

## Determinação da atividade antimicrobiana e toxicológica das folhas de *Annona muricata* Linn (graviola)

Jamicelly Rayanna Gomes da Silva<sup>a\*</sup>, Elayne Rayane Diniz Melo<sup>b</sup>, Aurea Juliene Oliveira<sup>c</sup>, Juliana Gonçalves Silva<sup>d</sup>, Iran Alves da Silva<sup>e</sup>, Elder Pedro Nunes de Araujo<sup>f</sup>, Larissa Morgana Bezerra da Silva<sup>g</sup>, Risonildo Pereira Cordeiro<sup>h</sup>

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces -Unita), Avenida Portugal, 584, Universitário, Caruaru, Pernambuco, Brasil.

Correios eletrônicos:

<sup>a\*</sup>jamicelly.rayanna@gmail.com, <sup>b</sup>2017106134@app.asces.edu.br,

<sup>c</sup>aureajulienne@gmail.com, <sup>d</sup>juliana.goncalvess@ufpe.com,

<sup>e</sup>iranalvesdasilva0@gmail.com, <sup>f</sup>elderp156@gmail.com,

<sup>g</sup>larissamorganabzz@gmail.com, <sup>h</sup>risonildocordeiro@asces.edu.br

Recebido: 4 de maio de 2022

Revisado: 7 de fevereiro de 2023

Aceto: 14 de fevereiro de 2023

### RESUMO

**Objetivos:** determinar a atividade toxicológica e antimicrobiana do Extrato Bruto Seco (EBS) das folhas de *Annona muricata* (L.). **Metodologia:** foi realizado o EBS alcóolico das folhas de *Annona muricata* L. o qual foi submetido à avaliação da toxicidade baseada na concentração letal média (CL<sub>50</sub>) e na Fragilidade Osmótica Eritrocitária (FOE). A atividade antimicrobiana foi analisada por meio do teste de Potencial Inibitório (PI). **Resultados:** o EBS das folhas apresentou atividade frente *S. mutans* em todas as concentrações testadas. A CL<sub>50</sub> dessa espécie foi de 265, 66 µg/mL. A FOE na concentração de 1000 µg/mL, foi de 31,28% indicando elevada toxicidade. **Conclusão:** Frente ao exposto verificou-se a atividade microbiológica e toxicológica de *Annona muricata* (L.), qual, indicou atividade inibitória frente *S. mutans*. No tocante ao seu potencial toxicológico verificou-se um perfil que pode ser usado, desde que com cautela. Enfatizando a necessidade de novos estudos acerca da temática que possam avir a incluir a planta na prática clínica das comunidades locais.

*Palavras chaves:* *Annona*, fitoterapia, toxicologia, microbiologia.

## RESUMEN

### Determinación de la actividad antimicrobiana y toxicológica de hojas de *Annona muricata* Linn (guanábana)

**Objetivos:** determinar la actividad toxicológica y antimicrobiana del Extracto Seco Crudo (EBS) de las hojas de *Annona muricata* (L.). **Metodología:** se realizó el EBS alcohólico de hojas de *Annona muricata* L., el cual fue sometido a la evaluación de toxicidad con base en la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) y en la Fragilidad Osmótica de Eritrocitos (FOE). La actividad antimicrobiana se analizó mediante la prueba de Potencial Inhibitorio (PI). **Resultados:** EBS de hojas mostró actividad contra *S. mutans* en todas las concentraciones probadas. La CL<sub>50</sub> de esta especie fue de 265,66 µg/mL. El FOE a una concentración de 1000 µg/mL fue de 31,28%, indicando alta toxicidad. **Conclusión:** en vista de lo anterior, se verificó la actividad microbiológica y toxicológica de *Annona muricata* (L.), lo que indicó actividad inhibitoria contra *S. mutans*. En cuanto a su potencial toxicológico, hubo un perfil que se puede utilizar, siempre que se utilice con precaución. Enfatizando la necesidad de más estudios sobre el tema que puedan incluir la planta en la práctica clínica de las comunidades locales.

*Palabras clave:* Annona, fitoterapia, toxicología, microbiología.

