

Avaliação fitoquímica, antimicrobiana e anticarcinogênica do extrato bruto de folhas de *Annona muricata* L. (Graviola)

Phytochemical, Antimicrobial, and Anticarcinogenic Evaluation of The Crude Leaf Extract of Annona Muricata L. (Soursop)

ELEN CRISTINA SOARES SILVA
Discente de Ciências Biológicas (UNIPAM)
elensoares@unipam.edu.br

JEYSON CÉSARY LOPES
Professor orientador (UNIPAM)
jeysoncl@unipam.edu.br

Resumo: A fitoterapia tem ganhado destaque nas últimas décadas, impulsionada pelo interesse em compostos bioativos de origem vegetal. Entre as espécies estudadas, *Annona muricata* L. (graviola) apresenta potencial terapêutico associado à presença de metabólitos secundários. O presente estudo avaliou as propriedades fitoquímicas, antimicrobianas, tóxicas e anticarcinogênicas do extrato bruto hidroalcoólico das folhas dessa espécie. O extrato, obtido por extração em Soxhlet com etanol a 70%, foi analisado em três concentrações. Foram identificados alcaloides, esteroides, triterpenos, taninos e fenóis, compostos de reconhecida relevância farmacológica. Contudo, não foram observados halos de inibição frente a *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Shigella sp.*, indicando ausência de atividade antimicrobiana. Nos ensaios com *Drosophila melanogaster*, o extrato não apresentou toxicidade ou efeito anticarcinogênico significativo. Apesar disso, os resultados reforçam o potencial fitoquímico da graviola e sua relevância como fonte de compostos bioativos para futuras investigações.

Palavras-chave: antibiograma; extrato hidroalcoólico; vegetal; toxicidade.

Abstract: Phytotherapy has gained prominence in recent decades, driven by the growing interest in bioactive plant-derived compounds. Among the investigated species, *Annona muricata* L. (soursop) exhibits therapeutic potential attributed to its secondary metabolites. This study evaluated the phytochemical, antimicrobial, toxic, and anticarcinogenic properties of the crude hydroalcoholic extract of its leaves. The extract, obtained through Soxhlet extraction with 70% ethanol, was tested at three concentrations. Alkaloids, steroids, triterpenes, tannins, and phenolic compounds were identified, all of recognized pharmacological relevance. However, no inhibition zones were observed against *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, or *Shigella sp.*, indicating an absence of detectable antimicrobial activity. In *Drosophila melanogaster* assays, the extract showed no toxicity or significant anticarcinogenic effects. Nevertheless, the results highlight the phytochemical potential of *A. muricata* and its importance as a promising source of bioactive compounds for future pharmacological research.

Keywords: antibiogram; hydroalcoholic extract; plant extract; toxicity.

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia é uma prática utilizada desde os primórdios da medicina, sendo validada por um acervo de informações adquiridas ao longo dos anos, e é caracterizada pelo uso de substâncias ativas oriundas de plantas medicinais. Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 80% da população mundial faz uso de produtos de origem vegetal para o tratamento de doenças, destacando a sua importância. Nesse sentido, países com ampla diversidade de espécies vegetais ganham destaque, como o Brasil, que possui uma das maiores biodiversidades vegetais do mundo (Brasil, 2006).

A investigação da atividade antimicrobiana em plantas medicinais tem ganhado amplo espaço no campo da medicina e da terapêutica, em razão do aumento da resistência aos antimicrobianos sintéticos, associado à adaptação dos patógenos às doenças infecciosas, bem como ao uso indiscriminado e prolongado desses medicamentos (Menezes *et al.*, 2022). Além disso, as neoplasias ainda representam um grande número de casos e óbitos, chegando a cerca de 10 milhões de mortes em 2020. Entre os tipos mais incidentes destacam-se os cânceres de mama, cólon e reto e próstata, sendo que, entre as mulheres, esses correspondem a aproximadamente 47% dos casos registrados (INCA, 2021). Desse modo, o uso de fitoterápicos para prevenção e tratamento alternativo dessas doenças tem sido amplamente discutido por profissionais da saúde (Dutra, 2023).

Nesse cenário, a *Annona muricata* L. (graviola) tem sido frequentemente investigada em diversas pesquisas, devido à presença de substâncias bioativas que vêm despertando o interesse científico. Entre esses metabólitos destacam-se as acetogeninas, compostos derivados de ácidos graxos que apresentam potencial para o desenvolvimento de fármacos com atividades antitumoral, antimicrobiana e antiparasitária. Entre as diversas acetogeninas isoladas, a anonacina é considerada uma das principais, estando presente nas folhas da graviola e apresentando efeitos anticancerígenos descritos na literatura (Campos *et al.*, 2023).

Existem diversos ensaios capazes de avaliar o potencial fitoterápico de espécies vegetais, com o objetivo de garantir a segurança em seu uso. Entre esses métodos destacam-se análises de composição química, testes de atividade antimicrobiana e avaliações de citotoxicidade. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), estabelecida pelo Governo Federal por meio do Ministério da Saúde, enfatiza a importância da realização de estudos nesse campo como estratégia para assegurar à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. Além disso, essa política busca promover o uso sustentável da biodiversidade e fomentar o desenvolvimento da cadeia produtiva da indústria nacional nesse segmento (Souza *et al.*, 2022).

