

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

ANDRESSA MOREIRA DO NASCIMENTO

**INVESTIGAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES VEGETAIS DO GÊNERO *Annona***

**PATOS DE MINAS – MG
DEZEMBRO DE 2020**

ANDRESSA MOREIRA DO NASCIMENTO

**INVESTIGAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES VEGETAIS DO GÊNERO *Annona***

Artigo Científico apresentado ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito final para a obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia.

Profa. Dra. Enyara Rezende Morais

Hellyssa Cataryna Saldanha

PATOS DE MINAS – MG

DEZEMBRO DE 2020

ANDRESSA MOREIRA DO NASCIMENTO

Investigação do Perfil Fitoquímico e Atividade Antimicrobiana de Espécies Vegetais do Gênero *Annona*

Artigo Científico apresentado ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Prof. Dra. Enyara Rezende Morais

Hellyssa Cataryna Saldanha

Banca Examinadora:



Profa. Dra. Enyara Rezende Morais – IBTEC, UFU
Presidente



Prof. Dr. Gilvan Caetano Duarte – IBTEC, UFU
Membro



M.e Jhonatas Emílio Ribeiro da Cruz – PPGGB, IBTEC, UFU
Membro

Patos de Minas, 17 de dezembro de 2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Deus**, autor da vida, por sua graça, consolo, amor, luz e coragem para vencer a cada dia. Foram dias e noites difíceis, mas em nenhum momento estive só. Sou grata pela oportunidade de estudar e entender que com os conhecimentos alcançados nesses anos, e nos outros que virão, posso sim realizar meus sonhos.

Agradeço à minha família, à minha **mãe, Célia**, especial, guerreira, inspiradora e dona de um coração que me ensina a ser mais forte. Agradeço por todo amor que tem por mim, por ter me criado tão bem mesmo com as circunstâncias que enfrentou. Ao meu **pai, Donizetti**, por todo amor e carinho que nunca deixaram de existir.

Aos meus **tios Vicente de Paulo e Conceição**, que tiveram papel fundamental na minha educação, meus maiores incentivadores.

Aos meus **primos Huarley** (*in memorian*) e **Lucas**, que formam uma rede de proteção e carinho que é muito importante. Vocês me fazem morrer de saudades.

Agradeço à todos da minha **família** que contribuíram de alguma forma para concretização desse sonho.

À minha melhor amiga, **Monalisa**, pelos encontros anuais, apoio e conversas sinceras que eu tanto amo, estendo minha sincera gratidão.

Aos meus amigos, **Pedro, Caroline e Maria**, que dividiram comigo essa caminhada e que tornaram meus dias mais leves e agradáveis. Agradeço por sempre estarem dispostos a ouvir meus desabafos e por terem sido meu porto seguro em Patos.

Ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM), em especial a minha orientadora **Dra. Enyara Rezende Moraes** por todo apoio, paciência, dedicação, persistência, ajuda e confiança que teve comigo. Muito obrigada por tudo e por todos ensinamentos, conselhos e aprendizados transmitidos.

Agradeço profundamente à **Hellyssa**, segunda orientadora no desenvolvimento desse trabalho. Sem você nada disso seria possível. Obrigada por toda a orientação, pelos conselhos, por ser tão gentil e por me socorrer sempre que precisei. Minha eterna gratidão!

Ao **Dr. Gilvan Caetano Duarte**, eu tenho a agradecer por ter me iniciado no caminho da pesquisa. Por ser um dos melhores professores que tive a oportunidade de encontrar na

graduação e um dos responsáveis por minha permanência no curso. Deixo meus agradecimentos pelas oportunidades. É um prazer tê-lo na banca examinadora.

Ao **M.e Jhonatas Emilio Ribeiro da Cruz**, por se fazer presente na banca examinadora, muito obrigada pela disponibilidade de avaliar esse trabalho e contribuir com toda experiência. É um prazer tê-lo na banca examinadora.

E por último e não menos importante, agradeço a esta Universidade, seu corpo docente, direção e administração, que me deu o conhecimento necessário para concluir este trabalho. Em especial ao corpo docente por todo auxílio e orientação. Agradeço a todos que fizeram parte direta ou indiretamente deste trabalho.

RESUMO

Atualmente observa-se um grande índice de microrganismos patogênicos que podem infectar humanos. Em indivíduos imunocomprometidos, os casos de infecção são graves e potencialmente fatais. Alguns desses microrganismos se tornaram resistentes a fármacos, resistência essa que tende a aumentar com o uso inadequado de antibióticos o que intensifica pesquisa por novos fármacos. As plantas medicinais desempenham papel fundamental na saúde humana ao longo de milhares de anos, além da importância alimentícia de algumas espécies. Essas plantas são fontes importantes de metabólitos secundários que podem ser explorados como potenciais fármacos. Extratos da casca, folhas, frutos, caule e sementes de *Annona* são citados na literatura como tendo várias ações medicinais. Com base nisso, objetivou-se, nesse trabalho, analisar o perfil fitoquímico de extratos obtidos de diversas espécies do gênero *Annona* e, em adição, avaliar seu potencial antibacteriano e antifúngico. Os resultados forneceram evidências de que o gênero pode de fato ser fonte de potenciais agentes antimicrobianos.

Palavras-Chave: Plantas medicinais. Antimicrobiano. Metabólitos secundários. Produtos naturais. Fármacos.

INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. Esses compostos são usados até hoje para o tratamento de doenças como infecções respiratórias, dores abdominais, além de outros distúrbios (BUENO *et al.*, 2005). As enfermidades mais comuns decorrem de infecções por microrganismos do ambiente, como bactérias e fungos, e os tratamentos dependem de compostos inibidores como antibióticos, para impedir a ação dos patógenos e assegurar a recuperação do indivíduo (REMPEL *et al.*, 2019). Porém, o uso intensivo dessa classe de drogas acaba por estimular a seleção de microrganismos resistentes, dessa forma novos estudos para a investigação de novas biomoléculas ativas são encorajados (ANTUNES *et al.*, 2006). Nesse contexto, as plantas medicinais têm contribuído como fonte de vários fármacos, entre eles o artéter (Artemotil®) isolado da *Artemisia annua*, galantamina (Reminil®) produto natural isolado da *Galanthus woronowii* Losinsk, nitisiona (Orfadin®) isolado de *Callistemon citrinus* Stapf., tiotrópio (Spririva®) derivado de *Atropa beladonna*, amplamente usados clinicamente (BALUNAS; KINGHORN, 2005; CHIN *et al.*, 2006).

Os metabólitos secundários são a maior parte dos princípios ativos de importância farmacológica encontrados nos vegetais, e de modo geral, conferem às plantas proteção contra predadores (CHAGAS, 2004). Estes compostos despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas que desempenham nas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela atividade farmacológica dessas moléculas (ALVES, 2001).

Existem cerca de 374.000 espécies de plantas no mundo, sendo que a maioria é cientificamente desconhecida (CHRISTENHUSZ; BYNG, 2016). O Brasil é promissor para a produção de fármacos a partir de espécies vegetais, já que sua biodiversidade chega a 19% do total terrestre, e é rica em substâncias bioativas (GIULIETTI *et al.*, 2005).

O gênero *Annona* é composto por aproximadamente 162 espécies, incluindo as principais representantes das anonáceas cultivadas no mundo (CHATROU *et al.*, 2012). No Brasil, existem cerca de 60 espécies, com maior ocorrência em florestas e com poucos representantes em áreas abertas (COSTA *et al.*, 2011). Este é o gênero mais importante da família Annonaceae por conter espécies empregadas na medicina popular. Utilizando todas as partes das plantas, desde raízes até o fruto, é realizado o preparo de chás, xaropes e sucos, afim de inibir e/ou controlar os sintomas de enfermidades, devido a diversidade de suas estruturas químicas envolvidas na relação do organismo com o meio ambiente (BARATA *et al.*, 2009; CHANG *et al.*, 1998b; CORRÊA, 1984).

Investigações químicas e farmacológicas sobre algumas espécies desse gênero indicaram a presença de importantes compostos bioativos com atividades farmacológicas, incluindo citotoxicidade contra linhagens de células tumorais (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999; RINALDI *et al.*, 2017), antimicrobiana, antioxidante (COSTA *et al.*, 2009, 2013), antiplaquetária e propriedades antiparasitárias

(CHANG *et al.*, 1998a; YANG *et al.*, 2002). Essas atividades geralmente são atribuídas às classes de metabólitos ativos como os alcaloides, acetogeninas, flavonoides e terpenoides (RABELO *et al.*, 2016).

