



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS DO
SEMIÁRIDO**

SUZANA VIEIRA RABÊLO

**REVISÃO DE ALCALOIDES DO GÊNERO *Annona*, ESTUDO
FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA
DE ATEMOIA (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*)**

Petrolina – PE

2014

SUZANA VIEIRA RABÊLO

**REVISÃO DE ALCALOIDES DO GÊNERO *Annona*, ESTUDO
FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA
DE ATEMOIA (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida

Petrolina – PE

2014

R114r Rabêlo, Suzana Vieira
Revisão de alcaloides do gênero *Annona*, estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*) / Suzana Vieira Rabêlo. -- Petrolina, 2014. XVIII; 234 f.: il.; 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina, Petrolina-PE, 2014.

Orientador: Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida.

1. . Atemoia – Estudo fitoquímico. 2. *Annona* - Atividade biológica 3. Annonaceae. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

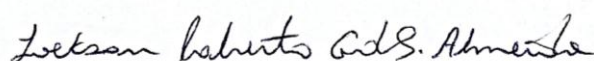
CDD 634.1

SUZANA VIEIRA RABÊLO

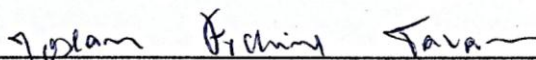
**REVISÃO DE ALCALOIDES DO GÊNERO *Annona*, ESTUDO
FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA
DE ATEMOIA (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais.

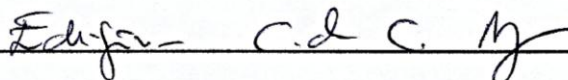
APROVADA EM 07 DE MARÇO DE 2014.



Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida - UNIVASF
(Orientador)



Prof. Dr. Josean Fachine Tavares - UFPB
(1º Examinador)



Prof. Dra. Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo - UNIVASF
(2º Examinador)

*Dedico este título aos meus perfeitos e maravilhosos pais Ronaldo (in
memorian) e Lúcia, às minhas grandes irmãs Cristiane e
Mônica, ao meu querido sobrinho José Felipe e ao meu amor
companheiro de todas as horas Marcos Alexandre. A vitória desta
conquista dedico, carinhosamente, a vocês!*

*“Nós somos feitos da mesma matéria
da qual são feitos os sonhos; nossa curta vida
está envolta pelo sono”.*

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por ter me permitido chegar até aqui;

Ao meu pai Ronaldo (*in memoriam*), agradeço por tudo que o senhor fez em minha vida, por ter estado sempre presente, por ter sempre conversado, ensinado, incentivado, encorajado e me motivado a seguir em frente. O senhor estará sempre presente em meu coração e, tenho certeza que esteja onde estiver, o senhor também está realizando um sonho;

À minha mãe Lúcia por ser esta mãe tão dedicada e atenciosa, por estar sempre ao meu lado me apoiando e me amando desta forma tão intensa, carinhosa e incondicional. Seu amor é um presente todos os dias;

Às minhas irmãs Cristiane e Mônica pelo sacrifício que vocês fizeram em prol dos meus estudos e por sermos uma família;

Ao meu sobrinho José Felipe, pela alegria que me proporciona, pelo amor que me faz sentir e por sempre me impressionar com seu raciocínio e inteligência;

Ao meu companheiro Marcos Alexandre, por estar presente em minha vida fazendo com que os planos para o futuro valham à pena; “*você é único, singular, que só vive uma vez na vida...*”;

À Universidade Federal do Vale do São Francisco por ter permitido a abertura do programa de pós-graduação na área de produtos naturais;

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido pela oportunidade da pesquisa;

Aos órgãos de fomento CNPQ e FACEPE por terem financiado esta pesquisa;

Ao Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida, meu orientador e pessoa que admiro, principalmente pela dedicação com que trata seu trabalho. Agradeço por um dia ter aceitado trabalhar comigo, pela paciência e sinceridade, por ter me ensinado a trabalhar com produtos naturais, por ter me tornado uma “anoneira”, e por ter “feito” oportunidades para que eu pudesse crescer no meio acadêmico;

À Prof^a. Dra. Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo por demonstrar sempre tranquilidade e humor contagiante, por ser sempre tão atenciosa e paciente

comigo, pelos ensinamentos de química orgânica e por ter feito “RMN” parecer melhor que chocolate;

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação Jackson, Edigênia, Xirley, Wagner e Cheila pelos ensinamentos durante as aulas das disciplinas;

Ao Prof. Emmanoel Vilaça Costa (UFS), por toda ajuda e atenção disponibilizadas a mim e aos meus experimentos no período que passei em Aracaju. Este período me acrescentou bastante conhecimento e experiência;

Aos colaboradores nas Análises: Prof. Dr. Raimundo Braz Filho (UENF), e aos técnicos, pela elaboração dos espectros de RMN; Prof. Dra. Cláudia do Ó Pessoa e Marcília P. Costa (LabNOE – UFC), pelas análises de atividade citotóxica do óleo essencial; Prof. Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte e Prof. Dr. Adilson Sartoratto (CPQBA – UNICAMP), pela análise da composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais; Ao aluno de mestrado Leociley Menezes (UFS), pela análise de CG-EM dos óleos essenciais; À Rafael Libório e ao Prof. Dr. Mateus Matiuzzi pelas análises de atividade antibacteriana dos extratos;

Aos meus professores de graduação, em especial a Prof. Dra. Débora Santos Carvalho dos Anjos (IF Sertão-PE) e o Prof. Luiz Frederico Motta (IFMT) por terem sido exemplos incentivadores e por torcerem pelo meu sucesso;

Às minhas madrinhas Fátima e Robéria, avó Severina e tia Graça pelo amor, torcida e por acreditar e apostar em mim e no meu sucesso;

Aos meus primos Hugo César e Antonio Vieira Neto, sua esposa Paula e seu filho Marcos por terem me recebido, me abrigado e me dado toda atenção e carinho em minha passagem por São Paulo;

Aos pais de Alexandre, Sr. Maia e à D. Sônia, por terem me recebido em suas vidas e terem deixado fazer parte delas, pelo incentivo e pela torcida;

Aos meus cunhados Leonardo e Vinicius pelas conversas, vídeo games emprestados e pelas noites de jogatina (RPG, Minecraft, Rummikub, Scotland Yard...), Cláudio pelos favores técnicos e Neurinho pelas iguarias culinárias;

À Phana Neri e família por toda ajuda, torcida e amizade;

À Ricardo Bitencourt e Ralliny Soares, Thiago Luis e Aline Mayara, Ricardo Anderson e Anny Sá; Orlando Matos e Sandra Macedo pelos passeios, conversas e risadas;

À Marcelo Novaes pela ajuda incondicional e amizade;

À Igor Gnomo, sua irmã Isadora e sua mãe Ercila por terem me recebido em sua casa e terem me tratado como sendo parte da família durante minha estadia em Aracaju - SE;

Aos meus amigos Sérgio Costa pela companhia de todas as horas e favores mútuos; Adna Maelly por compartilhar comigo todos os momentos de pressão ou glória, no mestrado e na vida, de forma extremamente significativa; a Roseana Pacheco e Fabiana Pacheco por não deixarem de me visitar mesmo não sendo correspondidas às vezes, ...ou nunca;

Aos colegas de mestrado Larissa, Rafael, Edemir, Martha e Anne, pelos ensinamentos e companheirismo; à Leandra pelas conversas e gargalhadas; e em especial a Eliatania e Igor, pois mais que colegas, agora são amigos por quem tenho muito apreço;

Aos colegas do NEPLAME, Fernanda Granja, Camila, Grasi, Reísa, Amanda Morais, Juliane, Sarah, Alessandra, Thayne, pelas reuniões ricas em conhecimento; a Raimundo Júnior pela ajuda na realização da triagem fitoquímica e risadas, à Amanda Leite e Ana Paula, em alto grau, por terem disponibilizado tanto do seu tempo precioso para me ajudar no laboratório e pelo bom humor que fizeram com que todo trabalho fosse agradável e descontraído;

Aos colegas que tive oportunidade de conhecer na UFS, Eraldo, Leociley, Lívia, Marília, Cibele e mais que especialmente, à “anja”, Maria de Fátima;

Enfim, a todos que me ajudaram de forma direta e, ou, indireta na realização deste trabalho, agradeço!

RESUMO

O presente trabalho descreve os resultados obtidos a partir do estudo químico e biológico dos extratos brutos e óleos essenciais obtidos de diferentes partes do híbrido atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*), pertencente à família Annonaceae e gênero *Annona*. Uma triagem fitoquímica preliminar dos extratos hexânico e metanólico das folhas (EHf e EMf, respectivamente) e etanólico dos talos (EEt) permitiu caracterizar fitoquimicamente a atemoia, pela constatação da presença de metabólitos secundários comuns no gênero como monoterpenos, diterpenos, e flavonoides. A positividade para presença de alcaloides no EMf, direcionou este estudo ao isolamento por meio de CC, CCDA e CCDP, do alcaloide benziltetraidroisoquinolínico, anomuricina, isolado pela primeira vez neste híbrido. Também foi objetivo deste trabalho, a quantificação dos teores de fenóis e flavonoides totais, avaliação das atividades antioxidante pelos métodos de sequestro dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) e co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico, bem como atividade antibacteriana dos extratos EHf, EMf e EEt contra 10 cepas de bactérias. Os resultados da atividade antioxidante dos extratos mostraram que EEt foi o antioxidante mais efetivo nos métodos do sequestro do DPPH ($CE_{50} = 10,44 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$) e do ABTS ($24,81 \pm 0,49\%$), e o EHf apresentou o melhor percentual de atividade antioxidante no ensaio do β -caroteno/ácido linoleico ($41,12 \pm 4,35\%$). EEt e EMf mostraram-se ativos contra cepas de *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA), *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Os óleos essenciais extraídos dos frutos (OE.1), folhas frescas (OE.2) e secas (OE.3) de atemoia, foram caracterizados quimicamente, e todos apresentaram sesquiterpenos como constituintes majoritários. Bicyclogermacreno, germacreno D e (*E*)-cariofileno são alguns dos constituintes presentes em todos os óleos de atemoia. Com OE.1 foram realizados, ainda, ensaios de atividades antimicrobiana e citotóxica, não apresentando resultados significativos. Desta forma, os resultados confirmam que, do ponto de vista fitoquímico, o híbrido atemoia é uma espécie típica da família Annonaceae e uma fonte promissora de substâncias biologicamente ativas.

Palavras-chave: Annonaceae. *Annona*. Atemoia. Alcaloides. Estudo fitoquímico. Atividade biológica.

ABSTRACT

This work describes the results obtained from the chemical and biological study of extracts and essential oils obtained from different parts of the hybrid atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*) belonging to the Annonaceae family and the genus *Annona*. A preliminary phytochemical screening of the hexane and methanol extracts of the leaves (EHf and EMf, respectively) and ethanol from the stalks (EEt) allowed to characterize the preliminary screening of atemoia by the finding of common secondary metabolites in the genus, such as monoterpenes, diterpenes and flavonoids. A positive reaction for the presence of alkaloids in EMf, guided this study to isolation, through CC and TLC, of the benzyltetrahydroisoquinoline alkaloid, anomuricine, isolated for the first time in this hybrid. Also, it was objective of this work the quantification of the contents of total phenolic and flavonoids, evaluation of antioxidant activities (*in vitro*) using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and β -carotene assays, as well *in vitro* antibacterial activity of the extracts EHf, EMf and EEt against 10 strains of bacteria. The results of the antioxidant activity of the extracts showed that EEt was the most active antioxidant in the radical scavenging assays - DPPH ($EC_{50} = 10.44 \pm 1.25$ mg / mL) and ABTS (24.81 \pm 0.49%) - and EHf showed the best percentage of antioxidant activity in β -carotene/linoleic acid assay (41.12 \pm 4.35%). EEt and EMf proved active against strains of *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Essential oils extracted from fruits (OE.1), fresh leaves (OE.2) and dried leaves (OE.3) of atemoia were chemically characterized and all showed sesquiterpenes as major constituents. Bicyclogermacrene, germacrene D and (*E*)-caryophyllene are some of the constituents that appeared in all oils atemoia. With OE.1 were also conducted assays of antimicrobial and cytotoxic activities, and no significant results were obtained. Thus, the results confirm that the hybrid atemoia is a typical species of the Annonaceae family and is a promising source of biologically active substances.

