

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM
PRODUTOS BIOATIVOS

MARIANE DE ALMEIDA MACHADO

**ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Annona muricata***

Umuarama
2025

MARIANE DE ALMEIDA MACHADO

**ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Annona muricata***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com área de concentração em Saúde Animal.

Orientação: Dra. Zilda Cristiani Gazim

Umuarama
2025

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Paranaense.**

Ficha Catalográfica

M149a Machado, Mariane de Almeida.

Aspectos farmacológicos e fitoquímicos do extrato
obtido das folhas de *Annona muricata* / Mariane de
Almeida Machado. – Umuarama : Universidade
Paranaense - UNIPAR, 2025.

66 f.

Orientadora: Dr^a. Zilda Cristiani Gazim.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Ácido químico. 2. Flavonoides. 3. FPS. 4. Graviola. 5.
MCF-7. 6. NCI-H460. 7. Óxido nítrico I. Universidade
Paranaense - UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 615.321

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Química de Produtos Naturais, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense, Instituto Politécnico de Bragança Portugal e Pesquisadora Dra. Beatriz Cervejeira Bolanhos Barros da Universidade Estadual de Maringá -UEM na Unidade de Umuarama da Universidade Paranaense como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação da Prof. Dra. Zilda Cristiani Gazim.

**ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Annona muricata***

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

- 1 Universidade Paranaense – UNIPAR, campos Umuarama
- 2 CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior
- 3 CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 4 Fundação Araucária: Apoio e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná

MARIANE DE ALMEIDA MACHADO

**ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Annona muricata***

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Zilda Cristiani Gazim
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientadora)

Dra. Beatriz Cervejeira Bolanho Barros
Universidade Estadual de Maringá - UEM (banca externa)

Dr. Ranulfo Piau Junior
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (banca interna)

Umuarama, 12 de Fevereiro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me abençoar, me proteger e me fortalecer no caminho trilhado, iluminando meus passos, superando todas as dificuldades para chegar até aqui.

Aos meus familiares, quero demonstrar a minha mais profunda gratidão por todo o apoio e compreensão durante este percurso. Sendo, indubitavelmente, meu alicerce nos momentos mais solicitados e minha motivação para continuar.

Agradeço especialmente ao meu marido e companheiro, que, com carinho e paciência, esteve ao meu lado, oferecendo palavras de incentivo e compartilhando comigo cada conquista. Este trabalho é, também, um reflexo do amor e da força que recebo de vocês todos os dias.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Zilda Cristiani Gazim, pessoa admirável, que me orientou sempre com prontidão, educação e compreensão, com ensinamentos muito valiosos para a minha trajetória como mestranda, tornando possível a concretização deste sonho que se torna realidade.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com ênfase em Produtos Bioativos da UNIPAR.

Aos secretários da Pós-Graduação *Stricto Sensu* pela atenção e dedicação.

Meus agradecimentos à CAPES, pelo apoio financeiro.

Meus agradecimentos especiais a Universidade Paranaense (UNIPAR), campus sede (Umuarama), pela oportunidade concedida ao ingresso neste programa de mestrado.

Finalmente, a todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização desta pesquisa, minha eterna gratidão. Essa pesquisa não teria sido possível sem a significativa contribuição de todos.

Muito Obrigada!

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

MACHADO, Mariane de Almeida. **ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DO EXTRATO OBTIDO DAS FOLHAS DE *Annona muricata*** Orientadora: Zilda Cristiani Gazim. Ano. 2024. f. 58. (Dissertação Mestrado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

RESUMO

Esta dissertação encontra-se dividida em dois capítulos. O Capítulo 1 teve por objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre os aspectos químicos, biológicos e farmacológicos de *Annona muricata*. A metodologia consistiu na realização de levantamento bibliográfico, utilizando como fontes de pesquisa acadêmica Google Acadêmico, Scielo e Science Direct. Adotou-se descritores específicos, com foco em publicações sobre “composição química”, “atividades farmacológicas”, “análise botânica” e “biológica” de *Annona muricata*. Os resultados levantados proporcionaram a construção do corpo do trabalho, constituindo os aspectos históricos e descritivos sobre a espécie *Annona muricata*. Também, foram descritos os aspectos botânicos bem como a sinonímia científica e a localização geográfica da espécie. Abordou-se, ainda, os aspectos químicos, farmacológicos e a utilização na medicina tradicional. O Capítulo 2 teve como objetivo a investigação do fator de proteção solar (FPS), e atividades antiproliferativa, inibidora da produção de óxido nítrico e antioxidante do extrato bruto (EB) das folhas de *Annona muricata*. Os extratos brutos foram obtidos pelo processo de maceração dinâmica com esgotamento de solvente, e analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução. Para determinação do potencial antiproliferativo utilizou-se linhagens de células tumorais humanas: AGS (adenocarcinoma gástrico), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), NCI-H460 (carcinoma pulmonar) e a linhagem celular não tumoral VERO. A atividade inibidora da produção de óxido nítrico (NO) e antioxidante celular (AAC) foram executadas em culturas de macrófagos de camundongo (RAW 264.7). Também foram determinados os teores de fenóis totais (FT), flavonoides totais e o fator de proteção solar (FPS). Também foram determinadas as atividades antioxidantes pelos métodos de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e pelo poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP). A análise química indicou a presença dos compostos fenólicos: ácido quínico (3,986 mg/g), ácido protocatecuico (0,663 mg/g), ácido cumárico (0,026 mg/g), ácido ferúlico (0,042 mg/g), Ácido cafeico (0,017 mg/g) e o flavonoide quercetina (0,085 mg/g). Os EB das folhas apresentaram atividade inibidora da produção de óxido nítrico (IC₅₀ 46µg/mL). Quanto a atividade antiproliferativa, maior inibição do EB ocorreu sobre as linhagens NCI-H460 (GI₅₀= 13,00 µg/mL), MCF-7 (GI₅₀= 16,00 µg/mL), CaCo2 (GI₅₀= 48,00 µg/mL) e AGS (91,00

$\mu\text{g/mL}$). O índice de seletividade (IS) dos EBs variou de 0,57 a 4,0. O EB evidenciou potencial antioxidante celular com 69% de inibição. A concentração necessária para inibir 50% do radical DPPH foi $\text{IC}_{50} = 3,64 \text{ mg/mL}$, e o poder de redução do ferro (FRAP) foi de $2,19 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso /mg do extrato. O teor de fenóis totais variou de 0,65 a 25,60 $\mu\text{g GAE/mg}$ de EB; o teor de flavonoides variou de 472,00 a 507,79 $\mu\text{g GAE/mg}$; o fator de proteção solar (FPS) foi de 4,03 a 12,48 nas concentrações de 0,25 a 1,0 mg/mL de EB, respectivamente. Os resultados encontrados nesta pesquisa propõem novas biomoléculas obtidas das folhas da graviola, e os efeitos inibidores da produção de óxido nítrico, antioxidante, antiproliferativo e proteção solar destas biomoléculas vem de encontro com os objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS 3), reforçando a importância no bem estar social, contribuindo com o meio científico proporcionando melhor qualidade de vida para a população em geral, atuando diretamente na saúde única.

Palavras-chave: Ácido Quínico. Flavonoides. FPS. Graviola. MCF-7. NCI-H460. Óxido nítrico.

MACHADO, Mariane de Almeida. **PHARMACOLOGICAL AND PHYTOCHEMICAL ASPECTS OF THE EXTRACT OBTAINED FROM THE LEAVES OF *Annona muricata***. Supervisor: Gazim Zilda Cristiani. Year. 2024 f. 58. (Master's Degree in Animal Science with an Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

ABSTRACT

This dissertation is divided into two chapters. Chapter 1 aimed to conduct a bibliographic review on the chemical, biological and pharmacological aspects of *Annona muricata*. The methodology consisted of conducting a bibliographic survey, using Google Scholar, Scielo and Science Direct as academic research sources. Specific descriptors were adopted, focusing on publications on “chemical composition”, “pharmacological activities”, “botanical analysis” and “biological” of *Annona muricata*. The results gathered provided the construction of the body of the work, constituting the historical and descriptive aspects of the species *Annona muricata*. Also, the botanical aspects as well as the scientific synonymy and geographic location of the species were described. The chemical, pharmacological aspects and use in traditional medicine were also addressed. Chapter 2 aimed to investigate the sun protection factor (SPF), antiproliferative, nitric oxide production inhibitory and antioxidant activities of the crude extract (CE) of *Annona muricata* leaves. The crude extracts were obtained by the dynamic maceration process with solvent depletion, and analyzed by high-performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. To determine the antiproliferative potential, human tumor cell lines were used: AGS (gastric adenocarcinoma), Caco-2 (colorectal adenocarcinoma), MCF-7 (breast adenocarcinoma), NCI-H460 (lung carcinoma) and the non-tumor cell line VERO. The nitric oxide (NO) production inhibitory and cellular antioxidant (CAA) activities were performed in mouse macrophage cultures (RAW 264.7). The total phenol (TF), total flavonoid and sun protection factor (SPF) contents were also determined. The antioxidant activities were also determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging (DPPH) and iron reduction antioxidant power (FRAP) methods. The chemical analysis indicated the presence of the following phenolic compounds: quinic acid (3.986 mg/g), protocatechuic acid (0.663 mg/g), coumaric acid (0.026 mg/g), ferulic acid (0.042 mg/g), caffeic acid (0.017 mg/g) and the flavonoid quercetin (0.085 mg/g). The EB from the leaves showed nitric oxide production inhibitory activity (IC₅₀ 46 µg/mL). Regarding antiproliferative activity, the greatest inhibition of EB occurred on the NCI-H460 (GI₅₀ = 13.00 µg/mL), MCF-7 (GI₅₀ = 16.00 µg/mL), CaCo2 (GI₅₀ = 48.00 µg/mL) and AGS (91.00 µg/mL) lines. The selectivity index (SI) of EBs ranged from 0.57 to 4.0. EB showed cellular antioxidant potential with 69% inhibition. The

concentration required to inhibit 50% of the DPPH radical was $IC_{50} = 3.64$ mg/mL, and the iron reducing power (FRAP) was 2.19 μ M of ferrous sulfate/mg of the extract. The total phenol content ranged from 0.65 to 25.60 μ g GAE/mg of EB; the flavonoid content ranged from 472.00 to 507.79 μ g GAE/mg; the sun protection factor (SPF) was 4.03 to 12.48 at concentrations of 0.25 to 1.0 mg/mL of EB, respectively. The results found in this research propose new biomolecules obtained from soursop leaves, and the inhibitory effects of nitric oxide production, antioxidant, antiproliferative and sun protection of these biomolecules meet the objectives of sustainable development (ODS 3), reinforcing the importance of social well-being, contributing to the scientific community by providing a better quality of life for the general population, acting directly on One Health.

Keywords: Quinic Acid. Flavonoids. SPF. Soursop. MCF-7. NCI-H460. Nitric oxide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1 - ASPECTOS BOTÂNICOS, QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DE *Annona muricata*: UMA REVISÃO

Figura 1 – Exemplar adulto de <i>Annona muricata</i> (A), flores (B), folhas (C) espécie adulta.....	24
Figura 2 – Distribuição geográfica de <i>Annona muricata</i>	26
Figura 3 – Estruturas químicas dos compostos identificados de <i>Annona muricata</i>	50

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 - Aspectos botânicos, químicos e farmacológicos de *Annona muricata*: Uma revisão

Tabela 1 – Classificação taxonômica da espécie *Annona muricata*.....23

Artigo 1 - Atividade antitumoral, anti-inflamatória e citotóxica do extrato bruto das folhas e flores de *Annona muricata*

Tabela 1 – Prospecção fitoquímica dos extratos das folhas e flores de *Annona muricata*.....49

Tabela 2 – Identificação química dos extratos brutos das folhas e flores de *Annona muricata*.....51

Tabela 3 – Atividade anti-inflamatória do extrato bruto das folhas e flores de *Annona muricata*.....52

Tabela 4 – Atividade antiproliferativa dos extratos brutos das folhas e flores de *Annona muricata*.....52

Tabela 5 – Atividade antioxidante celular do extrato bruto das folhas e flores de *Annona muricata*.....53

LISTA DE SIGLAS

AGS	Adenocarcinoma gástrico
AINES	Anti-inflamatório não esteroide
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Caco-2	Adenocarcinoma colorretal
CC50	Concentração citotóxica 50%
CG / EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
CL	Concentração letal
CL99.9	Concentração letal para 99.9% da população testada
COX- 1	Ciclooxigenase 1
COX- 2	Ciclooxigenase 2
CT - DNA	DNA tumoral circulante
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DMEM	Meio Dulbecco Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAG	Equivalente de ácido gálico
EB	Extrato bruto
FRAP	Ferric Reduction Antioxidant Power
FT	Determinação de Fenóis Totais
GI50	Concentração da amostra que inibiu 50% do crescimento celular
GL	Graus Gay-Lussac

HBSS	Solução de sais balanceados de Hank
HCT-8	Adenocarcinoma de intestino
HCT- 116	Carcinoma de cólon
HeLa	Carcinoma cervical
HepG2	Hepatocarcinoma
IC50	Inibição de 50% da produção de óxido nítrico
INCA	Instituto Nacional de câncer
IS	Índice de seletividade
LPS	Lipossacarídeos
McF-7	Adenocarcinoma de mama
MDA-MB-435	Carcinoma de mama humano
MIC	Microdiluição em caldo
MTT	(3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di- fenil brometo de tetrazolina
NCI-H460	Carcinoma pulmonar
OE	Óleo essencial
PBS	Solução tampão Phosphate-bufferid saline
QE	Quercetina
RAW-264.7	Macrófagos de camundongo
RI	Índice de retenção
RPMI-1640	Meio de cultivo Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 Medium
SF- 268	Célula tumoral do sistema nervoso central
SF - 295	Glioblastoma humano

SFB	Soro fetal bovino
SRB	Sulforhodamina B
TRIS	Solução tris (hidroximetil)aminometano
UHPLC / MS	Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas
VERO	Célula epitelial do rim de macaco

LISTA DE SÍMBOLOS

@	Arroba
Ca ⁺⁺	Íon cálcio
%	Porcentagem
µg	Micrograma
g	Gramma
kg	Quilograma
µm	Micrometro
°C	Grau Celsius
µmol	Micromol
µM	Micromolar

SUMÁRIO

	CAPITULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
1.1	Introdução	22
1.2	Revisão da Literatura	23
1.3	Referências	32
1.4	Objetivo	38
	CAPITULO 2 – ARTIGOS	39
2.1	ARTIGO 1 - Atividades biológicas do extrato bruto das folhas de <i>Annona muricata</i>.....	40
	RESUMO.....	41
	ABSTRACT.....	42
	Introdução	43
	Material e Métodos	44
	Obtenção do material vegetal.....	44
	Obtenção do extrato bruto das folhas de <i>Annona muricata</i>	44
	Identificação química dos extratos brutos das folhas de <i>Annona muricata</i>	44
	Atividade antiproliferativa dos extratos brutos das folhas de <i>Annona muricata</i>	45
	Atividade inibidora da produção de óxido nítrico (NO) do extrato bruto das folhas de <i>Annona muricata</i>	46
	Atividade antioxidante celular (AAC)	46
	Determinação dos fenóis totais (FT)	47
	Determinação de flavonoides totais	47
	Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	48
	Poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP).....	48
	Determinação do fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i>	48

	Análise estatística	49
	Resultados	49
	Discussão	53
	Referências	58
3	CONCLUSÃO	58
	ANEXOS	
	Normas de publicação da revista BLACPMÁ.....	