Os alcaloides compõem um amplo grupo de metabólitos secundários nitrogenados, encontrados em aproximadamente 20% das espécies de plantas, sendo que galhos, folhas e caule são as principais fontes desses compostos. Este grupo possui um amplo espectro de atividades farmacológicas que estão relacionadas com sua estrutura química (LIMA *et al.*, 2017; TAIZ *et al.*, 2013).

Outra importante classe de compostos secundários são as acetogeninas, também presentes na família, sendo o gênero *Annona* a principal fonte destas substâncias, dado que das 417 acetogeninas conhecidas, 289 foram isoladas a partir de 20 espécies de *Annona* (BERMEJO, 2005). Esses produtos naturais apresentam ampla variedade de propriedades biológicas e são derivadas de ácidos graxos de cadeia longa (PETTIT *et al.*, 2008). Investigações bioquímicas relatam que as acetogeninas têm como alvo o NADH mitocondrial: ubiquinona oxidoreductase, também conhecido como complexo respiratório I das mitocôndrias. O interesse clínico nessas moléculas tem sido gerado pelas implicações da deficiência do complexo I em uma série de doenças congênitas ou adquiridas (ZAFRA-POLO *et al.*, 1996).

Os flavonoides estão presentes em espécies do gênero *Annona*, sendo as classes mais abundantes as flavononas e os flavonóis encontrados nas espécies *A. crassiflora*, *A. tomentosa* e *A. monticola* Mart. e *A. warningiana* (SANTOS; SALATINO, 2000). Os flavonoides são produtos naturais que apresentam várias funções bioquímicas e farmacológicas, destacando-se ações de sequestro de radicais livres, anti-inflamatória, anti-hepatotóxica, antialérgica, antitumoral, antiparasitária, antimicrobiana e antifúngica (BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, 2010; HUANG *et al.*, 2007). Estão associados a um amplo espectro de efeitos de promoção da saúde e são componentes indispensáveis em uma variedade de aplicações nutracêuticas, farmacêuticas, medicinais e cosméticas (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

Outro grupo de produtos naturais que podem ser encontrados nas plantas são os terpenoides. Sesquiterpenóides em *A. bullata* e diterpenóides em *A. squamosa* são compostos que atuam na defesa dos vegetais (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2003). Vários terpenoides são biologicamente ativos e são alvos de estudos contra o câncer, malária, inflamação e uma variedade de doenças infecciosas (MBAVENG; HAMM; KUETE, 2014).

Vários estudos demonstram a ação antimicrobiana do gênero *Annona*, principalmente contra microrganismos dos gêneros *Aspergillus* (LÚCIO *et al.*, 2015), *Cryptococcus* (ALMEIDA-APOLONIO *et al.*, 2019), *Candida* (KALIDINDI *et al.*, 2015), *Staphylococcus* (DOLAB *et al.*, 2018; NUGRAHA *et al.*, 2019) e *Enterococcus* (LEON-FERNANDEZ *et al.*, 2019). Esses patógenos são capazes de causar doenças importantes e, em casos especiais ainda carecem de tratamento eficiente.

O gênero *Aspergillus*, pertencente à família *Thichonomaceae* e ao filo *Ascomycota*, é composto por organismos filamentosos. Existem cerca de 344 espécies dentro desse gênero, mas apenas 20 delas são causadoras de patologias (SAMSON *et al.*, 2014; RICHARDSON; WARNOCK, 2012). O agente

etiológico *A. fumigatus* é especialmente danoso ao sistema respiratório humano, dentre as complicações estabelecidas em decorrência da aspergilose incluem-se hemoptise, fibrose pulmonar e aspergilose invasiva (BONGOMIN *et al.*, 2017). Além disso, várias outras espécies catalogadas também podem causar infecções, entre elas estão o *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger* e *A. terreus* (JIANG *et al.*, 2013).

O gênero *Candida* pertence à família *Candidaceae* e ao Filo *Ascomycota* (CALDERONE, 2002). Abriga aproximadamente 200 espécies de leveduras, sendo que 10% destas estão associadas a infecções em humanos. Embora *C. albicans* seja a principal levedura responsável por infecções, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. lusitaniae* destacam-se por serem causadoras de infecções em indivíduos com o sistema imune comprometido (VIEIRA, 2016).

Já o gênero *Cryptococcus* pertencente à família *Tremellaceae* ao filo *Basidiomycota* (LAZERA; WANKE; NISHIKAWA, 1993), é composto por aproximadamente 70 espécies, das quais *C. neoformans*, *C. gattii*, *C. deneoformans*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* e *C. decagattii* são de interesse médico, sendo os principais patógenos em humanos e animais (HAGEN *et al.*, 2015).

Outro importante gênero de microrganismos é o *Staphylococcus*, que pertence à família *Staphylococcaceae* e ao filo *Firmicutes* (EUZÉBY, 1997). Composto de aproximadamente 80 espécies e subespécies que incluem patógenos humanos e animais, como as espécies *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. pseudintermedius*, *S. equorum*, *S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. simulans*, *S. saprophyticus*, *S. succinus*, *S. warneri*, *S. pasteurii*, *S. epidermidis* e *S. lentus* (BLAIOTTA *et al.*, 2010). São cocos gram-positivos que crescem em formato de cachos agrupados, são organismos adaptáveis e que podem viver em uma grande variedade de ambientes e normalmente se desenvolvem numa faixa de temperatura de 30 a 37°C sendo a faixa de temperatura corpórea (DYKE, 2003).

O gênero *Enterococcus* faz parte da família *Enterococcaceae*, filo *Firmicutes* (TAXONOMY BROWSER, 2018). São bactérias gram-positivas, cocos ovais, anaeróbios facultativos, catalase negativas e não formam esporos. São resistentes às condições adversas como alta salinidade e temperaturas entre 10 e 45°C. (MURRAY, 1990). Abrange aproximadamente 54 espécies e duas subespécies (EUZÉBY, 1997), sendo que *E. faecalis* e *E. faecium* são capazes de promover a colonização e infecção em seres humanos. (FRANZ *et al.*, 2003). As espécies *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. avium* e *E. raffinosus* são patogênicas, porém são isoladas com menor frequência e representam 5% dos achados clínicos (EVANS PATTERSON *et al.*, 1995).

Dessa forma, considerando a relevância das espécies do gênero *Annona* em relação ao seu conteúdo de metabólitos secundários e a importância desses no combate de microrganismos patogênicos humanos, o presente trabalho teve como objetivo revisar a literatura científica e apresentar o que já se sabe sobre o perfil fitoquímico e atividade antimicrobiana de importantes espécies desse gênero.

MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento de dados para este trabalho foi realizado a partir de artigos científicos de revistas indexadas dos últimos 10 anos, utilizando as bases de dados do PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Scielo (<https://scielo.org/>) e Google Scholar (scholar.google.com.br). A coleta de dados foi realizada utilizando os descritores Annonaceae, *Annona*, antimicrobiana, atividades biológicas, efeitos farmacológicos e fitoquímicos constituintes. Os artigos foram selecionados a partir da principal variável de interesse (gênero *Annona*), totalizando 13 artigos. A seleção foi realizada a partir de uma leitura minuciosa de artigos e foram incluídos os estudos que examinaram os constituintes fitoquímicos de qualquer parte da planta (folha, fruto, semente, casca, caule e raiz), utilizados para avaliação de atividade antimicrobiana. Artigos que discutiram o isolamento ou atividades de espécies que não pertenciam ao gênero *Annona* foram excluídos.

Os dados analisados na literatura científica selecionada incluíram informações relativas a composição fitoquímica de espécies do gênero *Annona* considerando método de extração, solvente de extração, atividade farmacológica de extratos brutos e compostos purificados, microrganismo testado e resultados apresentados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espécies do gênero *Annona* têm demonstrado atividade antimicrobiana devido aos seus compostos bioativos contra diversos microrganismos como *A. fumigatus*, *C. albicans*, *C. neoformans*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis*; considerando estudos com extratos de folhas, raízes, caule, casca e sementes. Nos estudos levantados, a eficácia dos extratos utilizados para um microrganismo específico foi avaliada através da medição de halo de inibição em ensaios de difusão em ágar, determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).