Key-words: Annonaceae. *Annona*. Atemoia. Alkaloids. Phytochemical study. Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Flores de diferentes espécies de Annonaceae: (a) <i>Annona montana</i> , (b) <i>Guatteria pudica</i> , (c) <i>Duguetia confusa</i> , (d) <i>Xylopia aromatica</i> e (e) <i>Asimina triloba</i> .	26
Figura 2 - Ilustração do fruto de <i>Annona squamosa</i> .	26
Figura 3 - Exemplos de metabólitos secundários identificados em <i>Goniothalamus velutinus</i> (Annonaceae).	27
Figura 4 - Frutos de diferentes espécies de <i>Annona</i> : (a) <i>Annona crassiflora</i> , (b) <i>Annona squamosa</i> e (c) <i>Annona muricata</i> .	31
Figura 5 - Exemplos de alcaloides isolados de espécies do gênero <i>Annona</i> .	32
Figura 6 - Exemplos de acetogeninas isoladas de <i>Annona squamosa</i> .	32
Figura 7 - Exemplos de diterpenos <i>ent</i> -kauranos isolados de espécies de <i>Annona</i> .	33
Figura 8 - Exemplos de terpenoides identificados no óleo essencial de <i>Annona salzmannii</i> .	33
Figura 9 - Exemplos de flavonoides isolados de diferentes espécies de <i>Annona</i> .	34
Figura 10 - Exemplos de outros constituintes químicos isolados de espécies de <i>Annona</i> .	37
Figura 11 - Imagens do híbrido atemoia: (a) árvore, (b) frutos, (c) flor e (d) folhas.	38
Figura 12 - Exemplos de acetogeninas isoladas de atemoia.	40
Figura 13 - Exemplos de alcaloides isolados de atemoia.	41
Figura 14 - Esqueletos de alcaloides mais comuns em anonáceas.	47
Figura 15 - Rota biossintética para a formação da estrutura benzilisoquinolínica a partir da <i>L</i> -tirosina. Adaptado de Rinaldi (2007).	49
Figura 16 - Exemplos de alcaloides não-isoquinolínicos isolados de espécies de <i>Annona</i> .	50
Figura 17 - Exemplos de alguns antioxidantes sintéticos.	70
Figura 18 - Exemplos de alguns antioxidantes naturais	72
Figura 19 - Estrutura molecular da penicilina.	73

Figura 20 - Exemplos de alguns antibióticos naturais, obtidos de fungos ou de bactérias do meio ambiente.	74
Figura 21 - Exemplos de metabólitos secundários inibidores do crescimento microbiano.....	76
Figura 22 - Exemplos de metabólitos secundários obtidos do estudo das plantas medicinais.	79
Figura 23 - Exemplos de acetogeninas com atividade citotóxica comprovada.....	80
Figura 24 - Exsicata da atemoia (<i>Annona cherimola</i> x <i>Annona squamosa</i>).	82
Figura 25 - Esquema de etapas da metodologia empregada na análise de atividade antibacteriana.....	89
Figura 26 - (a) Plca de CCDA das frações A a M da coluna da FAT, reveladas com Dragendorff e (b) CCDP da fração G.	93
Figura 27 - Exemplos de triterpenos e esteroides isolados de espécies da família Annonaceae.	100
Figura 28 - Atividade antimicrobiana do extrato etanólico e metanólico de atemoia.	103
Figura 29 - Espectro de RMN de ^{13}C – DEPT Q (125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.....	105
Figura 30 - Expansão da região entre 160 – 75 ppm do espectro de RMN de ^{13}C – DEPT Q (125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	106
Figura 31 - Expansão da região entre 62 – 20 ppm do espectro de RMN de ^{13}C – DEPT Q (125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	106
Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	107
Figura 33 - Expansão da região entre 7,4 - 5,9 ppm do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.....	108
Figura 34 - Expansão da região entre 4,3 – 2,7 ppm do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.....	108
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H x ^{13}C - HSQC (500 MHz x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.....	109

Figura 36 - Expansão da região entre 5,0 - 0 x 77,0 - 0 ppm do espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 MHz x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	110
Figura 37 - Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	112
Figura 38 - Correlações observadas nos experimentos HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e suas respectivas expansões no espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	113
Figura 39 - Expansão da região entre 4,5 – 2,5 ppm do espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (500 x 500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	117
Figura 40 - Expansão da região entre 7,7 - 7,6 ppm do espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (500 x 500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.	118
Figura 41 - Estrutura molecular de Aa.1.	120
Figura 42 - Cromatogramas de CG-EM de OE.1: (a) tempo total, (b) expandido (5-20 min) e (c) expandido (22-36 min).	123
Figura 43 - Cromatograma de CG-EM de OE.2.	125
Figura 44 - Cromatograma de CG-EM de OE.3.	128
Figura 45 - Constituintes químicos identificados em OE.1, OE.2 e OE.3.	129
Figura 46 - Exemplos de terpenoides responsáveis pela citotoxicidade de óleos essenciais de algumas espécies do gênero <i>Annona</i>	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de moléculas isoladas de espécies da família Annonaceae.	29
Tabela 2 - Flavonoides do gênero <i>Annona</i> . Adaptado de Araújo, 2013.	35
Tabela 3 - Constituintes químicos isolados de atemoia.	42
Tabela 4 - Alcaloides isolados de espécies de <i>Annona</i> .	51
Tabela 5 - Sistemas de eluição e reveladores utilizados na triagem fitoquímica em CCD, para as classes específicas de metabólitos secundários.	84
Tabela 6 - Critérios de avaliação da concentração dos metabólitos presentes nos extratos.	85
Tabela 7 - Reunião das frações obtidas do fracionamento da FAT proveniente do EMf.	92
Tabela 8 - Resultado da triagem fitoquímica dos extratos brutos de atemoia.	99
Tabela 9 - Fenóis totais (FT), flavonoides totais (FLT) e atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos de atemoia.	101
Tabela 10 - Bactérias submetidas ao teste de sensibilidade aos extratos de atemoia.	103
Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz de Aa.1.	120
Tabela 12 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Aa.1, e comparação com deslocamentos químicos registrados na literatura (solvente CDCl_3).	121
Tabela 13 - Percentual de terpenoides identificados e percentual de composição química de OE.1, OE.2 e OE.3.	122
Tabela 14 - Composição química de OE.1.	124
Tabela 15 - Composição química de OE.2.	126
Tabela 16 - Composição química de OE.3.	128
Tabela 17 - Atividade antimicrobiana de OE.1.	132
Tabela 18 - Atividade citotóxica e OE.1.	133

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 - Classificação dos antioxidantes. Adaptado de Ratnam et al. (2006).	71
Fluxograma 2 - Fluxograma do tratamento ácido/base do EMf.	90
Fluxograma 3 - Fracionamento cromatográfico da FAT.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% AA	Percentual de atividade antioxidante
ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
CBM	Concentração bacteriostática mínima
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl₃	clorofórmio deuterado
CE₅₀	Concentração eficiente 50%
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
CHCl₃	clorofórmio
COSY	Espectroscopia de correlação homonuclear de hidrogênio (correlated spectroscopy)
<i>d</i>	duplete
<i>dd</i>	duplo duplete
DEPTQ	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer Including the Detection of Quaternary Nuclei
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2- difenyl -1- picrilidrazil
EEt	Extrato etanólico dos talos
EHf	Extrato hexânico das folhas
EMf	Extrato metanólico das folhas
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
HMBC	Correlação heteronuclear de múltiplas ligações (multiple bond correlation)
HSQC	Correlação heteronuclear quântica simples (heteronuclear single quantum correlation)
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento

<i>m</i>	multipleteo
mg EqAG/g	miligrama de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra
mg EqC/g	miligrama de equivalentes de catequina por grama de amostra
MRSA	methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
OE.1	Óleo essencial dos frutos
OE.2	Óleo essencial das folhas frescas
OE.3	Óleo essencial das folhas secas
ppm	partes por milhão
RMN de ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	simpleto
t	tripleteo
UV	Ultravioleta
δ_C	Deslocamento químico de carbono em ppm
δ_H	Deslocamento químico de hidrogênio em ppm

OBS: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. OBJETIVOS	23
2.1. Objetivo Geral	23
2.2. Objetivos Específicos	23
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
3.1. Considerações sobre a família Annonaceae.....	25
3.2. Considerações sobre o gênero <i>Annona</i>	30
3.3. Considerações sobre o híbrido atemoia (<i>Annona cherimola</i> Mill. x <i>Annona squamosa</i> L.)	38
3.4. Considerações sobre alcaloides	47
3.5. Considerações sobre atividade antioxidante <i>in vitro</i>	69
3.6. Considerações sobre atividade antimicrobiana	73
3.7. Considerações sobre atividade citotóxica	77
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	82
4.1. Coleta e identificação do material botânico.....	82
4.2. Processamento do material vegetal para obtenção dos extratos brutos.....	83
4.3. Estudo químico e biológico dos extratos brutos	83
4.3.1. Triagem fitoquímica	83
4.3.2. Determinação do teor de fenóis totais	85
4.3.3. Determinação do teor de flavonoides totais.....	86
4.3.4. Avaliação da atividade antioxidante.....	86
4.3.4.1. Método do sequestro do radical DPPH.....	86
4.3.4.2. Método do sequestro do radical ABTS	87
4.3.4.3. Método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico	87
4.3.5. Avaliação da atividade antibacteriana	88
4.4. Extração das bases (alcaloides) presentes no extrato metanólico ativo – EMf	89

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
5.1. Extratos brutos.....	99
5.1.1. Triagem fitoquímica	99
5.1.2. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante <i>in vitro</i>	101
5.1.3. Atividade antibacteriana.....	102
5.1.4. Identificação e determinação estrutural da substância Aa.1	104
5.2. Óleos essenciais.....	122
5.2.1. Determinação da composição química do óleos essenciais de atemoia	122
5.2.2. Atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos – OE.1	132
5.2.3. Atividade citotóxica do óleo essencial dos frutos – OE.1	132
6. CONCLUSÕES	136
REFERÊNCIAS	139
APÊNDICE	158

1. INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

A natureza, de forma geral, é responsável por produzir a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Entretanto, é o reino vegetal que mais tem contribuído para o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

O uso das plantas como forma de medicamento está diretamente ligado à história do homem. Os resultados obtidos com esta prática induziram os cientistas a buscarem identificar quais as substâncias responsáveis por tais atividades. Nesta busca aconteceram, então, as primeiras descobertas das substâncias bioativas de plantas: os metabólitos secundários.

Nas plantas, os metabólitos secundários possuem a função de proteção e manutenção da vida, como exemplo, a defesa contra herbívoros e microrganismos, a proteção contra raios UV e a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes. Nos seres humanos, estes metabólitos possuem atividades biológicas variadas, como antimalárico, anestésico, analgésico e antitumoral, por exemplo (SIMÕES et al., 2010).

No final do século XIX, o isolamento de metabólitos secundários como a quinina, obtida a partir da *Cinchona officinallis* e a papaverina, obtida de *Papaver somniferum*, contribuíram de forma significativa para a criação da indústria farmacêutica. Para que estas substâncias fossem comercializadas em grande escala foram desenvolvidos equipamentos de grande porte até que em 1848, a Merck, com a comercialização da papaverina, instalou a primeira fábrica, na Alemanha (COSTA, 2009).

Atualmente, a indústria farmacêutica é motivada, em parte, pela descoberta de fármacos de origem vegetal importantes no tratamento do câncer como os alcaloides vincristina (Oncovin®) e vimblastina (Velban®), isolados da espécie *Catharanthus roseus* (família Apocynaceae), originária de Madagascar, a qual foi muito usada por várias culturas para o tratamento de diabetes (GUERITTE; FAHY, 2005). Outro importante alcaloide usado clinicamente na quimioterapia do câncer é a camptotecina, isolada da espécie *Camptotheca acuminata* (família Nyssaceae), uma árvore ornamental chinesa (RAHIER et al., 2005).

Embora os estudos com espécies da família Annonaceae tenha se iniciado há muito tempo, os estudos sobre química e, em menor quantidade, sobre atividade farmacológica começaram a tomar destaque somente na última década, principalmente no que diz respeito ao isolamento de alcaloides (LÚCIO et al., 2014).

Recentemente, os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica das anonáceas estão sendo intensificados devido à presença das acetogeninas, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010), tais como citotóxica, imunossupressora, pesticida, antiparasitária e antimicrobiana (LIMA et al., 2010).

Algumas atividades biológicas de anonáceas são atribuídas, também, aos compostos presentes nos óleos essenciais, cuja composição é predominantemente de monoterpenos e sesquiterpenos (SILVA et al., 2009; TOSCAN, 2010).