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

ASPECTOS BOTÂNICOS, QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DE *Annona muricata*: UMA REVISÃO

O capítulo 1 foi editado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.

ASPECTOS BOTÂNICOS, QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DE *Annona muricata*: UMA REVISÃO

1.1 Introdução

O crescente interesse internacional pelas propriedades da *Annona muricata* (Graviola), sinaliza para a sustentabilidade dos subprodutos de cadeia produtiva, ricos em fitoquímicos e outras propriedades que justificam sua aplicação industrial (Santos *et al.*, 2023).

Extratos de fitoconstituintes de *A. muricata* apresentam múltiplos efeitos benéficos com potenciais atividades relacionadas a compostos encontrados em frutos e folhas, principalmente as acetogeninas, compostos fenólicos, alcaloides e terpenos (Campos *et al.*, 2023).

Os compostos naturais representam excelentes possibilidades para a busca de componentes terapêuticos, sendo que mais de 60% dos medicamentos empregados em diferentes terapias, possui, em alguma instância, origem a partir de fontes naturais (Guidoti *et al.*, 2023). Os produtos naturais possuem um importante papel no desenvolvimento de novos medicamentos, não somente quando compostos bioativos são usados diretamente como terapêuticos, mas também, quando usados como matéria prima para a síntese de medicamentos ou de base para novos compostos biológicos ativos (Santos; Freitag; Bobrowski, 2023).

Apesar de todos os avanços técnicos-científicos, é necessário a busca de inovação, por meio de estudos com foco no desenvolvimento de novos medicamentos através de produtos naturais para que sejam utilizados no combate das diversas patologias preocupantes e cada vez mais agravantes (Silva *et al.*, 2023).

A espécie *A. muricata* apresenta atividades químicas e biológicas já documentadas, entretanto poucos estudos enfatizando o potencial químico, por meio de metabólitos secundários, de suas folhas, desta maneira a finalidade é a avaliação biológica do extrato bruto das folhas da Graviola identificando compostos advindos do metabolismo secundário do vegetal (Sousa; Dias; Santos, 2024).

O objetivo é a revisão de literatura sobre a espécie *Annona muricata*, buscando ter maior conhecimento sobre suas propriedades farmacológicas.

1.2 Revisão da Literatura

1.2.1 Espécie *Annona muricata*

Annona muricata, conhecida popularmente como Graviola, possui aproximadamente 6 metros de altura, ramos não abundantes e copa pequena a *A. muricata* possui folhas com disposição alternada de aproximadamente 12-16 cm de comprimento e 4-8 cm de largura, com coloração amarelada suas flores chegam até 6 cm, e frutos grandes podendo pesar até 8 kg (Barata *et al.*, 2009).

Um estudo publicado mostrou o potencial da *Annona muricata* uma atividade leishmanicida e sua citotoxicidade, antivirais para Herpes simples, efeitos anticarcinogênicos e genotóxicos, atividades de cicatrização em feridas e efeitos antibacterianos com um amplo espectro de ação, (Gajalakshmi; Vijayalakshmi; Rajeswari, 2011).

A graviola pode apresentar também atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antiparasitárias e hipoglicemiantes, mas os compostos que mais se destacam são os de capacidades antitumorais e antioxidantes segundo Jesus *et al.* (2013).

A principal substância química responsável por essas atividades antitumoral que promove essas atividades em destaque de antitumoral, citotóxica e antimicrobiana é a presença de acetogeninas, conhecidas também como policetídeos, mas possuem quantidade significativas de alcaloides isoquinolínicos que se destacam a atividade antibacteriana e toxicidade para diversas linhagens celulares como a linhagem de câncer (Barreto, 2014). A classificação taxonômica da espécie *Annona muricata* encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação taxonômica da espécie *Annona muricata*

Classificação taxonômica	
Reino	Plantae
Filo	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Subclasse	Magnoliidae
Ordem	Magnoliales
Família	Anonacea
Gênero	<i>Annona</i>
Espécie	<i>Annona muricata</i>

Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). <https://powo.science.kew.org/>. Acesso em: 19 mar.2024

1.2.2 *Annona muricata*

1.2.2.1 Descrição botânica

Annona muricata exibe uma gama de papéis farmacológicos, através de suas propriedades medicinais popularmente conhecidas. A árvore tem uma aparência fina com galhos baixos tendo o fruto conhecido pela aparência irregular, lembrando a um formato de coração, contendo células de parênquima branco-creme encapsulados por uma pele com espinhos curvos (Kottila; Hena, 2024).

Sua fruta é de formato ovoide com a polpa branca contendo cerca de 127-170 sementes, a graviola é considerada uma fruta exótica pertencente à família Annonaceae, atualmente distribuída por todo o mundo (Lopez-Martir *et al.*, 2024)

É uma espécie de árvore tropical perene da família, sendo originária de regiões de terras baixas da América central e do Sul. *Annona muricata* é a que domina ambientes tropicais, esbelta com suas folhas verdes escuras quando madura possui produz grandes frutos verdes de seus diferentes formatos (redondos, ovóides, cônicos, formato de coração e curvos), a graviola dá frutos durante todo o ano quando comparada à outra espécies de *Annona* (Kome *et al.*, 2024)

Figura 1. (A) *Annona muricata* fruto; (B) folhas (C) espécie adulto



Fonte: Autora

Considerando o valor frutífero e farmacológico da *Annona muricata* as estacas caulinares podem ser um método eficiente de reprodução, pois podem antecipar a floração e manter a estabilidade dos compostos ativos da planta (Sousa *et al.*, 2023).

1.2.2.2 Nomes Populares

Annona muricata é conhecida, também, como: Graviola, Jaca-do-Pará, Fruta do Conde, Coração de Rainha, Araticum-grande e, também, por Jaca-de-Pobre (Lameira *et al.*, 2011).

1.2.2.3 Etimologia

O termo "*Annona muricata*" vem do latim e do grego. O gênero *Annona* foi descrito por Lineu e deriva do termo latino "annoná", pertencente a família Annonaceae (Ceolin *et al.*, 2023)

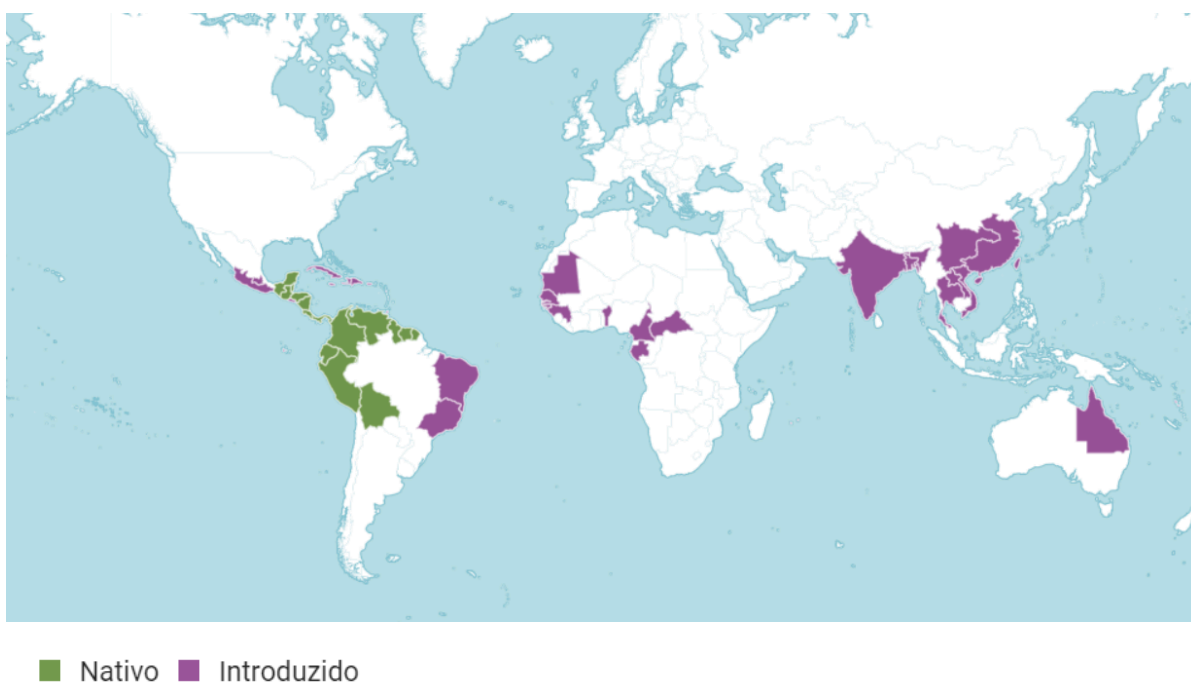
1.2.2.4 Sinonímia científica

Annona bonplandiana Kunth, *Annona cearaensis* Barb.Rodr., *Annona muricata* var. *borinquensis* Morales, *Annona muricata* f. *mirabilis* R.E.Fr. (Powo, 2023)

1.2.2.5 Distribuição geográfica

Nativa da América Central (Belize, Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México Sudeste, Nicarágua, Panamá, Peru, Suriname, Venezuela), e distribuída em outros continentes, como Europa, Ásia, África (Powo, 2023)

Figura 2. Distribuição geográfica de *Annona muricata*



(Fonte: *Plants of the World Online*, Royal Botanic Gardens, Kew. 2023. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Disponível em: [em:https://powo.science.kew.org/](https://powo.science.kew.org/). Acesso em: 19 mar. 2024.

1.2.2.6 Uso popular e propriedades farmacológicas

É da história da humanidade o uso de diferentes plantas a fim de atender objetivos humanos, sendo elas de aplicações de veneno até a utilização com atividade curativas, sendo assim denominadas plantas medicinais (Patrício *et al.*, 2022).

O homem, no período pré-histórico, através da observação dos animais, já conseguia distinguir quais plantas podiam ser comestíveis ou não, sendo o uso de plantas medicinais anterior ao surgimento da escrita na humanidade (Cherobin *et al.*, 2022). Durante milhares de anos o uso de plantas medicinais era o principal e único meio de tratamento para saúde da população em geral (Santos *et al.*, 2022).

Para Gasparin *et al.* (2022) a utilização das plantas medicinais mostra que elas fazem parte da evolução humana com seu uso em tratamentos, prevenções e até mesmo cura de patologias sendo o método medicinal mais antigo presente na humanidade.

A Graviola é muito utilizada na medicina popular, sendo usada suas folhas, caules, raízes e sementes para os mais diversos sintomas (Mutakin *et al.*, 2022). Segundo Zubaidi *et al.* (2023), na Tanzânia, a folha é muito utilizada para o tratamento de diabetes; na Indonésia e

nos países do Pacífico Sul são usadas no banho para doenças de pele, assim como também utilizada para tratar insônia, dores de cabeça e cistite.

A sua fruta é utilizada como remédio natural para neuralgias, dores artríticas, diarreia, disenteria, parasitas, malária, reumatismo, erupções cutâneas e vermes (Moghadamtousi *et al.*, 2015).

Enfim, todas as partes da gravioleira são utilizadas por povos nativos para diversos problemas de saúde, ressaltando o câncer, parasitas, hiperglicemia entre outros já citados (Amâncio *et al.*, 2020). As folhas e frutos tradicionalmente usados na medicina, têm efeito e sedativo; a decocção de suas folhas contribui para analgesia e doenças relacionadas à vesícula biliar (Agunloy; Onifade, 2020).

Como também a infusão de suas folhas é bastante utilizada pelos efeitos antidiabéticos, analgésicos, anti-inflamatórios, antiprotozoário, antioxidante e antitumorais (Silva *et al.*, 2023). O extrato das sementes é utilizado pelos populares para combater uma variedade de parasitas (Anarado *et al.*, 2020).

1.2.2.7 Composição química

Segundo Gyesi, Opoku e Borquaye (2019), através do óleo essencial da folha de *A. muricata* foram identificados cerca de 31 compostos (99,98%), enquanto que na fruta foram 32 compostos (99,99%), na folha encontra-se mais quantidade de terpenos e terpenóides, no fruto os compostos alifáticos predominam.