## SUMMARY

### Determination of antimicrobial and toxicological activity of leaves of *Annona muricata* Linn (soursop)

**Objectives:** to determine the toxicological and antimicrobial activity of the Crude Dry Extract (EBS) from the leaves of *Annona muricata* (L.). **Methodology:** the alcoholic EBS of *Annona muricata* L. leaves was performed, which was submitted to the evaluation of toxicity based on the mean lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and on the Erythrocyte Osmotic Fragility (FOE). Antimicrobial activity was analyzed using the Inhibitory Potential (IP) test. **Results:** the EBS of the leaves showed activity against *S. mutans* at all concentrations tested. The LC<sub>50</sub> of this species was 265.66 µg/mL. The FOE at a concentration of 1000 µg/mL was 31.28%, indicating high toxicity. **Conclusion:** in view of the above, the microbiological and toxicological activity of *Annona muricata* (L.) was verified, which indicated inhibitory activity against *S. mutans*. Regarding its toxicological potential, there was a profile that can be used, provided it is used with caution. Emphasizing the need for further studies on the subject that may include the plant in the clinical practice of local communities.

*Keywords:* Annona, phytotherapy, toxicology, microbiology.

## INTRODUÇÃO

O consumo popular de plantas medicinais e seus derivados como prática terapêutica para saúde tem seus primeiros registros desde o início da civilização humana [1]. Para Viana et al., (2019) [2] este uso iniciou-se através de emplastos, chás, garrafadas e outros métodos que eram viáveis no processo terapêutico. Com isto, os conhecimentos populares acerca das propriedades curativas dos vegetais foram sendo mais evidenciados, utilizados ao passar do tempo e em diferentes culturas [3].

Braga et al. (2021) [4] elucidam que na cultura popular o uso de espécies medicinais ocorre de forma retroativa aos hábitos antigos em que é comum a utilização de remédios caseiros à base de plantas. Autores indicam que aproximadamente 80% da população mundial faz uso de algum tipo de planta em busca de alívio para sintomas ou dores, com tal utilização dando-se principalmente por ser de fácil acesso, baixo custo e por serem consideradas inofensivas por grande parte da população [5]. Em vista disso, sabe-se que em certas comunidades, as plantas são a única forma de tratamento de enfermidades [2].

Na procura por novos tratamentos alternativos, foi levantado que *Annona muricata* (L.), popularmente conhecida como graviola, apresenta diversas atividades farmacológicas evidenciadas em estudos *in vivo* e *in vitro* [6]. Nativa das regiões tropicais da América do Sul e do Norte, a infusão das suas folhas é muito empregada para obter efeitos antidiabético, analgésico, anti-inflamatório, antiprotzoário, antioxidante, anticâncer e antitumoral [7]. Além destas ações, autores descrevem preparações, utilizando uma ou mais partes da planta, para tratamento de diferentes doenças, como artrite, hipertensão, sedativo, cistite, dor de cabeça, malária e como antimicrobiano [7].

A Partir de tais pressupostos, ressaltando a necessidade da elaboração de estudos com plantas medicinais, este trabalho teve como finalidade verificar a toxicidade das folhas da espécie *Annona muricata* (L.), (graviola), através de bioensaios toxicológicos utilizando *Artemia salina* Leach e a Fragilidade Osmótica Eritrocitária (FOE), assim como a determinação da atividade antimicrobiana da planta frente às cepas de microrganismos.

## METODOLOGIA

### Tipo de trabalho e amostragem

Esse estudo possui delineamento transversal do tipo laboratorial experimental, realizado nos laboratórios do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita). A seleção das amostras foi por conveniência, considerando-as aptas aquelas que apresentassem aspectos saudáveis, íntegros e excluindo aqueles que apresentassem qualquer

deterioração e/ou ataque de insetos ou fungos. Foram utilizadas 600 g de folhas de *Annona muricata* (L.), identificadas, autenticadas e depositadas no herbário Dárdano de Andrade Lima (Número de tombo 93217). Para os cálculos de seleção amostral, foram acrescidos de 20% objetivando prevenir eventuais perdas oriundas do processo. Esta pesquisa foi realizada de maio a junho de 2019 e a análise dos resultados foi realizada de junho a julho do mesmo ano.

### **Produção dos extratos brutos de *Annona muricata* (L.)**

Para produção dos extratos brutos do espécime, as folhas de *Annona muricata* (L.) foram colhidas pela manhã às 7 h, selecionando amostras com aspectos saudáveis. Em seguida, foram pesadas frescas em balança industrial e lavadas. Posteriormente ocorreu a separação e seleção manual das folhas mais adequadas. As partes vegetais foram secas com papel toalha e colocadas para secar em estufa botânica a 40 °C até apresentarem aspecto quebradiço. Após esse aspecto, foram trituradas em moinho industrial e macegradadas com solução etanólica a 95% (pertencente a empresa Hexis Científica) na proporção de 200 g de material vegetal para 1 L de solução extrativa.