No que se diz respeito às atividades biológicas dos metabólitos secundários, os compostos fenólicos tem sido responsabilizados por algumas atividades, tais como antioxidante, antibacteriana, antiviral, expectorante, colerética e analgésica (SIMÕES et al., 2010).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão dos alcaloides do gênero *Annona*, importante gênero da família Annonaceae, bem como realizar estudo fitoquímico e avaliar a atividade biológica de extratos e óleos essenciais obtidos a partir de diferentes partes do híbrido atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*).

2. OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Fazer uma revisão dos alcaloides do gênero *Annona*, bem como realizar estudo fitoquímico e avaliar a atividade biológica de extratos e óleos essenciais de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*).

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar, fitoquimicamente, o híbrido atemoia;
- Isolar e identificar a estrutura de seus constituintes químicos por meio de técnicas cromatográficas e de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C , utilizando métodos unidimensionais e bidimensionais como HSQC, HMBC e COSY;
- Quantificar os teores de fenóis e flavonoides totais de seus extratos;
- Caracterizar os componentes químicos dos óleos essenciais de atemoia por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM);
- Avaliar os potenciais antioxidante, antimicrobiano e citotóxico de extratos e óleos essenciais de atemoia;
- Fazer uma revisão dos alcaloides do gênero *Annona*;
- Contribuir para o estudo químico e biológico de espécies da família Annonaceae.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA



3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

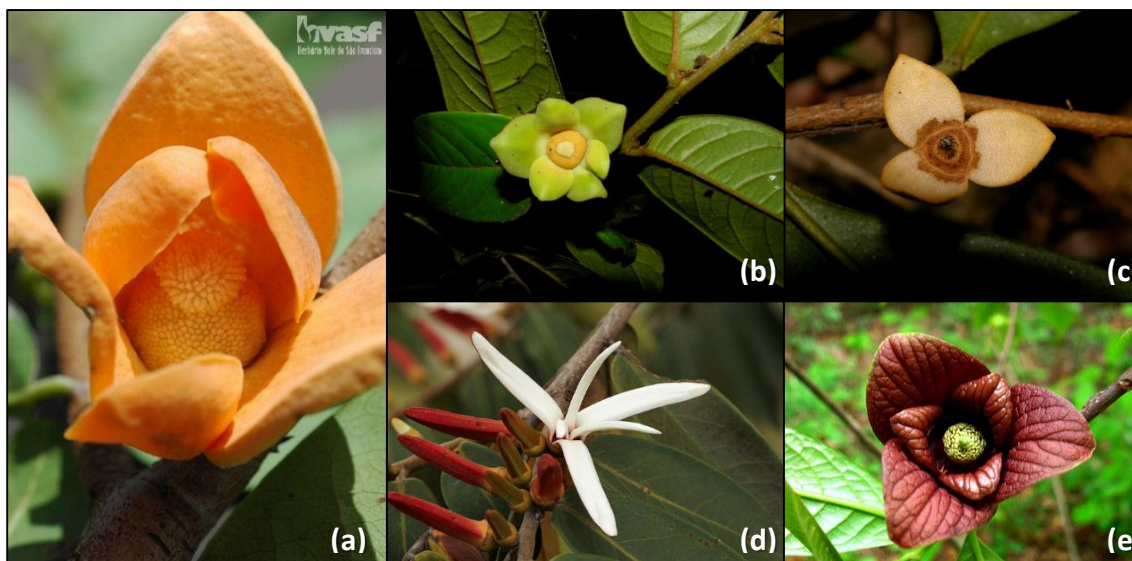
3.1. Considerações sobre a família Annonaceae

A família Annonaceae compreende um grande número de gêneros e espécies, cuja maioria é nativa das regiões tropicais, com cerca de 2.500 espécies distribuídas em aproximadamente 135 gêneros (ALMEIDA et al., 2012; CHATROU et al., 2004). São plantas predominantemente de clima tropical (PINHEIRO et al., 2009), apresentando espécimes de diversos portes e variada distribuição topográfica (MAAS et al., 2012).

No Brasil, dentre as mais de 32 mil espécies de angiospermas catalogadas, aproximadamente 386 são anonáceas, que se encontram amplamente distribuídas pelo território nacional (NAZARO, 2013), sendo que a maioria, cerca de 259 espécies, ocorrem no domínio da Amazônia e 158 são endêmicas (LOBÃO et al., 2012).

A família Annonaceae foi catalogada em 1789 por Jussieu (HUTCHINSON, 1974). Esta família é composta por árvores, arbustos, subarbustos e lianas, com casca fibrosa e madeira com amplos raios (GALASTRI, 2008). Suas folhas são simples, alternas e dísticas, com pecíolo reduzido e sem estípulas (JUDD et al., 1999; SOUZA; LORENZI, 2005). As flores variam grandemente em tamanho e podem ser esbranquiçadas, creme-amareladas, esverdeadas, alaranjadas e até vinho (RIBEIRO et al., 1999) – (Figura 1).

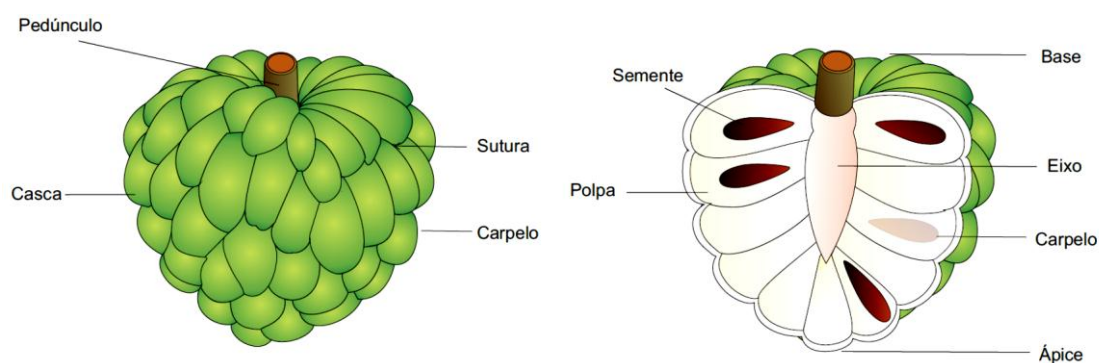
Figura 1 - Flores de diferentes espécies de Annonaceae: (a) *Annona montana*, (b) *Guatteria pudica*, (c) *Duguetia confusa*, (d) *Xylopia aromatica* e (e) *Asimina triloba*.



Fonte: (a) HVASF, 2010; (b) AGUILAR, 2008; (c) AGUILAR, 2005; (d) MERCADANTE, 2011 e (e) TANNENBERGER, 2010.

O fruto, geralmente comestível, é um sincarpo formado pela fusão de numerosos carpelos sobre um receptáculo carnoso (Figura 2). Os carpelos são bem individualizados, especialmente na parte superior do fruto. A polpa é branca, doce, saborosa e ligeiramente ácida (MANICA, 1997; FERREIRA et al., 2002).

Figura 2 - Ilustração do fruto de *Annona squamosa*.



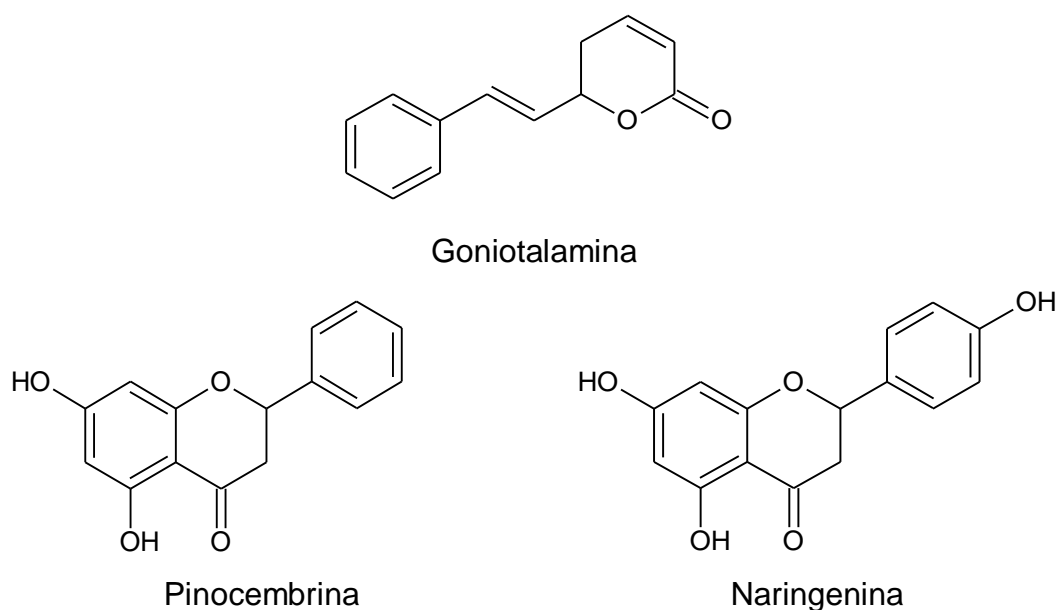
Fonte: CEAGESP (2013).

Algumas espécies de Annonaceae são utilizadas em ornamentações, como é o caso da *Xylopia aromatica* (SILVA-JÚNIOR et al., 2005). Outras são usadas na indústria de perfumaria, como as flores de *Cananga odorata* (JUDD et al., 1999), na construção civil ou, ainda, no paisagismo e arborização urbana, como é o caso da *Xylopia brasiliensis* (JUSTO, 2003; LORENZI, 1992).

Muitas espécies apresentam interesse como frutíferas comerciais, em função de possuírem frutos comestíveis e saborosos, dos quais destacam-se as espécies dos gêneros *Annona*, *Rollinia*, *Duguetia*, *Uvaria* e *Asimina* (NOGUEIRA et al., 2005).

Além de sua grande importância econômica, muitas espécies da família Annonaceae possuem indicação popular e têm sido estudadas quanto às suas atividades farmacológicas e composição química. Como exemplo, a espécie *Goniothalamus velutinus*, cuja decocção das raízes é usada para dores de cabeça e casos de envenenamento, e as suas folhas são usadas como repelente de mosquitos. Esta espécie teve comprovada, suas atividades antibacteriana e antitumoral *in vitro* (OMAR et al., 1992). Em estudo recente, Ahmad e colaboradores (2010) identificaram três metabólitos secundários importantes: uma esteril-lactona, a goniotalamina, e dois flavonoides, pinocembrina e naringenina (Figura 3).

Figura 3 - Exemplos de metabólitos secundários identificados em *Goniothalamus velutinus* (Annonaceae).



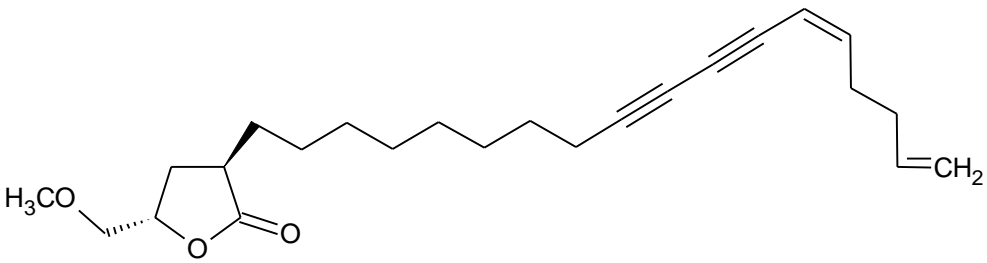
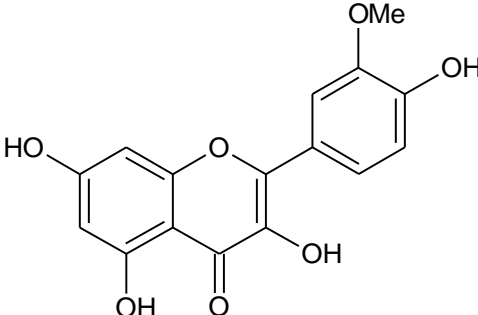
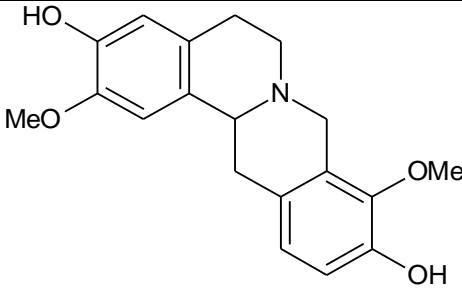
Outros exemplos de uso popular de espécies da família Annonaceae são: folhas e cascas de *Anaxagorea dolichocarpa* que são usadas na forma de chá para aliviar dores de cabeça (MAAS et al., 1984); folhas de *Annona squamosa*, popularmente chamada de anona, araticum, fruta-do-conde, pinha, ata ou língua-de-tucano, que são usadas no tratamento de furúnculos, úlceras e aftas (FENNER et al., 2006; SOUZA et al., 2012); o chá das folhas de *Duguetia furfuracea*, conhecida

como marolinho, araticum-do-campo ou ata brava, que é indicado para combater dismenorreia e, recentemente, teve atividade antioxidante comprovada (FARIAS et al., 2013).