Em um estudo, pode-se observar as estruturas polissacarídicas que constituem fibras solúveis (hemogalacturonana e arabinogalactana do tipo II) e polissacarídeos hemicelulósicos através de fibras alimentares insolúveis (pectina abundante em arabinanas, xilana ácida e complexo xilana-xiloglucana) que estão presentes na polpa da *A. muricata* (Leivas *et al.* 2023).

Na análise por CG-MS, o óleo da folha apresentou 12 compostos sendo majoritário o cariofileno (26,04%), na fruta foram cariofileno (32,30%), ácido n-hexadecanóico (24,8%) e (E)-nerolidol (Osibote; Olaije, 2023). Em um estudo feito com a casca crua da graviola notou-se que a composição presente na casca pode ser relacionada às atividades antioxidantes (Villacís-Chiriboga, 2023)

Em uma análise por HPLC foram encontrados compostos químicos como antocianinas, saponinas, terpenóides, triterpenos, flavonoides sendo eles os de maior concentração e taninos estando estes presentes no extrato etanólico da folha de *A. muricata*, assim como luteolina, arginina, ácido benzóico e ácido clorogênico (Nwonuma; Balogun; Gyebi, 2023).

Já em uma triagem fitoquímica realizada em sementes da graviola, verificou-se a presença de alcalóides, flavonóides, taninos, saponinas, esteróides, terpenóides, glicosídeos e apartação de antocianinas (Inkalaba *et al.*, 2023).

Em uma análise com extrato das folhas por acetato de etila, esteróides, carboidratos e proteínas não foram encontrados, em clorofórmio mostrou ausência de fenóis, com acetona mostrou apenas três constituintes, flavonóides, taninos e glicosídeo (Asha; Merina; Bojaja, 2023).

O fruto possui quantidades significativas de compostos fenólicos e posteriormente uma boa capacidade antioxidante, assim como um estudo *in vitro* demonstrou que pode se obter um efeito antidiabético e anti hipertensivo também (Menon *et al.*, 2023).

É muito utilizada a folha da *Annona muricata*, deixando assim em déficit os estudos com as outras partes da planta. A anonacina é a principal acetogenina presente nas folhas, quimicamente elas são derivadas de ácidos graxos, sendo o ácido linoléico derivado de ácido graxo, um significativo composto contra o câncer (Mohitha; Shanmugam, 2023).

Os alcalóides encontrados em *A. muricata* e conseqüentemente extraídos, tem compatibilidade por receptores 5-HT_{1A}, os quais participam da síntese de dopamina, gerando assim efeitos antidepressivos e citotóxicos no corpo humano (Patil *et al.*, 2023).

Em uma análise feita por CG do extrato etanólico da folha de *A. muricata* pode se observar que os mais predominantes são a classe de flavonoides, polifenóis, alcalóides, saponinas, assim como também esteróides, glicosídeos, cianogênicos, antinutrientes e glicosídeos cardíacos (Onyeike *et al.*, 2023).

1.2.2.8 Toxicidade

Estudos capazes de avaliar a capacidade tóxica de um composto que incluem estudos de citotoxicidade e genotoxicidade, são essenciais para determinação do perfil de segurança e usos futuros do composto relacionado à ação farmacológica do mesmo (Ferreira *et al.*, 2022).

Em extratos etanólicos, a parte de sua planta *A. muricata*, mais especificamente sua folha em extratos etanólicos, foi considerada tóxica frente a outras plantas utilizando a *Artemia salina* nas mais diversas concentrações, sendo a folha com maior propriedade citotóxica; mas em contrapartida, os extratos da casca do caule da *Annona muricata* também demonstraram efeito de citotoxicidade (Silva *et al.*, 2015).

1.2.3 Bioativos da *Annona muricata* com ação anti-inflamatória

As folhas e outras partes de *A. muricata* possuem efeitos anti-inflamatórios (Miranda, 2018). Os extratos aquosos de *A. muricata* foram testados em edema de pata de ratos induzidos por carragenina em modelos animais, observando-se efeito anti-inflamatório desta planta (Cercato, 2021).

As folhas podem ser usadas para dores de cabeça, reumatismo e problemas anti-inflamatórios no geral. No extrato obtido das cascas de *A. muricata* com éter de petróleo, foi possível identificar o composto óxido de cariofileno um potencial anti-inflamatório significativo, segundo Silva *et al.*, (2015).

Extratos etanólicos e metanólicos obtidos das folhas de *A. muricata* mostraram potencial anti-inflamatório e citotóxico. A análise química evidenciou a presença de polifenóis que demonstraram ação anti-inflamatória ao reduzirem as espécies reativas de oxigênio (ERO) por neutrófilos e macrófagos (Saraiva *et al.*, 2022).

A quercetina presente nas folhas e frutos da graviola apresenta ação anti-inflamatória através da inibição da oxidação de lipoproteínas, suprimindo a oxidação mieloperoxidase catalisada (Molekul *et al.*, 2023).

Um outro composto presente na graviola é a rutina, um inibidor eficaz da dihidrofolato redutase e apresenta atividades anti-inflamatórias, antivirais, anticancerígenas e protetora contra doenças cardiovasculares (Cai *et al.*, 2023).

1.2.4 Bioativos da *Annona muricata* com ação antioxidante

Antioxidantes são caracterizados por compostos químicos que têm efeito de prevenção ou diminuição de danos oxidativos de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos causados por espécies de oxigênio reativo, incluindo radicais livres, sendo assim, tendo eles capacidade de interagir com radicais livres e assim reprimir efeitos danosos para o organismo (Vidal, Freitas, 2014).

Os radicais livres, quando não encontram outros radicais livres para fazerem ligação um com ou outro em uma tentativa de obter estabilidade, captam elétrons de moléculas saudáveis, e essa molécula se transforma em outro radical livre, iniciando uma reação em cadeia, o que acarretará em danos celulares em várias células, podendo ter uma propensão ilimitada se não ocorrer a mediação de antioxidantes. O processo em questão se chama de oxidação e pode causar morte celular (Porsch, Simas, Granzoti, 2019).

Existem alguns compostos fenólicos como os flavonoides, que possuem uma estrutura adequada para o sequestro de radicais livres, sendo ela a presença do catecol na porção presente no anel B de sua estrutura, pois agem como antioxidantes de forma muito eficiente.

Em estudos conduzidos por Lima *et al.* (2013), foi indicada a presença de compostos fenólicos na *Annona muricata*, indicando desta forma que esta espécie apresenta potencial antioxidante.

Em um estudo utilizando o método Folin-Ciocalteu, o qual permitiu quantificar polifenóis totais presentes em uma amostra, evidenciou que as amostras que provêm das folhas demonstraram valores significativamente aumentados de polifenóis totais em comparação à polpa, o que correlaciona de maneira positiva com atividades antioxidantes frente à capacidade de varredura do radical DPPH, capacidade antioxidante que está relacionada com a quantidade de polifenóis presentes nas amostras (Dani *et al.*, 2010).

Segundo Agu e Okolie (2017), essas propriedades antioxidantes da planta são atribuídas a alguns de seus fitoquímicos e fitoconstituintes. Em estudos *in vitro*, notou-se que as frações de éter de petróleo da folha e casca do caule foram capazes de regenerar os radicais hidroxila melhor que outras partes e frações da *A. muricata*, devido à presença de flavonoides e alcaloides. Com as folhas de *A. muricata*, foi realizado um ensaio em DPPH, o qual demonstrou importante atuação antioxidante dos polifenóis, devido a sua neutralização e absorção de radicais, extinção do oxigênio triplete e singlete (Vindhya *et al.*, 2023). Para Osei *et al.* (2023) em um ensaio de DPPH, pode-se comparar a atividade antioxidante da polpa e da semente, sendo respectivamente (37,8% a 67,8%) e (90,5 a 94,8%) indicando que a semente apresenta maior teor de substâncias antioxidantes.

1.2.5 Atividade antitumoral de *A. muricata*

Células tumorais são caracterizadas como benignas e malignas designadas pela capacidade de grande crescimento por meio de divisões celulares e de escaparem ao controle de hospedeiros, sendo uma expansão clonal de células transformadas, as quais adquirem vantagem proliferativa através de um processo de diversos passos (Piacentini, Menezes, 2012). Classes de acetogeninas vêm sendo encontradas em raízes, cascas, folhas, sementes e frutos com derivação de ácidos graxos de cadeia isolada e longa (Lima *et al.*, 2013). Essas substâncias trazem consigo propriedades citotóxicas contra linhagens de células tumorais. (Lima, 2013).

Estudos mostram que atividades antiproliferativas das folhas em modelos de ratos F344, nas dosagens de 30 e 300mg/kg, em um período de 60 dias, demonstraram a redução do tamanho da próstata, e após a análise histológica, observou-se células glandulares em apoptose. A secreção prostática de nível epitelial foi mantida, a vesícula seminal também teve uma diminuição significativa em todos os grupos testados segundo Simões (2015).

No extrato do caule da *A. muricata* foi detectada ação citotóxica nas linhagens SF-295 (gioblastoma-humano) com inibição de 100%; HL-60 (leucemia promielocítica) com inibição de 89,63%. As folhas mostraram 100% de inibição para linhagem HL-60 e 71,57% de inibição para a linhagem OVCAR-8 (Silva, 2015).

Já foram identificadas diversas acetogeninas em espécies de anonáceas, como, por exemplo, bulatacina, anonacina, isoanonacina, muricatocina, anomutacina, anomuricina, geniotalamicina, anossenegalina segundo Filardi, (2010). As acetogeninas isoladas e identificadas em folhas de *A. muricata* apresentam efeitos citotóxico contra linhagens celulares A-549 do câncer de pulmão e MCF-7 do câncer de mama (Filardi, 2010).

O extrato acetato de etila obtido das folhas de *A. muricata* foi testado frente às células de câncer de cólon (HT-29 e HCT-116), obtendo-se efeitos citotóxicos significativos com um IC50 de 11,43 mg/mL e 8,98 mg/mL, respectivamente (Soto *et al.*, 2023). As acetogeninas são o principal grupo de metabólitos secundários responsáveis por atividades neoplásicas. Essa característica está principalmente, mas não de maneira exclusiva, ligada à inibição do complexo I mitocondrial, responsável pelo processo de respiração celular, fator relacionado à morte de células neoplásicas (Ferreira *et al.*, 2022). Para Han *et al.* (2022) os polissacarídeos presentes nas folhas da graviola podem contribuir para um efeito protetor contra os danos celulares induzidos pelo estresse oxidativo e lesões cutâneas causadas por radiações. Os principais polissacarídeos são a galactose (68,4%) seguido por glicose (24,37%) e manose (9,81%).

A acetogeninas são moléculas presentes na família *Annonaceae* mas sendo encontrada em maior quantidade na Graviola, apesar do potencial antitumoral encontrado nas acetogeninas uma de suas limitações ao uso empírico associado ao tratamento do câncer é sua toxicidade, portanto é possível reduzir essa toxicidade implementando estratégias de administração farmacêutica através de uso de nanomateriais, podendo contribuir assim para efetividade de seus efeitos anticancerígenos em tratamentos com a utilização das acetogeninas (Cali., 2024).

1.3 Referências

- AGU, K. C.; OKOLIE, P. N. Proximate composition, phytochemical analysis, and in vitro antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). **Food Sci Nutr**. 2017.
- AGUNLOYE, O. O.; ONIFADE, A. K. *Annona muricata*: Comparative Assessment of the Antibacterial Activities of the Leaf and Stem Extracts against Multiple Antibiotic Resistant Clinical Isolates. **Journal of Advances in Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 12-21, 2020.
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013.
- AMÂNCIO, G. S. *et al.* A utilização medicinal da *Annona muricata* L.: uma revisão sobre os estudos e testes antitumorais. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 171-171, 2020.
- ANARADO, C. E. *et al.* Comparative Phytochemical and in vitro Antioxidant Screening of the Root and Stem Bark of *Annona muricata* Linn. **International Research Journal of Pure & Applied Chemistry**, v. 61, n. 21, p. 48, 2020.
- ARVOUET-GRAND, A.; VENNAT, B.; POURRAT, A.; LEGRET, P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **J Pharm Belg**, v. 49, n. 6, p. 462-468, 1994.
- ASHA, T. J.; MEDO MERINA, R.; BOJAXA, A. R. Uma Triagem Fitoquímica Preliminar Qualitativa e Quantitativa da Folha de *Annona muricata* L. Usando Vários Extratos de Solvente. **Journal of Survey in Fisheries Sciences**, v. 10, n. 1S, p. 5730-5739, 2023.
- BARATA, L. E. S.; ALENCAR, A. A. J.; TASCONE, M.; TAMASHIRO, J. Plantas Mediciniais Brasileiras. IV. *Annona muricata* L. (Graviola). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, v. 4, n. 01, p. 132-138, 2009.
- BARRETO, F. S. Estudo da atividade citotóxica de compostos obtidos do extrato acetônico das folhas de *Annona muricata* L. por fracionamento bioquímico. **Universidade Federal do Ceará**. Fortaleza, 2014.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J.; The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay, **Analytical Biochemistry**. p. 70-76, 1996.
- CAI, T. *et al.* The Role of Ellagic Acid and *Annona muricata* in the Management of Human Papillomavirus (HPV)-Related Genital Lesions: A Systematic Review. **Uro**, v. 3, n. 1, p. 54-60, 2023.