A fitoterapia é uma prática milenar amplamente difundida na cultura humana e, nas últimas décadas, seu uso no tratamento de diversas doenças tem aumentado de forma expressiva. Em muitos casos, essa prática baseia-se em conhecimentos empíricos transmitidos entre gerações, que, quando utilizados de forma adequada, podem oferecer benefícios no tratamento de infecções, distúrbios metabólicos, traumas, entre outras condições (Rangel, 2023). Entretanto, esse crescimento no consumo também tem intensificado a automedicação, frequentemente realizada sem orientações adequadas

quanto à dose, posologia e demais parâmetros que requerem avaliação criteriosa (Neca *et al.*, 2022).

Nesse contexto, para assegurar a eficácia e a segurança dos produtos à base de plantas medicinais, diversos ensaios — como testes de atividade antimicrobiana, citotoxicidade e caracterização fitoquímica — são conduzidos com o objetivo de verificar a viabilidade e o potencial terapêutico dos fitoterápicos, além de subsidiar o desenvolvimento de métodos de produção, uso e controle de qualidade (Soares, 2021). Diante disso, o presente estudo justifica-se pela necessidade de ampliar o conhecimento científico acerca das plantas medicinais, de modo a comprovar sua efetividade e estabelecer orientações seguras de uso, uma vez que a dependência exclusiva do conhecimento empírico pode acarretar riscos à saúde e agravar determinadas condições patológicas.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo identificar as características fitoquímicas do extrato de folhas de *Annona muricata* L. (graviola), avaliar seu potencial antimicrobiano por meio do teste de Kirby-Bauer, bem como investigar seu potencial anticarcinogênico por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em células somáticas de *Drosophila melanogaster*.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 COLETA E PREPARO DO EXTRATO VEGETAL

Para a produção do extrato vegetal, foram coletadas folhas de *Annona muricata* L. presentes no Centro Universitário de Patos de Minas, localizado na rua Major Gote, na cidade de Patos de Minas, no estado de Minas Gerais. Para isso, considerou-se como um fator de exclusão, folhas que apresentassem sinais de envelhecimento, presença de pragas ou indícios de doenças. Os testes fitoquímicos foram realizados no Laboratório de Química Orgânica, localizado no bloco M do Centro Universitário de Patos de Minas.

As folhas de *Annona muricata* L. foram coletadas por volta das 17h, considerando-se que, nesse período, a incidência solar é mais amena, o que pode reduzir possíveis interferências nos testes (Castro, 2020). O preparo do material vegetal para obtenção do extrato foi baseado na metodologia descrita por Andrade (2020). Após a coleta, as folhas foram encaminhadas ao Laboratório de Química Orgânica, onde foram higienizadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,04%. Em seguida, foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar, a temperatura controlada de 40°C, por 24 horas. Posteriormente, o material vegetal seco foi macerado até a obtenção de um pó fino, que foi armazenado em frasco âmbar, protegido da luz e da umidade, em temperatura ambiente.

Para a obtenção do extrato hidroalcoólico, seguiu-se a metodologia descrita por Freitas (2021). A extração foi realizada por meio do sistema Soxhlet, utilizando etanol a 70% como solvente. Foram preparados extratos em três proporções: 5:1 (40 g de material vegetal para 200 mL de solvente), 10:1 (20 g de material vegetal para 200 mL de solvente) e 20:1 (10 g de material vegetal para 200 mL de solvente). Inicialmente, o pó do material vegetal de *Annona muricata* L. foi pesado de acordo com a proporção estabelecida e inserido no tubo extrator, sobre uma camada de algodão, sendo posteriormente coberto

por outra camada de algodão na parte superior. O etanol a 70% foi adicionado ao balão de fundo chato, o qual foi devidamente identificado com a respectiva concentração do extrato. A extração ocorreu de forma contínua, à temperatura de ebulição do etanol, aproximadamente 78 °C, durante um período de 12 horas. Após esse processo, os extratos obtidos foram armazenados em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração para preservação de suas propriedades químicas.

2.2 TESTES FITOQUÍMICOS

Os testes fitoquímicos seguiram a metodologia descrita por Silva *et al.* (2010), com adaptações. Nesse sentido, foram realizados ensaios para detecção de fenóis, taninos, flavonoides, alcaloides, esteroides e triterpenoides. Esses testes foram conduzidos utilizando o extrato na proporção 20:1, uma vez que se tratam de testes colorimétricos que detectam apenas a presença ou ausência dos metabólitos, sendo que extratos em menor concentração favorecem a visualização das alterações de coloração.

O teste para detecção de esteroides e triterpenoides foi realizado por meio da reação de Liebermann-Burchard. Inicialmente, 2 mL do extrato de *Annona muricata* L. foram misturados a 2 mL de clorofórmio. Em seguida, a solução obtida foi filtrada, gota a gota, por meio de um funil contendo algodão e pequenas quantidades de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). Posteriormente, o filtrado foi transferido para um tubo de ensaio, ao qual se adicionou 1 mL de ácido acético, realizando-se leve agitação. Na sequência, foram acrescentadas cuidadosamente três gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, com agitação lenta. A mudança de coloração foi então observada, sendo a coloração verde indicativa da presença de esteroides, enquanto a coloração vermelha indica a presença de triterpenoides.

