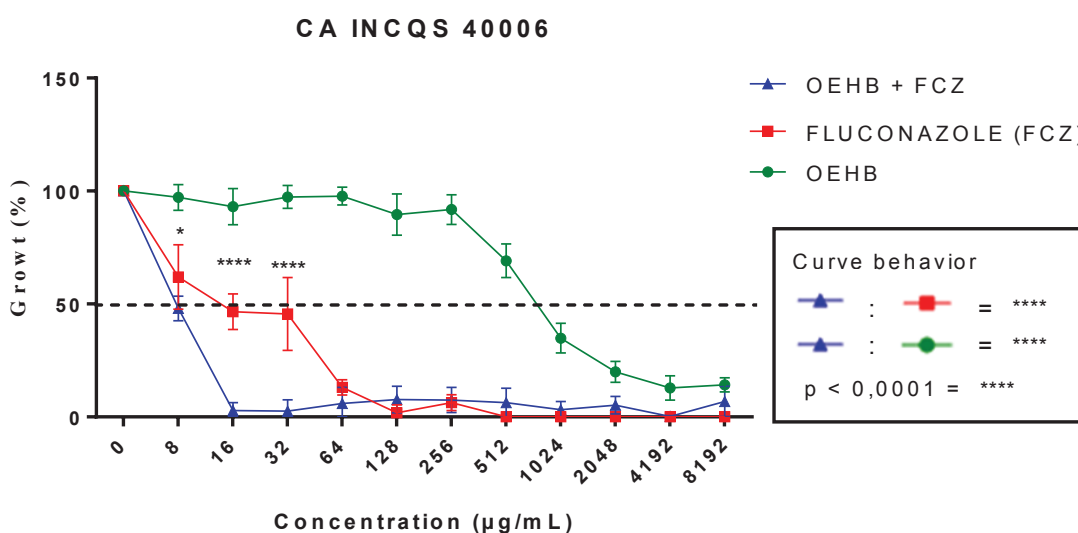
O ensaio de viabilidade celular de CA e CT está representado nas **FIGURAS 16, 17, 18 e 19**.

A ação intrínseca do óleo, concentração inibitória mínima (CIM), apresentou efeito inibitório apenas em altas concentrações. Este efeito é considerado pouco significativo clinicamente devido a sua alta concentração.

A avaliação do potencial modulador sobre a atividade antifúngica do óleo em combinação com o *Fluconazol* frente às estirpes do gênero *Candida* revelou que a combinação do fármaco com óleo em concentrações sub-inibitórias (CFM/16:256µg/mL) leva à inibição do crescimento dos microorganismos em curva de viabilidade celular semelhante ao fármaco sozinho.

Contudo, para a estirpe isolada de *Candida albicans* cepa INCQS 40006 a junção do fármaco com o óleo (OEHB+FCZ) na concentração de 16µg/mL mostrou um efeito melhor (100%) que o fármaco sozinho (**FIGURA 16**).

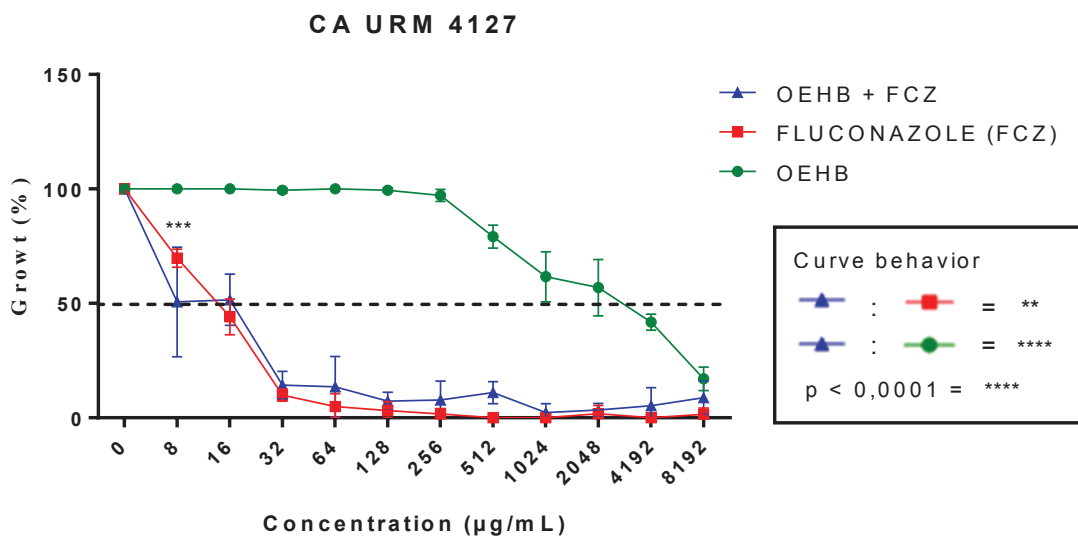
FIGURA 16 - *Candida albicans* cepa INCQS 40006



Fonte: a autora, 2019.

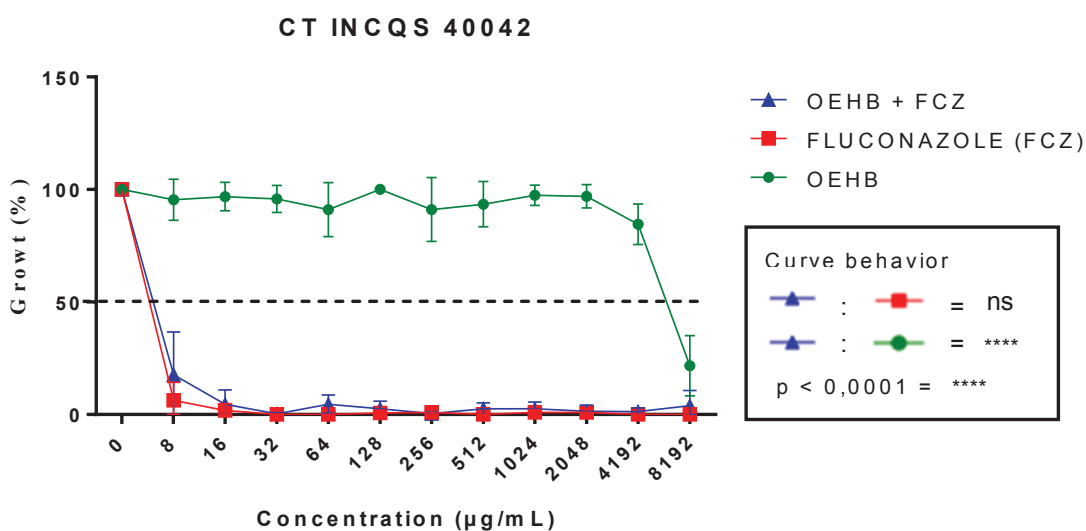
A ação inibitória de OEHB+FCZ frente à *Candida albicans* cepa URM 4127 demonstra efeito em 50% na concentração 8µg/mL, sendo estabilizada posteriormente com comportamento semelhante ao fármaco. Conforme **FIGURA 17**.