Os balões de fundo chato para maceração foram reservados à sombra, sob temperatura ambiente de 22 °C, envoltos com papel alumínio e tamponados com algodão hidrofóbico por 7 dias. Após esse procedimento, as soluções passaram por um processo de extrusão e filtração com papel filtro, resultando no Extrato Bruto Fluído.

O Extrato Bruto Fluído teve sua solução etanólica extraída em evaporador rotativo a vácuo sob temperatura de 60 °C e 60rpm com banho de gelo. Após a evaporação de grande parte da solução (aproximadamente 90%), o extrato teve sua secagem complementada em estufa de ar circulante com temperatura de 50 °C até apresentar características de uma pasta espessa concentrada, no qual foram armazenados sob refrigeração os então Extratos Brutos Secos (EBS) das folhas de *Annona muricata* (L.)

### **Determinação da atividade antimicrobiana de *Annona muricata* (L.)**

Foram utilizadas cepas selvagens dos seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. O Potencial Inibitório (PI) foi realizado pela técnica de difusão em poços presente no livro de Diagnóstico microbiológico de Koneman e Allen (2008) [8], analisando a formação ou não de halos inibitórios ao redor dos poços preenchidos com os EBS de *Annona muricata* (L.) no meio Ágar Mueller-Hinton (pertencente a marca KASVI, para bactérias) e Ágar Sabouraud (pertencente a marca KASVI, para fungos) contendo os microrganismos semeados e comparando os resultados com a inibição do antibiótico controle, amoxicilina para bactérias (pertencente a Sigma-Aldrich, com 95% de pureza) e fluconazol para fungos

(pertencente a Sigma-Aldrich, com 98% de pureza). Tal técnica de difusão em poços foi escolhida em razão da presença de partículas em suspensão nos extratos a serem testados e esta metodologia apresentar uma menor probabilidade de ocorrer interferência com a difusão da substância antimicrobiana no ágar que no disco de papel de filtro [9].

As placas foram identificadas com o respectivo nome do microrganismo e inseridos quatro poços de 6mm de diâmetro (utilizando ponteiras de 200-1000  $\mu$ L) para inserção de 50  $\mu$ L de extrato diluído em soro fisiológico (concentração de 0,9%, pertencente a marca Needs), com o auxílio de pipeta automática e ponteiras descartáveis em diferentes diluições a partir de 1000 mg/10 mL (solução-matriz), sendo estas: 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL e 6,25 mg/mL. O procedimento foi realizado em duplicata.

As placas foram incubadas em estufa (Microprocessada de Cultura de Bacteriologia Q316M) a 37 °C por um período de 24 horas e, posteriormente, foi verificado com o auxílio de um paquímetro (série 125) o diâmetro em milímetros dos halos que foram formados ao redor dos poços.

#### **Concentração letal média (CL<sub>50</sub>) de *Annona muricata* (L.)**

A determinação da Concentração Letal Média (CL<sub>50</sub>) seguiu a metodologia descrita e validada por Meyer *et al.* (1982) [10] onde ovos de *Artemia salina* Leach foram incubados em solução marinha, submetidos a iluminação artificial (lâmpada de 40W) e temperatura constante de 28 °C por um período de 48 horas. Após este procedimento, obteve-se o estágio de metanúplio dos microcrustáceos, modelo padrão para testes toxicológicos devido a sua maior sensibilidade.

Foram pesados em um cadinho 50 mg de Extrato Bruto Seco de *Annona muricata* (L.) em uma balança analítica e posteriormente adicionado 1 mL de Tween 80% (pertencente a marca Dinâmica) para auxiliar na solubilização de cada extrato. A solução foi adicionada de água salina com pH de 8, completada para 5 mL e homogeneizado. Posteriormente foram retiradas alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25  $\mu$ L com o auxílio de pipetas automáticas e transferidas para tubos de ensaio que já continham 5 mL de água salina e 12 metanúplios, obtendo-se concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50  $\mu$ g/mL para cada amostra.