Para a determinação de flavonoides, foram realizados dois ensaios: a reação de Shinoda e a reação com cloreto de alumínio. A reação de Shinoda foi conduzida com a utilização de ácido clorídrico (HCl) concentrado e magnésio metálico. Para isso, foram adicionados 2 mL do extrato de *Annona muricata* L. em um tubo de ensaio, seguidos de um pequeno fragmento de magnésio em fita e 2 mL de HCl concentrado. O resultado foi observado após o término da efervescência, sendo que o desenvolvimento de coloração variando do vermelho ao roxo indica a presença de flavonoides.

O teste com cloreto de alumínio (AlCl_3) foi realizado utilizando solução de cloreto de alumínio a 5%. Inicialmente, em um papel-filtro disposto sobre um vidro de relógio, foram depositadas duas gotas do extrato vegetal, posicionadas em extremidades distintas do papel. Em seguida, em uma dessas gotas, foi adicionada uma gota da solução de AlCl_3 a 5%. Após a secagem do material, o papel-filtro foi submetido à observação sob luz ultravioleta. A presença de fluorescência na região tratada com cloreto de alumínio, com coloração variando de amarela a esverdeada, indica resultado positivo para flavonoides.

Para a verificação de taninos e fenóis, foram adicionados 2 mL do extrato de *Annona muricata* L. em um tubo de ensaio, aos quais se acrescentaram três gotas de solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl_3). Em seguida, realizou-se agitação vigorosa da mistura, observando-se o desenvolvimento de coloração preta, azul-escura ou verde.

Para a determinação de alcaloides, foram utilizados 2 mL do extrato em um tubo de ensaio, aos quais foram adicionados hidróxido de sódio a 1% (NaOH) e 2 mL de água destilada. Posteriormente, acrescentaram-se 2 mL de clorofórmio à mistura. Após a separação das fases, a porção aquosa foi descartada, e a análise prosseguiu com a fase clorofórmica, à qual foram adicionadas quinze gotas de ácido clorídrico a 1%. Em seguida, realizou-se nova extração com 2 mL de água. A fase clorofórmica foi novamente descartada, e a análise final foi conduzida com a fase aquosa acidificada, à qual foram adicionadas três gotas do reagente de Dragendorff para a verificação da presença de alcaloides.

O reagente de Dragendorff foi preparado conforme o procedimento preconizado pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009). A presença de alcaloides foi determinada pela formação de precipitado na solução.

2.3 AMOSTRAGEM E ANÁLISE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio do método de Kirby-Bauer, seguindo adaptações da metodologia descrita por Cunha *et al.* (2021). Para a realização do teste antimicrobiano, foram utilizadas cepas bacterianas de *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Shigella* sp. Esse material foi obtido e manipulado no laboratório de Microbiologia, localizado no bloco D do Centro Universitário de Patos de Minas.

Para isso, utilizou-se o extrato vegetal da *Annona muricata* L. em concentração de 5:1. Antes de seu uso, esse extrato foi levado à estufa de 40°C até que todo álcool fosse dissipado, restando apenas a parte sólida do extrato. Para diluição dessa porção sólida, foi realizado o cálculo de sua concentração, para isso, o cálculo foi realizado a partir da relação de massa/volume, sendo o volume de 250 mL e a massa de 4,43 g (referente ao extrato já seco), obtendo-se uma concentração de 17,72 g/L. Em sequência, foi diluído em 250 mL de água destilada. Desse modo, para o seguimento das análises microbianas, realizou-se diluições seriadas, sendo testadas três diluições. Assim, a partir da solução estoque (C1), houve a diluição de 5 mL do extrato em 5 mL de água destilada para obtenção da C2. Utilizando 5 mL da C2 em 5 mL de água destilada, foi obtido a C3.

Inicialmente, realizou-se a esterilização de placas de Petri com dimensões de 140 × 15 mm, totalizando 20 unidades, destinadas à realização do teste em triplicata para cada cepa bacteriana e em duplicata para o controle positivo. As placas foram embaladas em TNT e submetidas à esterilização em autoclave a 121 °C por 40 minutos. Posteriormente, foram levadas à estufa a 100 °C até completa secagem.

Em seguida, procedeu-se ao preparo do meio de cultura ágar Mueller-Hinton, de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente, o meio foi vertido nas placas de Petri, adicionando-se aproximadamente 70 mL em cada unidade. As placas foram então incubadas em estufa a 35 °C por 48 horas, com a finalidade de realizar o controle de qualidade do meio.

Após esse período, em capela de fluxo laminar, as cepas bacterianas foram manipuladas, sendo inoculado 1 mL da suspensão bacteriana em cada placa, seguido de espalhamento com auxílio de alça de Drigalski. Paralelamente, discos de papel-filtro

foram embebidos nas diferentes diluições do extrato, a fim de promover adequada absorção da solução.

Posteriormente, foi inserido um disco correspondente a cada diluição em cada placa. Os testes foram realizados em triplicata para cada cepa bacteriana e em duplicata para o controle positivo, utilizando-se o antibiótico Nitrofurantoína na concentração de 300 mg.

Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foram transferidas para a capela de fluxo laminar, onde se realizou a verificação do crescimento bacteriano e a observação dos halos de inibição formados ao redor dos discos. Posteriormente, procedeu-se à mensuração desses halos.

A análise dos resultados baseou-se na verificação da presença ou ausência de halos de inibição no antibiograma, estabelecendo-se uma relação entre as diferentes concentrações do extrato de *Annona muricata* L., a ocorrência de atividade antimicrobiana e a presença de características fitoquímicas capazes de corroborar seus possíveis campos de ação.