Do ponto de vista fitoquímico, a família Annonaceae se destaca pelos variados tipos de metabólidos secundários. Dados quimiotaxonômicos caracterizam esta família pela presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides, principalmente diterpenos (SILVA et al., 2009). Recentemente, os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica das anonáceas estão sendo intensificados devido à presença das acetogeninas, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010), tais como citotóxica, imunossupressora, pesticida, antiparasitária e antimicrobiana (LIMA et al., 2010).

Cananginona A, isoramnetina, discretamina e ácido 8(17),12*E*,14-labdatrieno-18-oico, são exemplos de moléculas pertencentes a estas classes de metabólitos secundários e que já foram isoladas de espécies de diferentes gêneros da família Annonaceae (WONGSA et al., 2011; CAROLLO et al., 2006; ALMEIDA et al., 2011a; RIBEIRO et al., 2007) (Tabela 1).

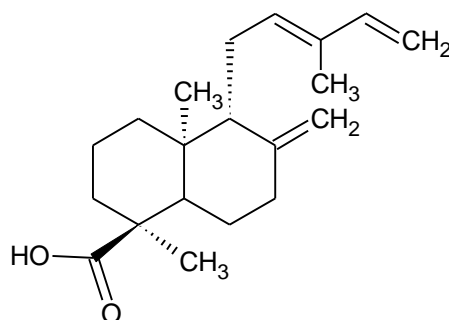
Tabela 1 - Exemplos de moléculas isoladas de espécies da família Annonaceae.

Espécie	Estrutura química/ Classe Metabólica
Acetogenina	
<i>Cananga latifolia</i> (WONGSA et al., 2011)	
Cananginona A	
Flavonoide	
<i>Duguetia furfuracea</i> (CAROLLO et al., 2006)	
Isoramnetina	
Alcaloide	
<i>Duguetia moricandiana</i> (ALMEIDA et al., 2011a).	
Discretamina	

Continua...

Diterpeno

Xylopi
langsdorffiana
(RIBEIRO et al.,
2007)



Ácido 8(17),12E,14-labdatrieno-18-oico

3.2. Considerações sobre o gênero *Annona*

O gênero *Annona* L. pertence à família Annonaceae e compreende cerca de 162 espécies de árvores e arbustos (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).

Derivado da palavra em Latim “colheita anual”, o gênero *Annona* é a fonte mais importante de frutos comestíveis da família Annonaceae tendo, conseqüentemente, grande destaque econômico (PINO, 2010). Normalmente suas frutas são consumidas “in natura” ou utilizadas em sucos, sobremesas e preparações de sorvetes (LORENZI; MATOS, 2002).

No Brasil, algumas espécies desse gênero são bastante apreciadas, como *Annona crassiflora* (“araticum”) (Figura 4a), *Annona squamosa* (“fruta do conde”) (Figura 4b) e *Annona muricata* (“graviola”) (Figura 4c) (DUTRA et al., 2012). A pinha, também chamada de ata ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), e a atemoia (*A. cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) destacam-se como produtoras de frutos para consumo “in natura” dentre as anonáceas. Já a graviola (*A. muricata*) é a Annonaceae com o maior potencial de industrialização, utilizada na produção de polpa para diversas finalidades, sendo plantada em escala comercial, principalmente nos estados da região Nordeste (SCALOPPI-JUNIOR; MARTINS, 2003; DUTRA et al., 2012).

Figura 4 - Frutos de diferentes espécies de *Annona*: (a) *Annona crassiflora*, (b) *Annona squamosa* e (c) *Annona muricata*.



Fonte: (a) MERCADANTE, 2009; (b) BRADLEY, 2011 e (c) AGUILAR, 2005.

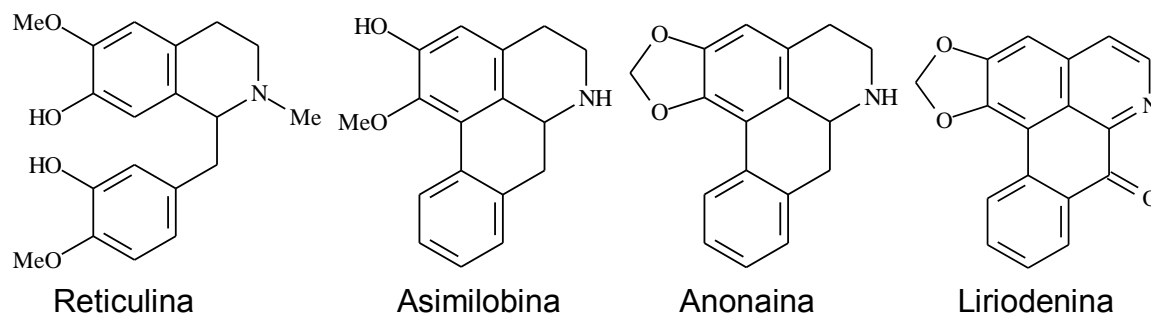
A região Nordeste é responsável pela maior parte da produção das principais anonáceas cultivadas no Brasil, como graviola e pinha. Estas plantas são produzidas principalmente nos estados da Bahia (39%), seguida de São Paulo (30%) e Minas Gerais (WATANABE et al., 2014).

Muitas espécies do gênero *Annona* são reconhecidas por suas propriedades medicinais, como é o caso dos frutos de *Annona spinescens*, popularmente conhecida como araticum-do-rio ou araticum-do-alagadiço, que é usado no tratamento de úlceras (MAAS et al., 1984). Outro exemplo é a *Annona muricata*, cujo decoto das folhas é muito utilizado contra diarreia e espasmos, e seu chá é empregado como agente emagrecedor e como medicação contra alguns tipos de câncer (BARATA et al., 2009).

Investigações prévias sobre química e atividade biológica de algumas espécies deste gênero têm indicado a presença de compostos bioativos importantes, exibindo diversas atividades. Entre elas, a citotoxicidade contra várias linhagens de células tumorais, atividades antimicrobiana, antioxidante e anti-plaquetária e propriedades antiparasitárias, em particular contra a *Leishmania* sp. e *Trypanosoma cruzi*. Essas atividades são geralmente atribuídas à presença de metabólitos secundários como alcaloides, acetogeninas e terpenos (COSTA et al., 2011).

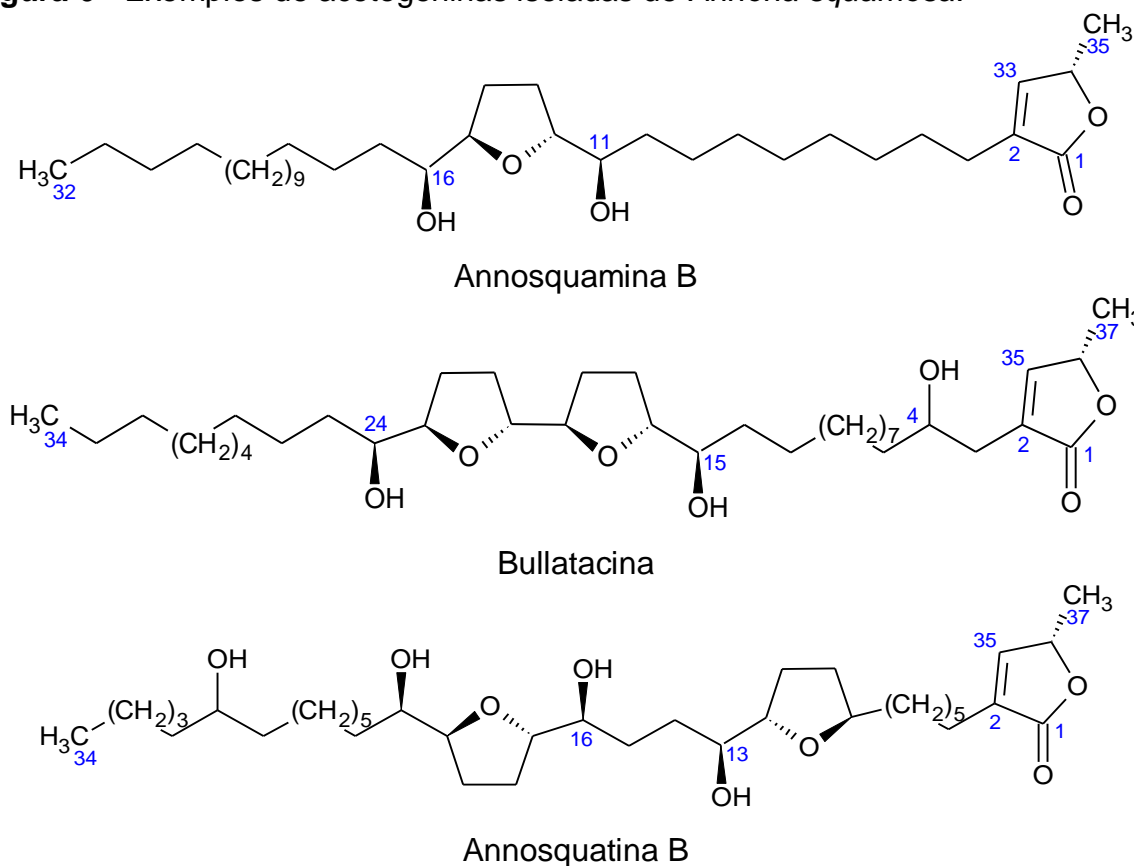
Anonaina, asimilobina, liriodenina e reticulina (Figura 5) são alcaloides descritos em muitas espécies do gênero *Annona* e podem ser considerados marcadores quimiotaxonômicos deste gênero (CRUZ et al., 2011).

Figura 5 - Exemplos de alcaloides isolados de espécies do gênero *Annona*.



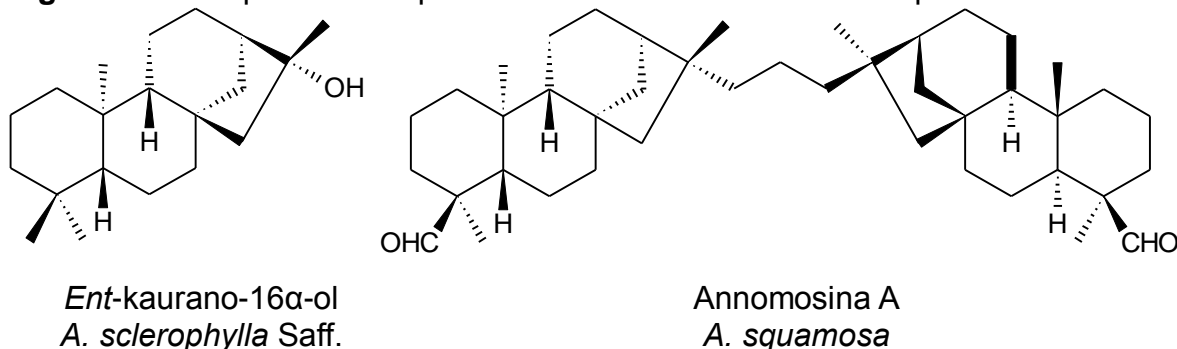
As acetogeninas (ACG) são substâncias naturais encontradas exclusivamente na família Annonaceae, sendo o gênero *Annona* a principal fonte desta classe de compostos, uma vez que, das 417 acetogeninas conhecidas até 2004, 289 foram isoladas a partir de 20 espécies deste gênero (BERMEJO et al., 2005). As acetogeninas annosquamin B, a ACG bis-tetrahidrofurânica (bis-THF) adjacente, bullatacina e a ACG bis-THF não adjacente, annosquatin B (Figura 6), isoladas de *Annona squamosa* (CHEN et al., 2013), são alguns exemplos de acetogeninas de anonáceas.

Figura 6 - Exemplos de acetogeninas isoladas de *Annona squamosa*.