- CALI, Laminia; TATIANA, Evelin. **Nanovehiculización funcional de acetogeninas para un eventual tratamiento quimioterapéutico contra el cáncer de mama: una revisión sistemática**, 2024.
- CAMPOS, L. M. *et al.* O extrato antifúngico de *Annona muricata* L. (graviola) tem como alvo o envelope celular de *Candida albicans* multirresistente. **Revista de Etnofarmacologia** , v. 301, p. 115856, 2023.
- CEOLIN, G. B. (2023). *Sistemática e Taxonomia Vegetal* (Vol. 7). Editora UFSM.
- CERCATO, L. M. Efeito anti-inflamatório tópico associado à atividade antioxidante do extrato aquoso das folhas da *Annona muricata* L. **Universidade Federal de Sergipe** (doutorado em ciências da saúde), 22 p., 2021.
- CHEROBIN, F. *et al.* Plantas medicinais e políticas públicas de saúde: novos olhares sobre antigas práticas. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 32, p. e320306, 2022.
- CUNHA, H. R. *et al.* Screening fitoquímico, análise citotóxica e antimicrobiana do extrato das folhas de *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae). **Científica Digital**, p. 208-219, 2021.
- DANI, C. *et al.* Viabilidade celular de cultura de linfócitos tratados com *Annona muricata* L. **Portal rede metodista (centro universitário metodista)**. V.12, N.24, 2010.
- DE SOUSA, Matheus Henrique Oliveira; DIAS, Gilvan de Oliveira Costa; DE JESUS SANTOS, Joselene Ribeiro. **Prospecção fitoquímica, identificação e avaliação da atividade microbiológica de metabólitos secundário de *Annona mucosa* Jacq**, 2024.
- EDET, U. O. *et al.* Avaliação do extrato de *Annona muricata* contra isolado de *Staphylococcus aureus* e atividade in-silico de compostos bioativos contra proteína capsular (Cap50). **BMC Medicina Complementar e Terapia** , v. 22, n. 1, p. 1-9, 2022.
- FERREIRA, G. G. *et al.* Evaluation of Genotoxicity and Toxicity of *Annona muricata* L. Seeds and In Silico Studies. **Molecules**, v. 28, n. 1, p. 231, 2022.
- FILARDI, M. A. Potencial antitumoral de extratos da própolis brasileira e de folhas de graviola (*Annona muricata*): efeito citotóxico sobre células hepato carcinogênicas HEPG2. **Programa de pós-graduação em bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais**, 2010.
- FOLORUNSO, A. *et al.* Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticles from leaf extracts of *Annona muricata*. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 9, p. 111-117, 2019.
- GAJALAKSHMI, S.; VIJAYALAKSHMI, S.; RAJESWARI, V. D. Phytochemical and pharmacological properties of *Annona muricata*: a review. **International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**. Tamilnadu, Índia, v. 4, 2011.

- GASPARIN, G. P. *et al.* Utilização de plantas medicinais e sua diversidade química e genética use of medicinal plants and their chemical and genetic diversity. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 27678-27690, 2022.
- GYESI, J. N.; OPOKU, R.; BORQUAYE, L. S. Composição química, teor de fenólicos totais e atividades antioxidantes dos óleos essenciais das folhas e polpa do fruto de *Annona muricata* L. (Graviola) de Gana. **Biochemistry research international**, 2019.
- GUIDOTI, D. G. G. *et al.* Fração de sementes de *Annona squamosa* L. apresenta potente atividade antiproliferativa em linhagens tumorais humanas. **Luminária**, 2023.
- HAN, J. M. C. Os polissacarídeos das folhas de *Annona muricata* protegem contra a citotoxicidade induzida pela cisplatina em macrófagos, aliviando a disfunção mitocondrial. **Relatórios de medicina molecular**, v. 27, n. 1, p. 1-8, 2023.
- INKALABA, G. *et al.* Avaliação do Valor Nutricional e Toxicidade Aguda das Sementes do Fruto de *Annona muricata* L. (Sursop) Consumido em Kinshasa. **Journal of Biosciences and medicines**, v. 11, n. 2, p. 265-274, 2023.
- JESUS, C.B.A. *et al.* Propriedades terapêuticas da *Annona muricata* L.: uma revisão. **revista de farmácia das faculdades santo agostinho**. Montes Claros, 49-58, vol 3., 2013.
- KOME, Georges K. *et al.* **Requisitos edáficos de base da graviola (*Annona muricata* L.).** *Tropical Plants* , n. 1-9, p. 0024-0023, 2024
- KOTTILA, Reshma; HENA, Johnson Vimalin. **Propriedades fitoquímicas e aplicações terapêuticas de *Annona muricata*: uma revisão abrangente.** *Journal of Young Pharmacists* n. 16.4, p. 642-652, 2024
- LAMEIRA, Helton Luis Nina *et al.* **Morfofisiologia de graviola (*Annona muricata* L.), CUMARU (*Dipteryx odorata* (Albl.) Willd.) e copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.).** 2011. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará.
- LEIVAS, C. L. *et al.* Investigação da estrutura química e das propriedades analgésicas e anti-inflamatórias dos polissacarídeos que constituem as fibras alimentares do fruto da graviola (*Annona muricata*). **Food Research International** , v. 166, p. 112588, 2023.
- LIMA, W. *et al.* Avaliação fitoquímica e antioxidante de plantas medicinais do norte do mato grosso. **Facider - revista científica**, Mato Grosso, 2013.
- LIMA, B. S. E. Atividades antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana dos extratos etanólico e hexânico das folhas da gravioleira. **Universidade Federal do Ceará**, 22 p., 2013.
- LÓPEZ-MÁRTIR, Kevin Ulises *et al.* **Modificação das propriedades físico-químicas, funcionais, bioquímicas e estruturais de um isolado proteico de semente de graviola**

(*Annona muricata* L.) tratado com ultrassom de alta intensidade. *Ultrasonics Sonochemistry*, n. 105, p.106870, 202.

MENON, S. *et al.* Efeito protetor do pó liofilizado da polpa de frutas de *Annona muricata* Linn contra o desequilíbrio redox induzido por paracetamol e a hepatotoxicidade em ratos. *Processos*, v. 11, n. 1, p. 276, 2023.

MIRANDA, N. C. Efeito do extrato bruto etanólico da planta *Annona muricata* L. (graviola) e suas frações no controle da infecção in vitro e in vivo por toxoplasma gondii. **Universidade Federal de Uberlândia** (Instituto de Ciências Biomédicas), 22 p., 2018.

MOGHADAMTOUSI, S. Z. *et al.* *Annona muricata* (Annonaceae): uma revisão de seus usos tradicionais, acetogeninas isoladas e atividades biológicas. **Jornal internacional de ciências moleculares**, v. 16, n. 7, p. 15625-15658, 2015.

MOLEKUL, D. *et al.* Exploração de *Annona muricata* (Annonaceae) no Tratamento da Hiperlipidemia Através de Farmacologia de Rede e Docking Molecular. **Sains Malaysiana**, v. 52, n. 3, p. 899-939, 2023.

MOHITHA, P.; SHANMUGAM, H. Análise quimiométrica e quantificação dos principais compostos com atividade anticancerígena das folhas da graviola (*Annona muricata* Linn.). **Artigos Químicos**, p. 1-13, 2023.

MUTAKIN, M. *et al.* Atividades farmacológicas da graviola (*Annona muricata* Lin.). **Moléculas**, v. 27, n. 4, p. 1201, 2022.

NWONUMA, C. O.; BALOGUN, E. A.; GYEBI, G. A. Avaliação da Atividade Antimalárica do Extrato Etanólico de *Annona muricata* L.: Abordagem in vivo e in silico. **Journal of Evidence-Based Integrative Medicine**, v. 28, p. 2515690X231165104, 2023.

ONYEIKE, E. N.; EGBUNA, C.; PATRICK-IWUANYANWU, K. C. Triagem fitoquímica e análise quantitativa do extrato etanólico da folha de *Annona muricata* por cromatografia gasosa-deteção por ionização de chama (GC-FID). **IPS Journal of Drug Discovery Research and Reviews**, v. 2, n. 1, p. 1-4, 2023.

OLUGBUYIRO, J. A. O. *et al.* Antimicrobial activities and phytochemical properties of *Annona muricata* leaf. **Covenant Journal of Physical and Life Sciences**, v. 5, n. 2, 2018.

OSIBOTE, E. A; OLAJIDE, O. T. GC-MS análise dos constituintes do óleo essencial da folha e fruto da cultivar nigeriana de *Annona muricata*. **Ife Journal of Science**, v. 25, n. 1, pág. 087-093, 2023.

OSEI, P. A. *et al.* Composição centesimal, propriedades fenólicas e antioxidantes de partes do fruto da graviola. **CyTA-Journal of Food**, v. 21, n. 1, p. 475-480, 2023.

- PATIL, H.; DHANKANI, M.; DHANKANI, A. Uma revisão abrangente de um fruto maravilhoso de *Annona muricata*. 2023.
- PATRÍCIO, K. P. *et al.* O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 677-686, 2022.
- PIACENTINI, A. B.; MENEZES, H. Recentes aspectos sobre a biologia do câncer e das metástases. **Revista saúde e pesquisa**, v.5, n.3, p.593-604, ISSN 1983-1870, 2012.
- PORSCH, L.; SIMAS, L. A. W.; GRANZOTI, R. O. C. Estresse oxidativo e o seu impacto no envelhecimento: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Natural Sciences**. V.2, N.2, 80-85 pp., 2019.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH, **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico**, 2007.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP), **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico**, 2006.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema beta-caroteno/ácido linoléico, **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico**, 2006.
- SANTOS, I. L. *et al.* Propriedades e Perspectivas de Valorização Integral da Graviola (*Annona muricata*). **Alimentos**, v. 12, n. 7, pág. 1448, 2023.
- SANTOS, J. E. K.; FREITAG, R. A.; BOBROWSKI, V. L. Avaliação do potencial antiproliferativo e alelopático do óleo essencial de alecrim sobre bioindicador vegetal.
- SARAIVA, A. L. *et al.* Fração rica em polifenóis de *Annona muricata* Linn. As folhas atenuam as respostas oxidativas e inflamatórias em neutrófilos, macrófagos e lesões pulmonares experimentais. **Farmacêutica**, v. 14, n. 6, pág. 1182, 2022.
- SILVA, W. C. da *et al.* Atividade in vitro de extratos e frações de *Copernicia prunifera* (Arecaceae) contra bactérias de importância clínica em saúde pública. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 1, 2023.
- SILVA, J. R. G. da *et al.* Determinação da atividade antimicrobiana e toxicológica das folhas de *Annona muricata* Linn (graviola). **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, v. 52, n. 1, 2023.
- SILVA, H. N. *et al.* scientific exploration of species from the genus *annonaceae* with antinociceptive and anti-inflammatory activity. issn:2237-0722. **Geintec (revista)**. Petrolina/PE- Brasil, Vol. 5, N.3, p. 2326-2334, 2015.

- SILVA, E. M. F. Estudo in vitro do potencial citotóxico da *Annona muricata* L. **Rev. de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, ISSN 1808-4532, 36(2), 277-283 pp., 2015.
- SILVA, R. M. *et al.* Anti-bacterial activity of *Annona muricata* Linnaeus extracts: a systematic review. **Food Science and Technology**, v. 42, 2021.
- SIMÕES, C. F. S. Perfil Fitoquímico e Estudo das Atividades Antimicrobiana, Citotóxica e AntiInflamatória de *Annona muricata* L. **Programa de Pós-Graduação em ciências farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco**. Recife, 2015.
- SOTO, K. M. *et al.* Antioxidants in Traditional Mexican Medicine and Their Applications as Antitumor Treatments. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 4, p. 482, 2023.
- SOUSA, M. A. A. de. *et al.* Atividade antimicrobiana do extrato bruto de Caryocar brasiliense, Morinda citrifolia, *Annona muricata* e Morus nigra sobre cepas bacterianas clinicamente importantes. **Investigação, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 11, n. 9, pág. e2311931411, 2022.
- VIDAL, P. C. L.; FREITAS, G. Estudo da antioxidação celular através do uso da vitamina C. **Uningá Review**, V.21, N. 1, p. 60-64. ISSN online 2178-2571, 2015.
- VILLACÍS-CHIRIBOGA, J. *et al.* Avaliação comparativa das propriedades físico-químicas, estruturais e funcionais da fibra alimentar extraída das cascas da manga (*Mangifera indica* L.) e da graviola (*Annona muricata*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 238, p. 124116, 2023.
- VINDHYA, P. S. *et al.* Desempenho antimicrobiano, antioxidante, citotóxico e fotocatalítico de nanopartículas de ZnO dopadas com Co biosintetizadas com extrato de folhas de *Annona Muricata*. **Jornal de Ciência e Engenharia de Saúde Ambiental**, p. 1-19, 2023.
- ZUBAIDI, S. N. *et al.* *Annona muricata*: Revisão abrangente sobre os aspectos etnomedicinais, fitoquímicos e farmacológicos com foco nas propriedades antidiabéticas. **Vida**, v. 13, n. 2, p. 353, 2023.

1.4 Objetivo

Avaliar o fator de proteção solar e as atividades antiproliferativa, inibidora da produção de óxido nítrico e antioxidante do extrato bruto das folhas de *A. muricata*.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE *Annona muricata*

O artigo foi editado de acordo com as normas da Revista Boletín Latino Americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (Blacpma). **Impact Factor: 0.7**. SCIMAGO SJR: 0.212. SCIMAGO H-index: 24.

RESUMO

O extrato bruto (EB) das folhas de *A. muricata* obtido por maceração apresentou em sua composição ácido quínico (3,986 mg/g) como majoritário. Inibiu a produção de óxido nítrico com (IC_{50} 46 μ g/mL). Apresentou ação antiproliferativa sobre as linhagens NCI-H460 (GI_{50} = 13,00 μ g/mL), MCF-7 (GI_{50} = 16,00 μ g/mL), CaCo2 (GI_{50} = 48,00 μ g/mL) e AGS (91,00 μ g/mL). Evidenciou potencial antioxidante celular com 69% de inibição. Inibiu 50% do radical DPPH (IC_{50} = 3,64 mg/mL), reduziu o ferro (FRAP) em 2,19 μ M de sulfato ferroso/mg do extrato. O teor de fenois totais variou de 0,65 a 25,60 μ g GAE/mg de EB; o teor de flavonoides variou de 472,00 a 507,79 μ g GAE/mg. O fator de proteção solar (FPS) foi de 4,03 a 12,48 nas concentrações de 0,25 a 1,0 mg/mL de EB, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido quínico. Flavonoides. FPS. Graviola. MCF-7. NCI-H460. Óxido nítrico.