2.4 ANÁLISE ANTICARCINOGENICA

O experimento foi conduzido pelos métodos tradicionais de Justice *et al.* (1995) e Graf *et al.* (1984), com adaptações descritas por Nunes *et al.* (2008). Para o teste de toxicidade do extrato, foram utilizadas 70 larvas de *Drosophila melanogaster* por diluição. Adicionalmente, cerca de 200 larvas foram empregadas na avaliação da inibição tumoral, por meio do teste de tumores epiteliais (ETT).

Inicialmente, os frascos de cultivo foram lavados e esterilizados. Em seguida, adicionaram-se 1,5 g de purê de batata em cada frasco, sendo todos os testes realizados em duplicata, incluindo o controle negativo (água) e o controle positivo com Cloridrato de Doxorrubicina (DXR) a 0,4 mM. Após a postura das moscas selecionadas, o meio de purê foi enriquecido com o extrato bruto das folhas de *A. muricata* em três concentrações, associadas a 0,4 mM de DXR: 2,45 mg/mL, 4,7 mg/mL e 9,4 mg/mL. As larvas foram então transferidas para os frascos e mantidas em estufa de DBO por cinco dias. Ao término desse período, as moscas foram removidas do meio e conservadas em álcool 70% para posterior contagem dos tumores, separados por segmento anatômico.

Para a avaliação da toxicidade do extrato, foram contadas 70 larvas para cada concentração realizadas em duplicatas (140 larvas no total, para cada), inseridas em meio de purê enriquecido apenas com o extrato bruto de *A. muricata*. Após cinco dias na estufa de DBO, as moscas foram retiradas e conservadas em álcool 70% para realização da contagem, registrando-se o número de larvas que efetivamente eclodiram.

2.5 ANÁLISE DE DADOS

Os resultados dos ensaios anticarcinogênicos foram submetidos ao diagnóstico estatístico de acordo com o teste de *Mann-Whitney*, sendo consideradas positivas as amostras que apresentaram significância estatística ($p < 0,05$). A toxicidade foi avaliada por meio do cálculo do método binomial de Wilson, utilizando-se um intervalo de

confiança de 95%. Já os testes fitoquímicos foram analisados de acordo com as alterações de coloração ou formação de precipitado, enquanto os ensaios antimicrobianos foram avaliados pela presença ou ausência de halos de inibição.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TESTES FITOQUÍMICOS

Para os testes fitoquímicos utilizou-se o extrato hidroalcoólico na concentração 20:1, sendo detectada a presença de todos os grupos fitoquímicos testados, com exceção do teste de Shinoda, para avaliação de flavonoides, sendo este grupo detectado pelo teste de cloreto de alumínio. Para confirmação dos testes foi realizado controle negativo com água destilada e comparação com a coloração do extrato antes da reação (Tabela 1).

O presente estudo obteve resultados positivos para alcaloides, esteroides e triterpenoides, corroborando com o estudo de Cunha *et al.* (2021), que destaca a relevância desses metabólitos secundários para as espécies vegetais. Nesse contexto, os alcaloides podem apresentar propriedades tóxicas e sabor amargo, atuando como mecanismos de defesa ao afugentar insetos potencialmente nocivos ao vegetal. Adicionalmente, os autores também relataram a presença de esteroides e triterpenoides, compostos que podem apresentar potencial farmacológico, incluindo atividades anti-inflamatória, antibacteriana e analgésica.

Tabela 1: Análise fitoquímica do extrato hidroalcoólico de folhas da *Annona muricata* L.

Grupos fitoquímicos	Método	Resultado
Esteróides	Reação de Lieberman-Burchard	+
Triterpenos	Reação de Lieberman-Burchard	+
Flavonoides (Shinoda)	Reação de Shinoda	-
Flavonoides (AlCl ₃)	Reação de Cloreto de alumínio	+
Taninos	Reação de Cloreto férrico	+
Fenóis	Reação de Cloreto Férrico	+
Alcaloides	Reação de Dragendorff	+

(+) Presença (-) Ausência

Em seu estudo, Justino *et al.* (2018) identificaram a presença de fenóis e flavonoides no extrato hidroalcoólico de folhas de *Annona muricata*, destacando a atuação desses compostos como princípios ativos com potencial na melhora de quadros de Diabetes Mellitus, além de sua reconhecida atividade antioxidante. Estudos mais recentes corroboram esses achados, demonstrando atividades hipoglicemiantes e antitumorais associadas à espécie, atribuídas, em parte, à presença de acetogeninas derivadas de ácidos graxos, com destaque para as anonacinas, que apresentam ação contra células tumorais e agentes carcinogênicos (Nayak; Hegde, 2021; Lima, 2021).

Agu e Okolie (2017) demonstraram a elevada capacidade antioxidante de extratos obtidos a partir do fruto e das folhas de *Annona muricata*, correlacionando essa atividade à presença de metabólitos secundários. De modo convergente, no estudo de

Naik e Sellappan (2019), além da identificação desses mesmos compostos, foi também observada a presença de taninos em extrato metanólico da espécie.