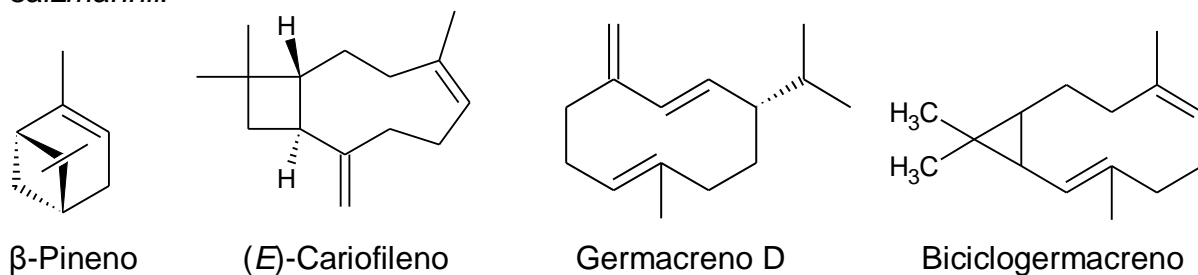
Os diterpenos do tipo *ent*-kaurano (Figura 7) são frequentemente encontrados em espécies do gênero *Annona* e podem ser considerados seus marcadores quimiotaxonômicos (CRUZ, 2011).

Figura 7 - Exemplos de diterpenos *ent*-kauranos isolados de espécies de *Annona*.



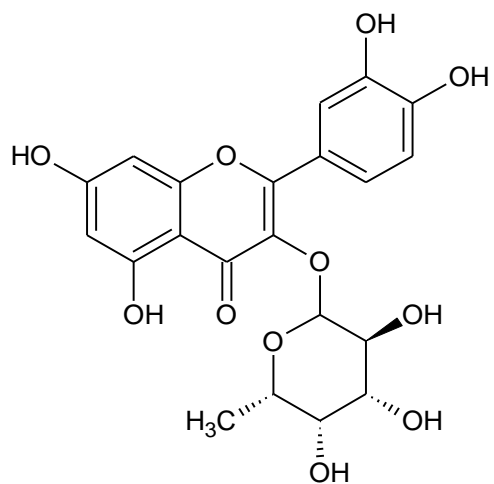
A presença de monoterpenos como β -pineno, (*E*)-cariofileno e sesquiterpenos como germacreno D e biciclogermacreno (Figura 8) também são bastante comuns no óleos essenciais de espécies do gênero *Annona* (COSTA et al., 2012; COSTA et al., 2013).

Figura 8 - Exemplos de terpenoides identificados no óleo essencial de *Annona salzmannii*.

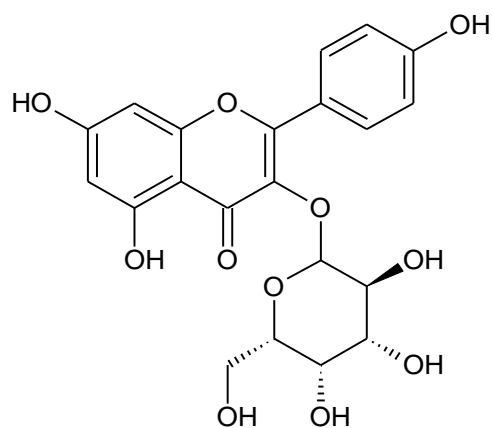


As classes de flavonoides mais abundantes no gênero *Annona* são os flavonóis e seus derivados glicosilados, estando presentes tanto os *O*-glicosídeos como os *C*-glicosídeos (Tabela 2) (SANTOS; SALATINO, 2000). Estudos já comprovaram a presença de flavonas (luteonina) e flavonóis (canferol, quercetina, ramnetina, rutina e isoramnetina) descritos para as espécies *A. crassiflora*, *A. dioica*, *A. tomentosa*, *A. monticola*, *A. warmingiana*, *A. dolichocharpa* (SANTOS; SALATINO, 2000; RINALDI, 2007; VEGA et al., 2007). Alguns exemplos destes flavonoides isolados são mostrados na Figura 9.

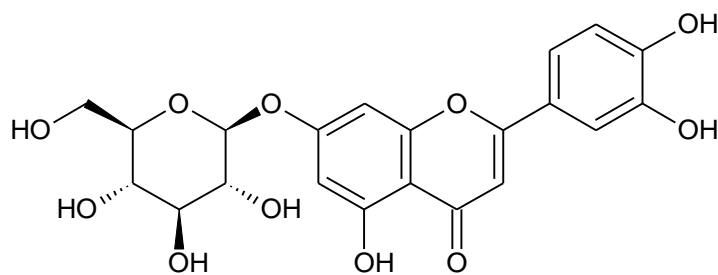
Figura 9 - Exemplos de flavonoides isolados de diferentes espécies de *Annona*.



Quercetina-3-O-ramnosídeo
A. warmingiana



Kaempferol-3-O-galactosídeo
A. crassiflora



Luteolina-7-O-glicosídeo
A. tomentosa

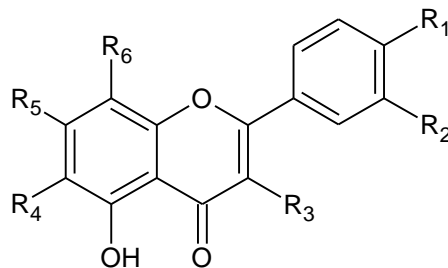


Tabela 2 - Flavonoides do gênero *Annona*. Adaptado de Araújo, 2013.

Flavonoide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
Isoramnetina-3-O-galactosil galactosideo	OH	OCH ₃	O-galactose-galactose	H	OH	H
Isoramnetina-3-O-glicosideo	OH	OCH ₃	O-glicose	H	OH	H
Isoramnetina-3-O-ramnosil glicosideo	OH	OCH ₃	O-ramnose-glicose	H	OH	H
Canferol-3-O-(arabinose-glicose) ^a	H	OH	O-arabinose-glicose	H	OH	H
Canferol-3-O-galactosideo	H	OH	O-galactose	H	OH	H
Canferol-3-O-galactosil glicosideo	H	OH	O-galactose-glicose	H	OH	H
Canferol-3-O-glicosideo	H	OH	O-glicose	H	OH	H
Canferol-3-O-glicosil glicosideo	H	OH	O-glicose-glicose	H	OH	H
Canferol-3-O-ramnosil glicosideo	H	OH	O-ramnose-glicose	H	OH	H
Luteolina-7-O-glicosideo	OH	OH	H	H	O-glicose	H
Quercetina-3-O-arabinosideo	OH	OH	O-arabinose	H	OH	H
Quercetina-3-O-arabinosil arabinosideo	OH	OH	O-arabinose-arabinose	H	OH	H
Quercetina-3-O-arabinosil galactosideo	OH	OH	O-arabinose-galactose	H	OH	H
Quercetina-3-O-galactosideo	OH	OH	O-galactose	H	OH	H
Quercetina-3-O-galactosil ramnosideo	OH	OH	O-galactose-ramnose	H	OH	H

Continua...

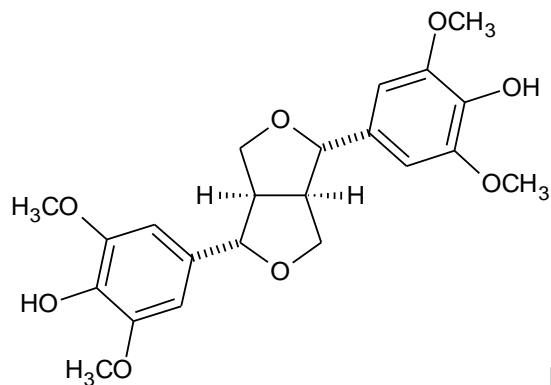
...Continuação da Tabela 2

Quercetina-3-O-glicosideo	OH	OH	O-glicose	H	OH	H
Quercetina-3-O-glicosideo-7-O-glicosideo	OH	OH	O-glicose	H	O-glicose	H
Quercetina-3-O-glicosil glicosideo	OH	OH	O-glicose-glicose	H	OH	H
Quercetina-3-O-glicosil ramnosideo	OH	OH	O-glicose-ramnose	H	OH	H
Quercetina-3-O-ramnosil galactosideo	OH	OH	O-ramnose-galactose	H	OH	H
Quercetina-3-O-ramnosil glicosideo	OH	OH	O-ramnose-glicose	H	OH	H
Quercetina-3-O-ramnosil ramnosideo	OH	OH	O-ramnose-ramnose	H	OH	H

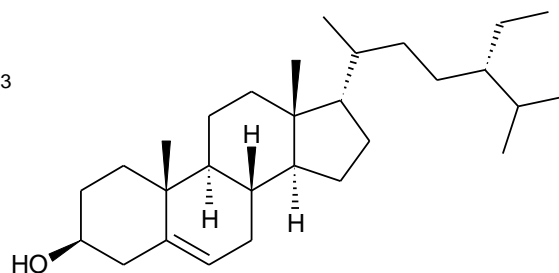
^a Posição relativa do açúcar não definida

Outros constituintes como lignanas, esteroides e benzenoides também já foram identificados em espécies de *Annona* (Figura 10).

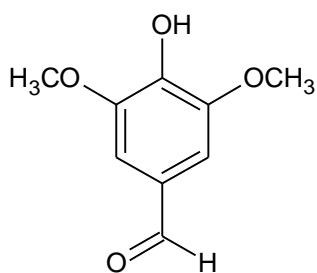
Figura 10 - Exemplos de outros constituintes químicos isolados de espécies de *Annona*.



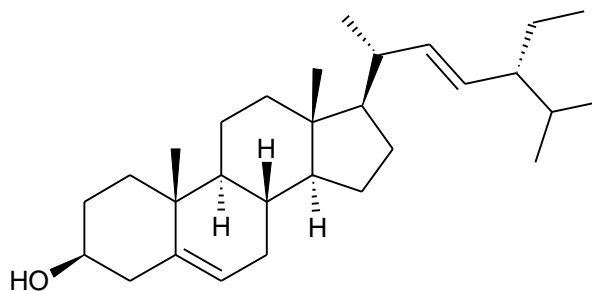
L-siringaresinol
A. montana
(DI STASI; HIRUMA-LIMA et al., 2002)



β -sitosterol
A. muricata
(LEBOEUF et al., 1982)



Siringaldeído
A. montana
(DI STASI; HIRUMA-LIMA et al., 2002)



Estigmasterol
A. rugulosa
(VENDRAMIN, et al., 2013)

3.3. Considerações sobre o híbrido atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.)

A atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) (Figura 11) é um híbrido interespecífico entre a cherimoia (*A. cherimola* Mill.) e a pinha ou fruta-do-conde (*A. squamosa* L.) (OLIVEIRA et al., 2010).

Figura 11 - Imagens do híbrido atemoia: (a) árvore, (b) frutos, (c) flor e (d) folhas.



Apesar do cruzamento entre espécies ocorrer naturalmente, a atemoia foi resultado de um cruzamento intencional, com o objetivo de se obter um fruto de tão boa qualidade quanto a cherimoia, e que se adaptasse melhor ao clima tropical (SCALOPPI-JUNIOR; MARTINS, 2003). Devido à atemoia ser um híbrido e não uma espécie, não é correto referir-se a esta como *Annona atemoia* (SANEWSKI, 1991).

A ata, pinha ou fruta-do-conde, é a espécie doadora de pólen (por vezes chamada de espécie paternal da atemoia), originária das terras baixas da América Central, tendo sido levada do México e introduzida no Oriente e nas Filipinas. A

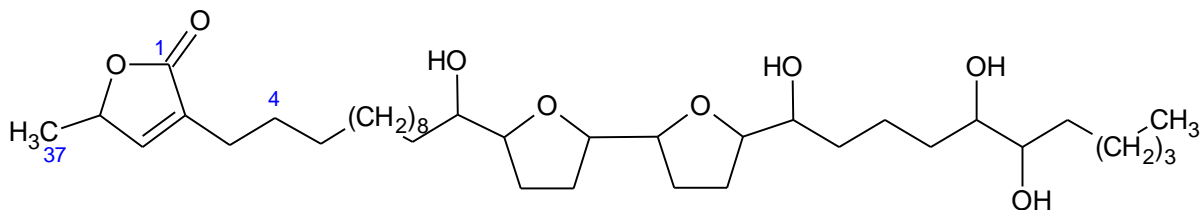
cherimoia, espécie receptora do pólen (ou espécie maternal da atemoia), ocorre espontaneamente nas regiões Andinas do Chile, Peru, Bolívia, Equador e em locais de clima ameno. Assim, a atemoia apresenta como principais características a sua adaptação climática intermediária a dos pais, bem como a qualidade da cherimoia e a rusticidade e facilidade de produção da fruta-do-conde (ata, pinha) (KAVATI, 1992; SIMÃO, 1998; CRUZ et al., 2013; MOSCA et al., 2006).

O primeiro cruzamento artificial da atemoia ocorreu na Flórida (USA), no ano de 1908, enquanto no Brasil há relatos de que, em 1950, o Instituto Agrônomo de Campinas tenha realizado a introdução deste híbrido no estado de São Paulo, com plantio no Núcleo de Produção de Mudanças em São Bento do Sapucaí (TOKUNAGA, 2000).