O teste foi realizado em triplicata e as amostras foram novamente submetidas à iluminação artificial durante 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem do número de microcrustáceos vivos e mortos, realizada uma porcentagem com os valores obtidos e os dados foram tabulados e analisados no programa computacional Microcal origin 8.0, determinando o valor da atividade toxicológica e um gráfico do teste. Os dados foram transformados por *logit* e o valor final foi derivado de regressão linear,

onde o programa nos forneceu os valores de inclinação representado por “b” e interseção em y (a) e então a CL<sub>50</sub> foi calculada a partir da seguinte equação:  $y=a+bx$ .

### **Fragilidade Osmótica Eritrocitária de *Annona muricata* (L.)**

A determinação da fragilidade Osmótica Eritrocitária (FOE) objetiva mensurar a resistência dos glóbulos vermelhos à hemólise, frente a extratos de espécies vegetais, onde a metodologia foi validada por Dacie [11]. Foram utilizados 50 mg do EBS de *Annona muricata* (L.) diluído com soro fisiológico e Tween 80% para auxiliar na solubilização, o EBS das folhas foi homogeneizado e teve seu volume completado para 5 mL.

Dessa solução-matriz foram retiradas alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25 µL com o auxílio de pipetas automáticas e colocadas em tubos de ensaio que já continham 5 mL de soro fisiológico. Após esse procedimento e homogeneização foram adicionados 25 µL de sangue de carneiro e obtidas as concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50 µL/mL, realizando a análise em duplicata.

As amostras foram submetidas à centrifugação de 3300rpm (marca Bioplus, modelo BIO-2000 IL) durante 15 minutos a 22 °C. Após o processo, a absorbância do sobrenadante de cada amostra localizada no tubo de ensaio foi mensurada em espectrofotômetro a 545 nanômetros. A determinação da FOE do EBS se baseou no valor da absorbância média da hemoglobina do sobrenadante (obtida no espectrofotômetro) multiplicada pelo percentual total (100%) e dividido pelo valor da absorbância média da hemólise completa dos eritrócitos (1,32), conforme descrito na metodologia citada.

### **Análise estatística**

Os resultados obtidos foram calculados por técnicas estatísticas descritivas através de distribuições absolutas e percentuais. Os *softwares* utilizados foram o Microcal Origin 8.0 e o Microsoft Office Excel 2016.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Determinação da atividade antimicrobiana de *Annona muricata* (L.)**

Segundo de Brito *et al.* (2020) [12], a introdução de antibióticos na prática clínica representa um grande avanço na terapia e profilaxia de doenças infecciosas. O estudo de Vieira e Freitas (2021) [13] expõe que tal prática promove o desenvolvimento de uma variabilidade de agentes infecciosos através de um mecanismo de defesa desenvolvido por esses microrganismos, explicando a gênese das bactérias super-resistentes. Desta forma, Rios

(2021) [14] enfatiza a importância do incentivo para pesquisa de novas drogas potenciais antimicrobianas, com eficácia superior aos antibióticos existentes no mercado.

Ao analisar a tabela 1 é possível verificar que os extratos etanólicos de *Annona muricata* (L.) não apresentaram atividade antifúngica frente à *Candida albicans*. No entanto, de acordo com Cesar *et al.* (2021) [15], verificou-se que o extrato metanólico das folhas de graviola apresentou ação inibitória de crescimento sobre as cepas ATCC de *C. albicans* (ATCC 76485), *C. parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 6258). Os valores de mensuração dos diâmetros dos halos foram mais significativos nos testes realizados com as espécies de *C. krusei* e *C. albicans* frente aos extratos brutos da folha e do fruto de *A. muricata*, com halos de 30 mm e 22mm respectivamente.

Pai *et al.* (2016) [16], realizou um estudo com o extrato aquoso das folhas de *A. muricata* e obteve resultados promissores contra uma espécie selvagem de *Candida albicans*, exibindo atividade fungicida em todas as concentrações testadas de 10 g em 100 mL com diluições de 1, 5, 10, 15 e 20%. Em concordância com estes dados, Cesar *et al.* (2021) [15] obtiveram resultados promissores com extratos metanólicos das folhas de graviola e elucidaram a atividade antifúngica desta espécie frente a cepas de *Candida albicans* (ATCC 76485), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Candida krusei* (ATCC 6258) e *Candida tropicalis* (ATCC 13803). Nosso estudo não demonstrou atividade antimicrobiana das folhas de *Annona muricata* (L.) contra *C. albicans* possivelmente por utilizar etanol 95% como líquido extrator e os estudos anteriores utilizarem metanol e água, o que indica que substâncias com perfil de polaridade diferentes estavam presentes nos extratos.