Além disso, de acordo com Cardoso Filho *et al.* (2024), em estudo conduzido com diversas espécies vegetais do Cerrado, a presença de determinados metabólitos secundários está diretamente associada às indicações de uso tradicional. Nesse sentido, a ocorrência de taninos em uma espécie pode corroborar seu emprego como agente adstringente, bem como no tratamento de afecções respiratórias ou reumáticas. Ademais, a presença de flavonoides é indicativa de atividades anti-inflamatória e antioxidante, o que respalda seu uso popular no tratamento de úlceras e inflamações.

O presente estudo evidenciou resultados positivos para alcaloides, esteroides e triterpenoides, corroborando os achados de Cunha *et al.* (2021), que destacam a importância desses metabólitos secundários para as espécies vegetais. Nesse contexto, os alcaloides podem apresentar propriedades tóxicas e sabor amargo, atuando como mecanismos de defesa ao afugentar insetos potencialmente nocivos ao vegetal. Adicionalmente, os autores também identificaram a presença de esteroides e triterpenoides, compostos que podem apresentar potencial farmacológico, incluindo atividades anti-inflamatória, antibacteriana e analgésica.

3.2 TESTE KIRBY-BAUER (ANTIBIOGRAMA)

Os ensaios microbianos foram realizados com o extrato aquoso na proporção de 5:1. Foram realizadas três diluições a partir dessa solução, denominadas C1 (17,72 mg/mL), C2 (8,86 mg/mL) e C3 (4,43 mg/mL), realizando-se em triplicatas. Após 24 horas de incubação não foi observado halo de inibição em nenhum dos microrganismos, em nenhuma das três concentrações testadas. Por outro lado, foi possível observar presença de halo de inibição nos controles positivos, que foram realizados em duplicatas com o antibiótico Nitrofurantoina 300 mg, demonstrando que as cepas utilizadas estavam ativas e não apresentavam resistência à ativos que sejam equivalentes para sua letalidade.

Em seu estudo, Batista *et al.*, (2021) avaliaram a ação antimicrobiana do extrato de fruto e folhas da *Annona muricata* L., sendo seu extrato preparado de acordo com metodologia prevista pela Farmacopeia Brasileira, em 2019. Assim, observaram que, a presença de halos de inibição, eram mais frequentes no extrato do fruto ao se comparar com o extrato das folhas, e quando realizado com cepas de *Escherichia coli* apresentou resultados idênticos aos do presente estudo. Além disso, é destacado que a atividade antimicrobiana da espécie é devido a presença de compostos fitoquímicos, taninos e flavonoides. Os autores também sugerem que a ausência de atividade observada para o extrato das folhas de *Annona muricata* pode estar relacionada a fatores experimentais, tais como a difusão do extrato no meio de cultura, o solvente empregado na extração, a temperatura, a concentração utilizada e as características dos microrganismos testados.

Além disso, Akanji (2023) evidencia a influência do solvente na eficiência do extrato quanto à atividade antimicrobiana. Em seu estudo, observou-se maior ação inibitória do extrato em n-hexano que é um gás incolor, inodoro e insolúvel em H₂O, em folhas de *A. muricata* contra cepas de referência padrão de *Enterococcus*. No entanto, no presente estudo, embora esse gênero bacteriano também tenha sido avaliado, não foram

observados resultados positivos. Tal divergência reforça que o solvente de extração exerce influência direta na atividade antimicrobiana dos extratos vegetais. Corroborando esse aspecto, o referido autor demonstrou que o extrato metanólico apresentou halos de inibição frente a *Escherichia coli*, enquanto o extrato aquoso evidenciou atividade apenas contra cepas de *Staphylococcus aureus*.

Em contrapartida, Cunha *et al.* (2021) observaram, em seu estudo com extrato bruto etanólico da espécie, a presença de pequenos halos de inibição em cepas de *Escherichia coli*, medindo 7mm e 8mm, em concentrações de 50mg/L e 100mg/L, respectivamente. Porém, não houve inibição na concentração de 25mg/L, além da ausência de halos para cepas de *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*. Assim, corrobora-se a hipótese de que, além do solvente de extração, a concentração também influencia na presença e potência da atividade antimicrobiana da espécie.

Apesar disso, Haro *et al.* (2014) descrevem a atividade antimicrobiana da *Annona muricata* L. em seu extrato metanólico, justificada devido à presença de taninos e flavonoides, os quais podem atuar na membrana citoplasmática e na parede celular bacteriana. Além disso, a ação em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas dependem do tipo de flavonoides presentes na espécie, de modo que, sua atividade antimicrobiana está relacionada ao grupo de fenóis que agem como inibidores de enzimas bacterianas devido à sua afinidade proteica. Além do mais, há a ação dos taninos, que atuam formando uma capa protetora que inibe enzimas, causando uma ruptura na membrana plasmática (Rodrigues *et al.*, 2014).