Abdel-Rahman *et al.* (2019) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das sementes de *A. muricata* contra *S. aureus* e *C. albicans*. O extrato apresentou intensa cor marrom-avermelhada, indicando alta concentração de terpenoides, conforme exibido na Tabela 1. *C. albicans* foi resistente à ação do extrato da semente, no entanto, o extrato apresentou atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, como demonstrado na Tabela 2. O extrato apresentou um halo de 11 mm em comparação com o controle positivo de 21 mm (ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2019). Vale ressaltar que na literatura os terpenos são substâncias dotadas de ação bactericida. Tem sido demonstrado que os terpenos são ativos contra diversos microrganismos. Seu mecanismo de ação provável envolve a ruptura da membrana celular por compostos lipofílicos (MIRANDA *et al.*, 2013).

Tabela 1: Espécies do gênero *Annona* e seus compostos bioativos isolados.

Espécie (nome popular)	Parte da planta	Solvente de extração	Compostos	Referência
	Semente	Etanol	Terpenoides	(ABDEL-RAHMAN <i>et al.</i> , 2019)
<i>A. muricata</i> (graviola)	Folhas	Clorofórmio, acetato de etila, n-hexano e acetona	Alcaloides e acetogeninas	(ABUBACKER; DEEPALAKSHMI, 2013)
		Metanol	Taninos, fenóis, antraquinonas, alcaloides e saponinas.	(OLUGBUYIRO <i>et al.</i> , 2017)
<i>A. squamosa</i> (pinha)	Folhas	Metanol, acetona e água	Flavonoides e alcaloides.	(AL-NEMARI <i>et al.</i> , 2020)
		Etanol e água	Glicosídeos, alcaloides, aminoácidos, flavonoides, carboidratos, saponinas, esteroides, fenóis e taninos.	(KALIDINDI <i>et al.</i> , 2015).
	Polpa	Etanol	Alcaloides e acetogeninas.	(TRINDADE <i>et al.</i> , 2020)
<i>Annona cherimola</i> Mill. x <i>A. squamosa</i> L. (atemoia)	Folhas, caule	Metanol e hexano	Fenóis e flavonoides.	(RABÊLO <i>et al.</i> , 2014)
<i>A. crassiflora</i> (araticum)	Casca do fruto, Caule, semente, polpa e folha	Etanol	Flavonoides, taninos, saponinas e alcaloides.	(SILVA <i>et al.</i> , 2014)
		Madeira, cascas da raiz	Flavonoides, taninos, alcaloides.	(CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2017)
<i>A. reticulata</i> (coração de boi)	Folhas	Metanol	Alcaloides, flavonoides, esteroides, terpenoides, açúcares redutores, taninos, saponinas e glicosídeos.	(JAMKHANDE <i>et al.</i> , 2016)
<i>A. vepretorum</i> (moroló)	Folhas	Etanol	Fenóis e flavonoides.	(ALMEIDA <i>et al.</i> , 2014)
<i>A. hypoglauca</i> (cherimólia)	Caule	Diclorometano	Alcaloides.	(RINALDI <i>et al.</i> , 2017)
<i>A. coriacea</i> (ata, fruta do conde)	Casca, folhas	Etanol	Flavonoides	(ALMEIDA-APOLONIO <i>et al.</i> , 2019)

Tabela 2: Atividade antimicrobiana de espécies de *Annona*.

Espécie (nome popular)	Parte da planta	Resultado do Extrato					Referência
		Espécie	Extrato	Controle	Halo de inibição	CIM/ CBM	
<i>A. muricata</i> (graviola)	Sementes	<i>S. aureus</i>	Etanólico	21 mm	11 mm	-	(ABDEL-RAHMAN <i>et al.</i> , 2019)
	Folhas	<i>A. fumigatus</i> NCBT-126	Aquoso	5 mg/mL	-	8,75 mg/mL	(ABUBACKER; DEEPALAKSHMI, 2013)
		<i>S. aureus</i>	Acetato de etila	32 mm	42 mm	-	(OLUGBUYIRO <i>et al.</i> , 2017)
<i>A. squamosa</i> (pinha)	Folhas	<i>S. aureus</i>	Metanólico	14,8 mm	16,5 mm	-	(AL-NEMARI <i>et al.</i> , 2020)
		<i>C. albicans</i>	Aquoso	100 mg/mL	-	0,8 mg/mL	(KALIDINDI <i>et al.</i> , 2015)
	Polpa	<i>S. aureus</i> ATCC 10832	Etanólico	12 mm	9,8 mm	0,340 mg/mL	(TRINDADE <i>et al.</i> , 2020)
<i>Annona cherimola</i> Mill. x <i>A. squamosa</i> L (atemoia)	Folhas, Caule	<i>S. aureus</i>	Metanólico	25 mg/mL	-	12,5 mg/mL	(RABÊLO <i>et al.</i> , 2014)
<i>A. crassiflora</i> (araticum)	Casca do fruto, Caule, semente, polpa e folha	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Hidroetanólico	0,12%	Caule 12 mm	1,56 mg/mL	(SILVA <i>et al.</i> , 2014)
					Polpa 16 mm	12,5 mg/mL	
					Casca do fruto 18 mm	6,25 mg/mL	
					Folhas 12 mm	25 mg/mL	
		<i>S. aureus</i> resistente a oxacilina	Caule 9 mm	25 mg/mL			
			Polpa 9 mm	25 mg/mL			
			Casca do fruto 12 mm	50 mg/mL			

				Folhas 10 mm	25 mg/mL		
Madeira, cascas da raiz	<i>C. albicans</i>	Etanólico	<0,0158 mg/mL	11 mm	2 mg/mL	(CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2017)	
				Metanólico 13,66 mm			
				N-butanol 12,66 mm			
				Clorofórmio 12,66 mm			
<i>S. aureus</i>	16,66 mm 15,33 mm	Metanólico, n- butanol, clorofórmio e acetona		Acetona 11,00 mm	-	(JAMKHANDE <i>et al.</i> , 2016)	
				Metanólico 13,33 mm			
				Clorofórmio 11,33 mm			
				N-butanol 12 mm			
<i>A. reticulata</i> (coração de boi)	Folhas	Metanólico, n- butanol, clorofórmio e acetona	17,33 mm	Acetona 10,66 mm	-	(ALMEIDA <i>et al.</i> , 2014)	
				15,66 mm			
				17,33 mm			
				15,66 mm			
<i>A. vepretorum</i> (marolo)	Folhas	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis</i>	Etanólico, hexânico e clorofórmico	0,5; 0,6; 0,0015; 0,0016 mg/mL	-		
					Hexânico 0,78 mg/mL		

					Hexânico 3,12 mg/mL			
					Clorofórmio 12,5 mg/mL			
<i>A. hypoglauca</i> (cherimólia)	Caule	<i>S. aureus</i>	Hexânica, diclorometânica, metanólica e com acetato de etila	<0,1 mg/mL	-	0,07 mg/mL	(RINALDI <i>et al.</i> , 2017)	
<i>A. coriacea</i> (ata, fruta do conde)	Casca, folhas	<i>C. neoformans</i> ATCC 32045	Etanólico	0,002 mg/mL	-	1,5 mg/mL	(ALMEIDA- APOLONIO <i>et al.</i> , 2019)	

Olugbuyiro e colegas (2017) utilizaram o extrato metanólico de folhas de *A. muricata* subfracionado com hexano, acetato de etila e água (Tabela 1). Os resultados demonstram atividade antimicrobiana dos extratos hexânico e de acetato de etila, comparados com a atividade padrão com gentamicina (0,02 mg/mL). O extrato de acetato de etila, no teste de disco de difusão, foi considerado altamente ativo contra *S. aureus*, com halo de inibição de 42 mm e moderado para *C. albicans* com halo de inibição de 28 mm em relação ao controle, que foi de 32 mm para ambas (Tabela 2). O extrato hexânico também demonstrou eficácia contra *S. aureus*, com halo de inibição de 28 mm e contra *C. albicans*, com 24 mm. Os resultados demonstraram que a associação dos terpenoides, flavonoides e alcaloides encontrados nos extratos de folhas e sementes de *A. muricata* pode ser a base da atividade antimicrobiana.