Como demonstrado na tabela 1, os extratos das folhas de *Annona muricata* (L.) apresentaram atividade em todas as concentrações testadas frente à cepa selvagem de *Streptococcus mutans*. Os dados obtidos no presente estudo corroboram com a literatura existente, no qual Pai *et al.* (2016) [16] demonstra que os extratos aquosos da graviola apresentaram eficácia moderada contra diferentes bactérias cariogênicas selvagens como *S. mutans* e *S. mitis*, verificando-se que *S. mutans* demonstrou maior sensibilidade.

Haro *et al.* (2014) [17] ao pesquisarem sobre o extrato metanólico de *Annona muricata* (L.) demonstraram a atividade antibacteriana sobre os microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), justificando tal efeito a presença de taninos e flavonoides. Desta forma, tais pesquisadores atribuíram a ação dos taninos presentes no extrato como responsáveis por desfazer a membrana citoplasmática bacteriana através da coagulação de suas proteínas e os flavonoides por romper a permeabilidade da parede celular, caracterizando uma ação sinérgica entre os componentes.

No nosso estudo observou-se que o extrato das folhas de *Annona muricata* (L.) contra *Staphylococcus aureus* selvagem não apresentou inibição em nenhuma das concentrações testadas. Ao analisar a literatura, Batista *et al.* (2021) [18], demonstraram que o extrato metanólico das folhas de graviola apresentou ação frente a cepa de *S. aureus* (ATCC 25923) formando um halo equivalente a 11 mm.

Por fim, os microrganismos da espécie *Streptococcus agalactiae* fazem parte da microbiota humana, estando presentes nos tratos geniturinário e gastrointestinal [19]. De acordo com a tabela 1, o EBS das folhas de *Annona muricata* (L.) não demonstrou atividade antibacteriana frente à espécie selvagem de *S. agalactiae*. Embora não tenha demonstrado grande atividade antibacteriana nesse estudo, de acordo com Batista *et al.* (2021) [18], a graviola apresenta um crescente efeito antibacteriano, tornando-a promissora, podendo ser utilizada como um nutracêutico ou com finalidades terapêuticas na indústria farmacêutica.

#### Dados da determinação da atividade antimicrobiana de *Annona muricata* (L.)

**Tabela 1.** Resultados antimicrobianos do extrato das folhas de *Annona muricata* (L.) e dos controles positivos.

Microrganismos	Concentrações EBS das folhas							
	50 mg/mL		25 mg/mL		12,5 mg/mL		6,25 mL/mL	
	C	EBS	C	EBS	C	EBS	C	EBS
<i>Candida albicans</i>	25	0	20	0	15	0	12	0
<i>Streptococcus mutans</i>	30	22	28	20	25	20	23	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	0	20	0	18	0	13	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	17	0	15	0	12	0	10	0

EBS: Extrato Bruto Seco; C: Controle positivo; Resultados expressos em milímetros (mm).

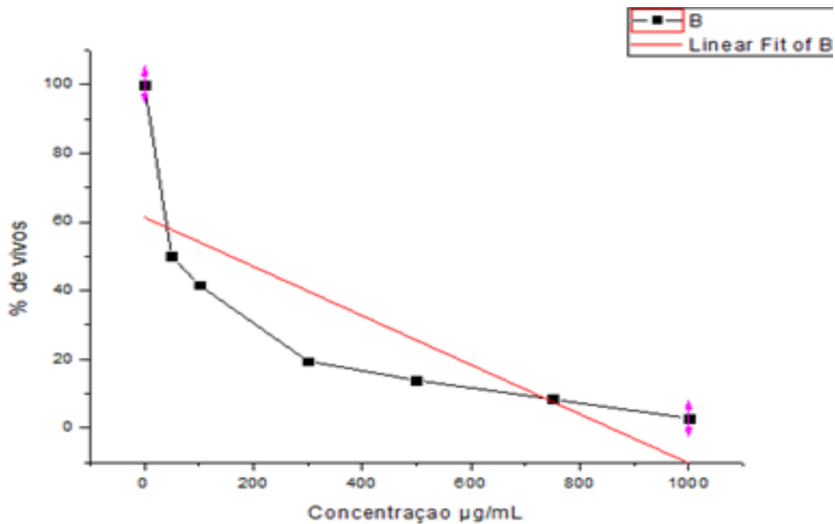
#### Concentração letal média (CL<sub>50</sub>) de *Annona muricata*

O uso de plantas medicinais provém de um conhecimento milenar, entretanto, Can-sian *et al.* (2017) [20], ressaltam que os compostos bioativos são, na maioria dos casos, tóxicos em altas doses, desta maneira, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido. Posto isso, segundo Lima (2019) [21] entre as diversas metodologias para avaliação da toxicidade de substâncias, uma que merece destaque é o bioensaio com *Artemia salina* Leach por apresentar elevada sensibilidade a agentes físicos e químicos.