FIGURA 17 - *Candida albicans* cepa URM 4127



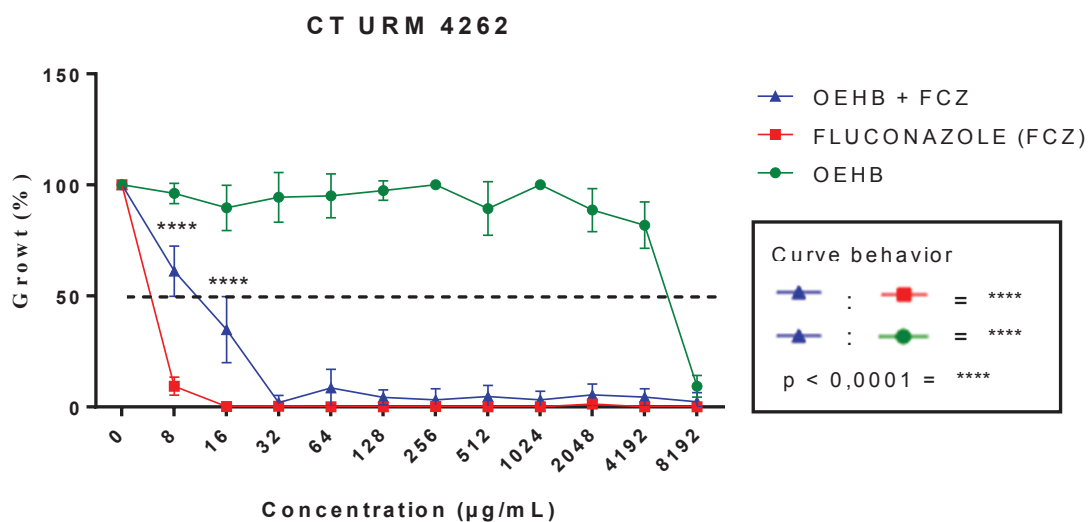
A **Figura 18** demonstra um efeito inibitório semelhante na concentração 8µg/mL tanto do fármaco sozinho, quanto do fármaco com o óleo essencial.

FIGURA 18 - *Candida tropicalis* cepa INQS 40042



No caso da *Candida tropicalis* cepa URM 4262 nota-se um efeito antagonista na faixa de 8µg/mL em relação ao fármaco (**FIGURA 19**).

FIGURA 19 - *Candida tropicalis* cepa URM 4262



Fonte: a autora, 2019.

Os valores de IC_{50} mostram que a combinação do óleo com o antifúngico apresentou melhores resultados para as linhagens CA 40006 e CA 4127 (**TABELA 9**).

TABELA 9: IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Hedyosmum brasiliense* Mart. FRENTE A DIFERENTES ESTIRPES DE *Candida*

LINHAGEM	OEHB	FCZ	OEHB + FCZ
CA INCQS 40006	868,633	14,982	9,635
CA URM 4127	2464,011	12,518	9,523
CT INCQS 40042	5904,335	1,871	9,072
CT URM 4262	5818,034	5,634	10,011

Fonte: a autora, 2019.

Para a avaliação da CFM (Concentração Fungicida Mínima) considerou-se a concentração que causou o efeito fungistático do crescimento da colônia. O óleo de *HB* apresentou efeito fungicida apenas em altas concentrações ($\geq 16.384\mu\text{g/mL}$). Contudo, em associação com *Fluconazol* a cepa CT URM 4262 foi sensível, ou seja, apresentou efeito fungicida na concentração de $2048\mu\text{g/mL}$ (**TABELA 10**).

TABELA 10: CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM $\mu\text{g/mL}$) DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Hedyosmum brasiliense* Mart. FRENTE A DIFERENTES ESTIRPES DE *Candida*

LINHAGEM	OEHB	FCZ	OEHB + FCZ
CA INCQS 40006	≥ 16.384	≥ 16.384	≥ 16.384
CA URM 4127	≥ 16.384	256	4.096
CT INCQS 40042	≥ 16.384	≥ 16.384	≥ 16.384
CT URM 4262	≥ 16.384	≥ 16.384	2.048

Fonte: a autora, 2019.

O uso da terapia combinada, seja ela entre fármacos ou com produtos naturais, parece ser vantajoso, pois pode alcançar respostas clínicas satisfatórias. A diminuição das concentrações dos medicamentos que nos leva a redução da toxicidade, o maior potencial de ação das drogas e a contenção do desenvolvimento de organismos resistentes são os benefícios associados a esta ação (CURVELO *et al.*, 2014). Os resultados da modulação nos mostram o potencial do óleo de *HB* frente às cepas de *Candida* que estão cada vez mais acometendo infecções fúngicas graves.

3.6 RESULTADOS DOS ENSAIOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

As enzimas são moléculas de proteínas capazes de modificar reações bioquímicas, ou seja, são catalisadoras. Estes processos ocorrem devido a fatores como temperatura e pH. Tais fatores são capazes de alterar a atividade das enzimas e, conseqüentemente, a velocidade das reações por elas catalisadas. Nesse sentido, cada enzima possui um pH ótimo de atividade, na qual sua atividade atinge o pico máximo. Para a maioria das enzimas este pH está entre 4,5 e 8,0. Por outro lado, há uma relação direta entre a temperatura e a velocidade das reações enzimáticas, ou seja, a velocidade das reações enzimáticas aumenta com a temperatura até que atinja a velocidade máxima. Nota-se que após atingir esse pico a velocidade da reação começa a diminuir, levando à inibição enzimática.

Segundo Gareth (2003), essas moléculas “são alvos óbvios para o desenho de fármacos. A inibição oferece um método para impedir ou regular o crescimento celular (GARETH, p. 190, 2003)”.

Gareth (2003) destaca que o “uso de compostos para inibir a ação enzimática é uma possibilidade importante na intervenção terapêutica (GARETH, p. 181, 2003)”. Nesse aspecto, realizaram-se ensaios de atividade inibitória enzimática para analisar a eficácia do óleo essencial extraído da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. frente à acetilcolinesterase e alfa-glucosidade.

3.6.1 Atividade Inibitória frente à enzima acetilcolinesterase

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima causante da hidrólise (quebra) da acetilcolina (neurotransmissor) que possui papel essencial no Sistema Nervoso Central (SNC).

Rang *et al*, explicam que “nas sinapses colinérgicas, a AChE ligada age hidrolisando o transmissor liberado e encerra sua ação rapidamente (RANG *et al*, p.162, 2007)”. Ademais, acrescentam que a acetilcolinesterase “é bastante específica para a ACh e para ésteres muito semelhantes a ela, como a metacolina (RANG *et al*, p.162, 2007)”.

Segundo Feitosa *et al*,

compostos com atividade inibitória frente à enzima acetilcolinesterase são utilizados terapeuticamente para tratar miastenia grave, glaucoma, e são extensivamente utilizados como inseticidas, já tendo sido usados como armas de guerra (FEITOSA *et al*, p, 211, 2007).

Além disso, destacam que “pesquisas apontam drogas provenientes de produtos naturais como sendo possíveis inibidores da AChE e eficazes no tratamento da doença Alzheimer (FEITOSA, *et al*, p. 215, 2007)”.

Os resultados do ensaio de inibição deste estudo realizado *in vitro* podem ser observados na **TABELA 11** a seguir.

TABELA 11 – RESULTADO DO ENSAIO DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

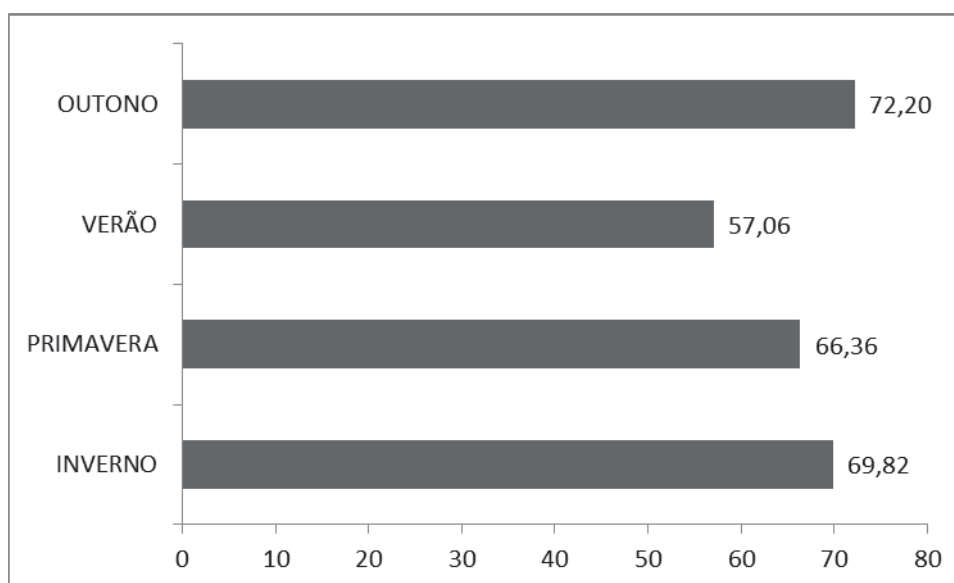
ESTAÇÃO DO ANO	M (%)	DP
INVERNO	69,82	3,46
PRIMAVERA	66,36	1,68
VERÃO	57,06	0,74
OUTONO	72,20	0,57

LEGENDA: **M**= Média; **DP**= Desvio Padrão.