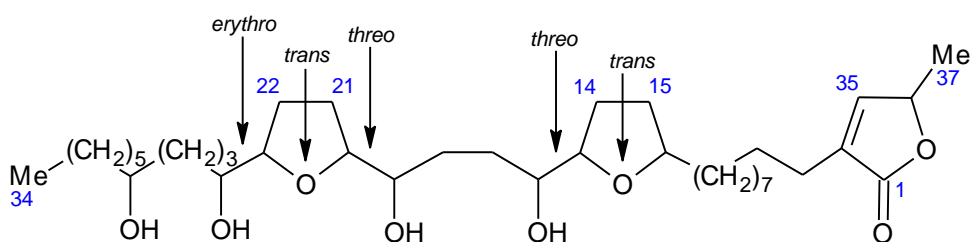
A atemoia é de cultivo recente no Nordeste, tendo sido inserida pela primeira vez na região, nos projetos de irrigação do Vale do São Francisco em 1997. De acordo com a classificação taxonômica das espécies, a atemoia pertence ao gênero *Annona*, Subfamília: Annonoideae, Família: Annonaceae; Ordem: Magnoliales; Classe: Dicotyledoneae; Divisão: Angiospermae e Reino: Vegetal (MANICA, 1997).

Em relação aos estudos sobre fitoquímica, um levantamento bibliográfico realizado utilizando bases de pesquisas como Web of Science, Scifinder Scholar e NAPRALERT, mostrou relatos de algumas moléculas que já foram isoladas de atemoia, a maioria delas são acetogeninas. Na tabela 3 são apresentados estes resultados. As figuras 12 e 13 exemplificam a estrutura molecular de algumas destas moléculas.

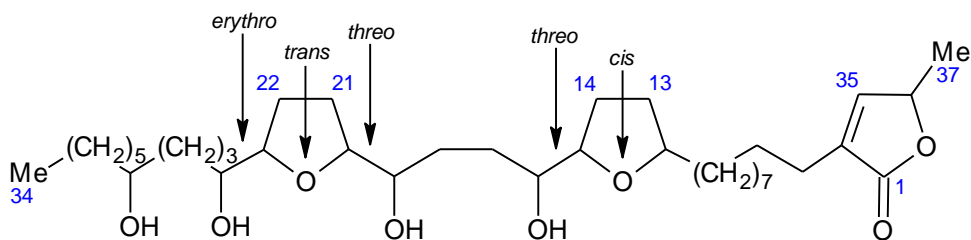
Figura 12 - Exemplos de acetogeninas isoladas de atemoia.



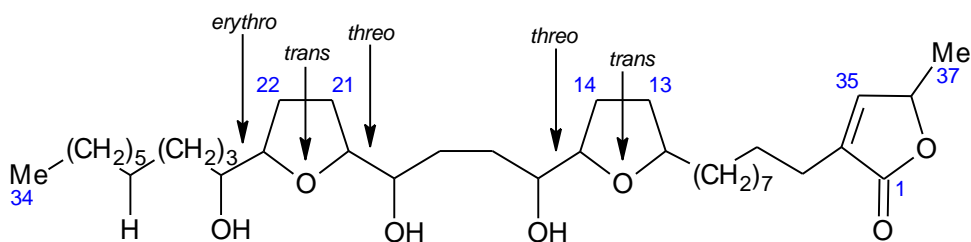
Atemotetrolina



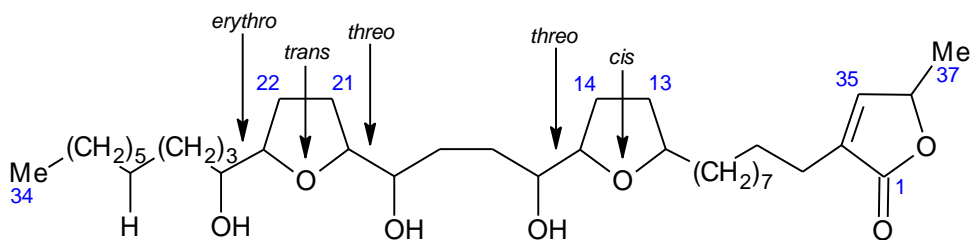
Squamostatina A



12,15-cis-Squamostatina A



Squamostatina D



12,15-cis-Squamostatina D

Continua...

... Continuação da Figura 12

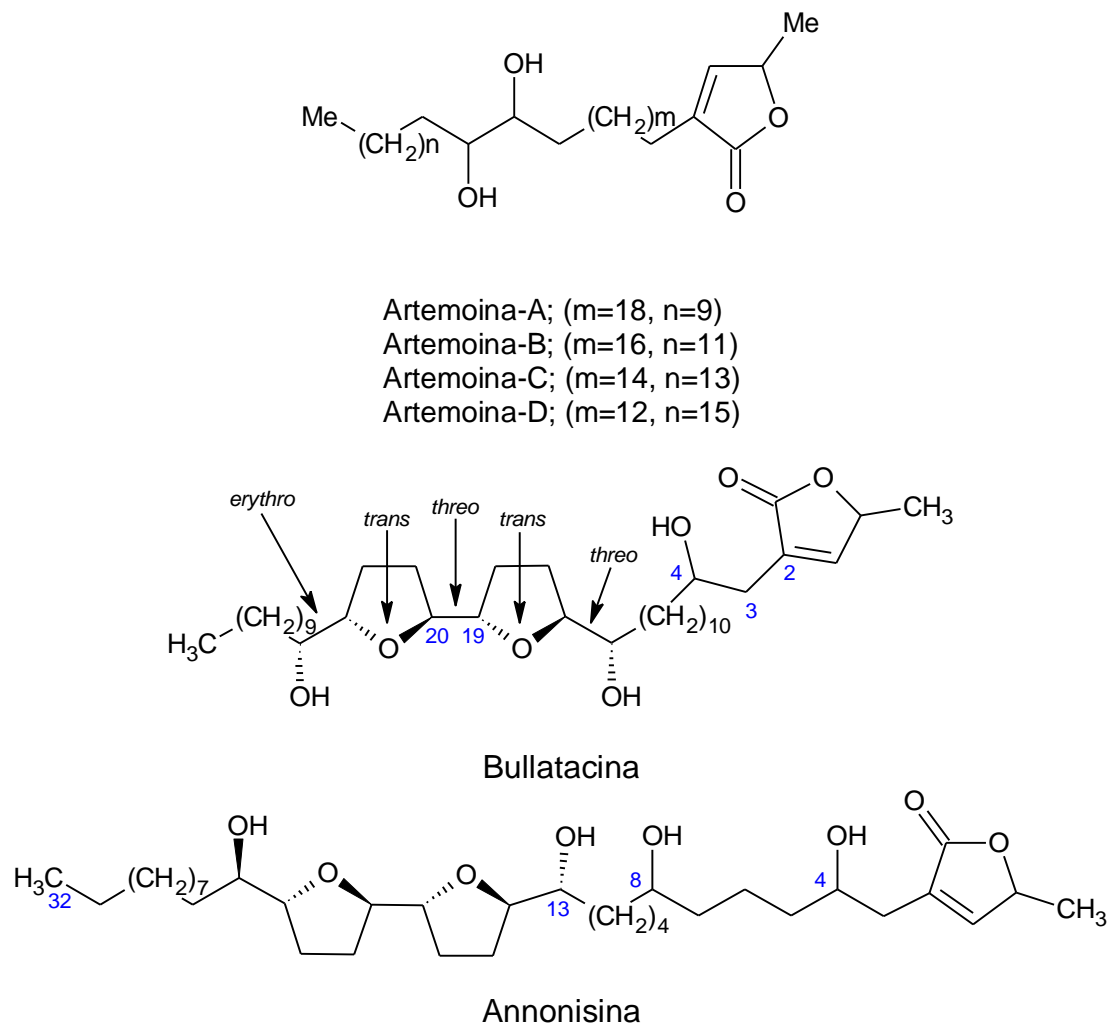


Figura 13 - Exemplos de alcaloides isolados de atemoia.

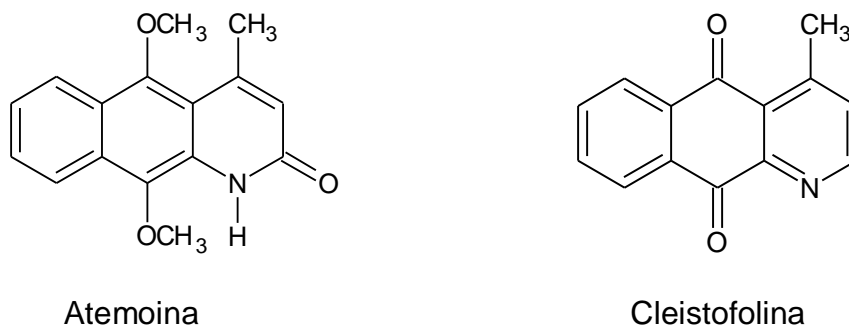


Tabela 3 - Constituintes químicos isolados de atemoia.

Componente	Local	Parte da planta	Referência
<i>Alcaloides</i>			
Atemoia	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
Cleistofolina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Behenoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Cerotoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Heptacosanoil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Lignoceroil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Lignoceroil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Nonadecanoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Octacosanoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Pentacosanoil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Tricosanoil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>Acetogeninas</i>			
12,15- <i>cis</i> -Squamostatina A	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
12- <i>cis</i> -15-Bullatalicina	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
12- <i>cis</i> -15-Bullatanocina	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
12- <i>cis</i> -15-Squamostatina D	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999

Continua...

... Continuação da Tabela 3

Almunequina	China,	Sementes, Raiz	CHEN et al., 1996 WU et al., 1999
	Austrália	Sementes	DURET et al., 1998 DURET et al., 1997b
Annonacina	China	Sementes	CHEN et al., 1999,
	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997b
Annonisina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997b
Annotemoyina 1	Austrália	Sementes	DURET et al., 1996
Annotemoyina 2	Austrália	Sementes	DURET et al., 1996
Artemoina A	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Artemoina B	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Artemoina C	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Artemoina D	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Asimicina	China	Sementes	CHEN et al., 1996
	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997a DURET et al., 1997b
Atemotetrolina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1998
Atemoyacina A	China	Sementes	CHEN et al., 1995a
Atemoyacina B	China	Sementes	CHEN et al., 1995b
Atemoyacina B	China	Raiz	WU et al., 1999
Atemoyacina C	China	Raiz	WU et al., 1999

Continua...

... Continuação da Tabela 3

Atemoyacina D	China	Sementes	CHEN et al., 1999
Atemoyina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997a DURET et al., 1995
Bulladecina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1998
Bullatalicina	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Bullatanocina	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Cherimolina	China	Sementes	CHEN et al., 1996
Cherimolina 1	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997b
Cherimolina 2	Austrália	Sementes	DURET et al., 1998
Isodeacetilivaricina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997b
	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997a DURET et al., 1995
	China		CHEN et al., 1996
Isocherimolina 1	Taiwan		CHANG et al., 1999
	China	Raiz	WU et al., 1999
Molvizarina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997a DURET et al., 1997b
	China	Sementes	CHEN et al., 1995b
Motrilina	China	Sementes	CHEN et al., 1996
		Sementes	
	Austrália		DURET et al., 1997b

Continua...

...Continuação da Tabela 3

Neo-annonina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1995
			DURET et al., 1997a
	China		CHEN et al., 1996
	Taiwan		CHANG et al., 1999
Neo-annonina B	China	Sementes	CHEN et al., 1999
Neo-deacetilivaricina	China	Sementes	CHEN et al., 1999
Parviflorina	China	Sementes	CHEN et al., 1999
	Austrália		DURET et al., 1997b
Reticulataina 1	Austrália	Sementes	DURET et al., 1996
Rolliniastatina 1	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997b
Rolliniastatina 2	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997a
			DURET et al., 1995
	China	Sementes	CHEN et al., 1995b
		Raiz	WU et al., 1999
Rollinicina	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
	China	Sementes	CHEN et al., 1995b
		Raiz	WU et al., 1999
Squamocina	Austrália	Sementes	DURET et al., 1997a
			DURET et al., 1995
	Taiwan		CHANG et al., 1999

Continua...