Extratos de *A. muricata* também foram utilizados para averiguar sua atividade contra *A. fumigatus* NCBT-126. 3 concentrações do extrato aquoso das folhas de *A. muricata* foram testados, em comparação com o controle bavistina (5 mg/mL) (Tabela 1). A atividade antifúngica foi dose-dependente com inibição de 75% do crescimento de *A. fumigatus* na concentração de 15 mg/mL, enquanto as concentrações de 5 e 10 mg/mL alcançaram apenas 25% de inibição. O crescimento de *A. fumigatus* diminuiu com o aumento da concentração do extrato, com CIM de 8,75 mg/mL (Tabela 2). A redução de crescimento foi atribuída a ação dos princípios ativos identificados pertencentes às classes dos ésteres, alcaloides e flavonoides (ABUBACKER; DEEPALAKSHMI, 2013).

Al-Nemari e coautores (2020) utilizaram extratos aquoso, metanólico e acetônico de folhas *A. squamosa* contra *S. aureus* e *E. faecalis* (Tabela 1). Os metabólitos secundários foram identificados apenas no extrato metanólico, sendo a maioria hidrocarbonetos sesquiterpênicos. A atividade antimicrobiana dos diferentes extratos foi avaliada por difusão em ágar. O extrato acetônico apresentou atividade somente contra *E. faecalis* com halo de inibição de 8 mm, frente ao controle positivo com 12,7mm. O extrato metanólico, por sua vez, foi considerado altamente eficaz quando a antibacteriana contra *S. aureus*, apresentando halo de inibição de 16,5 mm, superior ao antibiótico tetraciclina com 14,8 mm usado como controle (Tabela 2). O mesmo extrato exibiu halo de inibição de 7,9mm contra *E. faecalis*, em comparação ao controle de 12,7 mm.

Os extratos clorofórmico, metanólico e aquoso de folhas *A. squamosa* foram utilizados para testar seu efeito sobre *C. albicans* (Tabela 1). Todos os extratos foram submetidos a triagem química, que revelou a presença de glicosídeos, flavonoides, fenóis, taninos, saponinas, alcaloides, carboidratos e esteroides. Diferentes concentrações (1 mg/mL e 2 mg/mL) foram submetidas ao método de difusão em ágar e os resultados foram comparados com cetoconazol (100 mg/mL), usado como controle positivo, e expressos como porcentagem de inibição. Os extratos clorofórmicos e metanólicos inibiram o crescimento em 27,69% na concentração de (1 mg/mL) e 64,62% na concentração de (2 mg/mL) do extrato clorofórmico; e 43,08% a 1mg/mL e 70,77% a (2 mg/mL) do extrato de metanólico. No entanto, o extrato aquoso mostrou menor atividade contra *C. albicans*, com inibição do crescimento de 9,23% a (1mg/mL) e 33,85% a 2mg/mL. As CIMs de metanol, clorofórmio e extrato aquoso foram estimados. O

extrato de metanol e clorofórmio exibiram a mesma eficácia, com 0,6 mg/mL de CIM, enquanto o extrato aquoso apresentou 0,8 mg/mL (Tabela 2). Observa-se que os resultados do ensaio antifúngico realizado com extratos aquosos e orgânicos mostraram seu efeito inibitório nas duas concentrações testadas contra a levedura de forma dose-dependente. O resultado apresentado dos extratos das folhas testados apresentaram flavonoides e fenóis que estão relacionados a propriedades antimicrobianas (KALIDINDI *et al.*, 2015).

Para averiguar a atividade de *A. squamosa* contra *S. aureus* ATCC 10832 foi utilizado o extrato etanólico da polpa (Tabela1). Halos de inibição menores que 7mm foram considerados inativos contra *S. aureus*, enquanto diâmetro superior a 12 mm foi considerado inibitório. O extrato exerceu inibição moderada de crescimento, com halo de 9,8 mm e CIM de 0,340 mg/mL (Tabela 2). A formação do halo de inibição bacteriana com o teste de difusão em ágar indica que o microrganismo possui algum nível de susceptibilidade ao composto (TRINDADE *et al.*, 2020). A utilização de diferentes solventes pode influenciar diretamente na concentração e na atividade de moléculas provenientes de tecidos vegetais. O solvente utilizado e a polaridade podem afetar a transferência de elétrons e átomos de hidrogênio sendo um aspecto crucial envolvido na atividade antimicrobiana (CHAPAVAL *et al.* 2018). A utilização de um solvente diferente para a extração pode alterar atividade antibacteriana incipiente dos extratos de *A. squamosa*.

Rabêlo e compartes (2014) utilizaram folhas e caules de atemoia, um híbrido interespecífico entre a cherimólia (*A. cherimola* Mill.) e a pinha ou fruta-do-conde (*A. squamosa* L.) (OLIVEIRA *et al.*, 2010) (Tabela 1). A CBM foi definida como sendo a menor contração dos extratos capaz de causar morte no inoculo bacteriano. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada contra *E. faecalis*, *S. aureus* e *S. epidermidis* e um isolado clínico de *S. aureus* resistente a meticilina. Foram testados os extratos metanólico das folhas e etanólico dos talos. *E. faecalis* foi resistente a todos os extratos testados em contraste com as demais que foram suscetíveis. O extrato etanólico exibiu valores de CBM entre 0,7812 e 6.250 mg/mL para os *Staphylococci*; o extrato metanólico, por sua vez variou de 3,125 a 12,5 mg/mL (Tabela 2). Observa-se que a atividade dos extratos está relacionada com a presença de substâncias fenólicas nos dois extratos, principalmente os flavonoides, que encontravam-se em maior concentração no extrato etanólico o que pode justificar o desempenho superior dessa fração (RABÊLO *et al.*, 2014).

Silva e colaboradores (2014) utilizaram a casca do fruto, caule, semente, polpa e folha de *A. crassiflora* para preparo de extratos hidroetanólicos que foram testados contra *S. aureus* resistente a oxacilina e cepa padrão de *S. aureus* ATCC 6538 (Tabela1). Solução de clorexidina a 0,12% foi empregada como controle positivo. O extrato da semente foi ineficaz contra as cepas testadas, sem qualquer halo inibitório, porém os extratos produzidos com os demais tecidos exibiram atividade antibacteriana favorável, sendo: caule 12 mm (1.56 mg/mL de CIM), polpa 16 mm (12.5 mg/mL de CIM), casca do fruto 18 mm (6.25 mg/mL de CIM) e folhas 12 mm (25 mg/mL de CIM) contra a cepa padrão de *S. aureus* ATCC 6538 (Tabela2). Destaca-se o extrato da casca da fruta, mostrando-se mais

ativo que o controle positivo (16 mm). A ação dos extratos contra *S. aureus* resistente a oxacilina foi altamente variável possivelmente devido ao grande número amostral de isolados clínicos, 60 ao todo, onde observou-se, em média: caule e polpa com 9 mm (25mg/mL de CIM para ambos), casca do fruto 12 mm (50 mg/mL de CIM) e folhas 10 mm (25mg/mL de CIM) (Tabela2). As análises qualitativas das substâncias químicas dos extratos analisados foram determinadas por métodos colorimétricos que identificaram alcalóides na casca dos frutos, polpa e extratos de folhas. Em adição, taninos foram encontrados somente na casca do fruto, o que pode ter somado à atividade antibacteriana superior do extrato, indicando a necessidade de estudos mais aprofundados acerca da utilização de extratos e de componentes fitoquímicos da casca para aplicação antibacteriana, visto seu desempenho positivo contra cepa resistente de *S. aureus*.

Cavalcante e colegas (2017) avaliaram a atividade do extrato etanólico da madeira e casca da raiz de *A. crassiflora* contra 10 cepas de *C. albicans* isolados clínicos (Tabela1). Foram utilizadas madeira e casca da raiz, em conjunto, para produzir extrato etanólico, que posteriormente foi subfracionado. A fração hidroetanólica demonstrou desempenho superior às demais, com halo de inibição de 12mm, ligeiramente maior que o extrato etanólico original (11mm), e 2 mg/mL de CIM (Tabela2). O fluconazol foi utilizado como medicamento padrão e apresentou um CIM < 0,0158 µg/mL o que caracteriza o CIM da fração hidroetanólica como drasticamente inferior, em comparação. Ainda assim, os resultados demonstraram alguma variação na susceptibilidade das leveduras ao extrato. O efeito antimicrobiano do extrato depende fortemente do solvente utilizado, o que aumenta a demanda por maiores estudos para alcançar métodos que permitam a máxima preservação dos compostos com atividade antimicrobiana. Foram identificados no estudo alcalóides, taninos e flavonóides relacionados a atividade do extrato.