Fonte: a autora, 2019.

No **GRÁFICO 7** abaixo o índice médio de inibição frente à enzima AChE por estações do ano.

GRÁFICO 7 – INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ACETILCOLINESTERASE POR ESTAÇÃO DO ANO



Fonte: a autora, 2019.

A maior porcentagem de inibição foi encontrada na análise da amostra proveniente do outono com 72,20%, posteriormente a estação do inverno com 69,82%, seguido da primavera (66,36%) e verão (57,06%).

Nesse aspecto, com o resultado positivo obtido, pode-se considerar a espécie como um potencial agente anticolinesterástico.

Vido (2009) afirma que em seu estudo em Paranapiacaba e Pindamonhangaba, “Os óleos de folhas frescas, coletadas nos dois locais, não foram efetivos na inibição da acetilcolinesterase (VIDO, p. 61, 2009)”, o que talvez possa ser explicado pelo fato da composição dos majoritários serem distintos ao desta pesquisa.

3.6.2 Atividade Inibitória frente à enzima α -glucosidase

A enzima α -glucosidase tem por função de quebra a ligação glicosídica (α -1,4) em carboidratos, podendo interferir negativamente na digestão de carboidratos no corpo humano. A inibição da enzima é essencialmente importante para o controle da desordem crônica, Diabetes Mellitus.

Segundo Rang *et al* (2007) a diabetes é

Um distúrbio metabólico crônico que se caracteriza por concentração alta de glicose sanguínea –hiperglicemia (glicemia de jejum $>7,0$ mmol/L ou $> 11,1$ mmol/L 2 horas depois de uma refeição) – causada por deficiência de insulina, muitas vezes combinada à resistência à insulina (RANG *et al*, p.402, 2007).

Em consequência disso, a doença desenvolve várias complicações metabólicas, sendo necessário o controle para evitar doenças crônicas, como cegueira.

O fármaco *Acarbose* é um exemplo de inibidor de α -glucosidase, e segundo Rang *et al* (2007) o mesmo “retarda a absorção de carboidratos, reduzindo o aumento pós-prandial da glicemia (RANG *et al*, p.408, 2007)”.

Dessa forma, em nosso estudo, submetemos o óleo da espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* no ensaio de inibição enzimática frente à α -glucosidase afim de avaliar o potencial de inibição.

A seguir a **TABELA 12** revela a ação do óleo frente à enzima α -glucosidase.

TABELA 12 – RESULTADO DO ENSAIO DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ALFA- GLUCOSIDASE

ESTAÇÃO DO ANO	M (%)	DP
INVERNO	5,15	0,40
PRIMAVERA	13,60	6,95
VERÃO	6,15	1,15

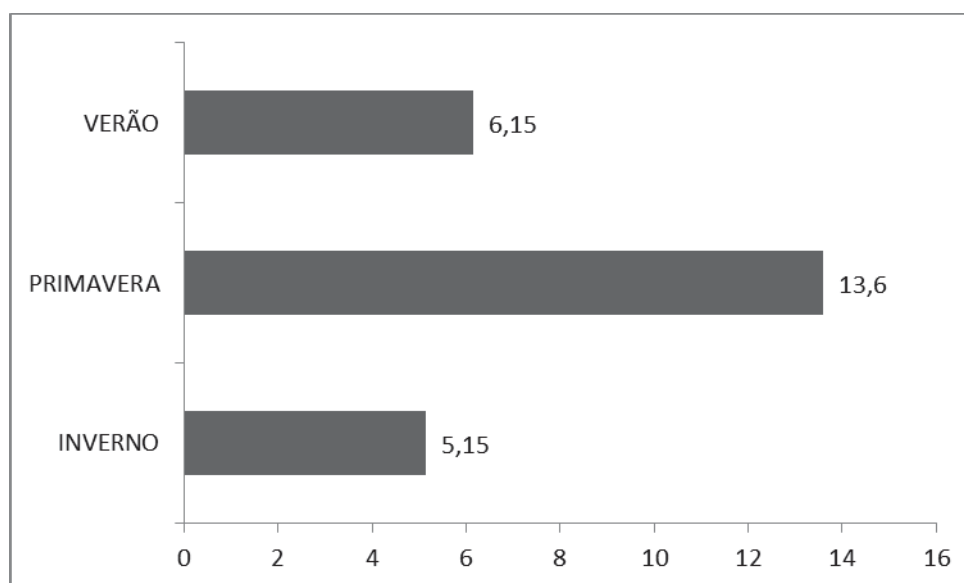
LEGENDA: **M**= Média; **DP**= Desvio Padrão.

Fonte: a autora, 2019.

A ação de inibição enzimática na primavera foi de 13,60%, enquanto no verão podemos observar 6,15%, no inverno 5,15%. No experimento realizado com a amostra de outono encontraram-se dificuldades de solubilização. Devido a esse fato, estamos avaliando as condições necessárias ideais para reproduzir o experimento.

O **GRÁFICO 8** revela a ação da *Hedyosmum brasiliense* Mart. frente à enzima α -glucosidase e a porcentagem de inibição durante as três estações do ano.

GRÁFICO 8 – INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO ESSENCIAL FRENTE À ENZIMA ALFA-GLUCOSIDASE POR ESTAÇÃO DO ANO



Fonte: a autora, 2019.

Por fim, todas as amostras de óleo apresentaram baixo caráter inibitório frente à enzima em questão. Nesse aspecto, e observando o resultado de inibição, pode-se considerar o óleo proveniente da espécie em função das estações do ano pouco eficaz frente à enzima α -glucosidase.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa de bioprospecção e etnofarmacologia realizada nesta dissertação pretende oferecer elementos para a verificação das hipóteses e constatação das questões norteadoras. Assim retomamos a questão de pesquisa que orientou nosso processo investigativo - “O conhecimento químico e etnofarmacológico da espécie *Hedyosmum brasiliense* Mart. no contexto do litoral Paranaense se configura em uma estratégia de conservação da diversidade biológica nesta região?” Os resultados encontrados nos possibilitam inferir as seguintes conclusões:

Primeiramente, verificou-se como está distribuído o conhecimento etnobotânico na comunidade do Parati situada no Litoral Paranaense e suas singularidades. Constatou-se, com os resultados etnobotânicos, que os moradores da comunidade possuem técnicas próprias de uso da espécie nativa.

A posteriori, na etapa de extração dos óleos essenciais, foram identificados os componentes ativos presentes nas folhas da espécie durante as quatro estações do ano, sendo o *Biciclogermacreno* o principal constituinte do óleo extraído, com variação entre 28,94% e 60,64%. O constituinte *Carotol* é o segundo mais visível entre as estações, entretanto, sofre uma queda da concentração durante a estação da primavera, onde o composto *1,8-Cineol* aumenta sua concentração em 20,16%.