ABSTRACT

The crude extract (CE) of *A. muricata* leaves obtained by maceration presented quinic acid (3.986 mg/g) as the major component. It inhibited nitric oxide production with (IC₅₀ 46 µg/mL). It showed antiproliferative action on the NCI-H460 (GI₅₀ = 13.00 µg/mL), MCF-7 (GI₅₀ = 16.00 µg/mL), CaCo2 (GI₅₀ = 48.00 µg/mL) and AGS (91.00 µg/mL) strains. It showed cellular antioxidant potential with 69% inhibition. It inhibited 50% of the DPPH radical (IC₅₀ = 3.64 mg/mL), reduced iron (FRAP) by 2.19 µM of ferrous sulfate/mg of extract. The total phenol content ranged from 0.65 to 25.60 µg GAE/mg EB; the flavonoid content ranged from 472.00 to 507.79 µg GAE/mg. The sun protection factor (SPF) was 4.03 to 12.48 at concentrations of 0.25 to 1.0 mg/mL EB, respectively.

KEYWORDS: Quinic acid. Flavonoids. SPF. Soursop. MCF-7. NCI-H460. Nitric oxide.

1.1 Introdução

Produtos naturais, especialmente compostos derivados de plantas, foram identificados como uma classe significativa de novos imunomoduladores, particularmente como potentes agentes anti-inflamatórios e anticâncer. Princípios ativos encontrados em plantas como alcaloides, terpenoides, polissacarídeos, lactonas, flavonoides, carotenoides e glicosídeos, bem como óleos essenciais, demonstram exibir potenciais efeitos anti-inflamatórios e anticâncer (Abdul Wahab *et al.*, 2018).

A família Annonaceae compreende aproximadamente 2.500 espécies distribuídas em 135 gêneros. Conhecida por sua rica diversidade de compostos bioativos, Annonaceae inclui muitas espécies com usos etnomedicinais significativos. Entre estas, as espécies do gênero *Annona* são notáveis por suas aplicações terapêuticas e diversidade química. Uma espécie proeminente, *Annona muricata* L. conhecida popularmente como graviola, tem sido valorizada por seu potencial medicinal e ampla gama de usos terapêuticos associados a diferentes partes da planta (Naik *et al.*, 2024). As folhas e a polpa da fruta desta espécie contêm mais antioxidantes do que outras partes da planta (Shanmugam *et al.*, 2024).

Annona muricata, *graviola*, é uma planta que prospera em regiões tropicais, sendo encontrada em todos os biomas brasileiro. Apresenta porte arbustivo, frutos grandes e comestíveis (Rosa *et al.*, 2024). Tradicionalmente, uma ampla gama de doenças tem sido tratada com as folhas, cascas, frutas e sementes. Suas folhas são utilizadas como remédio natural atuando como um agente anticâncer, antidiarreico e antidiabético (Hartati *et al.*, 2024). A decocção das folhas é reivindicada como tendo propriedades anti reumáticas e nevrálgicas quando administrada internamente, podendo também serem aplicadas topicamente na forma de cataplasmas para tratar reumatismo e abscessos (Abdallah *et al.*, 2024). As folhas de graviola têm uma longa história de uso tradicional na medicina popular por seus benefícios à saúde, que vão desde propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias até potenciais efeitos anticâncer (Kuka *et al.*, 2024).

Estudos farmacológicos com *A. muricata*, indicam atividades antioxidante, anti-inflamatória e antineoplásica (Lira *et al.*, 2024), devido a presença de metabólitos secundários, principalmente acetogeninas, compostos fenólicos, alcaloides e megastigmas, contribuem para seu papel na eliminação de radicais livres ligados ao estresse oxidativo e ao câncer (Flores *et al.*, 2024).

A triagem fitoquímica das folhas de graviola realizada por Abdallah *et al.* (2024), revelaram a presença de 26 compostos pertencentes à classe de acetogeninas, fenólicos, flavonoides, alcaloides dentre outros compostos. Neste estudo os autores trataram camundongos albinos machos com carcinoma ascítico de Ehrlich induzido, com o extrato de folhas observando melhoras significativas das anormalidades na expressão de genes pró-apoptóticos (Bax e caspase-3) e anti-apoptóticos (Bcl-2). Além disso, o extrato mostrou boa proteção contra o hepatocarcinoma de Ehrlich induzido em tecidos hepáticos e da massa tumoral.

E neste sentido encontra-se o objetivo desta pesquisa, avaliar os efeitos antiproliferativos, inibidor da produção de óxido nítrico, antioxidante e determinar o fator de proteção solar do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Obtenção do material vegetal

As folhas foram coletadas no período vegetativo nas coordenadas de latitude 23 °C 45' 52" S, longitude 53 °C 17' 41" W e altitude de 464 metros; no Horto Medicinal da universidade Paranaense, Campus Umuarama, em 2018. A identificação botânica foi realizada no Horto Medicinal de Umuarama (Universidade Paranaense).

Um exemplar encontra-se depositado no Herbarium Educacional da Universidade Paranaense sob o nº 282.

Esta espécie está registrada no Sistema Nacional de Gerenciamento do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de registro AA 87435.

1.2.2 Obtenção do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*

As folhas foram pulverizadas e determinada a granulometria a 850 µm e submetidas ao processo de maceração dinâmica com esgotamento de solvente, utilizando álcool 96°, seguindo-se com a evaporação do solvente (Evaporador rotativo TE-210), obtendo assim o extrato bruto das folhas de graviola.

1.2.3 Identificação química dos extratos brutos das folhas de *Annona muricata*

O extrato bruto foi ressuspenso em metanol (grau HPLC), purificado com hidróxido de bário 0,1 M (Synth) e sulfato de zinco 5% (Synth) e filtrado através de uma membrana hidrofóbica de fluoreto de polivinilideno (PVDF) (tamanho de poro de 0,45 µm e diâmetro de 25 mm). O cromatógrafo líquido de alta eficiência (Prominence HPLC-20A, Shimadzu) foi composto por um detector UV (SPD-20A, Shimadzu), operado a 280 e 320 nm, e uma coluna C-18 (Shim-pack CLC-ODS(H)TM, 25 cm × 4,6 mm × 5 mm, Shimadzu) que foi mantida a 25 °C durante a análise.

A eluição do gradiente (0,8 mL min⁻¹) foi realizada com as fases móveis de água ultrapura acidificada com 0,05% de ácido fórmico (A) e metanol acidificado com 0,1% de ácido fórmico (B), da seguinte forma: 0,01 a 5 min, 20% B; 5 a 25 min, 50% B; e 25 a 30 min, 80% B. Para quantificação, curvas analíticas (R₂ > 0,99) foram obtidas com soluções de ácidos gálico, cumárico, ferúlico, cafeico e trans-cinâmico, quínico, quercetina e kaempferol (1 a 10 mg mL⁻¹). Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de peso seco (Donadone *et al.*, 2020). Todos os reagentes usados na análise foram adquiridos da Sigma–Aldrich.

1.2.4 Atividade antiproliferativa dos extratos brutos das folhas de *Annona muricata*

As atividades do extrato bruto de *A. muricata* foram realizadas em parceria com o Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal. Foram utilizadas as seguintes linhagens de células tumorais humanas: AGS (adenocarcinoma gástrico), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), NCI-H460 (carcinoma pulmonar). Linhagem celular não tumoral também foram testadas: Vero (*African green monkey kidney*). Todas as linhagens celulares foram mantidas em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, glutamina (2 mM), penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL), com exceção das células Vero, que foram mantidas no meio DMEM suplementado com soro fetal bovino (10%), glutamina e antibióticos. Os frascos contendo as culturas de células foram incubados em estufa contendo 5% CO₂ a 37°C em atmosfera úmida.

As células foram utilizadas somente quando apresentaram confluência de 70 a 80%. Uma massa conhecida de cada um dos extratos (8 mg) foi dissolvida em em H₂O e DMSO (50:50, 1 mL), a fim de obter as soluções estoque inicial com concentração de 8 mg/mL.

A partir desta concentração foram realizadas diluições sucessivas, obtendo as concentrações de extrato bruto que variaram de (0,125 - 8 mg/mL). Cada uma das concentrações do extrato (10 µL) foram incubadas com a suspensão de células (190 µL) das linhagens testadas em microplacas de 96 poços por 72 horas.

As microplacas foram incubadas a 37°C com 5% CO₂, em atmosfera úmida, após verificar a aderência das células. Todas as linhas celulares foram testadas a uma concentração de 10.000 células/poço. Após o período de incubação, as células foram ajustadas: O TCA (10% p/v; 100 µL) foi previamente resfriado e as placas foram incubadas por 1 hora a 4°C, lavadas com água e, após secagem, foi adicionada uma solução SRB (0,057%, m/v; 100 µL), permanecendo à temperatura ambiente por 30 minutos.

Para remover o SRB não aderido, as placas foram lavadas três vezes com uma solução de ácido acético (1% v/v) e colocadas para secar a temperatura 37°. Finalmente, o SRB aderido foi solubilizado com Tris (10 mM, 200 µL) e a absorbância no comprimento de onda de 540 nm foi lida em um leitor de micro placas Biotek ELX800.

Os resultados foram expressos em termos de concentração do extrato bruto das folhas de *A. muricata* com capacidade de inibir o crescimento celular em 50% - GI₅₀. Como controle positivo foi utilizado a elipticina. Também foi determinado o índice de seletividade (IS), que consiste na razão entre a concentração citotóxica de 50% (GI₅₀) para células VERO e GI₅₀ para células tumorais utilizadas conforme Equação 1.

$$IS = \frac{GI_{50} \text{ da célula não tumoral}}{GI_{50} \text{ da célula tumoral}} \quad \text{Eq. 1}$$

1.2.5 Atividade inibidora da produção de óxido nítrico (NO) do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*

O extrato bruto foi dissolvido em H₂O e DMSO (50:50, 1 mL), para obter concentração final de 8 mg/mL, a partir da qual foram realizadas diluições sucessivas, obtendo-se as concentrações a serem testadas (0,125 - 8 mg/mL). Macrófagos de camundongo da linhagem celular RAW 264.7, obtido da DMSMZ- Leibniz - Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, foram cultivados em meio DMEM, suplementado com soro fetal inativado por calor (SFB) (10%), glutamina e antibióticos, e mantidos incubados a 37°C, com 5% de CO₂ sob atmosfera úmida. As células foram separadas com um raspador de células.

Em cada poço foi adicionada uma alíquota da suspensão de células de macrófagos (300 µL) com densidade celular de 5 x 10⁵ células/mL e proporção de células mortas abaixo de 5% de acordo com o teste de exclusão com azul de Tripán. As microplacas foram incubadas por 24 h nas condições previamente indicadas, de forma a permitir adequada aderência e multiplicação das células.

Após esse período, as células foram tratadas com diferentes concentrações do extrato bruto de *A. muricata* (15 µL, 0,125 - 8 mg/mL) e incubadas por uma hora, sendo a faixa de concentração testada de 6,25 - 400 µg/mL. A estimulação foi realizada com a adição de 30 µL da solução de lipossacarídeo - LPS (1mg/mL) e incubada por mais 24 horas. Dexametasona (50 mM) foi utilizada como controle positivo e as amostras na ausência de LPS foram usadas como um controle negativo.

A quantificação do óxido nítrico foi realizada por meio do *kit* do sistema de reagentes Griess (soluções de nitrofenamida, etilenodiamina e nitrito) e por meio da curva de calibração do nitrito (nitrito de sódio 100 mM a 1,6 mM) preparada em placa de 96 poços. O óxido nítrico produzido foi lido a uma absorvâncias a 540 nm (leitor de microplaca ELX800 Biotek, Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA) e por comparação com a curva de calibração padrão.

Os resultados foram calculados através da representação gráfica da porcentagem de inibição da produção de óxido nítrico *versus* concentração das amostras e expressos em relação à concentração de extratos brutos que causa a inibição de 50% da produção de óxido nítrico - IC₅₀.

1.2.6 Atividade antioxidante celular (AAC)

Para avaliar a atividade antioxidante celular, o extrato bruto foi dissolvido em H₂O e DMSO (50:50, 1mL), a fim de se obter uma concentração de 8mg/mL, a partir da qual foram feitas diluições sucessivas com 2', 7'-diclorohidrofluoresceína (DCFH) preparada com etanol e diluída com HBSS (50µM), obtendo-se as concentrações a serem testadas (32,5 - 2000 µM).

Para o método da atividade antioxidante celular (CAA), foi utilizada uma cultura de células de macrófagos de camundongo (RAW 264,7). As células foram destacadas da placa com um raspador de células e uma solução de 70.000 células/ mL foi preparada. Uma alíquota da suspensão de células de macrófagos (300 µL) foi transferida para uma placa de 96 poços de fundo transparente preto (SPL

Lifesciences). As placas foram incubadas por 48 horas nas condições mencionadas em estufa com 5% de CO₂ a 37 °C e sob atmosfera úmida, de forma a garantir adequada adesão e multiplicação celular.

Após esse período, o meio de crescimento foi descartado e as células foram lavadas com HBSS (2x, 100 µL), tratadas com diferentes concentrações do extrato bruto (200 µL; 32,5 – 2000 µM) e incubadas por 1 hora.

A fluorescência foi determinada a 485 nm de excitação e 538 nm de emissão (leitor de microplacas Biotek FLx800) a cada 5 minutos durante 1 hora. A quercetina foi usada como controle positivo, e diclorohidrofluoresceína e meio de cultura DMEM foram usados como controle negativo. Os resultados foram expressos em micromoles de equivalentes de quercetina por grama de extrato (µmol EQ/g de extrato).