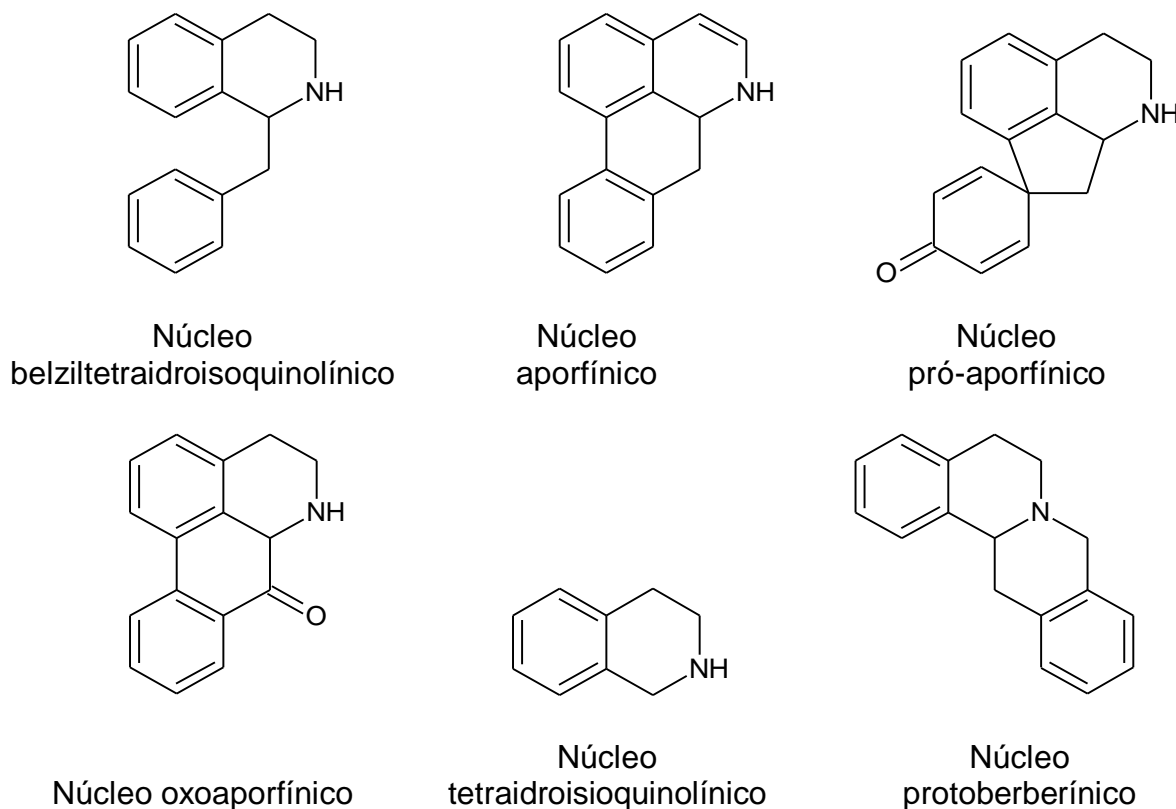
... Continuação da Tabela 3

Squamocina K	China	Sementes	CHEN et al., 1996
Squamostatina A	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Squamostatina D	Taiwan	Sementes	CHANG et al., 1999
Uvarimicina III	Austrália	Sementes	DURET et al., 1996
<i>Monoterpenos</i>			
Acetato de Borneol	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
Limoneno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
Mirceno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
<i>trans</i> - β -Ocimeno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
α -Pineno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
β -Pineno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
<i>Sesquiterpenos</i>			
Biciclogermacreno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
Germacreno D	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
Espatuleno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987
δ -Cadineno	Austrália	Óleo Essencial dos Frutos	WYLLIE et al., 1987

3.4. Considerações sobre alcaloides

Segundo Leboeuf e colaboradores (1982), os alcaloides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e principais constituintes químicos das espécies pertencentes à família Annonaceae. Uma importante característica das espécies desta família é a destacada presença de alcaloides do tipo isoquinolínico o que a faz ser considerada como o centro de distribuição dos mesmos. Os mais comumente encontrados são os dos tipos benziltetraidroisoquinolínico, benzildiidroisoquinolínico, aporfínico, pró-aporfínico, oxoaporfínico, tetraidroisoquinolínico, protoberberínico. (Figura 14) (LÚCIO, 2011; NAZARO, 2013).

Figura 14 - Esqueletos de alcaloides mais comuns em anonáceas.



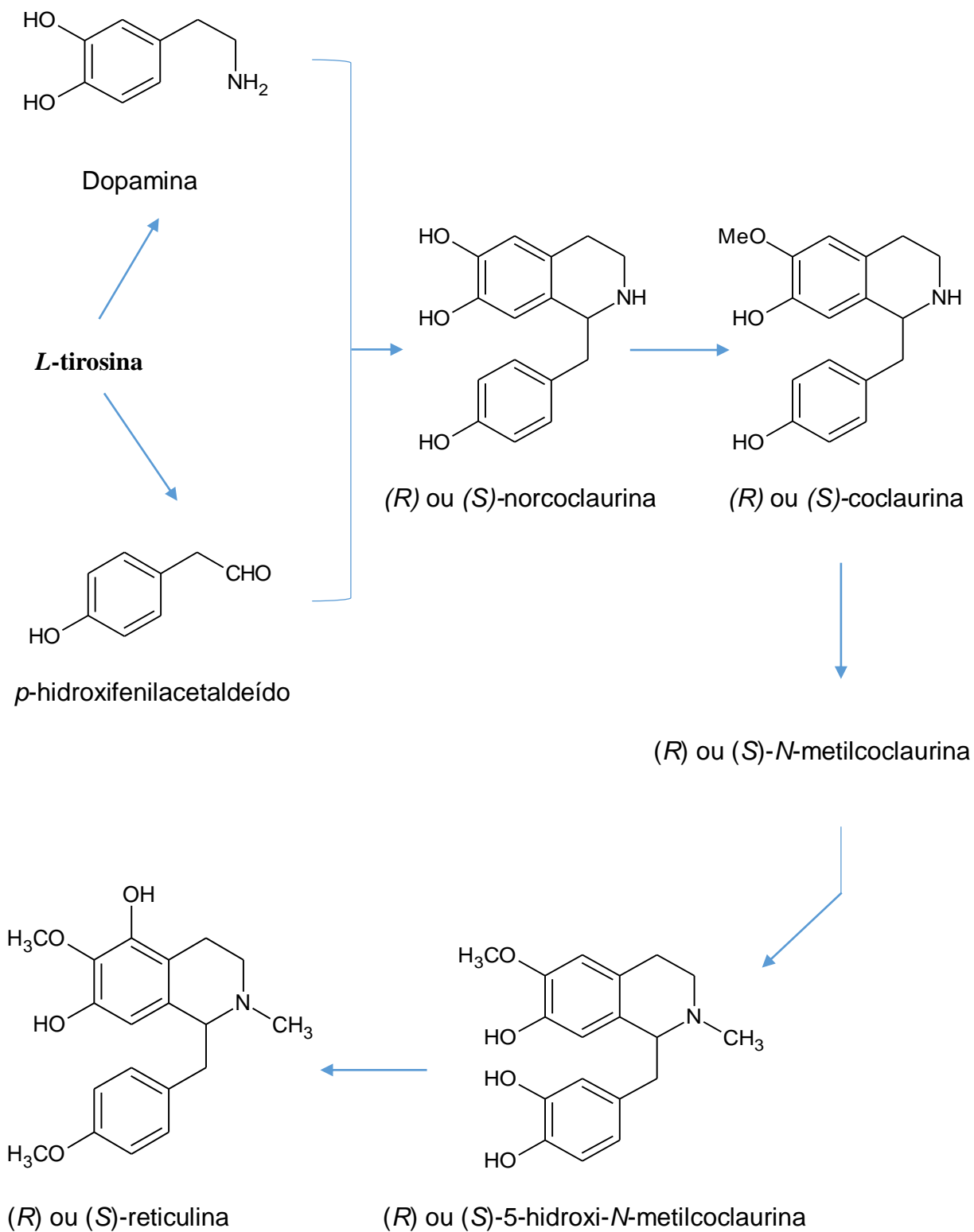
Dentre os gêneros de Annonaceae já estudados, o gênero *Annona* tem se destacado pela presença de variados tipos de alcaloides, como o benzilisoquinolínico reticulina, os aporfínicos asimilobina e anonaina e o oxoaporfínico liriodenina. Estudos recentes descrevem o isolamento de reticulina, asimilobina e liriodenina em algumas espécies de *Annona*, como em *Annona foetida* Mart., *Annona pickelii* (Diels) H. Rainer, *Annona salzmannii* A. DC., e *Annona sericea*

Dunal, todas nativas do Brasil (CAMPOS et al., 2008; COSTA et al., 2011; CRUZ et al., 2011; DUTRA et al., 2012). Estes alcaloides foram encontrados em folhas e cascas de *A. crassiflora* das Guianas (HOCQUEMILLER et al., 1982). Anonaina, assimilobina, liriodenina, e reticulina tem sido descritas em várias espécies de *Annona*, e podem ser consideradas marcadores quimiotaxonômicos deste gênero (CRUZ et al., 2011).

A origem biossintética dos alcaloides isoquinolínicos inicia pela rota do ácido chiquímico a partir de carboidratos. O ácido chiquímico é responsável pela formação dos aminoácidos aromáticos como a *L*-fenilalanina e *L*-tirosina, sendo esses os precursores dos alcaloides isoquinolínicos (RINALDI, 2007).

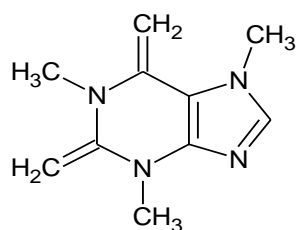
Todos os alcaloides isoquinolínicos são derivados dos benzilisoquinolínicos, a formação biossintética desse esqueleto tem início com a reação de condensação de duas unidades fenólicas, ambas derivadas do aminoácido *L*-tirosina, a dopamina e dos 3,4-di-hidroxi-fenilacetaldéido. A Figura 15 mostra a rota biossintética a partir de *L*-tirosina, para a formação da estrutura benzilisoquinolínica (DEWICK, 1997).

Figura 15 - Rota biossintética para a formação da estrutura benzilisoquinolínica a partir da *L*-tirosina. Adaptado de Rinaldi (2007).

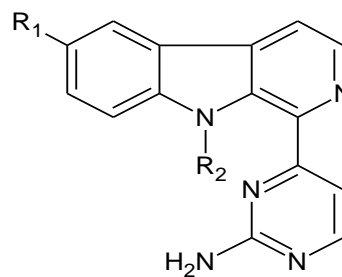


Alcaloides do tipo não-isoquinolínicos têm sido encontrados em algumas espécies de *Annona*. Como exemplo, a cafeína tem sido encontrada como composto majoritário das sementes de *A. cherimola* (LEBOEUF et al., 1982). Enquanto das cascas de *A. foetida* foi isolado um novo alcaloide do tipo pirimidino- β -carbonílico, *N*-hidroxiannomontina, juntamente com o já previamente isolado annomontina (COSTA et al., 2006). Em um estudo posterior, Costa e colaboradores (2008) isolaram da espécie *A. impressivenia* Saff. o alcaloide metoxiannomontina (Figura 16) (CRUZ, 2011).

Figura 16 - Exemplos de alcaloides não-isoquinolínicos isolados de espécies de *Annona*.



Cafeína



N-hidroxiannomontina $R_1 = H$; $R_2 = OH$

Annomontina $R_1 = R_2 = H$

Metoxiannomontina $R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$

De acordo com Lúcio e colaboradores (2014), até 2012, 934 alcaloides foram descritos em trabalhos realizados com 254 espécies da família Annonaceae. Entre 1912 e 2009 os relatos registravam 95 alcaloides isolados a partir de 25 espécies de *Annona*. Em uma pesquisa realizada até 2013 em bancos de dados como NAPRALERT, Web of Science e Chemical Abstracts, 26 espécies deste gênero registraram 147 alcaloides identificados (tabela 4).

Tabela 4 - Alcaloides isolados de espécies de *Annona*.