Na presente pesquisa, foi identificada maior concentração de hidrocarbonetos sesquiterpenos em todas as estações. Na estação do inverno foram identificados 60,75% de sesquiterpenos, 25,29% de sesquiterpenos oxigenados, 7,44% de monoterpenos e 6,52 de monoterpenos oxigenados. Enquanto na amostra da primavera foram constatados 34,17% de sesquiterpenos, 27,88% de monoterpenos oxigenados, 21,69% de monoterpenos e 16,26% de sesquiterpenos oxigenados. Durante a estação do verão na composição química do óleo encontra-se 69,92% de sesquiterpenos, 25,18% de sesquiterpenos oxigenados, 2,65% de monoterpenos oxigenados e 2,25% de monoterpenos. Ademais, durante o outono foram identificados 67,22% de sesquiterpenos, 25,20%, 6,36% de monoterpenos e 1,24% de monoterpenos oxigenados.

Em seguida, foi avaliado o rendimento do óleo extraído das folhas frescas da *Hedyosmum brasiliense* Mart. entre as estações do ano, sendo a primavera a estação que apresentou o maior rendimento (0,68%).

Os ensaios antibacterianos evidenciaram resultado não significativo para o óleo proveniente das quatro estações do ano frente à cepa de *E. coli* (NCM3722). Entretanto, o óleo mostrou-se seletivo para a bactéria *S. aureus* (ATCC 25923), com resultados significativos para o óleo proveniente da estação de verão com halo de inibição de 14mm.

Os ensaios antifúngicos mostraram que a junção OEHB+FCZ apresentou um efeito melhor do que o fármaco sozinho no ensaio com *C. albicans* cepa INCQS 40006, numa concentração de 16µg/mL, entretanto, em relação a *C. tropicallis* cepa URM 4262 foi evidenciada um efeito antagonista. Além disso, a junção OEHB+FCZ, apresentou efeito fungicida na concentração de 2048µ/mL, para cepa *C. tropicallis* URM 4262.

Nos ensaios de inibição enzimática frente à enzima acetilcolinesterase constatou-se um percentual de inibição de 57,06% a 72,20% entre as estações do ano. Nesse aspecto, observando o resultado positivo para inibição da AChE pode-se considerar a espécie como um potencial agente anticolinesterástico.

Entretanto, os ensaios de inibição frente à enzima α -glucosidase não apresentaram um resultado tão eficaz variando de 5,15% a 13,60% durante as estações do ano.

Os resultados dos estudos fitoquímicos e etnofarmacológicos da espécie *Hedyosmum brasiliense* são promissores no intuito de validar e reconhecer suas potencialidades.

Discutir estratégias de Conservação de Recursos Genéticos à luz da Bioprospecção em um contexto de Desenvolvimento Territorial Sustentável nesta região do litoral do Paraná passa por um olhar sobre os processos de reprodução social dos povos nativos como é o caso da comunidade do Parati, em consonância com os meios de vida da própria comunidade, principalmente na tentativa de apreender as várias dimensões da relação com a biodiversidade.

Uma dimensão de extrema importância é a territorial que perpassa pela territorialidade historicamente construída dessa comunidade através das práticas tradicionais e novas práticas necessárias à garantia de direitos desses sujeitos.

Refletir sobre a conservação para a região necessita obrigatoriamente passar pela operacionalização de projetos elaborados para esta localidade com equidade social, sustentabilidade ambiental em todas as suas dimensões: social, cultural, ecológica, ambiental, territorial e econômica.

Continuar investigando em profundidade as diferentes relações entre seres humanos, recursos e território, tem se mostrado uma estratégia viável no intuito de fortalecer os atores locais. Tal ação pode, através da sinergia desses mesmos atores, numa relação de confiança, produzir conhecimento científico e técnico relevante para a tomada de decisões e contribuir sobremaneira para a conservação da diversidade biológica.

O modelo de desenvolvimento posto não prioriza a dimensão local, porém, parte das soluções advém justamente da abordagem em micro escala, com iniciativas testadas e demonstradas. Os mecanismos precisam ser ajustados para a disseminação e replicação destes pequenos sucessos. Além disso, há que se pensar no contexto institucional e os rebatimentos da escala macro no sentido de buscar soluções em todos os níveis de modo a permitir um desenvolvimento mais equânime.

E por fim, espera-se que os resultados obtidos nesta pesquisa, bem como alguns apontamentos descritos nos textos desta dissertação, subsidiem futuras pesquisas com a espécie em questão e assim possam fundamentar com evidências científicas à implementação de políticas públicas saudáveis e de desenvolvimento territorial sustentável.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil componentes by gas chromatography; mass spectroscopy, ed. 4.1**. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 2017. 809 p.

ALBUQUERQUE, U. P. **Introdução à Etnobotânica**. Ed. Interciência. 2ª edição. Rio de Janeiro, 2005. 93p.

AMARAL, W. GUBERT, C. DESCHAMPS, C. MACHADO, M.P. BIZZO, H.R. ROSA, G. M. SILVA, L. A. **Teor e composição química do óleo essencial de espécies da família Myrtaceae da floresta Atlântica do litoral do Paraná**. In: MURATA, A. T (Org). **Desenvolvimento Territorial Sustentável: pesquisas e desenvolvimento para o litoral paranaense**. Brazil Publishing. Curitiba, 2016. 250p.

ALMEIDA, L. CLEMENTINO, L. C. PASSALACQUA, T. G. VELÁSQUEZ, A. M. A. V. PETRÔNIO, M. S. STEIN, E. M. NETO, P. C. GRAMINHA, M. A. S. **Busca por fármacos para doenças negligenciadas, com ênfase em doença de Chagas e leishmanioses utilizando a biodiversidade algal**. In: SANTOS, L. C. FURLAN, M. AMORIN, M. R. (Org). **Produtos Naturais Bioativos**. Cultura acadêmica. São Paulo, 2016. 479 p.

ARAUJO, J. P. SILVA, L. E. AMARAL, W. MACHADO, M. S. **Traditional Forms of use, management and perception of vegetal resources in the Coast of Paraná: forest ethnoconservation of Atlantic Forest**. Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 4, n. 3, Edição Especial, p. 886-915, jun. 2018.

BAILEY, K. **Methods of social research**. 4a.ed. New York: The free Press. 1994. 588p.

Brasil. Ministério da Saúde. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica.. – 2. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015. 96 p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 60 p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 92 p.

BUZZATO, A. C. **As comunidades locais e os conflitos de uso dos recursos naturais no Litoral sul do estado do Paraná**. Dissertação (Mestrado em Geografia). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2009. 61 p.

COUTINHO, H.D.M, COSTA, J. G. M, LIMA, E. O, FALCÃO-SILVA, V.S, SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. **Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine**. Chemotherapy; 54 (4):328–330. 2008.

CURVELO, J.A. MARQUES, A. M. BARRETO, A.L. ROMANOS, M. T. PORTELA, M.B. KAPLAN, M.A. SOARES, R.M. **A novel nerolidol-rich essential oil from *Piper clausenianum* modulates *Candida albicans* biofilm**. Journal of medical microbiology, v. 63, n. 5, p. 697-702, 2014.

Decreto n.5.813/2006. Disponível em:

<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5813.htm>. Acesso em: 01 abr. 2019.

DEGANI, A. G. L. CASS, Q. B. VIEIRA, P. C. **Cromatografia: um breve ensaio**. Química nova na escola. n° 7, maio. 21-25. 1998.

DIEGUES, A. C. S. **Sociobiodiversidade**. In: FERRARO-JUNIOR, L. A. Encontros e caminhos: formação de educadoras(es) ambientais e coletivos educadores. Brasília: MMA. p. 303-312. 2005.