Ao analisar a Figura 1, as folhas de *Annona muricata* (L.) obtiveram CL<sub>50</sub> de 265, 66 µg/mL e natatória reduzida na concentração de 50 µg/mL. De acordo com o exposto

pela metodologia validada por Meyer *et al.* (1982) [10], este valor de concentração letal média indica que as folhas de graviola possuem potencial altamente tóxico. Tal toxicidade elevada pode ser justificada devido às folhas possuírem alcaloides, saponinas, terpenoides flavonoides, cumarinas, taninos, fenóis e acetogeninas [22]. Em maior evidência as acetogeninas, nas folhas da graviola a mais abundante é a anonacina, que é amplamente estudada devido suas atividades antiproliferativas contra múltiplas linhagens de células tumorais [7].

#### Avaliação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) de *Annona muricata* (L.)



**Figura 1.** Gráfico do percentual de vivos em relação com a concentração do Extrato Bruto Seco das folhas de *Annona muricata* (L.)

#### Fragilidade osmótica eritrocitária de *Annona muricata* (L.)

O teste de Fragilidade Osmótica Eritrocitária (FOE) validado por Dacie [11] vem sendo utilizado até os dias atuais como recurso preliminar para determinação toxicológica. Segundo Camargo *et al.* (2018) [23], os eritrócitos são extensamente utilizados em estudos de determinação de estrutura, composição e comportamento da membrana celular devido à sua estabilidade. Estes pesquisadores citam ainda que ao sofrer hemólise por ação de qualquer fator ambiental, as células vermelhas liberam hemoglobina no meio, as quais podem ser quantificadas por espectrofotometria a 540 nm ( $A_{540nm}$ ).

No teste de fragilidade osmótica utilizando o extrato das folhas de *A. muricata*, obteve-se hemólise de 31,28% na concentração máxima de 1000 µg/mL. Esta parte vegetal pode ser caracterizada como potencialmente tóxica visto que a literatura aponta

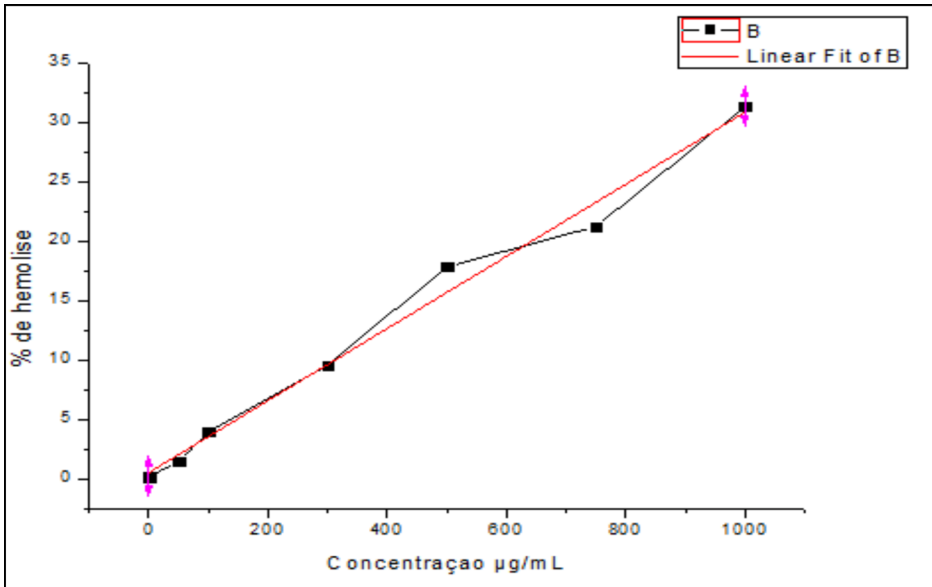
que valores de hemólise a partir de 40% são definidos como tóxicos. Essa toxicidade pode estar relacionada com a presença de alcaloides, uma classe de metabólitos secundários que se caracterizam por apresentar uma ampla gama de atividades biológicas, no entanto, tornam as plantas altamente tóxicas [24]. Rocha (2017) [25] avaliou o potencial toxicológico de *Annona muricata* (L.) e determinou uma elevada atividade citotóxica *in vitro* diante das diferentes linhagens tumorais humanas, com maior efeito na linhagem NCI-H 460, na qual ocorreu redução da proliferação celular destas células após 48 horas de tratamento, enfatizando seu potencial tóxico antineoplásico.