Em outro estudo, os extratos metanólico e frações de n-butanol, clorofórmio e acetona das folhas de *A. reticulata* foram utilizados para averiguar sua atividade contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *A. fumigatus* e *C. albicans* (Tabela1). Foram utilizados como controle ciprofloxacino e amoxicilina apresentando os respectivos halos de inibição para *S. aureus* (16,66 mm; 15,33 mm) e *S. epidermidis* (15,66 mm; 17,33 mm). O halo de inibição do extrato metanólico contra *S. aureus* foi de 13,66 mm, a fração de n-butanol exibiu halo de 12,66 mm, a fração clorofórmica apresentou atividade moderada, com halo de 12,66 mm e a fração acetônica com 11,00 mm. *S. epidermidis* foi totalmente resistente às frações de n-butanol e metanol, já a fração clorofórmica exibiu halo de 14,33 mm. A menor atividade foi encontrada para a fração acetônica contra *S. epidermidis* 10,66 mm. O efeito antifúngico das frações foi avaliado contra *C. albicans* resultado em: extrato metanólico 13,33 mm, clorofórmico 11,33 mm e n-butanol 12 mm comparadas ao controle griseofulvina 17,33 mm. Nenhum halo de inibição foi observado contra *A. fumigatus* (Tabela2). Observamos que o extrato testado e as frações apresentaram variada atividade antimicrobiana, sendo que as folhas de *A. reticulata* podem ser fonte de componentes antimicrobianos bioativo os quais foram identificados na triagem fitoquímica: alcalóides, flavonóides,

esteroides, terpenoides, açúcares redutores, taninos, saponinos e glicosídeos (JAMKHANDE *et al.*, 2016).

Almeida e compartes (2014) utilizaram extratos etanólico, hexânico e clorofórmico das folhas de *A. vepretorum*, contra *S. aureus* e *E. faecalis*. Foram considerados os valores de CIM de até 500 µg/mL como alta taxa de inibição; de inibição moderada CIM entre 0,6 e 0,0015 mg/mL; e, como fraca inibição, CIM acima de 0,0016 m/mL. Dentre os resultados obtidos, observa-se que o extrato etanólico possui baixa ação antibacteriana apresentando CIM de 3,12 mg/mL contra as duas cepas testadas. O extrato hexânico inibiu moderadamente o crescimento de *S. aureus* com CIM de 0,78 mg /mL e foi fraco contra *E. faecalis* com CIM de 3,12 mg/mL. O extrato clorofórmico não apresentou nenhuma atividade contra *S. aureus* e fraca inibição contra *E. faecalis* com CIM de 12,5 mg/mL (Tabela2). A atividade antimicrobiana apresentada pode estar relacionada a presença dos constituintes químicos nos extratos, principalmente flavonoides, em maior concentração no extrato hexânico, esteroides e terpenoides. Estudos estão sendo realizados para a determinação da estrutura dos constituintes químicos encontrados nessa espécie (ARAUJO *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2015).

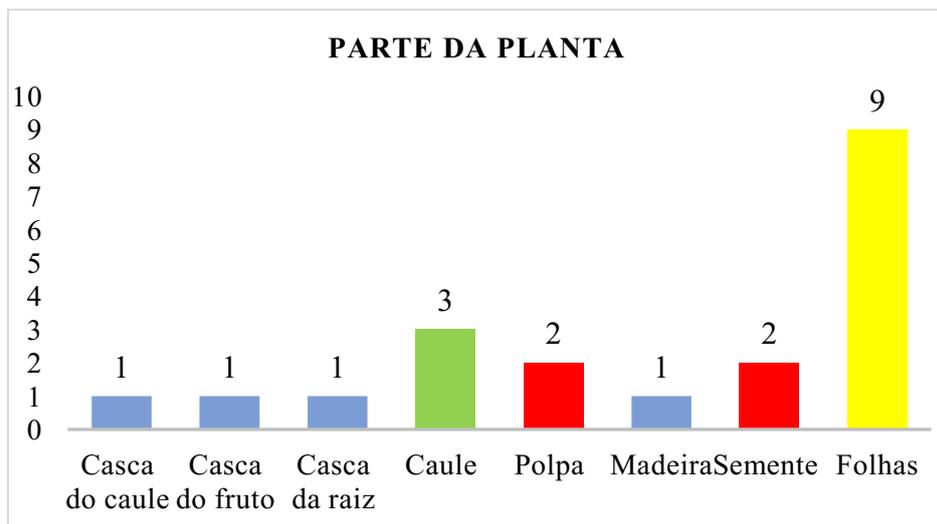
(RINALDI *et al.*, 2017), a partir do caule de *A. hypoglauca* foi feito um extrato bruto e obtidas frações hexânica, diclorometânica, metanólica e com acetato de etila (Tabela1). A atividade antimicrobiana do extrato bruto e das frações foi testada contra as cepas *S. aureus* e *E. faecalis*; porém, nenhum apresentou atividade significativa, uma vez que os autores consideraram que o extrato bruto e frações deveriam ter atividade antibacteriana numa concentração < 100 µg/ml a ser considerado como um potencial agente microbiano de produto natural. No entanto, compostos isolados que foram identificados no extrato bruto da planta, sendo quatro alcaloides aporfínicos (actinodafinina, anonaína, isoboldina e normuciferina), demonstraram atividade moderada contra as cepas de *S. aureus* e *E. faecalis* quando concentrados em uma fração. A fração de alcalóides totais apresentou valores de CIM baixos, de 0,07 mg/mL para *S. aureus* e 0,04 mg/mL para *E. faecalis*. Esses compostos oferecem uma prospecção da boa atividade antibacteriana da actinodafinina. Relatórios anteriores mostraram que a isoboldina não foi considerada como tendo atividade antibacteriana (VILLAR *et al.*, 1987), enquanto a atividade da actinodofina contra *S. aureus* foi confirmada (HOET *et al.*, 2004). Os presentes resultados demonstram que os alcalóides totais isolados de *A. hypoglauca* possuem atividade antibacteriana e possibilitam estabelecer a actinodafinina como potencial agente microbiano.

Almeida-Apolonio e coautores (2019) verificaram a atividade antifúngica de extratos etanólicos produzidos a partir da casca e folhas de *A. coriacea* contra *C. neoformans*, sendo duas cepas isoladas de amostras clínicas e uma cepa padrão ATCC 32045 (Tabela 1). Como controle do ensaio de CIM foi utilizado o fluconazol (0,002 mg/mL). Os dois extratos apresentaram CIM de 1,5 mg/mL contra as todas as cepas (Tabela2). Em ensaio de viabilidade celular, os resultados obtidos a partir do número de células viáveis revelaram que ambos os extratos reduziram o crescimento de *C. neoformans* com CIM de 0,187mg/mL. O extrato etanólico da casca na concentração de 0,187 mg/mL reduziu 10 vezes o crescimento do fungo comparado ao controle 4-nitro-o- fenilenodiamina numa concentração de 0,01