DIEGUES, A. C. **Repensando e recriando as formas de apropriação comum dos espaços e recursos naturais**. In: VIEIRA, P. F. WEBER, J (Orgs). **Gestão de recursos naturais e renováveis e desenvolvimento: novos desafios para a pesquisa ambiental**. 3. Ed. São Paulo, 2002.

ELLMAN, G.L. COURTNEY, K. D. ANDRES, V. FEATHERSTONE, R. M. **A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity**. Biochemical Pharmacology. v. 7, 88-90. 1961.

ERNST, E.J. KLEPSE, M.E. ERNST, M.E. MESSER, S.A. PFALLER, M.A.. **In vitro pharmacodynamic properties of MK-0991 determined by time-kill methods**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 33, 75-80, 1999.

FEITOSA, C. M. BARRETO, C. J. TREVISAN, M. T. S. ARAÚJO, R. M. **Alzheimer e produtos naturais como inibidores da acetilcolinesterase**. In: MORAIS, S. M.

BRAZ-FILHO, R (Org). *Produtos naturais: estudos químicos e biológicos*. EdUECE. Fortaleza, 2007. 240p.

FERNANDES, T. M. **Plantas Medicinais: memória da ciência no Brasil**. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 2004. 260p.

FERREIRA, M.I. ALVES, M.J.Q.F. **Atividade diurética dos extratos aquoso e etanólico de Bugre (*Hedyosmum brasiliense* Miq.) e seus efeitos na pressão arterial média em testes pré-clínicos**. Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, UNESP/Campus de Botucatu-SP, 2008.

FONTE, N. N. **A Complexidade das Plantas Medicinais: Enfoque Farmacêutico**. In: JUNIOR, C.C. GRAÇA, L. R. SCHEFFER, M.C. (Organizadores). **Complexo Agroindustrial das Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares no Estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas**. EMATER – PR. Embrapa Florestas. Colombo. 2004. 272 p.

FONTE, N. N. **Transformação de Plantas Medicinais no Estado do Paraná e Considerações sobre Alguns Aspectos Legais e Institucionais e seus Reflexos na Produção e Consumo**. In: JUNIOR, C.C. GRAÇA, L. R. SCHEFFER, M.C. (Organizadores). **Complexo Agroindustrial das Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares no Estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas**. EMATER – PR. Embrapa Florestas. Colombo. 2004. 272 p.

FURTADO, F.B. **Caracterização química e atividades biológicas dos óleos essenciais de *Protium heptaphyllum*, *Hedyosmum brasiliense*, *Blepharocalyx salicifolius*, *Baccharis dracunculifolia* e *Nectandra megapotamica***. Instituto de Biociências - Seção Técnica de Pós-Graduação (Tese doutorado em Biologia Geral e Aplicada,). Bocutatu, São Paulo. 2018.

GARETH, T. **Química Medicinal: uma introdução**. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2003. 413 p.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. **Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia**. Bras Patol Med Lab • v. 46 • n. 3 • p. 225-234 • junho 2010.

GODARD, O. **A gestão integrada dos recursos naturais e do meio ambiente: conceitos, instituições e desafios de legitimação**. In: VIEIRA, P. F. WEBER, J. (Orgs). **Gestão de Recursos Naturais Renováveis e Desenvolvimento – novos desafios para a pesquisa ambiental**. 3.ed. São Paulo: Cortez, 2002.

GUEDES, A. **Estudo químico e avaliação da atividade analgésica e antimicrobiana de *Hedyosmum brasiliense* mart. ex. miq. (Chloranthaceae)**.

(Dissertação Mestrado em Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina. 1997. 144 p.

HAESBAERT, R. **Dos múltiplos territórios a multiterritorialidade**. In: HEIDRICH, A. L. et al. (Orgs). A emergência da multiterritorialidade: a ressignificação da relação do humano com o espaço. Porto Alegre: Editora da UFRGS. P. 19-36B. 2008.

HEINZMANN, B. M. BARROS, F. M. C. **Potencial das Plantas Nativas Brasileiras para o Desenvolvimento de Fitomedicamentos tendo como exemplo lippia alba (mill.) n. e. brown (verbenaceae)**. Saúde, Santa Maria, vol 33, n 1: p 43-48, 2007.

HEINZMANN, B. M. SPITZER, V. SIMÕES, M. O. **Óleos Voláteis**. In: SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P. MELLO, J. C. P. MENTZ, L. A. PETROVICK, P. R (Orgs). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed. Porto Alegre, 2017. 486 p.

HOROCHOVSKI, M. T. H. SILVA, L. A. FERREIRA, M. R. **A construção da pesquisa interdisciplinar: desafios e perspectivas**. In: MURATA, A. T (Org). **Desenvolvimento Territorial Sustentável: pesquisas e desenvolvimento para o litoral paranaense**. Brazil Publishing. Curitiba, 2016. 250p.

HOWLAND, R. D. MYCEK, M. J. **Farmacologia Ilustrada**. Artmed editora. 3ª edição. Porto Alegre, 2007. 560p.

JAVADPOUR, M. M. JUBAN, M. M. LO, W. C. BISHOP, S. M. ALBERTY, J.B. COWELL, S.M. BECKER, C.L., MCLAUGHLIN, M.L. **De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity**. J Med Chem, 39, 107–3113. 1996.

KIRCHNER, K. WISNIEWSKI JR, A. CRUZ, A. B.BIAVATTI, M. W. NETZ, D. J. A. **Chemical composition and antimicrobial activity of Hedyosmum brasiliense Miq., Chloranthaceae, essential oil**. Revista Brasileira de Farmacognosia. 20(5): 692-699, Out./Nov. 2010.

KORB, A. NAZARENO, E. R. MENDONÇA, F. A. DALSENTER, P. R. **Perfil de resistência da bactéria *Escherichia coli* em infecções do trato urinário em pacientes ambulatoriais**. Revista de biologia e ciências da terra. Volume 13 - Número 1 - 1º Semestre 2013. 72-79.

Lei n.11.428/2006. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004/2006/2006/Lei/L11428.htm>. Acesso em: 15 nov. 2018.

Lei n.10.227/2001. Disponível em:

<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/leis_2001/l10227.htm>. Acesso em: 20 dez. 2018.

LEFF, E. **Saber ambiental: sustentabilidade, racionalidade, complexidade, poder.** 8. Ed. Tradução Lúcia Mathilde Endlich Orth. Editora Vozes. Petrópolis, RJ. 2011.

LEFF, E. **Ecologia, capital e cultura: racionalidade ambiental, democracia participativa e desenvolvimento sustentável.** Tradução de Jorge Esteves da Silva. Blumenau: Ed. da FURB, 2000.

LEFF, E. **Ecologia, capital e cultura: a territorialização da racionalidade ambiental.** Editora Vozes. Petrópolis, RJ. 2009. 439p.

LEITMAN, P. **Chloranthaceae** In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

LEMONS, I. C. S. KERNTOPF, M. R. FERNANDES, G. P. **Sociobiodiversidade, Bioprospecção e Etnomedicina.** In: FERNANDES, G. P. LEMOS, I. C. S. L (ORG). Saber popular e sistemas culturais de saúde: a etnomedicina no Brasil. Editora RDS. Crato, Ceará. 2014. 152 p.

LIMA, H. R. T. KAPLAN, M. A. C. CRUZ, A. V. M. **Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. Floresta e Ambiente.** V. 10, n.2, p.71 - 77, ago./dez. 2003.

LORENZI, H. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2. edi. Instituto Plantarum. Nova Odessa. São Paulo, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Vol 3. 2 ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. São Paulo, 2016.

LUCHESE, L. A. **Atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante de Óleos Essenciais.** Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Programa de Pós Graduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017. 88 p.