1.2.7 Determinação dos fenóis totais (FT)

A determinação do teor de fenóis totais (FT) presentes no EB das folhas de *A. muricata* foi feita por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu segundo Swain E Hillis (1959) com modificações DE SÁ (2012). As amostras dos extratos foram diluídas em metanol na concentração de 1,0 mg/mL. A solução reagente foi composta por 155 µL da solução de Folin-Ciocalteu, 125 µL de solução de carbonato de sódio seguido de 20 µL da amostra diluída (1 mg/mL) em cada poço da microplaca.

A mistura foi deixada em repouso na ausência de luz por 60 min e a leitura foi realizada no aparelho *SpectraMax Plus384 Microplate Reader* a 760 nm, em triplicata. A curva de calibração foi obtida pelo uso de sete diluições de ácido gálico (0-100 µg/mL). A equação da curva de calibração obtida por regressão linear ocorreu conforme Equação 2:

$$A = 0,0196 C - 0,031 \quad (R2 = 0,9997) \quad \text{Eq. 2}$$

Onde A representa a absorvância medida, C a concentração de equivalentes de ácido gálico, e R2 representa o coeficiente de determinação para a regressão múltipla. Os resultados foram expressos como µg de equivalente de ácido gálico (EAG) por mg de amostra.

1.2.8 Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio segundo Alves e Kubota (2013). O extrato foi ressuscitado em etanol: água (80:20 volume / volume) para obtenção de concentrações de 0,25 mg/mL. Uma alíquota de 0,5 mL de extrato foi misturada a 0,5 mL de solução de cloreto de alumínio 2% (m/v) em metanol e mantida à temperatura ambiente por 10 minutos.

A variação da absorvância foi determinada em 425 nm. A solução de cloreto de alumínio foi usada como controle analítico. A concentração de flavonoides foi calculada de acordo com curva

padrão de quercetina (5 – 40 µg/mL). Os resultados foram expressos em µg equivalentes à quercetina (EQ) por mg de extrato.

1.2.9 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

Para determinar a capacidade do sequestro de radicais livres de DPPH, foi utilizado a metodologia descrita por (Rufino *et al.*, 2007). Uma alíquota de 10µL das diferentes concentrações do extrato bruto das folhas de *C. fistula* nas concentrações (1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg/mL), com 290 µL de solução metanólica de DPPH (60 µM), preparada no momento da atividade. Para o controle negativo foi utilizado 10 µL de metanol na solução de DPPH (60 µM). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 30 minutos. A redução da absorvância foi medida em 515 nm, em um aparelho SpectraMax Plus³⁸⁴ Microplate Reader. A capacidade antioxidante total dos extratos e frações foi calculada utilizando uma solução padrão de quercetina (60 µM), como referência de 100%. A partir da correlação entre absorvância versus concentração da amostra antioxidante, foi determinada a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres (EC₅₀).

1.2.10 Poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)

Este método foi avaliado conforme descrito por (Rufino *et al.*, 2006). Para preparar o reagente FRAP foram combinados 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução aquosa de 2,4,6-Tris (2-piridil)-s-triazina (TPTZ - 10 mM), 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM) e 3 mL de água destilada. A solução reagente foi composta por 10 µL do extrato bruto das folhas de *C. fistula* nas concentrações (1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg/mL), 290 µL do reagente FRAP em cada poço da microplaca. A mistura foi colocada no aparelho Spectra Max Plus³⁸⁴ Microplate Reader e mantida a 37 °C por 30 minutos. A Absorbância foi lida em 595 nm. Usando uma curva padrão de sulfato ferroso (0 – 2000 µM) foi calculada a percentagem de atividade antioxidante. A atividade antioxidante foi expressa em µM sulfato ferroso/mg da amostra.

1.2.9 Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro*

O extrato foi utilizado na determinação do fator de proteção solar (Oliveira *et al.*, 2021). Os extratos foram ressuspendidos em etanol para obtenção de concentração de 0,25 mg/mL. A absorvância de cada diluição foi determinada em três repetições nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm com incrementos de 5 nm. O etanol foi usado como controle analítico.

O cálculo do valor do FPS é baseado na equação (3).

$$\text{FPS} = \text{CF} \cdot \text{EE}(\lambda) * \text{I}(\lambda) * \text{Abs}(\lambda) \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

$$\text{CF} = 10 \text{ (fator de correção)}$$

$EE(\lambda)$ = espectro de efeito eritemal

$I(\lambda)$ = espectro de intensidade solar

$Abs(\lambda)$ = absorvância da amostra no comprimento de onda λ

Os valores de $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ são constantes (Mansur *et al.*, 1986).

1.2.10 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicatas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) com o software SPSS Statistics 22. O StatSoft Statistics 10.0, América do Sul, 2022, foi utilizado para a análise.

1.3 RESULTADOS

A identificação química por foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência cujos resultados encontram-se discriminados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química do extrato bruto das folhas de *Annona muricata* usando HPLC.

Composto	Extrato bruto das folhas (mg/g)
Ácido cafeico	0,017 ± 0,00 ^C
Ácido ferrulico	0,042 ± 0,001 ^C
Quercetina	0,085 ± 0,001 ^C
Ácido quínico	3,986 ± 0,179 ^a
Ácido Protocatecuico	0,663 ± 0,018 ^b
Ácido cumarico	0,026 ± 0,000 ^C

De forma a comprovar o efeito na inibição da produção de óxido nítrico e a atividade antiproliferativa do extrato bruto da graviola, encontram-se discriminados na Tabela 2.

Através da identificação química temos o conhecimento das estruturas das moléculas, a qual contribui no entendimento das atividades das mesmas, na Figura 3 podemos visualizar estas estruturas.

Figura 3. Estruturas químicas dos compostos identificados de *Annona muricata*

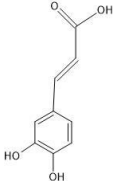
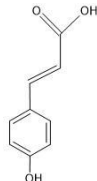
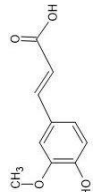
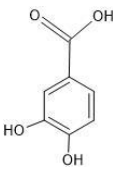
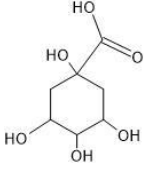
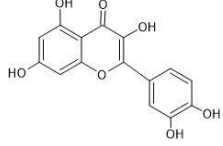
Ácido Cafeico	
Ácido Cumarico	
Ácido Ferúlico	
Ácido Protocatecuico	
Ácido Quínico	
Quercetina	

Tabela 2: Atividade da inibição da produção de óxido nítrico e antiproliferativa e índice de seletividade do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*.

	Extrato bruto das folhas de <i>Annona muricata</i>	Controle positivo	
Atividade inibidora da produção de óxido nítrico (IC₅₀ µg/mL)		Dexametasona	
RAW 246.7	46,0 ± 2B	6.3 ± 0.4A	
Linhagens Celulares	Atividade antiproliferativa (GI₅₀ µg/mL)	IS	Elipticina
AGS	91,00 ± 7cB	0,57	1,23 ± 0.03aA
CaCo2	48,00 ± 3bB	1,08	1,21 ± 0.02aA
MCF-7	16,00 ± 1aB	3,25	1,02 ± 0.02aA
NCI-H460	13 ,00± 1aB	4,00	1,01 ± 0.01aA
Vero	52,00 ± 3bB		1,41 ± 0.06aA

As médias aritméticas com desvio padrão seguido por diferentes letras, maiúsculas em linhas e minúsculas em colunas diferiram significativamente pelo teste HSD de Tukey ($p \leq 0,05$). IC₅₀ = concentração efetiva que fornece 50% de inibição da produção de óxido nítrico. AGS (adenocarcinoma gástrico). CaCo-2 (adenocarcinoma coloretal). MCF-7 (adenocarcinoma de mama). NCI-H460 (carcinoma de pulmão). *African green monkey kidney epithelial cells* (VERO).

A atividade antioxidantes foram avaliadas por diferentes metodologias, e os resultados encontram-se discriminados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Atividade antioxidante celular do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*.

Amostra	Concentração máxima testada (µg/mL)	% de inibição da concentração máxima testada
EB folhas	2000	69%
Quercetina	2000	93%

EB: extrato bruto

Tabela 4. Atividade antioxidante, avaliada pela eliminação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) e pelo ensaio de poder de redução do ferro (FRAP) do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*

Amostra mg/mL	DPPH• IC ₅₀ (mg/mL)	FRAP (µM ferrous sulfate/mg)
EB	3,637 ± 0,120B	2,191 ± 0,034B
Quercetina	0,010 ± 0,001A	-
Trolox	-	9,175 ± 0,001A

Valores são a média ± desvio padrão realizados em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e a diferença entre as medias pelo teste de Tukey's ($p \leq 0.05$). Valores na mesma coluna com diferentes letras indicam diferença significativa ($p \leq 0.05$). Quercetina (0.0103 mg/mL) e Trolox (9.175 mg/mL) foram utilizados como controle positivo para os ensaios de DPPH• and FRAP, respectivamente. Abreviações: IC₅₀: Concentração que inibe 50% ; DPPH•: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; FRAP: Poder de redução do ferro. EB: Extrato bruto das folhas de *Annona muricata*

Também foram avaliados os teores de fenois totais (FT), flavonoides e o fator de proteção solar (FPS), cujos resultados encontram-se discriminados na Tabela 5.

Tabela 5. Determinação dos fenóis totais (FT) e flavonoides totais do extrato bruto das folhas de *Annona muricata*

Amostras	Fenois Totais	Flavonoides	Fator de Proteção Solar
mg/mL	($\mu\text{g GAE/mg}$)	($\mu\text{g GAE/mg}$)	FPS
0,25	0,650 \pm 0,41c	493,30 \pm 20,32a	4,03 \pm 0,05d
0,50	4,34 \pm 0,67c	507,79 \pm 4,08a	6,00 \pm 0,12c
0,75	12,25 \pm 1,25b	472,00 \pm 8,44b	9,72 \pm 0,05b
1,00	25,60 \pm 3,17a	495,90 \pm 9,35ab	12,48 \pm 0,13a

Valores são a média \pm desvio padrão realizados em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e a diferença entre as medias pelo teste de Tukey's ($p \leq 0.05$). Valores na mesma coluna seguidos de diferentes letras indicam diferença significativa ($p \leq 0.05$). GAE: equivalente de ácido gálico.

1.4 DISCUSSÃO

A análise química do extrato bruto das folhas revelou a presença de compostos fenólicos, com destaque para o ácido quínico, que se encontra em maior quantidade 3,986 mg/g seguido do ácido protocatecuico 0,663mg/g (Tabela 1). O ácido quínico pode ter contribuído pelas atividades inibidora da produção de óxido nítrico (NO) encontrada neste experimento $IC_{50} = 46,0 \mu\text{g/mL}$, valor este somente 7,3 vezes menor que a atividade da dexamentasona $IC_{50} = 6,3 \mu\text{g/mL}$. Segundo Ghasemi-Dehnoo *et al.* (2023) o ácido quínico apresenta estrutura polifenólica com atividades radioprotetoras, antidiabéticas, anti-neuro-inflamatórias e antioxidantes. Estes efeitos foram observados quando os autores induziram colite em ratos, observando um aumento significativo na expressão de genes inflamatórios e apoptóticos, como IL-6, IL-1 β , TNF- α , TLR4, INOS, NF- κ B, Bax, Bcl-2, Caspase-3 e Caspase-8, que levaram à inflamação grave nos ratos com colite, bem como à infiltração de células inflamatórias e danos graves ao epitélio do tecido do cólon. Os resultados fornecidos em grupos terapêuticos revelaram que o ácido quínico foi capaz de melhorar as complicações da inflamação, apoptose, e lesões histopatológicas, bem como condições de estresse oxidativo, causadas pela colite.

A quercetina também apresenta a capacidade de reduzir processos inflamatórios agudos, crônicos e subclínicos, uma vez que reduz a produção de mediadores envolvidos na ativação e/ou o recrutamento de células inflamatórias como, por exemplo, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o leucotrieno B4. A quercetina causa ainda a supressão da produção de TNF α e óxido nítrico nos macrófagos e mastócitos, além de inibir a formação de importantes agentes pró-inflamatórios, reduzindo a ativação e o recrutamento de células inflamatórias (Bischoff, 2008).

Destaca-se, também, o efeito antiproliferativo do extrato frente às linhagens MCF-7 ($GI_{50} = 16,0 \mu\text{g/mL}$) e NCI-H460 ($GI_{50} = 13,0 \mu\text{g/mL}$). O ácido cafeico encontrado no EB das folhas de graviola (Tabela 1) pode ter contribuído para a resposta antiproliferativa (Tabela 2) visto possuir importante atividade antioxidante e antiproliferativa, ativando o processo de apoptose em células do câncer de mama por meio da modulação de caspases e fragmentação do DNA, destruindo as células tumorais (Feitoza *et al.*, 2021). O ácido cafeico exerceu ação inibitória sobre a enzima xantina oxidase. Esta enzima é uma fonte de radicais livres, aumentando o nível oxidativo e induzindo danos celulares. Estudos indicam a presença de níveis elevados desta enzima em tecidos neoplásicos (Sousa, 2008).

O ácido quínico, com comprovada ação antioxidante, antiviral, antimicrobiana, antivascular, anti-inflamatório e anticâncer foi investigado quanto à ação antitumoral frente a célula de câncer oral (SCC-4). O ácido quínico promoveu apoptose nas células testadas ao regular negativamente a expressão de genes antiapoptóticos atenuando a expressão da ciclina D1 e da via de sinalização Akt. (Singh *et al.*, 2018).