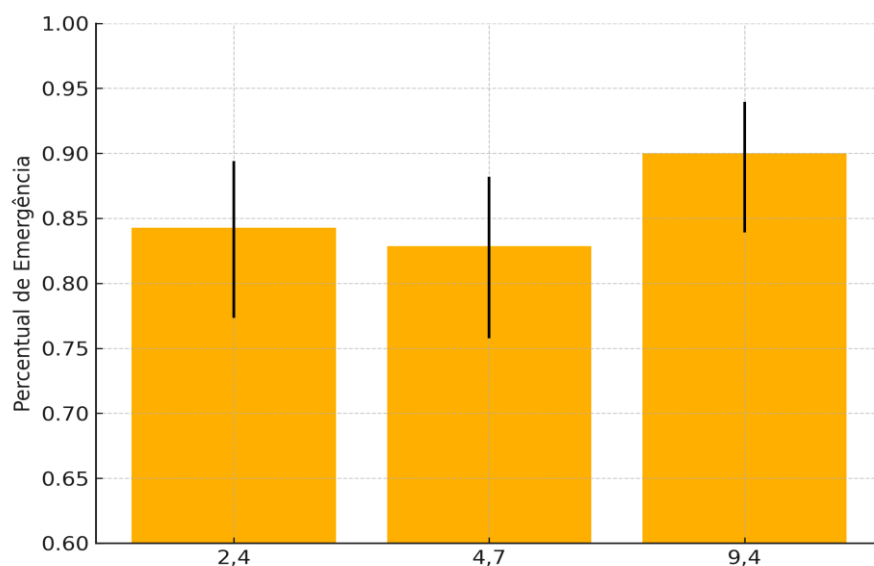
3.3 TESTES ANTICARCINOGENICO

A Figura 1 apresenta os dados obtidos no teste de toxicidade (TX), realizado com o objetivo de determinar as concentrações a serem empregadas no ensaio de detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. O teste consistiu no tratamento de larvas de terceiro instar com 5 mL de três concentrações do extrato (2,4 mg/mL; 4,7 mg/mL; e 9,4 mg/mL).

O ensaio foi conduzido em duplicata, com a utilização de 70 larvas por frasco de tratamento. Após o período de incubação, os adultos emergentes foram quantificados e comparados ao número inicial de larvas, empregando-se o método binomial de Wilson, com intervalo de confiança de 95% (IC95%).

Os resultados demonstraram que todas as concentrações apresentaram emergência superior a 70%, variando entre 82,9% e 90%. Essa taxa elevada de sobrevivência demonstra que o extrato, nas condições experimentais utilizadas, não produziu efeitos tóxicos significativos capazes de comprometer o desenvolvimento larval até a fase adulta estando apropriado para uso em ensaios subsequentes de risco genotóxico. Os intervalos de confiança de 95% reforçam essa interpretação, uma vez que não ultrapassam limites compatíveis com efeitos tóxicos moderados ou severos, sugerindo estabilidade na resposta entre as repetições.

Figura 1: Percentual de emergência de adultos com intervalos de confiança de 95%.



Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Em estudo recente, Cabrita *et al.* (2022) demonstraram que compostos tóxicos aplicados na fase larval de *Drosophila melanogaster* reduzem significativamente as taxas de eclosão e emergência, o que reforça os achados do presente trabalho. Como as concentrações testadas mantiveram a sobrevivência acima de 70%, elas se mostraram biologicamente seguras e adequadas para prosseguir com análises de dano genético.

Adicionalmente, ensaios de genotoxicidade requerem um número elevado de indivíduos para assegurar robustez estatística. Nesse contexto, a elevada taxa de emergência observada confirma a adequação do delineamento experimental, em consonância com recomendações de estudos toxicológicos atuais com *Drosophila melanogaster*, nos quais a sobrevivência até a fase adulta constitui um requisito fundamental para avaliações subsequentes (Holsopple *et al.*, 2023; Rockwell *et al.*, 2019)). Assim, os resultados do TX indicam que as concentrações empregadas não induzem efeitos letais ou subletais relevantes, assegurando uma população experimental estável e confiável para análises de mutações somáticas ou formação tumoral.

Já o teste anticarcinogênico foi realizado com o extrato hidroalcoólico, seco e diluído em água deionizada, realizando nas concentrações de 2,45 mg/mL, 4,7 mg/mL e 9,4 mg/mL, sendo realizadas em duplicatas. Após 5 dias de incubação não foi observado valor significativo, porém houve diferença significativa entre o controle positivo (água) e o controle negativo com DXR 0,4 mM, demonstrando que a linhagem estava respondendo à influência do DXR, na concentração utilizada, apresentando alta frequência de tumores (Tabela 2).

Tabela 2: Frequência de clones de tumores observados em *D. melanogaster*, heterozigota para o gene supressor de tumor *wt*s, tratadas com DXR (0,4mM) e diferentes concentrações de extrato hidroalcoólico de folhas de graviola.

Tratamentos			Análises							Freq. (T/N)
Graviola (mg/mL)	DXR (mM)	Nº de Indivíduos	Olhos	Cabeça	Asas	Corpo	Pernas	Halteres	Total	
-	-	110	1	0	2	3	0	0	6	0,054
-	0,4	105	0	1	104	78	4	0	188	1,79*
2,45	0,4	164	0	0	137	101	27	0	265	1,62
4,7	0,4	174	0	4	230	164	56	1	455	2,61
9,4	0,4	128	0	2	102	68	13	0	185	1,44

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de *Mann-Whitney*. Nível de significância $p \leq 0,05$.

* diferente do controle negativo

A interpretação dos resultados obtidos no teste ETT deve considerar a variação no número de indivíduos entre os tratamentos, especialmente no controle positivo, que teve apenas 105 moscas. Graf *et al.* (1984) destacam que a confiabilidade do ensaio depende de amostras adequadas e equilibradas entre os grupos. Dessa forma, considera-se que o número reduzido de indivíduos no controle positivo pode afetar a estabilidade da razão T/N, ainda que isso não indique necessariamente um aumento artificial dessa frequência.