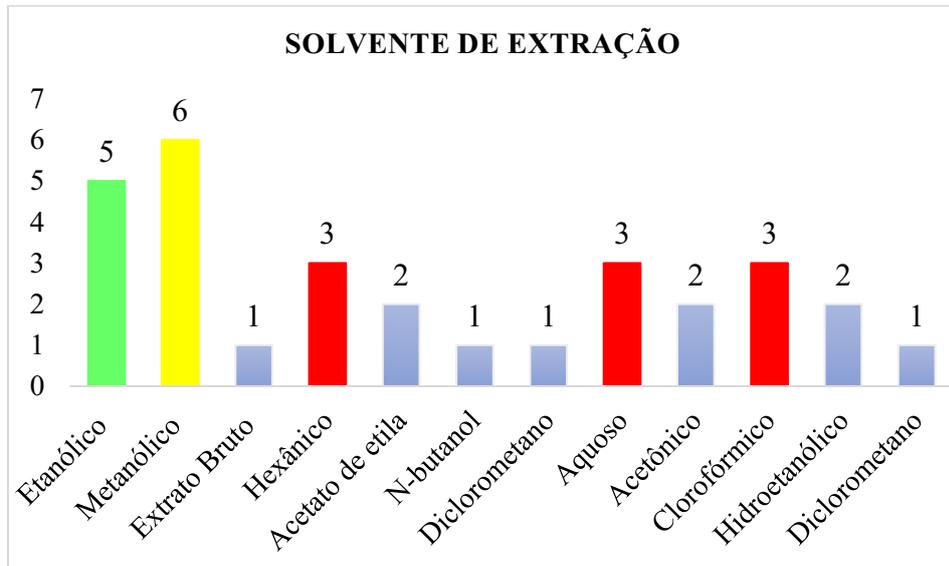
mg/placa. Portanto, não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as concentrações (0,187, 0,375 e 0,75 mg/mL) mais baixas testadas de ambos os extratos. Entretanto, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparadas as concentrações de 1,5 mg/mL dos dois extratos com o controle positivo (0,01 mg/por placa). Assim os autores concluem que os extratos possuem ação fungistática e não fungicida. Quanto ao perfil fitoquímico, foram isolados fenóis, flavonoides e taninos condensados, todos em concentração discretamente maior no extrato da casca em comparação com o extrato de folhas.

As principais partes das plantas utilizadas nos artigos científicos avaliados foram as folhas gráfico 1 que são utilizadas na medicina popular para preparo de chás, xaropes, sucos afins de inibir ou controlar as enfermidades. Os principais compostos encontrados nas folhas são ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides e compostos aromáticos (KIM, 2013; KOBORI *et al.*, 2014).

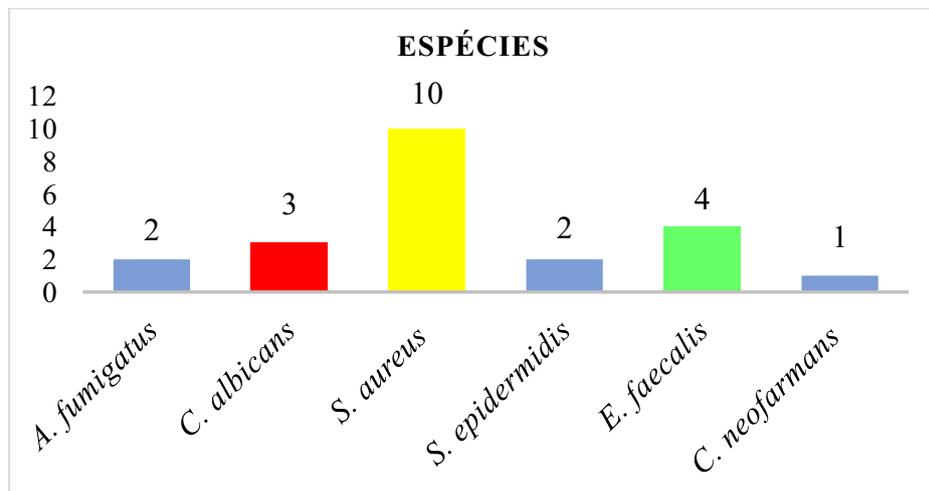
Gráfico 1: Principais órgãos das plantas utilizados.



Já no gráfico 2 observamos os solventes mais comumente empregados nos processos de extração: metanol, etanol, acetona, éter etílico, acetato de etila, propanol, dimetil formaldeído e combinações entre eles. A utilização de solventes diferentes influencia no isolamento de compostos, porém esses compostos comumente utilizados na atividade antimicrobiana (HAMINIUK *et al.*, 2012; NACZK; SHAHIDI, 2006).

Gráfico 2: Solventes utilizados para extração dos compostos.

No gráfico 3 estão apresentadas as espécies bacterianas de interesse do estudo, sendo *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans* foram as espécies mais isoladas. Dando ênfase no *S. aureus* destacamos sendo a cepa mais utilizadas nos estudos por ser uma das bactérias mais perigosas, sendo encontradas na microbiota normal, mas que também podem causar infecções cutâneas levando ao desenvolvimento de pneumonias e outras infecções.

Gráfico 3: Espécies bacterianas.

CONCLUSÃO

A revisão científica dos estudos incluídos fornece um relatório dos dados disponíveis sobre os constituintes fitoquímicos e as atividades biológicas de metabólitos secundários e compostos extraídos das plantas do gênero *Annona*. Os componentes fitoquímicos de *Annona* foram examinados em extratos, no entanto, em alguns estudos não foi possível determinar especificamente quais os constituintes foram responsáveis pela atividade antimicrobiana, uma vez que, em determinados estudos, os compostos não

foram testados isoladamente contra os patógenos. Com isso se tem a necessidade de se obter produtos naturais purificados para que se possa efetuar a completa identificação, realizar ensaios biológicos para obtenção de padrões para indústria farmacêutica. Porém, a obtenção de produtos puros de um extrato vegetal é um processo longo, caro e necessita na maioria das vezes de várias etapas. Dentre os estudos selecionados, apenas dois utilizaram *A. fumigatus* como microrganismo de interesse e apenas um contra *C. neoformans*, sendo necessário estudos referentes aos microrganismos devido à sua resistência microbiana e a necessidade de novas biomoléculas contra esses patógenos.

Na triagem em extratos de folhas, cascas, frutos e sementes desse gênero de planta encontrou terpenóides, esteróides, flavonóides, taninos, acetogeninas e alcaloides. Entre as espécies apresentadas, *A. muricata* apresentou 200 fitoquímicos, sendo os mais importantes as acetogeninas, fenóis e alcaloides (GIULIETTI *et al.*, 2005). Os alcaloides de *Annona* raramente foram usados por suas propriedades terapêuticas. Entretanto, sempre que se estudam os fitoquímicos, especialmente alcaloides verifica-se relatos de que possuem atividades anti-inflamatórias, antiparasitárias, analgésicas, antiprotozoárias e antimicrobianas, o que sugere isolar esses compostos para a aplicação nestes fins pode ser uma estratégia razoável.

Assim, o presente estudo reforça a importância do estudo das anonáceas enquanto fontes de biomoléculas que podem contribuir para o combate de importantes patógenos humanos, além de ressaltar a necessidade da avaliação íntima da ação de cada um desses compostos quanto a sua atividade antimicrobiana, de forma isolada e em diferentes combinações com solventes e entre si, uma vez que foram exibidos resultados que explicitam que frações distintas de um mesmo extrato exibiram diferentes comportamentos durante esse tipo de ensaio.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHMAN, T. *et al.* Antimicrobial activity of terpenoids extracted from annona muricata seeds and its endophytic *Aspergillus Niger* strain SH3 either singly or in combination. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 19, p. 3127–3131, 15 out. 2019.

ABUBACKER, M. N.; DEEPALAKSHMI, T. In vitro antifungal potentials of bioactive compound methyl ester of hexadecanoic acid isolated from *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaves. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 10, n. 2, p. 879–884, 2013.

AL-NEMARI, R. *et al.* GC-MS profiling and assessment of antioxidant, antibacterial, and anticancer properties of extracts of *Annona squamosa* L. leaves. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 1, p. 1–14, 2020.

ALALI, F. Q.; LIU, X. X.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: Recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 3, p. 504–540, 1999.

ALMEIDA-APOLONIO, A. A. DE *et al.* Antifungal activity of *Annona coriacea* Mart. ethanol extracts against the aetiological agents of cryptococcosis. **Natural Product Research**, v. 33, n. 16, p. 2363–2367, 2019.

ALMEIDA, J. R. G. *et al.* Atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana de *annona vepretorum* mart. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. SPEC. EDITION 1, p. 258–264, 2014.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Química Nova na Escola**, 2001.

CAVALCANTE, DE M. A. *et al.* Antimicrobial activity of *Annona crassiflora* Mart. against *Candida albicans*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 13, p. 253–259, 2017.

ANTUNES, R. M. P. *et al.* Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 517–524, dez. 2006.

ARAUJO, CAMILA, DE S. *et al.* Chemical constituents isolated from extracts of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae) leaves. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 28, p. 439–444, 2017.
BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. **Drug discovery from medicinal plants**. Life Sciences. **Anais...Life Sci**, 22 dez. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16198377/>>. Acesso em: 2 dez. 2020

BARATA, L. E. S. *et al.* Plantas Mediciniais Brasileiras. I. **Revista Fitos**, v. 4, p. 120–125, 2009.