MACHADO, M. S. **Saber local em um contexto de desenvolvimento territorial sustentável:** etnobotânica da comunidade caiçara do Parati e entorno, Guaratuba, PR. 2017. 104 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor

Litoral, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável. Defesa: Matinhos, 26/09/2017. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1884/52212>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

MARTINS, M. B. G. RODRIGUES, S. D. **Estudos da anatomia vegetal com ênfase em estruturas secretoras de plantas com potencial medicinal e farmacológico.**In: SANTOS, L. C. FURLAN, M. AMORIN, M. R. (Org). **Produtos Naturais Bioativos.** Cultura acadêmica. São Paulo, 2016. 479 p.

MARTINS, A.G.; ROSÁRIO D.L.; BARROS, M.N.; JARDIM, M.A.G. **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais, alimentares e tóxicas da Ilha do Combu, Município de Belém, Estado do Pará.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 86: 31-30. 2005.

MORAIS, L. A. S. **Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais.** Hortic. bras., v. 27, n. 2. S4050- S4063, ago, 2009.

MORAIS-BRAGA, M. F. B. SALES, D. L. CARNEIRO, P.N.P. MACHADO, A. J.T. DOS SANTOS, A. T. L. DE FREITAS, M.A. MARTINS, G. M. A. B. LEITE, N. F. DE MATOS, Y. M. L. S. TINTINO, S. R. SOUZA, D. S. L. MENEZES, I. R. A. RIBEIRO-FILHO, J. COSTA. J. G. M. COUTINHO, H.D.M. ***Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-Candida effect in association with fluconazole.** Microbial pathogenesis, v. 95, p. 200-207, 2016.

MURAKAMI, C. CORDEIRO, I. SCOTTI, M. T. MORENO, P. R. YOUNG, M. C. M. **Chemical Composition, Antifungal and Antioxidant Activities of *Hedyosmum brasiliense* Mart. ex Miq. (Chloranthaceae) Essential Oils.** Medicines, 4,55.12-13. 2017.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests**, 7th edn. Approved standard M2-A7. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Constituição da Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO)** - 1946. Disponível em: <<http://www.direitoshumanos.usp.br/index.php/OMS-Organiza%C3%A7%C3%A3o-Mundial-da-Sa%C3%BAde/constituicao-da-organizacao-mundial-da-saude-omswho.html>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

RANG, P. H. DALE, M. M. RITTER, J. M. FLOWER, R. J. **Farmacologia.** Elsevier. Rio de Janeiro, 2007. 829 p.

RIBEIRO, S. M. BONILLA, O. H. LUCENA, E. M. P. **Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de cróton spp. da caatinga.** Lheringia, série botânica. Porto Alegre, 73(1):31-38, 30 mai 2018.

RIGOTTO, R. **Produção e Consumo, Saúde e Ambiente: em busca de fontes e caminhos.** In: MINAYO, M. C. S. MIRANDA, A.C (Orgs). Saúde e Ambiente Sustentável: estreitando nós. Editora FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 2002. 344p.

ROLLAND, F. BAENA-GONZALES. SHEEN, J. **Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms.** Annual Review of Plant Biology 57:676-709.2006.

SANTOS, A. L. SANTOS, D. O. FREITAS, C. C. FERREIRA, L. A. F. AFONSO, I. F. RODRIGUES, C. R. CASTRO, H. C. **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar.** Bras Patol Med Lab, v. 43. n. 6. p. 413-423. Dez 2007.

SACHS, I. **Ecodesenvolvimento: crescer sem destruir.** São Paulo. 1986.

SACHS, I. **Caminhos para o desenvolvimento sustentável.** Rio de Janeiro: Garamond, 2009.

SAQUET, M. A. SPOSITO, E. S (Orgs). **Territórios e territorialidades: processos e conflitos.** 1 .ed. São Paulo : Expressão Popular: UNESP. Programa de Pós-Graduação em Geografia. 2009.

SANT'ANA, P.J.P. **Bioprospecção no Brasil:** contribuições para uma gestão ética, Brasília: Paralelo 15, 2002.

SCHEFFER, M. C. JUNIOR, C.C. **Complexidade de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares: Enfoque Agrônomico.** In: JUNIOR, C.C. GRAÇA, L. R. SCHEFFER, M.C. (Organizadores). **Complexo Agroindustrial das Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares no Estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas.** EMATER – PR. Embrapa Florestas. Colombo, 272p. 2004.

SILVA, L. E. AMARAL, W. MOURA, E. A. REBELO, R. A. **Bioprospecção no litoral do Paraná: Caminhos possíveis para o desenvolvimento territorial sustentável.** In: REIS, A ... [et al.] (Organizadores) . **Litoral do Paraná : território e perspectivas. Sociedade, ambiente e gestão.** Vol 1. Curitiba, PR : Brazil Publishing, 2016.

SOUZA, V. C. LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**. Instituto Plantarum. Nova Odessa-São Paulo, 2005.

STOPPA, M.A., CASEMIRO, L.A., VINHOLIS, A.H.C., CUNHA, W.R., SILVA, M.L.A., MARTINS, C.H.G., FURTADO, N.A.J.C., 2009. **Estudo comparativo entre as metodologias preconizadas pelo CLSI e pelo EUCAST para avaliação da atividade antifúngica**. Química Nova 32, 498–502.

TAIZ, L. ZEIGGER, E. **Fisiologia vegetal**. Artmed, Porto Alegre, 2004. 720p

TRENTIN, A.P., SANTOS, A.R., GUEDES, A., PIZZOLATTI, M.G., YUNES, R.A. & CALIXTO, J.B. **Antinociception caused by extract of *Hedyosmum brasiliense* and its active principle, the sesquiterpene lactone 13-hydroxy-8,9-dehydroshizukanolide**. Planta Medica. 65(6): 517-521. 1999.

TONHASCA JUNIOR, A. **Ecologia e história natural da Mata Atlântica**. Editora Interciência. Rio de Janeiro, 2005. 197p.

TONINI, P. P. PURGATO, E. BUCKERIDGE, M. S. **Effects of abscisic acid, ethylene and sugars on the mobilization of storage proteins and carbohydrates in seeds of the tropical tree *Sesbania virgate* (cav) Pers. (Leguminosao)**. Annals of botany 106: 607-616. 2010.

VIDO, D. L. R. **Comparação da composição química e das atividades biológicas dos óleos essenciais de folhas de populações de *Hedyosmum brasiliense* Mart. ex Miq. provenientes da Serra do Mar e da Serra da Mantiqueira (Mata Atlântica)**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo. 2009. 101 p.

VARJABEDIAN, R. **Lei da Mata Atlântica: retrocesso ambiental**. Estudos avançados 24 (68), 2010.

WEBER, Jacques, BAILLY Denis. **Prever é governar**. In: VIEIRA, Paulo Freire, WEBER, Jacques. (Orgs.). **Gestão de Recursos Naturais Renováveis e Desenvolvimento: Novos desafios para a pesquisa ambiental**. 2. ed. São Paulo: Cortez, 2002. 269-302 p.

APÊNDICE 1:
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E
ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, prof. Dr. Luiz Everson da Silva e a acadêmica Jenifer Priscila de Araujo, pesquisadora da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você a participar de um estudo intitulado “*BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR E CONHECIMENTO ETNOBOTÂNICO DA HEDYOSMUM BRASILIENSE NO LITORAL DO PARANÁ: ETNOCONSERVAÇÃO FLORESTAL DA MATA ATLÂNTICA*”. Este estudo pretende conhecer a espécie nativa *Hedyosmum brasiliense* e o seu potencial etnofarmacológico no Litoral do Paraná. O conhecimento advindo deste estudo pode auxiliar a conhecer melhor as possíveis formas de uso e manejo da espécie subsidiando a reflexão sobre o assunto entre profissionais das áreas da saúde e das ciências ambientais. Caso aceite participar desta pesquisa, será necessário responder a questionários avaliativos com duração de aproximadamente trinta minutos. Após a aplicação do questionário será realizada uma análise das informações e posteriormente realizado uma devolutiva a comunidade. O estudo será aplicado na comunidade de acordo com a disponibilidade dos informantes da pesquisa.