### Dados da determinação da fragilidade osmótica eritrocitária de *Annona muricata* (L.)

**Tabela 2.** Percentual de hemólise em relação com a concentração do Extrato Bruto Seco das folhas de *Annona muricata* (L.)

EBS das folhas de <i>Annona muricata</i> (L.)						
Controle	50 µg/mL	100 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	750 µg/mL	1000 µg/mL
0,002	0,020	0,051	0,127	0,238	0,269	0,376
0,003	0,019	0,054	0,125	0,235	0,292	0,450
Média						
0,002	0,019	0,052	0,126	0,236	0,280	0,41
Percentual de hemólise						
0,15	1,43	3,93	9,54	17,8	21,21	31,28

Em razão das informações apresentadas neste trabalho, conclui-se que a espécie *Annona muricata* (L.) possui diversas aplicabilidades na medicina popular, na qual, suas folhas podem ser utilizadas desde que seu emprego seja efetuado com atenção já que as folhas da espécie apresentaram toxicidade relativamente elevada, devendo serem utilizados com cautela. Neste estudo, as folhas de graviola não apresentaram atividade antimicrobiana à frente das cepas de *Candida albicans*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*, obtendo resultados consideráveis de inibição contra *Streptococcus mutans*. Tal resultado pode ser associado às características do solvente extrativo utilizado, visto que pesquisadores divulgaram resultados promissores para extratos de *Annona muricata* (L.) com outros líquidos extrativos como metanol e água. Em vista desses fatos, destaca-se a potencialidade da graviola na produção de medicamentos, como alternativa terapêutica de baixo custo e efetiva segurança quanto a efeitos tóxicos.



**Figura 2.** Gráfico do percentual de hemólise em relação com a concentração do Extrato Bruto Seco das folhas de *Annona muricata* (L.).

## CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores não relatam nenhum conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

1. M.R. Badke, C.A. Somavilla, E.V. Heisler, A. Andrade, M.L.D. Budó, T.M.B. Garlet, Saber popular: Uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde, *Rev. Enferm. UFSM*, **6**(2), 225-234 (2016).
2. P.O. Viana, A.C.C.A. Ramos, Utilização de plantas medicinais como ferramenta de estímulo para o resgate de cultura e qualidade de vida, *Saber Científico*, **8**(1), 89-102 (2019).
3. N.C.S. Silva, A.M. Vítor, H.H.S. Bessa, R.M.S. Barros, A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em prol da saúde, *Única Cad. Acadêmicos*, **3**(1), Art 2, 1-5 (2017).

4. J.C.B. Braga, L.R. da Silva, Consumo de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: perfil de consumidores e sua relação com a pandemia de COVID-19, *Braz. J. Health Rev.*, **4**(1), 3831-3839 (2021).
5. A.L.B. Zeni, A.V. Parisotto, G. Mattos, E.T.S. Helena, Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil, *Ciencia & Saude Coletiva*, **22**, 2703-2712 (2017).
6. A.K.R. Jardim, C.A. Parente, *Uso da graviola como coadjuvante no tratamento do câncer de próstata*, tese de graduação, Repositório Universitário da Ânima, 2021, pp. 1-45.
7. S. Sun, J. Liu, X. Sun, W. Zhu, F. Yang, L. Felczak, *et al.*, Novel Annonaceous acetogenins from Graviola (*Annona muricata*) fruits with strong anti-proliferative activity, *Tetrahedron Lett.*, **58**(19), 1895-1899 (2017).
8. E.W. Koneman, S. Allen, *Diagnostico Microbiologico*, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 2008, vol. 6, p. 1691.
9. L.M.S. Silveira, R.S.G. Olea, J.S. Mesquita, A.L.N. Cruz, J.C. Mendes, Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: Comparação entre duas técnicas de ágar difusão, *Rev. Bras. Farmácia*, **90**(2), 24-28 (2009).
10. B.N. Meyer, N.R. Ferrigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.E.J. Nichols, J.L. McLaughlin, Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents, *Planta Med.*, **45**(5), 31-34 (1982).
11. J.V. Dacie, *Dacie and Lewis Practical Haematology*, Elsevier Health Sciences, London, 2006, vol. 10, p. 650.
12. C.B.S. Brito, K.G. Correia, J.L. Beerra, J.C. Sousa, S.M. Andrade, M.A. Cunha, *et al.*, O uso de antibióticos e sua relação com as bactérias multirresistentes em hospitais, *Res. Soc. Dev.*, **9**(11), e2129119852 (2020).
13. P.J.L. Vieira, L.T. Freitas, Atuação do farmacêutico na dispensação de antimicrobianos com foco na resistência bacteriana, *Braz. J. Dev. (Curitiba)*, **7**(5), 48234-48244 (2021).
14. A.L.V. Rios, *Acinetobacter baumannii: Por que novos antibióticos são necessários?*, tese de graduação, Universidade Federal de São Carlos, 2021, 49 p.