Nesse sentido, foi observado que, nenhuma das concentrações do extrato apresentou efeito anticarcinogênico ou modulador capaz de reduzir significativamente a frequência de tumores induzida pela DXR. Tal resultado é coerente com o mecanismo de ação da doxorubicina, cuja genotoxicidade decorre principalmente da intercalação no DNA e inibição da topoisomerase II, processos que levam a quebras duplas da molécula; a geração de espécies reativas de oxigênio ocorre, mas não constitui a via predominante (Tacar *et al.*, 2012). Assim, ainda que a graviola contenha compostos antioxidantes, esses mecanismos não seriam suficientes para antagonizar o tipo de dano genético induzido pela DXR.

A ausência de efeito protetor observada no ETT é consistente com resultados complementares que igualmente não indicaram redução na resposta ao agente indutor. Esses achados reforçam que a eficácia moduladora de extratos vegetais depende da compatibilidade entre seus mecanismos bioquímicos e a natureza do dano envolvido (Taira, 2021; Gulcin, 2025). Nesse contexto, os dados indicam que, nas condições avaliadas, o extrato de graviola não interfere de forma significativa na formação de clones tumorais induzidos pela DXR, destacando a importância da compreensão mecanística ao avaliar interações entre compostos naturais e agentes quimioterápicos.

Esses resultados corroboram com as respostas apresentadas no teste antimicrobiano, demonstrando que a atividade biológica e antioxidante de extratos vegetais dependem de fatores como a composição fitoquímica, via de extração, concentrações testadas e suscetibilidade dos agentes testados (Batista *et al.*, 2021).

Além disso, há evidências na literatura de que mesmo extratos com elevada atividade antioxidante ou antimutagênica nem sempre apresentam ação antimicrobiana, o que reforça que mecanismos antioxidantes não garantem atividade sobre a membrana celular ou sobre processos bioquímicos específicos de microrganismos (Okmen,

Turkcan, 2013). Assim, a ausência de efeito tanto no ETT quanto no antibiograma sugere que o extrato testado não apresenta compostos ativos em concentrações ou formas adequadas para exercer modulação genotóxica ou atividade antimicrobiana frente às cepas investigadas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições experimentais delineadas no presente estudo, conclui-se que o extrato bruto hidroalcoólico das folhas de *Annona muricata* L. apresenta composição fitoquímica reconhecida na literatura por potenciais propriedades medicinais, incluindo atividades antioxidantes e antimicrobianas. Entretanto, no presente estudo, não foram observados halos de inibição frente às cepas bacterianas testadas, independentemente da concentração utilizada, indicando ausência de ação antimicrobiana detectável nas condições avaliadas. De forma consistente, o ensaio de anticarcinogenicidade também não evidenciou atividade moduladora ou protetora frente aos danos induzidos pela doxorrubicina, reforçando que os compostos presentes no extrato não foram capazes de interferir nos mecanismos genotóxicos envolvidos.

Esses achados destacam a relevância de aprofundar a investigação para dosagem e indicações, ainda se faz necessária para todo vegetal com potencial fitoterápico, visto que, a presença desses metabolitos secundários também pode agregar características tóxicas e citotóxicas ao vegetal. Por essa razão, é necessário que haja mais estudos dedicados a investigar e orientar dosagens e outras informações, para o consumo adequado da espécie em estudo, visto que, na presente pesquisa, a concentração utilizada não apresentou ação antimicrobiana, mas foi averiguado a presença de compostos que lhe agregam essa ação.

REFERÊNCIAS

AGU, K.; OKOLIE, P. N. Proximate composition, phytochemical analysis, and in vitro antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). **Food Science & Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 1029-1036, 29 jun. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.498>.

AKANJI, O. C. Antibacterial activity of *Annona muricata* leaves' extracts. **International Journal of Frontline Research in Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 24-28, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.56355/ijfrst.2023.2.1.0053>.

ANDRADE, F. H. D. **Caracterização analítica da matéria-prima vegetal e extratos de *Annona muricata* L.** 2020. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/39742>.

BATISTA, A. K. R. *et al.* Potencial antibacteriano (in vitro) do extrato metanólico da *Annona muricata* L. **Research, Society And Development**, v. 10, n. 5, e33510514950, 9 maio 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14950>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria no. 971**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. DOU. Poder Executivo, Brasília, DF. 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html.

CABRITA A., *et al.* Motor dysfunction in *Drosophila melanogaster* as a biomarker for developmental neurotoxicity. **iScience**, v. 25, n. 7, p. 104541, 2022 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.isci.2022.104541>.

CAMPOS, L. M. *et al.* Antifungal *Annona muricata* L. (sour sop) extract targets the cell envelope of multi-drug resistant *Candida albicans*. **Journal of Ethnopharmacology**, volume 301, p. 115856, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2022.115856>.

CARDOSO FILHO, O. *et al.* Caracterização fitoquímica de extrato aquoso de folhas de espécies vegetais do Cerrado e implicações farmacológicas. **Revista Unimontes Científica**, v. 26, n. 2, p. 1-11, 24 set. 2024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.46551/ruc.v26n2a7>.

CASTRO, M. A. **Avaliação do potencial fitoquímico das folhas de *Eucalyptus tereticornis* smith (myrtaceae) do semiárido nordestino ocorrente no Ceará**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/53420>.