Esta pesquisa será aplicada pela Mestranda em Desenvolvimento Territorial Sustentável da Universidade Federal do Paraná, Jenifer Priscila de Araujo, supervisionada pelo prof^º Dr. Luiz Everson da Silva, e em caso de eventuais dúvidas poderá entrar em contato com a pesquisadora, pelo telefone (41) 998520786, de segunda a sexta-feira, 13:00 às 18:00, ou pelo e-mail: jenifer.araujo@ufpr.br. Trata -se de uma pesquisa de cunho acadêmico/científico, que poderá ser publicada em revistas pertinentes, será garantido o sigilo dos participantes, sendo a divulgação das informações referentes aos participantes, feita de forma codificada para que sua identidade seja preservada e mantida a confidencialidade da identidade dos participantes.

Eu _____ li este termo de assentimento e compreendi a natureza e objeto do estudo do qual concordei em assinar.

Assinatura do Participante

Assinatura da Pesquisadora

APÊNDICE 2:
QUESTIONÁRIO DE CARACTERIZAÇÃO

QUESTIONÁRIO DE CARACTERIZAÇÃO

Data: ___/___/___

Entrevista Nº _____. Início: _____.

Localização: _____.

Nome: _____.

Origem _____.

Sexo: Feminino () Masculino ().

Ocupação: _____.

Idade: _____.

Tempo de residência: _____.

IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE

Observe a figura:



1. Conhece a planta?

() Não

() Sim.

Nome: _____.

2. Qual a localização?

() Quintal

() Floresta

() Outros.

Quais: _____.

3. Há em abundância na comunidade?

() Muito

() Mais ou menos

() Pouco

() Não há

4. Já utilizou para consumo, se sim aponte o uso:

() Alimentar

() Chá

() Emplasto

() Outras.

Quais: _____.

_____.

5. Qual é a frequência de uso da planta?

- () Sempre () Algumas vezes
() Raramente | Nunca

6. Qual época é mais utilizada?

- () Primavera () Verão
() Outono () Inverno

7. Qual parte da planta é utilizada?

- () Folhas () Frutos
() Tronco () Outra.

Qual: _____.

8. Marque um **X** nas alternativas que descrevem em qual situação utiliza a planta:

- () Dores de cabeça () Afecções estomacais
() Doenças urinárias () Outras.

Quais: _____

_____.

9. Como é realizado o preparo?

_____.

10. Como é armazenado e por quanto tempo?

_____.

11. Como adquiriu o conhecimento?

- () Cultura familiar () Pessoas da comunidade
() Outro.

Qual: _____.

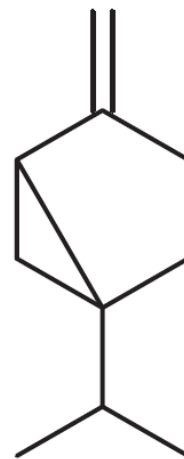
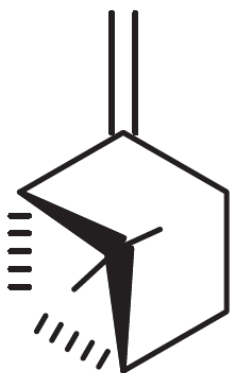
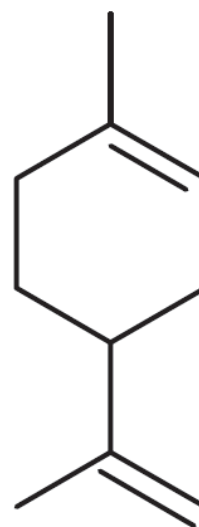
12. **Informações**

adicionais: _____

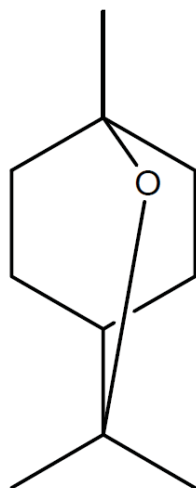
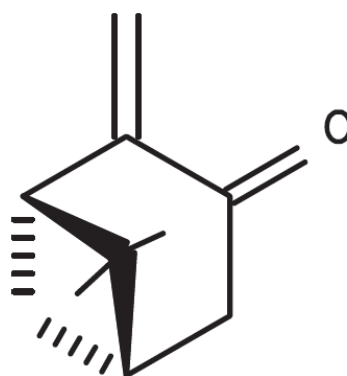
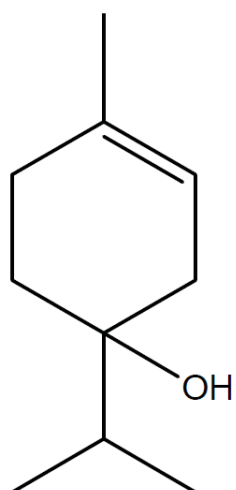
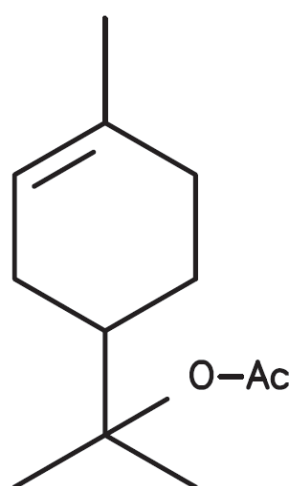
_____.

Horário de término _____.

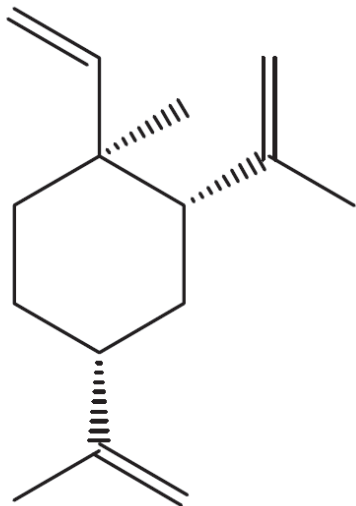
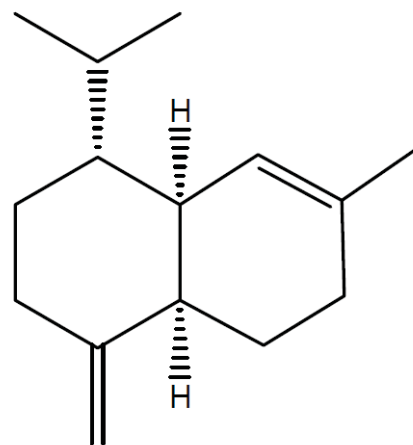
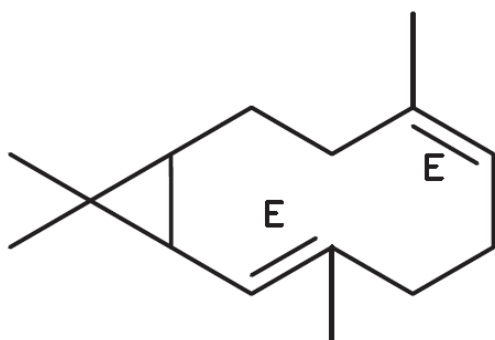
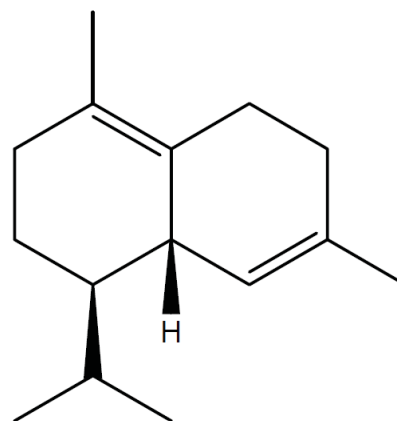
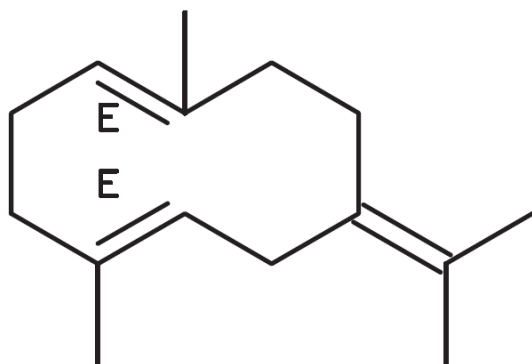
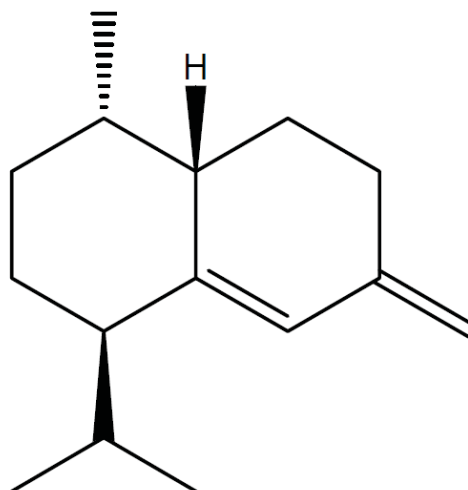
**ANEXO 1 – CONSTITUINTES E ESTRUTURAS
QUÍMICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DA ESPÉCIE
Hedyosmum brasiliense Mart. (ADAMS, 2017).**