15. K.K.F.A. Cesar, A.K.R. Batista, L.R. Paula, R.T. da Silva, F.L. da Silva, Ação anti-fúngica de extratos e frações de *Annona muricata* L. sobre *Candida* spp, *Res. Soc. Dev.*, **10**(5), e28010514938 (2021).
16. B.H.M. Pai, G. Rajesh, R. Shenoy, A. Rao, Anti-microbial efficacy of soursop leaf extract (*Annona muricata*) on oral pathogens: An *in-vitro* study, *J. Clin. Diagnostic Res.*, **10**(11), 01-04 (2016).
17. G. Haro, N.P. Utami, E. Sitompul, Study of the antibacterial activities of soursop (*Annona muricata* L.) leaves, *Int. J. PharmTech Res.*, **6**(2), 575-581 (2014).
18. A.K.R. Batista, K.K.F.A. Cesar, L.R. Paula, F.L. da Silva, H.L.O. Raposo, Potencial antibacteriano (*in vitro*) do extrato metanólico da *Annona muricata* L, *Res. Soc. Dev.*, **10**(5), e33510514950 (2021).
19. L.I. Ardolino, M. Meloni, G. Brugali, E. Corsini, C.L. Galli, Preclinical evaluation of tolerability of a selective, bacteriostatic, locally active vaginal formulation, *Curr. Ther. Res.*, **83**, 13-21 (2016).
20. R.L. Cansian, A.B. Vanin, T. Orlando, S.P. Piazza, B.M.S. Puton, R.I. Cardoso, *et al.*, Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*, *Braz. J. Biol.*, **77**(1), 155-161 (2016).
21. L.M.V. Lima, *Avaliação toxicológica das apresentações de ácido acetilsalicílico e paracetamol frente à Artemia salina Leach*, tese de graduação, Universidade Federal de Campina Grande, 2019, 1-44 p.
22. A.K. Qazi, J.A. Siddiqui, R. Jahan, S. Chaudhary, L.A. Walker, Z. Sayed, *et al.*, Emerging therapeutic potential of graviola and its constituents in cancers, *Carcinogenesis*, **39**(4), 522-533 (2018).
23. A.G. Moraes-Camargo, *Avaliação da toxicidade celular em humanos induzida por n-(fosfonometil) glicina e demais componentes da formulação de uso comercial*, trabalho de conclusão de curso, Universidade de São Paulo, 2018, 56 p.
24. D.P.S. Alfaia, Avaliação fitoquímica, análise citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas de *Annona muricata* L.(Annonaceae), *Biota Amaz.*, **6**, 26-30 (2016).
25. G.G.G. Rocha, *Atividade citotóxica das frações, subfrações e annonacinona obtidos de sementes de Annona muricata L*, dissertação de mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2017, pp. 1-91.

## COMO CITAR ESTE ARTIGO

J.R. Gomes da Silva, E.R. Diniz-Melo, A.J. Oliveira, J. Gonçalves-Silva, I. Alves da Silva, E.P. Nunes de Araujo, L.M. Bezerra da Silva, R. Pereira-Cordeiro, Determinação da atividade antimicrobiana e toxicológica das folhas de *Annona muricata* Linn (graviola), *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **52**(1), 407-420 (2023). <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n1.102426>