BERMEJO, A. *et al.* Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Research**, v. 22, p. 269–303, 2005.

BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos Funcionais: Uma breve revisão Functional Foods: A Brief Review Natalia. **Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB**, v. 6, n. 2, p. 11–78, 2010.

BLAIOTTA, G. *et al.* Diversity of Staphylococcus species strains based on partial kat (catalase) gene sequences and design of a PCR-restriction fragment length polymorphism assay for identification and differentiation of coagulase-positive species (*S. aureus*, *S. delphini*, *S.* . **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 192–201, 2010.

BONGOMIN, F. *et al.* Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 4, 2017.

BUENO, N. R. *et al.* Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 39–44, 2005.

CALDERONE, R. A. Candida and Candidiasis. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, 2002.

CHAGAS, A. C. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2004.

CHANG, F. R. *et al.* Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 7, p. 2015–2018, 1998a.

CHAPAVAL, L. *et al.* Concentração inibitória mínima de solventes utilizados na diluição de extratos vegetais com potencial antimicrobiano sobre staphylococcus aureus Concentração inibitória mínima de solventes utilizados na diluição de extratos vegetais com potencial antimicr. **Embrapa Pecuária Sudeste**, 2018.

CHANG, F. R. *et al.* Bioactive kaurane diterpenoids from *Annona glabra*. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 4, p. 437–439, abr. 1998b.

CHATROU, L. W. *et al.* A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 5–40, 2012.

CHIN, Y.-W. *et al.* Drug discovery from natural sources. **The AAPS Journal**, v. 8, n. 2, p. E239–

E253, jun. 2006.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. Phytotaxa. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p. 201–217, 2016.

CORRÊA, M Pio. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.

COSTA, E. V. *et al.* Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). **Quimica Nova**, v. 32, n. 1, p. 78–81, 2009.

COSTA, E. V. *et al.* Trypanocidal activity of oxoaporphine and pyrimidine- β -carboline alkaloids from the branches of *annona foetida* mart. (annonaceae). **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9714–9720, 2011.

COSTA, E. V. *et al.* Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. **Natural Product Research**, v. 27, n. 11, p. 997–1001, 1 jun. 2013.

DOLAB, J. G. *et al.* The antimicrobial activity of *annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer and most active isolated compounds against clinically important bacteria. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1–14, 2018.

DYKE, K. G. H. Staphylococcus research. **Microbiology**, v. 149, n. 10, p. 2697–2699, 2003.

EUZÉBY, J. P. List of bacterial names with standing in nomenclature: A folder available on the internet. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 47, n. 2, p. 590–592, 1997.

EVANS PATTERSON, J. *et al.* **An Analysis Of 110 Serious Enterococcal Infections** *Medicine*, 1995. Disponível em: https://journals.lww.com/md-journal/Citation/1995/07000/An_Analysis_of_110_Serious_Enterococcal_Infections.3.aspx

FRANZ, C. M. A. P. *et al.* Enterococci in foods - A conundrum for food safety. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, n. 2–3, p. 105–122, 2003.

GIULIETTI, A. M. *et al.* Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 632–639, 2005.

HAGEN, F. *et al.* Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 16–48, 2015.

HIRUMA-LIMA. C.A; DI STASI, L. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed ed. São Paulo: 2003.

HOET, S. *et al.* Alkaloids from *Cassytha filiformis* and related aporphines: Antitrypanosomal activity, cytotoxicity, and interaction with DNA and topoisomerases. **Planta Medica**, v. 70, n. 5, p. 407–413, maio 2004.

HUANG, G. C. *et al.* Wogonin but not Nor-wogonin inhibits lipopolysaccharide and lipoteichoic acid-induced iNOS gene expression and NO production in macrophages. **International Immunopharmacology**, v. 7, n. 8, p. 1054–1063, ago. 2007.

JAMKHANDE, P. G. *et al.* Assessment of *Annona reticulata* Linn. leaves fractions for invitro antioxidative effect and antimicrobial potential against standard human pathogenic strains. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 52, n. 1, p. 19–25, 2016.

JIANG, Z. *et al.* Vertebral osteomyelitis and epidural abscess due to *aspergillus nidulans* resulting in spinal cord compression: Case report and literature review. **Journal of International Medical Research**, v. 41, n. 2, p. 502–510, 2013.

KALIDINDI, N. *et al.* Antifungal and antioxidant activities of organic and aqueous extracts of *Annona squamosa* Linn. leaves. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 4, p. 795–802, 2015.

LAZERA, M. S.; WANKE, B.; NISHIKAWA, M. M. Isolation of both varieties of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic sources in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 31, n. 6, p. 449–454, 1993.

LEON-FERNANDEZ, A. E. *et al.* Antibacterial, antifungal, antioxidant and toxic effect of fractioned extracts from Soursop pulp. **Revista Bio Ciencias**, v. 6, n. 311, p. 1–17, 2019.
LIMA *et al.* **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 2017.

MBAVENG, A. T.; HAMM, R.; KUETE, V. **Harmful and Protective Effects of Terpenoids from African Medicinal Plants**. [s.l.] Elsevier Inc., 2014.

MIRANDA, G. S. *et al.* Atividade antibacteriana in vitro de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 104–111, 2013.

MURRAY, B. E. The life and times of the enterococcus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, n. 1, p. 46–65, 1990.

NUGRAHA, A. S. *et al.* **Anti-infective and anti-cancer properties of the *Annona* species: Their ethnomedicinal uses, alkaloid diversity, and pharmacological activities** *Molecules* MDPI AG, , 3 dez. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31816948/>>. Acesso em: 3 dez. 2020

OLIVEIRA, M. C. *et al.* Germinação de sementes de atemoia (*Annona cherimola* mill. × *A. squamosa* L.) CV “Gefner” submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA3) e ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 27, 2010.

OLUGBUYIRO *et al.* Antimicrobial activities and phytochemical properties of *Annona muricata* leaf. **Covenant Journal of Physical & Life Sciences (CJPL)**, v. 5, n. 2, p. 40–49, 2017.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, 2016.

PETTIT, G. R. *et al.* Antineoplastic agents. 558. *Ampelocissus* sp. cancer cell growth inhibitory constituents. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 1, p. 130–133, 2008.

PINTO, N. C. C. *et al.* Cytotoxicity and bacterial membrane destabilization induced by *Annona squamosa* L. Extracts. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 3, p. 2053–2073, 2017.

R.A. SAMSON *et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Stud Mycol**, v. 78, p. 141–173, 2014.

RABELO, S. V. *et al.* ***Annona* species (Annonaceae) oils**. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier Inc., 2016. p. 221–229.

RABÊLO, S. V. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of extracts from atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 265–271, 2014.

REMPEL, C. *et al.* Efeito antimicrobiano de plantas medicinais: uma revisão de estudos científicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 4, p. 57–82, 2019.

RICHARDSON, M. D.; WARNOCK, D. W. **Fungal Infection: Diagnosis and Management**. 4. ed. Londres, Reino Unido: Wiley-Blackwell, 2012. 476 p.

RINALDI, M. V. N. *et al.* Alkaloids and biological activity of beribá (*Annona hypoglauca*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 77–83, 2017.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: Taxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 567–573, 2000.

SILVA, J. *et al.* *In vitro* SCREENING ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Bidens pilosa* LINNÉ AND *Annona crassiflora* MART. AGAINST OXACILLIN RESISTANT *Staphylococcus aureus* (ORSA) FROM THE AERIAL ENVIRONMENT AT THE DENTAL CLINIC. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 56, n. 4, p. 333–340, 2014.

SOUZA ARAÚJO, C. *et al.* Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from leaves of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, n. 43, p. 615–618, 1 jul. 2015.

TAIZ, Lincoln *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. São Paulo: Artmed Editora Ltda, 2013. 888 p.

Taxonomy browser (Brevibacterium). Disponível em: <file:///G:/Yunier/CIGB 01 09 2014/HeberNem-S/Busquedas/html/Taxonomy browser (Brevibacterium).htm>. Acesso em: 3 nov. 2020.