CUNHA, H. R. *et al.* Screening fitoquímico, análise citotóxica e antimicrobiana do extrato das folhas de *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae). In: ALMEIDA, S. S. M. da S. de; FARIAS, A. L. F.; CANTUÁRIA, P. de C. (org.). **Plantas medicinais do estado do Amapá: dos relatos da população à pesquisa científica**. [S. l.]: Científica Digital, 2021. Cap. 16. p. 208-2019. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/210303480.pdf>.

DUTRA, Y. G. Benefícios do uso de fitoterápicos e prevenção de câncer: revisão sistemática. **Repositório Institucional do Unifip**, v. 8, n. 1, 2023. Disponível em: <https://editora.unifip.edu.br/index.php/repositoriounifip/article/view/3432>.

FREITAS, V. C. M. **Obtenção de compostos bioativos de Cambuí Roxo (*Eugenia candolleana*) por diferentes métodos de extração**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de São Carlos, Lagoa do Sino, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/20.500.14289/14331>.

GRAF, U. *et al.* Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Environmental Mutagenesis**, Zurich, SWI, v. 6, p. 153-188, 1984. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/em.2860060206>.

GULCIN, İ. Antioxidants: a comprehensive review. **Archives Of Toxicology**, v. 99, n. 5, p. 1893-1997, 2025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2>.

HARO, G. *et al.* Study of the antibacterial activities of soursop (*Annona muricata* L.) leaves. **International Journal of PharmTech Research**, vol. 6, n. 2, 2014. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20143143798>.

HOLSOPPLE, J. M. *et al.* Assessment of Chemical Toxicity in Adult *Drosophila Melanogaster*. **Journal of Visualized Experiments**, n. 193, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3791/65029>.

INCA. Instituto Nacional De Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Mortalidade conforme a localização primária do tumor e sexo**. Ministério da saúde. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>.

JUSTICE, R. W. *et al.* The *Drosophila* tumor suppressor gene *warts* encodes a homolog of human myotonic dystrophy kinase and is required for the control of cell shape and proliferation. **Genes & Development**, v. 9, p. 534-546, 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/gad.9.5.534>.

JUSTINO, A. *et al.* *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with in vitro antidiabetic and inhibitory potential against α -amylase, α -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 100, p. 83-92, abr. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.172>.

LIMA, C. C. **Atividade larvívica de extratos de *Annona Muricata* encapsulados em cubossomos**. 2021. 66 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2021. Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/14971>.

MENEZES, M. C. P. *et al.* Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antifúngica de diferentes extratos preparados a partir das folhas, frutos e caules de *Eugenia florida* DC. In: MENEZES, M. C. P. *et al.* **Fitoquímica: potencialidades biológicas dos biomas brasileiros**. [S. l.]: Editora Científica Digital, 2022. p. 148-157. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/211106654.pdf>.

NAIK, A.; SELLAPPAN, K. Physicochemical and Phytochemical Analysis of Different Plant Parts of *Annona muricata* L. (Annonaceae). **Pharmaceutical Methods**, v. 10, n. 2, p. 70-78, 19 set. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5530/phm.2019.2.13>.

NAYAK, A., HEGDE, K. A comprehensive review on the miracle nature of *Annona muricata* Linn. **RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 1, 2021. Disponível em: <https://journalgrid.com/view/article/rjps/57>.

NECA, C. S. M. *et al.* O uso de fitoterápicos: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, vol. 11, n.15, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i15.37333>.

NUNES, P. X. *et al.* Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de Mimosa paraibana Barneby (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 718-723, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2008000500015>.

OKMEN G, TURKCAN O. A study on antimicrobial, antioxidant and antimutagenic activities of *Elaeagnus Angustifolia* L. Leaves. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 11, n. 1, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v11i1.17>.

SILVA, N. L. A. da *et al.* Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010. Disponível em: <https://www.scienciaplenua.org.br/sp/article/view/22>.

RANGEL, V. R. *et al.* Automedicação com fitoterapia e plantas medicinais hoje: importância do farmacêutico. **Revista Científica Saúde Global**, v. 1, n. 2, 2023. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/37333/31292>.

ROCKWELL, A. L. *et al.* A direct simple method to assess *Drosophila melanogaster* viability from embryo to adult. **Journal of Visualized Experiments (JoVE)**, n. 150, p. 1, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3791/59996>.

RODRIGUES, C. G. *et al.* Antibacterial activity of tannins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). **Journal Of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 35, p. 1095-1100, set. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5897/jmpr2014.5500>.

SOARES, I. L. **Contribuição ao estudo fitoquímico de espécies do Horto de Plantas Medicinais Professor Francisco José de Abreu Matos**. 2021. 80 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/83778>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA – SBF. **SBFgnosia**. Soluções e reagentes. 2009. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/index.html>.

SOUZA, A. V. *et al.* Bioprospecção de plantas da Caatinga com potencial para produção de fitomedicamentos. **Revista Fitos**, v. 16, n. 2, p. 212-226, 4 mar. 2022. Fiocruz – Instituto de Tecnologia em Fármacos. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1283>.

TACAR O., *et al.* Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. **Journal Of Pharmacy and Pharmacology**, v. 65, n. 2, p. 157-170, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x>.

TAIRA, J. Oxidative Stress Modulators and Functional Foods. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 191, 29 jan. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox10020191>.