❖ *MONOTERPENOS**α-Pineno* (C₁₀H₁₆)*Sabineno* (C₁₀H₁₆)*β-Pineno* (C₁₀H₁₆)*Limoneno* (C₁₀H₁₆)

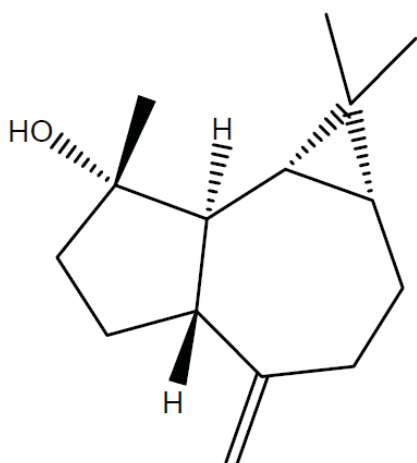
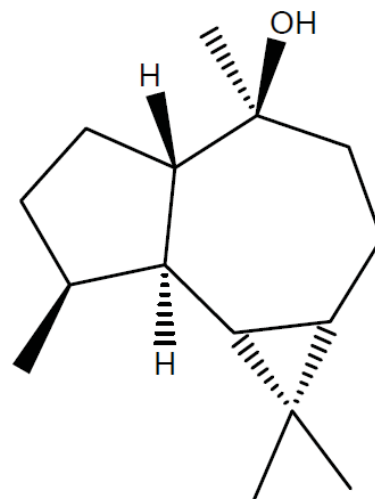
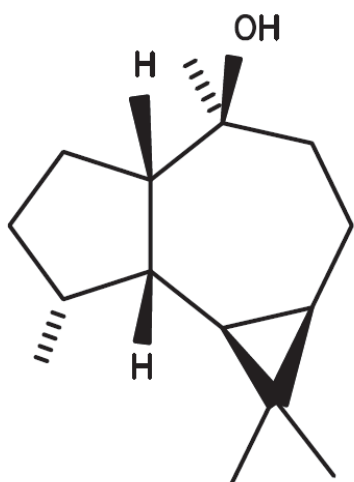
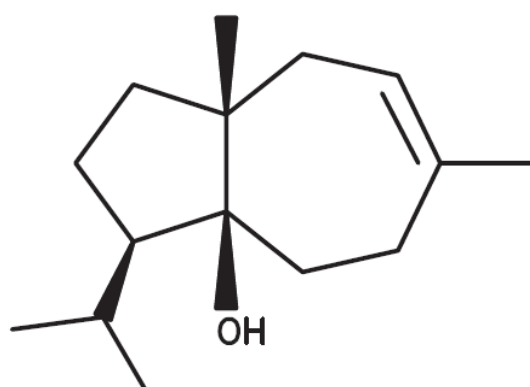
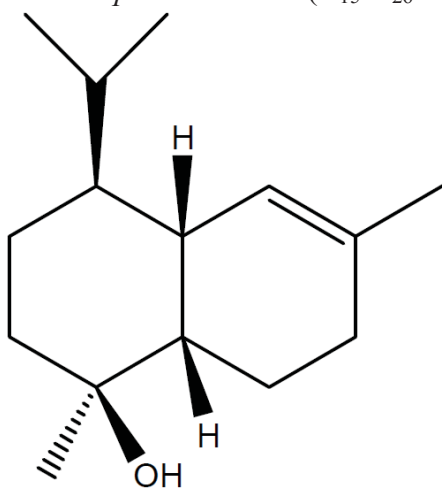
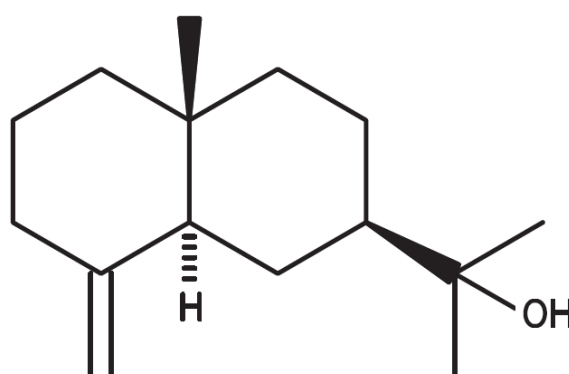
❖ MONOTERPENOS OXIGENADOS

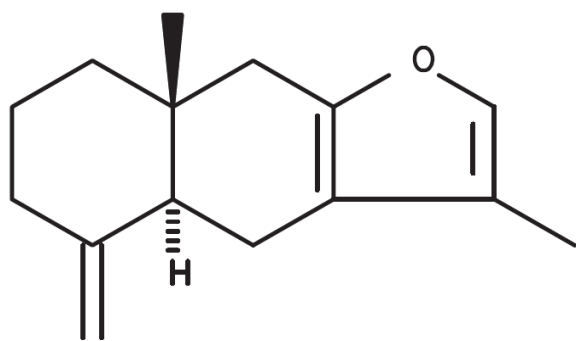
1,8-Cineol (C₁₀H₁₈O)*Pinocarvona* (C₁₀H₁₄O)*Terpinel-4-ol* (C₁₀H₁₈O)*α-Terpinil acetato* (C₁₂H₂₀O₂)

❖ SESQUITERPENOS

β-Elemeno (C₁₅ H₂₄)*γ-Muuroleno* (C₁₅ H₂₄)*Biclogermacreno* (C₁₅ H₂₄)*Cadineno* (C₁₅ H₂₄)*Germacreno B* (C₁₅ H₂₄)*Muurola-4(14),5-trans-dieno* (C₁₅ H₂₄)

❖ SESQUITERPENOS OXIGENADOS

Spathulenol (C₁₅ H₂₄O)*Globulol* (C₁₅ H₂₆ O)*Vidiflorol* (C₁₅ H₂₆ O)*Carotol* (C₁₅ H₂₆ O)*Epi-α-Muurolol* (C₁₅ H₂₆ O)*β-Eudesmol* (C₁₅ H₂₆ O)

Atractilona (C₁₅ H₂₀ O₂)*Ferula lactona I* (C₁₅ H₁₈ O₂)