A quercetina tem sido amplamente estudada por suas atividades antiproliferativas, antivirais, anti-inflamatórias e antioxidantes e por seu efeito potencial no câncer e em doenças cardiovasculares, inflamatórias e infecciosas. Estudos indicaram que a quercetina teve um efeito inibitório no crescimento de vários tipos de linhagens de células de câncer de tireoide: TPC-1 (linhagem de células de câncer de tireoide papilar), FTC-133 (linhagem de células de câncer de tireoide folicular), NPA (linhagem de células de câncer de tireoide papilar pouco diferenciada), FRO e ARO (linhagens de células de câncer de tireoide anaplásico) (Giuliani *et al.*, 2024).

A atividade biológica dos bioativos, deve-se ser complementada com a investigação da citotoxicidade destas moléculas, de forma a garantir a segurança na aplicação em produtos. Os valores referência para avaliar o grau de citotoxicidade em células VERO indicam que a substância é citotóxica com $CC50 < 100 \mu\text{g/mL}$, citotoxicidade moderada $CC50$ entre 100 a 200 $\mu\text{g/mL}$ e não citotóxico $CC50 > 200 \mu\text{g/mL}$ (Sarmiento, 2016). Neste sentido, o extrato bruto de *A. muricata* pode ser considerado tóxico ($CC50 = 52,00 \mu\text{g/mL}$) frente à célula VERO (Tabela 2).

De forma a corroborar com a citotoxicidade encontrada, foi determinado o índice de seletividade (IS), que consiste em um parâmetro para avaliar se há diferença na nocividade entre linhagens de células normais e células tumorais. Para que se considere baixa citotoxicidade o índice de seletividade (IS) adequado seria maior que 10, sendo reconhecidos como promissores e seguros, com possibilidade de ausência de toxicidade (Domingos, 2024). Neste sentido, Suffness e Pezzuto (1991) consideram significativo um valor de IS maior ou igual a 2,0. Na Tabela 2 encontram-se discriminados o IS do extrato frente às diferentes linhagens celulares e não celulares pesquisadas, indicando que para as linhagens MCF-7 e NCI-H460, o IS foi de 3,25 e 4,0 respectivamente, indicando maior seletividade celular e menor toxicidade. Em contrapartida, para as linhagens AGS e CaCo2 o IS foi de 0,57 e 1,08, respectivamente indicando baixa seletividade, frente às células testadas. A toxicidade do extrato das folhas encontrada neste estudo pode ser corroborada em estudos

conduzidos Abdul Wahab *et al.* (2018) relatando que os extratos etanólicos das folhas de *A. muricata* exibiram DL₅₀ de 1,67 g/kg nas dosagens de 0,5, 1, 1,5, 2 e 3 g/kg, indicando toxicidade. Yang *et al.* (2015) investigaram a toxicidade do extrato da folha de *A. muricata* junto com seus extratos enriquecidos com flavonoides e acetogeninas e revelaram que o extrato enriquecido com acetogeninas era mais tóxico do que os outros extratos. Investigações conduzidas por Abdul Wahab *et al.* (2018) revelam que a toxicidade encontrada nas folhas deve-se a presença das acetogeninas anonáceas (anonacina) e do alcaloide benzil tetrahydroisoquinolina.

Os compostos fenólicos presentes nas plantas demonstram atividade antioxidante e podem ajudar a proteger as células contra os danos oxidativos causados pelos radicais livres (Terpinc; Abramovič, 2010). Neste contexto, os compostos que mais apresentam uma atividade antioxidante são os ácidos fenólicos e os flavonoides; desempenhando um papel muito importante como neutralizadores de radicais livres tendo base o número e localização de seus grupos -OH, sendo assim conforme maior a quantidade de ácidos fenólicos maior a neutralização de radicais livres (Marlita, 2024).

Dentre as investigações antioxidantes realizadas com o extrato, destaca-se a atividade antioxidante celular, demonstrado uma porcentagem de inibição da concentração máxima testada de 69% (Tabela 3). Destaca-se também os resultados encontrados pelo método FRAP 2,191 µM sulfato ferroso/mg de amostra, indicando que a redução do ferro pelo extrato foi somente 4,18 vezes menor que o Trolox utilizado como controle positivo, podendo ser justificado pela presença da quercetina, que possui propriedades quelante e estabilizadora do ferro (Hadrick, 2024). A presença do ácido cafeico nas folhas (Tabela 1) pode ser um dos responsáveis pelo potencial antioxidante encontrado, pois em investigações conduzidas por Barbosa, (2024) indicaram que o ácido cafeico apresenta atividade imunomoduladora, antioxidante, anti inflamatória (Barbosa, 2024).

A presença de flavonoides variou de 472,00 a 507,79 µg EQ/mG de extrato (Tabela 5). A quercetina pode ter contribuído para o teor encontrado no extrato das folhas com 0,085 mg/g (Tabela 1) e também contribuído com os resultados antioxidantes. A quercetina é um potente antioxidante pertencente à classe dos flavonoides, que sequestra radicais de oxigênio como 'OH e O₂'⁻, inibe a xantina oxidase e a peroxidação lipídica, além de possuir propriedades quelante e estabilizadora do ferro. Desta forma, a quercetina pode inibir o processo de formação de radicais livres em três etapas diferentes: na iniciação (pela interação com íons superóxido), na formação de radicais hidroxil (por quelar íons de ferro) e na peroxidação lipídica (por reagir com radicais peroxil de lipídeos) (Hadrick, 2024). A ação farmacológica da quercetina é ampla, com destaque para a inibição da peroxidação lipídica, agregação plaquetária e biogênese mitocondrial (Rocha et. al, 2024).

O fator de proteção solar (FPS) do extrato bruto de *Annona muricata* apresentou resultados crescentes a partir de 0,50 mg/mL, obtendo nessa concentração o fator de proteção solar 6, na concentração de 0,75 mg/mL obteve 9,72 e com apenas 1 mg/mL do EB obteve o resultado de 12,48 FPS, com nível de proteção considerado médio (Schalka; Silva dos Reis, 2011). O valor mínimo

exigido pela RDC N°629, de 10 de Março de 2022, da Anvisa, estabelece que um produto fotoprotetor deve apresentar o FPS mínimo de 6 (Anvisa, 2022). Por meio dos parâmetros é possível identificar o promissor fator de proteção solar através do extrato bruto das folhas de *A. muricata*, demonstrando seu potencial diante de seus metabólitos secundários identificados (Tabela 1) na planta.

Através do fator de proteção solar é possível fazer um cálculo de permanência em exposição solar utilizando o fator de proteção solar versus o tempo de exposição sem o protetor solar, um exemplo do resultado obtido de FPS 12 x 20 minutos sem proteção = 240 minutos com protetor à exposição solar, lembrando que devem ser reaplicados no intervalo de 3-4 horas (De Souza, 2021).

Compostos fenólicos apresentam a característica de absorção de luz UV quanto maior sua quantidade melhor sua ação de absorção UV, sendo considerados excelentes antioxidantes (Azevedo, 2024). Os antioxidantes tem a característica de diminuir e retardar a reação oxidativa e melanogênese, diminuem o efeitos deletérios da radiação violeta na pele, prevenindo a hiperpigmentação cutânea reduzindo as reações oxidativas necessárias para a formação do pigmento (Da Silva Camilo, 2024).

1.5 CONCLUSÃO

No extrato bruto das folhas de *A.muricata* foram identificados através dos testes químicos realizados, uma variedade em compostos fenólicos sendo ele prevalente o Ácido Quínico, como também a Quercetina, um flavonoide com qual contribuiu com as atividades avaliadas e seus potenciais antiproliferativo, antioxidante, anti-inflamatório e fotoprotetor encontrados no presente estudo, indicando que esta espécie *Annona muricata* nos mostra a importância de seus estudos voltados para a saúde única pois apresentam benefícios para um todo sendo ela dotada de potencial farmacológico.

1.6 REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, Rehab H., *et al.* Comprehensive Chemical Profiling and Mechanistic Insight into Anticancer Activity of *Annona muricata* Leaves Extract. **Pharmaceuticals**, n.17.5, p. 614, 2024.
- ABDUL WAHAB, Siti Mariam, *et al.* Explorando as folhas de *Annona muricata* L. como uma fonte de potenciais agentes anti-inflamatórios e anticâncer. **Frontiers in pharmacology**, n. 9, v. 661, 2018.
- ANDRADE, Livia Silveira; DE BEM, Yuri Almeida; TEIXEIRA, Gabrielle Isis Alcântara. Análise dos diferentes tipos de pele e sua suscetibilidade ao câncer de pele sob a exposição aos raios ultravioleta no Brasil. **In: Congresso Médico Acadêmico UniFOA**, 2024.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. 2ª edição, **revista-Brasília: Anvisa**, 2008.
- AZEVEDO, Joana Veloso. **Nanopartículas de lignina do sabugo de milho para protetores solares: antioxidantes naturais e proteção da radiação UV**, Tese de Doutorado, 2024.
- BARBOSA, Ana Carolina Bianco Gomes. **Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): avaliação da composição físico-química, bioativa e do potencial funcional em mulheres com sobrepeso**. PhD Thesis. Brasil, 2024.
- BISCHOFF, Stephan C. Quercetina: potenciais na prevenção e terapia de doenças. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care** , v. 11, n. 6, p. 733-740, 2008.
- CERCATO, Luana Mendonça. **Efeito anti-inflamatório tópico associado à atividade antioxidante do extrato aquoso das folhas da *Annona muricata* L.** 2021.
- DA SILVA CAMILO, Jane; SANTOS, Franciele Cruz Rocker; DA SILVA, Talita Oliveira. Nutracêuticos: possibilidades de uso no tratamento do melasma. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 40, n. especial, p. 91-111, 2024.
- DE SOUZA, Ednilson Sérgio Ramalho. Pesquisa em Temas de Ciência da Saúde. **Ciências da Saúde**, RFB Editora, Belém, Pará, , v. 14, p. 68-71, 2021.
- DURÁN-RUIZ, Claudia Azucena; GONZÁLEZ-ESQUINCA, Alma Rosa; DE-LA-CRUZ-CHACÓN, Iván. Acetogeninas de Anonáceas: uma análise comparativa de sua atividade inseticida. **Revista Brasileira de Fruticultura** , v. 46, p. e-508, 2024.
- DOMINGOS, Giovana Mesquita Oliveira de Castro. **Avaliação dos mecanismo de ação antiviral da silimarina contra o vírus Mayaro em células Vero**. 2024.
- FALLON ADIDO, Houéfa Egidia, *et al.* In silico studies on cytotoxicity and antitumoral activity of acetogenins from *Annona muricata* L. **Frontiers in Chemistry**, v. 11, p. 1316779, 2023.
- FEITOZA, Lais Quelen; DE SOUZA TERRA, Fábio; GRASSELLI, Cristiane da Silva Marciano. Plantas medicinais e seus compostos com potencial terapêutico no tratamento do câncer: revisão integrativa. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 67, n. 1, 2021.
- FIGUEIREDO, Mariana Sarto. Cajá-manga (*Spondias cytherea*). **Frutas Nativas e Exóticas do Brasil Nutrição e Biodiversidade**, 2024

- FLORES, Alexandra Bautista; MAYOR, Paola Natalia Alvarado; ARELLANO, Amanda Asunción Lovera. Propiedades medicinales de la *Annona muricata*: una revisión de la literatura. **Revista Peruana de Medicina Integrativa**, v. 9, n. 2, 2024.
- GHASEMI-DEHNOO, Maryam, *et al.* Quinic acid ameliorates ulcerative colitis in rats, through the inhibition of two TLR4-NF- κ B and NF- κ B-INOS-NO signaling pathways. **Immunity, Inflammation and Disease**, v. 11, n. 8, p. 926, 2023.
- GIULIANI, Cesidio, *et al.* **Quercetin and thyroid. *Antioxidants***, v. 13.10, p. 1202, 2024
- HÄDRICH, Gabriela. **Nanoemulsão contendo quercetina: avaliação da atividade anti-inflamatória, antioxidante e de parâmetros toxicológicos.** PhD Thesis, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.
- HARTATI, Rika, *et al.* Otimização da atividade antioxidante do extrato de folhas de graviola (*Annona muricata* L.) usando metodologia de superfície de resposta. **Biomedical Reports**, v. 21.5, p. 166, 2024.
- KUKA, Timothy T., *et al.* Evaluation of d 18 in ovo administration of soursop (*Annona muricata*) leaf extract into the air space on hatch performance and physiology of Noiler chicks. **Poultry Science**, v. 103, n. 12, p. 104220, 2024.
- LIRA-DÍAZ, Eduardo *et al.* Silver Nanoparticles Based on *Annona muricata* Peel Reduce Cell Viability in Medulloblastoma and Neuroblastoma Cell Lines. **Journal of Nanotechnology**, v. 2024, n. 1, p. 2263514, 2024.
- MARLITA, Jeli; SUJONO, Tanti Azizah. Atividade antioxidante do extrato de etanol e da fração de acetato de etila das folhas de graviola (*Annona Muricata*) in vitro. **Jurnal Ners** , v. 1, p. 59-68, 2024.
- MANSUR, JS; BREDER, MNR; MANSUR, MCDA; AZULAY, RD. **Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria.** *Anais Brasileiros de Dermatologia* , v. 121, 1986.
- NAIK, Aditi Venkatesh; SELLAPPAN, Krishnan. Quantification and histochemical localization of secondary metabolites during development in *Annona muricata* L.(Annonaceae). **Scientific Reports**, v.14, n. 1, p. 27641, 2024
- OLIVEIRA, Daniela Aparecida; BRAGA, Mariana Aparecida; MARCUSSI, Silvana. **Plantas condimentares e probióticos: propriedades funcionais e prevenção de doenças.** *Studies in Health Sciences*, n.. 6.1, p. 13176- 13176, 2025.
- ROSA, Obregón-La; JOSÉ, Antonio; ALFARO-CRUZ, Sarela. Pharmacological properties of *Annona muricata* as an alternative therapy in cancer treatment: Systematic review. **Uniciencia**, v. 38, n. 1, p. 533-550, 2024.
- ROCHA, Francisco das Chagas Sousa, *et al.* Potencial terapêutico de fitoconstituintes da *Dimorphandra gardneriana* Tulasne e *Anacardium occidentale* L. na Doença de Alzheimer. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n.24.10, p. 16939-16939, 2024.