TRINDADE, M. L. M. DA *et al.* Chemical characterization, antimicrobial and antioxidant activity of sugar-apple (*Annona squamosa* L.) pulp extract. v. 47, n. 2, p. 281–285, 2020.

VIEIRA, A. J. H. Mechanisms of resistance of *Candida albicans* to the antifungals fluconazole, amphotericin B and caspofungin. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 2016.

VILLAR A, M. M. *et al.* **Antimicrobial activity of benzyloquinoline alkaloids - PubMed**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3615557/>>. Acesso em: 2 dez. 2020.

YANG, Y. L. *et al.* New ent-kaurane diterpenoids with anti-platelet aggregation activity from *Annona squamosa*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 10, p. 1462–1467, 2002.

ZAFRA-POLO, M. C. *et al.* Acetogenins from annonaceae, inhibitors of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 253–271, 1996

ANEXOS

Revista: Boletim Latino-americano e do Caribe De Plantas Medicinais e Aromáticas

INSTRUÇÕES PARA O AUTOR

Primeira página

Título do trabalho: (em espanhol e inglês), o título deve ser curto, mas indicar do que trata o artigo.

Autores: Nome e sobrenome de todos os autores (exemplo: Paul A. Reyes), instituição a que pertencem (Departamento, Corpo Docente, Universidade, Cidade, País). Nome e email do autor para correspondência.

Resumo: Em espanhol e resumo em inglês de no máximo 150 palavras e incluir uma descrição mínima como introdução, os métodos utilizados, os resultados relevantes e as conclusões. Não deve incluir referências.

Palavras-chave: 5 no total (não inferior a 5 e não superior a 5).

Texto

Artigos de revisão: somente em inglês, serão estruturados de acordo com a necessidade do autor. O nome latino completo da espécie e da família (por exemplo: *Inula viscosa* (L.) Aiton. Asteraceae) deve ser mencionado *por extenso* pelo menos na seção Materiais. Ao longo da obra, apenas o nome abreviado em latim (*viscosa*) será usado.

Tabelas: Devem ser escritas em processador de texto. Não use linhas diferentes das pretas de 1 ponto. O texto deve ser em Times New Roman 10. Sempre incluir o Título (numerado e citado na obra) e a legenda das abreviaturas, quando for o caso.

Figuras: inclua as referências separadamente (não inclua as legendas na figura). A imagem é aceita em qualquer um dos seguintes formatos (JPEG, JPG; GIF, BMP ou TIFF). No entanto, evite TIFF se for muito grande e GIF se a imagem for de baixa qualidade. Não há restrições quanto ao número e cor das figuras, mas a inclusão de qualquer figura deve ser justificada. Não é possível publicar uma imagem copiada de outra publicação. Só é possível publicar cópias de

imagens livres de direitos autorais, caso contrário, devem ser redesenhadas com um programa adequado. Você pode encontrar versões gratuitas na Internet. Sugerimos: • MarvinSketch (para Windows e outros sistemas) (download gratuito após o registro) <http://www.chemaxon.com/product/msketch.html> EasyChem para MacOS http://sourceforge.net/project/showfiles.php?group_id=90102

REFERÊNCIAS

Citações: As citações no texto devem incluir o sobrenome do autor e o ano, separados por vírgulas e colocados entre parênteses (ex: Reyes, 1995); se houver mais de uma obra do mesmo autor, serão separados por vírgulas (ex: Reyes, 1987, 1995, 2001). Se houver dois autores, eles serão citados separados por "e" ou seu equivalente, respeitando o idioma de origem da fonte. Se houver mais de dois autores, apenas o primeiro será citado, seguido da expressão *et al.*

Já a seção de referências deve incluir todos os autores. Se houver vários trabalhos do mesmo autor e ano, será citado com uma letra sequencial anexada ao ano (exemplo: Mayer *et al.*, 1987a, 1987b). A referência incluirá APENAS as referências citadas no texto, ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, sem número precedente e sem recuo. Sobrenome / s do autor seguido das iniciais do nome, sem pontos ou separação entre eles.

O nome da revista será abreviado de acordo com as normas ISO ou Pubmed Journals Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Journal> abreviação ISO) que oferece a possibilidade de confirmação online o nome e a abreviatura de um grande número de revistas. Por fim, será citado o volume da publicação, seguido do número entre parênteses, dois pontos e o número de páginas de x a y, sem espaços entre eles. Você deve indicar o Doi quando aplicável. As citações de livros devem especificar as páginas consultadas, bem como o ano, cidade e país de publicação. Não serão aceitas citações incompletas e o descumprimento dessas regras fará com que o artigo demore até sua correção.

Modelos de publicações periódicas:

Cai LS, Gong SL, Chen M, Wu CY. 2006. Éter de coroa de vinil como uma nova fibra SPME de sol-gel reticulada radicalmente para determinação de pesticidas organofosforados em amostras de alimentos. *Anal Chim Acta* 559 (1): 89-96.

Livros:

Durand A, Miranda M, Cuellar A. 1986. Manual de prática de laboratório de Farmacognosia. Ed. I Pessoas e Educação, Havana, Cuba, pp. 90, 120-121.

Capítulos de livros editados:

Lopes de Almeida JM. 2000. Farmacêutica formulação de produtos fitoterápicos, pp. 113-124. Em Sharapin N: Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos. Ed. CAB e CYTED, Bogotá, Colômbia.

Tese (aceitável apenas se não houver fonte alternativa):

González D. 2000. Estudo de cianobactérias com efeitos nocivos (deletérios e tóxicos) em ambientes aquáticos do concelho de San Luís. Tese, Universidade Nacional de San Luis, Argentina.

Patentes:

Babu GDK, Ahuja PS, Kaul VK, Singh V. 2005. Aparelho de mini destilação portátil e simples para a produção de óleos essenciais e hidrossóis. Patente US Nº 6.911.119B2. CSIR, 28 de junho.

Recursos eletrônicos:

Todas as páginas da web devem estar atualizadas no momento da publicação.

Na ausência de autor, ou quando não há responsável principal, a instituição responsável é tida como equivalente ao autor e é citada no texto (CNN, 2009). CNN. Os cuidados de saúde de Cuba são administrados apesar das convulsões. <http://www.cnn.com/TRANSCRIPTS/0108/18/yh.00.html> [Consultado em 5 de outubro de 2006].

Boletins ou revistas online com ISSN:

A fonte deve ser citada como qualquer outro periódico. Exemplo:

Muñoz A, Álvarez VC, Nino ME. 2011. Caracterização química das frações voláteis e óleos essenciais de folhas e flores de *Chromolaena barranquillensis* encontrados em Sabanalarga (Atlântico, Colômbia). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 10 (6): 581-589.

Comunicações do Congresso

A partir de 15 de setembro de 2020, eles não são aceitos como referências.

Nota importante sobre a citação de páginas da web

Nos dias de hoje o crescente ABUSO da citação de páginas da Web está sendo verificado para endossar declarações científicas feitas pelos autores, é muito perigoso para a sua credibilidade como autor, e para a credibilidade deste Boletim, citar informações obtidas em páginas da Web que não possuem nenhuma entidade cientificamente reconhecida como responsável pelas referidas informações. Páginas da web "anônimas" não serão aceitas. Qualquer abuso será motivo para rejeição da publicação, mesmo que já tenha sido (erroneamente) aceita pelos revisores. No caso de newsletters online ou revistas com ISSN, a fonte deve ser citada como qualquer outra revista.

ENVIO DE TRABALHOS E PROCEDIMENTO DE EDIÇÃO

Devem ser enviados por email para o endereço editor.blacpma@ms-editions.cl

Os trabalhos serão acompanhados de uma lista contendo o e-mail e endereço de TODOS os autores. O autor principal será responsável por expressar a sua concordância, em nome de todos os autores, em relação à publicação no BLACPMA, bem como qualquer problema que decorra da autoridade e / ou originalidade da obra. Isso será claramente estabelecido em uma nota formal que acompanhará o trabalho apresentado. Uma vez recebido, o trabalho será avaliado por uma dupla de revisores, que podem ser membros de nosso comitê editorial, acadêmicos ou profissionais de renome, que decidirá sobre sua aprovação ou rejeição. Em qualquer caso, o editor tem o poder de decidir se o trabalho está de acordo com a abordagem do Boletim e tem a liberdade de modificar o manuscrito final (ver a próxima seção).