- RUFINO, Maria do Socorro Moura, *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 127, p. 1-4, 2006.
- RUFINO, Maria do Socorro Moura, *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 127, p. 1-4, 2007.
- SANTOS, Daniel Almeida dos *et al.*, . O potencial terapêutico do extrato de graviola. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 7, n. 4, p. 72362- 72362, 2024.
- SARMENTO, R. M. Avaliação da capacidade antioxidante, proteção da indução de apoptose e fragmentação de DNA de *Annona glabra*. Dissertação (Mestrado) – **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará**, Belém, p. 98, 2016.
- SCHALKA, Sergio; REIS, Vitor Manoel Silva dos. **Sun protection factor: meaning and controversies**. Anais brasileiros de dermatologia, n. 86, p. 507-515, 2011.
- SILVA, H. N. *et al.* scientific exploration of species from the genus *annona* (annonaceae) with antinociceptive and anti-inflammatory activity. issn:2237-0722. **Geintec (revista)**. Petrolina/PE-Brasil, v. 5, n. 3, p. 2326-2334, 2015.
- SILVA, Brenna Késia Ferreira da. **Estudo fitoquímico e investigação das propriedades antimicrobiana e inseticida de *annona montana* (annonaceae)**, 2024.
- SILVA, Ronald Santana da *et al.* Implantação de uma coleção botânica de fruteiras do gênero *Annona* (annonaceae) no CECA-UFAL, 2023.
- SILVA, Jamicelly Rayanna Gomes da *et al.* Determinação da atividade antimicrobiana e toxicológica das folhas de *Annona muricata* Linn (graviola). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacêuticas**, v. 52, n. 1, 2023.
- SINGH, Anjana; CHAUHAN, Shyam Singh; TRIPATHI, Vishwas. O ácido quínico atenua a proliferação de células cancerígenas orais ao regular negativamente a expressão da ciclina D1 e a sinalização de Akt. **Pharmacognosy Magazine**, v. 14, p. 55, 2018.
- SHANMUGAM, Haripriya, *et al.* Análise comparativa de nutrientes e quimiométrica de folhas e frutos de graviola (*Annona muricata*) e coração de boi (*Annona reticulata*): Implicações para o desenvolvimento nutracêutico. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 135, p. 106686, 2024.
- SOUSA, Joana Beatriz ASP. **Atividade Biológica de derivados do Ácido Cafeico: Efeito antioxidante e anti-inflamatório**. Dissertação de Mestrado. Universidade do Porto, Portugal, p.78, 2008.
- SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. **Assays related to cancer drug discovery**. Dey, PM, Harborne, JB *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 6, 1991.
- TERPINC, Petra; ABRAMOVIČ, Helena. Uma abordagem cinética para avaliação da atividade antioxidante de ácidos fenólicos selecionados. **Food Chemistry** , v. 121, n. 2, p. 366-371, 2010.

TORRES, Taissa Lima *et al.* Características Botânicas 27.2 Cultivo e Safra. **Frutas Nativas e Exóticas do Brasil Nutrição e Biodiversidade**, v. 27.1, 2024.

YANG, Chunhua, *et al.* Interações sinérgicas entre flavonoides e acetogeninas em folhas de Graviola (*Annona muricata*) conferem proteção contra câncer de próstata. **Carcinogenesis**, v. 36, n. 6, p. 656-665, 2015.

3. CONCLUSÃO

- 1 No extrato bruto das folhas de *Annona muricata* podemos conhecer sobre seus potenciais farmacológicos demonstrados em testes realizados, podemos observar a importância de uma espécie conhecida em nosso país com sua riqueza farmacológica, abordando uma saúde única beneficiando não somente nós seres humanos mas como também podendo abranger uma saúde animal também, através de seus resultados encontrados. Uma planta que movimentava o comércio com suas frutas deliciosas como também sendo pertencente à essa família Annonaceae, fazendo parte de um gênero rico em diversas espécies que nos apresentam variedades em plantas e potenciais farmacológicos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES, CNPq, Universidade Paranaense, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal, À Universidade Estadual de Maringá UEM-Campus Umuarama pelo apoio para que esta pesquisa fosse realizada.

ANEXO

El BOLETÍN LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS (BLACPMA) (ISSN 0717 7917), es una revista científica internacional publicada bimensualmente, que desde 2020 pertenece a la Editorial MS-Editions (Santiago, Chile), entidad que poco a poco comenzará a colocar un sello diferente y un nuevo matiz, con algunos cambios importantes pero que no pretende modificar la filosofía o enfoque científico de la revista.

3. FORMATO DE LA CONTRIBUCIÓN

Los trabajos serán presentados en formato Microsoft Word (usando Times New Roman número 11).

Los artículos constarán de:

- Título
- Resumen
- Palabras claves
- Introducción
- Material y Métodos

- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Referencias

3.1. Primera página:

- Título del trabajo: (en español y en inglés), el título debe ser corto, pero indicar de que se trata el artículo.
- Autores: Nombre y apellido de todos los autores (ejemplo: Paul A. Reyes), institución a la que pertenecen (Departamento, Facultad, Universidad, Ciudad, País). Nombre y correo electrónico del autor de correspondencia.
- Resumen: En español y abstract en inglés de no más de 150 palabras e incluir una mínima descripción a modo de introducción, los métodos usados, los resultados relevantes y las conclusiones. No debe incluir referencias.
- Palabras claves: 5 en total (no menos de 5 ni más de 5).

3.2. Texto:

- Artículos originales: constarán de Introducción, Materiales y Métodos (descripción extensa), Resultados (referidos a las tablas y figuras), Discusión (extensión libre), y Conclusiones (lo más corta posible).
- Artículos de Revisión: solo en inglés, estarán estructuradas de acuerdo a las necesidades del autor. El nombre completo de la especie en latín y la familia (ej: *Inula viscosa* (L.) Aiton. Asteraceae) deberán ser mencionados in extenso al menos en la sección Materiales. A lo largo del trabajo sólo se usará el nombre corto en latín (*viscosa*).
- Tablas: Deberán ser escritas usando un procesador Word. Favor de no usar otras líneas distintas de las negras de 1 pt. El texto deberá estar en Times New Roman 10. Incluir siempre Título (numerado y citado en el trabajo) y la leyenda de las abreviaturas, en los casos en que corresponda.
- Figuras: Incluir las referencias por separado (no incluir las leyendas en la figura). La imagen se acepta en cualquiera de los siguientes formatos (JPEG, JPG; GIF, BMP o TIFF). Sin embargo, evitar TIFF si es demasiado grande y GIF si la imagen es de baja calidad. No hay restricciones en el número y color de las figuras, pero la inclusión de cualquier figura debe estar justificada. No es posible publicar una imagen que haya sido copiada de otra publicación. Sólo es posible publicar copias de imágenes libres de derecho de autor, de lo contrario deberán ser rediseñadas con un programa adecuado. Puede hallar versiones libres en Internet. Le sugerimos: • MarvinSketch (para Windows y otros sistemas) (descargar gratis luego de

registrarse) <http://www.chemaxon.com/product/msketch.html> EasyChem for MacOS
http://sourceforge.net/project/showfiles.php?group_id=90102

- Artículos de Opinión: solo en inglés, sin resumen y partes normales de un artículo, reflejará principalmente la opinión personal del o los autores basado en literatura científica, tema de contingencia internacional. Máximo de 25 referencias, 75% de los últimos dos años; extensión máxima de 4 páginas sin referencias.

4. REFERENCIAS

4.1. Citas:

Las citas en el texto deberán incluir el apellido del autor y el año, separado por coma y colocados entre paréntesis (ej. Reyes, 1995); si hay más de un trabajo del mismo autor, se separarán por comas (ej. Reyes, 1987, 1995, 2001). Si hay dos autores se citarán separados por “y” o su equivalente, respetando el idioma original de la fuente. Si hay más de dos autores, sólo se citará el primero seguido de la expresión *et al.*

En tanto que en la sección referencias deberán figurar todos los autores. Si hay varios trabajos de un mismo autor y año, se citará con una letra en secuencia adosada al año (ejemplo: Mayer et al., 1987a, 1987b). La referencia incluirá SÓLO las referencias mencionadas en el texto, ordenadas alfabéticamente por el apellido del primer autor, sin número que lo anteceda y sin sangría. Apellido/s del autor seguido de las iniciales del nombre, sin puntos ni separación entre ellas.

El nombre de la revista se colocará abreviado según normativas ISO o Pubmed Journals Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Journal> ISO abbreviation) que ofrece la posibilidad de confirmar online el nombre y abreviatura de un enorme número de revistas. Por último, se citará el volumen de la publicación, seguido del número entre paréntesis, dos puntos y el número de páginas desde x hasta y, sin espacios entre medio. Debe indicar el Doi cuando corresponda. Las citas de libros deben explicitar las páginas consultadas así como el año, ciudad y país de edición. No se admitirán citas incompletas y el incumplimiento de estas normas será motivo de retraso del artículo hasta su corrección.

4.1.1. Modelos Publicaciones Periódicas:

Cai LS, Gong SL, Chen M, Wu CY. 2006. Vinyl crown ether as a novel radical crosslinked sol-gel SPME fiber for determination of organophosphorus pesticides in food samples. *Anal Chim Acta* 559 (1): 89-96.

4.1.2. Libros:

Durand A, Miranda M, Cuellar A. 1986. Manual of practical of laboratory of Pharmacognosy. Ed. I People and Education, Havana, Cuba, pp. 90, 120-121.

4.1.3. Capítulos De Libros Editados:

Lopes de Almeida JM. 2000. Pharmaceutical formulation of phytotherapeutic products, pp. 113- 124. In Sharapin N: Foundations of technology of phytotherapeutic products. Ed. CAB and CYTED, Bogotá, Colombia.

4.1.4. Tesis (aceptable sólo si no hay fuente alternativa):

González D. 2000. Cianobacteria study with noxious effects (deleterious and toxic) in aquatic atmospheres of the county of San Luís. Thesis, Universidad Nacional de San Luis, Argentina.

4.1.5. Patentes:

Babu GDK, Ahuja PS, Kaul VK, Singh V. 2005. Simple, portable mini distillation apparatus for the production of essential oils and hydrosols. US Patent No. 6,911,119B2. CSIR, June 28.

4.1.6. Recursos Electrónicos:

Todas las páginas web deben estar vigentes al momento de la publicación.

En caso de no haber un autor, o cuando no hay un responsable principal, se toma la institución responsable como equivalente al autor y en el texto se cita (CNN, 2009). CNN. Cuba's health care manages despite seizure. <http://www.cnn.com/TRANSCRIPTS/0108/18/yh.00.html> [Consulted October 5, 2006].

4.1.7. Boletines o Revistas online con ISSN:

La fuente debe ser citada como cualquier otra revista. Ejemplo:

Muñoz A, Álvarez VC, Nino ME. 2011. Caracterización química de las fracciones volátiles y aceites esenciales de hojas y flores de *Chromolaena barranquillensis* encontrada en Sabanalarga (Atlántico, Colombia). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 10 (6): 581 – 589.

4.1.8. Comunicaciones a Congresos:

Desde el 15 de septiembre de 2020, no se aceptan como referencias.

4.2. Importante nota sobre la citación de páginas web:

En estos días se está comprobando el creciente ABUSO de la citación de páginas Web para avalar afirmaciones científicas hechas por los autores, resulta muy peligroso para su credibilidad como autor, y para la credibilidad de este Boletín, citar información obtenida en páginas Web que no tengan ninguna entidad científicamente reconocida que se haga responsable de la susodicha información. Las páginas Web “anónimas” no serán aceptadas. Todo abuso será motivo de rechazo para su publicación, incluso si este ya fue (erróneamente) aceptado por los revisores. Si se trata de boletines o revistas on-line con ISSN, la fuente debe ser citada como cualquier otra revista.

5. ENVÍO DE LOS TRABAJOS Y PROCEDIMIENTO DE EDICIÓN

Se deben enviar por correo electrónico a la dirección editor.blacpma@ms-editions.cl

Los trabajos se acompañarán de una lista conteniendo el correo electrónico y la dirección de TODOS los autores. El autor principal será el responsable de manifestar su conformidad en nombre de todos los autores, en relación a la publicación en BLACPMA así como de cualquier problema que se origine por la autoridad y/u originalidad del trabajo. Esto quedará claramente establecido en una nota formal que acompañará el trabajo enviado. Una vez recibido, el trabajo será arbitrado por un par de revisores, que podrán ser miembros de nuestro comité editorial, académicos o profesionales reconocidos, quienes decidirán su aprobación o rechazo. De todas maneras, el editor tiene la facultad para decidir si el trabajo cumple con el enfoque del Boletín y tiene la libertad de modificar el manuscrito definitivo (ver el apartado siguiente).

6. AUTORIDAD FINAL DEL COMITÉ EDITORIAL

Los editores se reservan el derecho de corregir o modificar el manuscrito aceptado para su publicación en BLACPMA, previa consulta con el autor para que se adecue mejor al estilo y objetivos del Boletín. Este procedimiento tendrá lugar en aquellos casos en que los manuscritos no concuerdan con los modelos científicos generalmente aceptados o si el contenido es innecesariamente largo, redundante o no suficientemente claro. Estas modificaciones pueden ser requeridas directamente a los autores y podrán retrasar la publicación del manuscrito. Gracias por su importante contribución y por tener en cuenta estas normas.