Composto	Local	Parte	Referências
<i>Annona acuminata</i>			
Anonaina	NI	Caule	BORUP; KINGSTON, 1981
Homomoscatolina	Panama	Planta inteira	BORUP-GROCHTMANN; KINGSTON, 1982
Liridina	NI	Caule	BORUP; KINGSTON, 1981
Liriodenina	Panama	Planta inteira	BORUP-GROCHTMANN; KINGSTON, 1982
Lisicamina	NI	Caule	BORUP; KINGSTON, 1981
	Panama	Planta inteira	BORUP-GROCHTMANN; KINGSTON, 1982
	NI	Caule	BORUP; KINGSTON, 1981
<i>Annona amazonica</i>			
Cassiticina	Brasil	Caule	PINHEIRO et al., 2009
Liriodenina	Brasil	Caule	PINHEIRO et al., 2009
<i>Annona ambotay</i>			
Geovanina	Brasil	Madeira do tronco	OLIVEIRA et al., 1987
Liriodenina	Brasil	Madeira do tronco	OLIVEIRA et al., 1987
O-Metilmoscatolina	Brasil	Madeira do tronco	OLIVEIRA et al., 1987
<i>Annona atemoya</i>			
Atemoia	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Behenoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Cerotoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Cleistofolina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Heptacosanoil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Lignoceroil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Lignoceroil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Nonadecanoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Octacosanoil triptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Pentacosanoil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>N</i> -Tricosanoil-4,5-dihidroxitriptamina	Taiwan	Sementes	WU et al., 2005
<i>Annona bullata</i>			
(<i>R</i>)-Anonaina	Cuba	Folhas	SANDOVAL-LOPEZ; RIPPERGER, 1986
Aterospermidina	EUA	Cascas	HUI et al., 1992
Liriodenina	Cuba	Folhas	SANDOVAL-LOPEZ; RIPPERGER, 1986
	NI	Cascas	HUI et al., 1989
<i>Annona cacans</i>			
Aristololactama A-II	Brasil	Caule	SAITO; ALVARENGA, 1994
Aristololactama B-II	Brasil	Caule	SAITO; ALVARENGA, 1994
Asimilobina	Brasil	Caule	SAITO; ALVARENGA, 1994
Liriodenina	Brasil	Caule	SAITO; ALVARENGA, 1994
Michelalbina	Brasil	Caule	SAITO; ALVARENGA, 1994
Stepharina	Brasil	Caule	SAITO; ALVARENGA, 1994
<i>Annona cherimolia</i>			
Annocherina A	Taiwan	Caule	CHEN ET AL., 2001

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Annocherina B	Taiwan	Caule	CHEN ET AL., 2001
Annocherina C	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
Anonaina	Espanha	Sementes	VILLAR DEL FRESNO; RIOS-CANAVATE, 1983
	Espanha	Sementes	RIOS et al., 1989
	China	Caule	YANG et al., 1991
(+)-Anonaina	Espanha	Cascas do caule	SIMEON et al., 1989
(-)-Anonaina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
Anolobina	China	Caule	YANG et al., 1991
(-)-Anolobina	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Anomolina	China	Caule	YANG et al., 1991
Artabonatina B	Taiwan	Caule	CHEN ET AL., 2001
Asimilobina	China	Caule	YANG et al., 1991
(-)-Asimilobina	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Cherianoina	Taiwan	Caule	CHEN ET AL., 2001
Cherimolina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1997
Cherimonina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1998a
Cheritamina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
Cleistofoline	Espanha	Sementes	RIOS et al., 1989
(-)-Coridina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
(-)-Coripalmina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Corituberina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
(-)-Discretamina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Dorifornina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
cis-Feruloiltiramina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1998b
(+)-Glaziovina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
(+)-Isoboldina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Lanuginosideo	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
Lanuginosina	Espanha	Sementes	VILLAR DEL FRESNO; RIOS-CANAVATE, 1983
	Espanha	Sementes	RIOS et al., 1989
	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Liriodenina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
	Espanha	Raiz	CHULIA et al., 1995
	Espanha	Sementes	VILLAR DEL FRESNO; RIOS-CANAVATE, 1983
	Espanha	Sementes	RIOS et al., 1989
	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
	Chile	Galhos	URZUA; CASSELS, 1977
Lisicamina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
	Chile	Galhos	URZUA; CASSELS, 1977
(-)- <i>N</i> -Metilasimilobina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Michelalbina	China	Caule	YANG et al., 1991
(+)-Norisocoridina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
(+)-Nornanteina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
(-)-Norstefalagina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
Norushinsunina	Espanha	Raiz	CHULIA et al., 1995
(-)-Norushinsunina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
(-)-Nuciferina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Oxoasimilobina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
Oxonantenina	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
Oxoushinsunina	China	Caule	YANG et al., 1991
Oxoxyllopina	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
(+)-Pronuciferina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
Reticulina	China	Caule	YANG et al., 1991
(+)-Reticulina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985

Continua...

... Continuação da Tabela 4

	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
	Chile	Galhos	URZUA; CASSELS, 1977
(-)-Romucosina	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
Romucosina H	Taiwan	Caule	CHEN ET AL., 2001
(-)-Stefolidina	Espanha	Folhas	VILLAR et al., 1985
(-)-Stefolidina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Tetrahidropalmatina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989
Talifolina	Taiwan	Caule	CHEN et al., 1999
(-)-Xylopina	Taiwan	Folhas	CHEN; WU, 2001
(-)-Xylopina	Espanha	Cascas do Caule	SIMEON et al., 1989

Annona crassiflora

Annoretina	Brasil	NI	EGYDIO et al., 2013
Anonaina	Guiana	Folhas	HOCQUEMILLER et al., 1982
	Guiana	Cascas do Caule	HOCQUEMILLER et al., 1982
	Brasil	NI	EGYDIO et al., 2013
Asimilobina	Guiana	Folhas	HOCQUEMILLER et al., 1982
	Guiana	Cascas do Caule	HOCQUEMILLER et al., 1982
Grossamida	Brasil	Sementes	SANTOS et al., 1996
Liriodenina	Guiana	Folhas	HOCQUEMILLER et al., 1982
	Guiana	Cascas do Caule	HOCQUEMILLER et al., 1982
Reticulina	Guiana	Folhas	HOCQUEMILLER et al., 1982
	Guiana	Cascas do Caule	HOCQUEMILLER et al., 1982
Romucosina	Brasil	NI	EGYDIO et al., 2013
<i>N-trans</i> -Caffeiltiramina	Brasil	Sementes	SANTOS et al., 1996
Xylopina	Brasil	NI	EGYDIO et al., 2013

Continua...

... Continuação da Tabela 4

<i>Annona cristalensis</i>			
Liriodenina	Cuba	Folhas e Caules	FAUST et al., 1981
(<i>R</i>)-Cocclaurina	Cuba	Folhas e Caules	FAUST et al., 1981
<i>Annona dioica</i>			
1-Aza-5,9,10-trimetoxy-4-metil-2-oxo-1,2-dihidroantraceno	Brasil	Madeira	SANTOS et al., 2003
Geovanina	Brasil	Madeira	SANTOS et al., 2003
Liriodenina	Brasil	Madeira	SANTOS et al., 2003
1,2-metilenedioxi-6 α ,7-dehidroaporfino-4(S)-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidro-2(1H)-piridinona	Brasil	Madeira	SANTOS et al., 2003
<i>Annona elliptica</i>			
Annonelliptina	Cuba	Folhas e Caules	SANDOVAL et al., 1985
<i>Annona foetida</i>			
Annomontina	Brasil	Cascas	COSTA et al., 2006
Liriodenina	Brasil	Cascas	COSTA et al., 2006
<i>N</i> -Hidroxiannomontina	Brasil	Cascas	COSTA et al., 2006
<i>O</i> -Metilmoscatolina	Brasil	Cascas	COSTA et al., 2006
<i>Annona glabra</i>			
Anonaina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Annonbraina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
(-)-Anolobina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
(-)-Anonaina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
Asimilobina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
(-)-Asimilobina	Taiwan	Frutos	CHANG et al., 2000a
Aterospermidina	USA	Tronco	WARTHEN et al., 1969
1-Aza-2-oxo-4-metil,1-2-dihidroantraceno-9-10-diona	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
<i>N-para</i> -Coumaroil tiramina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
Dehidrocoridalmina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
<i>N-trans</i> -Feruloil tiramina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
(-)- <i>N</i> -Formilanonaina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
Isoboldina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
(-)-Kikemanina	Taiwan	Frutos	CHANG et al., 2000a
Liriodenina	Taiwan	Frutos	CHANG et al., 2000a
	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
Lysicamina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000a
<i>N</i> -Metilactinodafnina	Taiwan	Folhas	YANG et al., 1971
(+)-Nordomesticina	Taiwan	Frutos	CHANG et al., 2000a
Nornuciferina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
(-)-Nornuciferina	Taiwan	Frutos	CHANG et al., 2000a
Norushinsunina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
Oxoglauцина	China	Planta inteira	TIAN et al., 2001
Fanostenina	Mexico	Folhas	CASTANEDA et al., 1994
Reticulina	Taiwan	Folhas	YANG et al., 1971
	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
Roemerina	Taiwan	Caule	YANG; CHEN, 1973
(+)-Stefarina	Taiwan	Frutos	CHANG et al., 2000a

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Annona hayesii

Annofolina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Anonaina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Asimilobina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
Cleistofolina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
3-Hidroxi(-)-nornuciferina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
Liriodenina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(+)-Litseferina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
Lisicamina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(+)-Nordomesticina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Nornuciferina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Norushinsunina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Nuciferina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Roemerina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987
(-)-Stefarina	Colombia	Cascas do tronco	RASAMIZAFY et al., 1987

Annona montana

Anonaina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Taiwan	Cascas do Caule	YANG; CHEN, 1979
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
Annolatina	Taiwan	Folhas	WU et al., 1993
Annomontina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
Annoretina	Taiwan	Folhas	WU et al., 1993
Argentinina	Taiwan	Folhas	WU et al., 1993

Continua...

... Continuação da Tabela 4

	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Taiwan	Folhas	YANG; CHEN, 1979
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
Asimilobina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
Aterospermina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
	Taiwan	Cascas do Caule	YANG; CHEN, 1979
Coclaurina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
Coreximina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
Isoboldina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
Liriodenina	Taiwan	Folhas	WU et al., 1993
	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
Oxoushinsunina	Taiwan	Cascas do Caule	YANG; CHEN, 1979

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Reticulina	Taiwan	Folhas	YANG; CHEN, 1979
	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
Xylopina	Guiana	Cascas do Caule	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas do Tronco	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Cascas da Raiz	LEBOEUF et al., 1982b
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1982b
<i>Annona muricata</i>			
Anonaina	Surinam	Frutos	HASRAT et al., 1994
	Guinea	Folhas	FOFANA et al., 2011
	Japão	Folhas	MATSUSHIGE et al., 2012
Annonamina	Japão	Folhas	MATSUSHIGE et al., 2012
Anomuricina	Guiana	Raiz	LEBOEUF et al., 1980
	Guiana	Cascas	LEBOEUF et al., 1981
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1981
Anomurina	Guiana	Raiz	LEBOEUF et al., 1980
	Guiana	Cascas	LEBOEUF et al., 1981
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1981
Anonaina	Suriname	Frutos	HASRAT et al., 1997
Asimilobina	Suriname	Frutos	HASRAT et al., 1997
Aterospermina	Filipinas	Cascas do Caule	SANTOS et al., 1967
Aterosperminina	Guiana	Raiz	LEBOEUF et al., 1980
	Guiana	Cascas	LEBOEUF et al., 1981
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1981
Cocclaurina	Guinea	Folhas	FOFANA et al., 2011
(+)-Cocclaurina	Guinea	Raiz	LEBOEUF et al., 1980

Continua...

... Continuação da Tabela 4

	Guinea	Cascas	LEBOEUF et al., 1981
	Guinea	Folhas	LEBOEUF et al., 1981
(-)-Coreximina	Guiana	Cascas	LEBOEUF et al., 1981
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1981
	Guiana	Raiz	LEBOEUF et al., 1980
O-O-Dimetilcoclaurina	Japão	Folhas	MATSUSHIGE et al., 2012
Isolaurelina	Guinea	Folhas	FOFANA et al., 2011
(R)-4'-O-Metilcoclaurina	Japão	Folhas	MATSUSHIGE et al., 2012
Muricina	NI	Cascas	MEYER, 1941
Muricinina	NI	Cascas	MEYER, 1941
(S)-Norcoridina	Japão	Folhas	MATSUSHIGE et al., 2012
Nornuciferina	Suriname	Frutos	HASRAT et al., 1997
Reticulina	Filipinas	Cascas do Caule	SANTOS et al., 1967
(+)-Reticulina	Guiana	Raiz	LEBOEUF et al., 1980
	Guiana	Cascas	LEBOEUF et al., 1981
	Guiana	Folhas	LEBOEUF et al., 1981

Annona paludosa

Anonaina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988
Asimilobina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988
Coreximina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988
Dihidropalmatina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988
Reticulina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988
Scoulerina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988
Tetrahidropalmatina	Guiana Francesa	Cascas da raiz	LAPREVOTE et al., 1988

Annona pickelii

Asimilobina	Brasil	Folhas	DUTRA et al., 2012
-------------	--------	--------	--------------------

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Liriodenina	Brasil	Folhas	DUTRA et al., 2012
Lisicamina	Brasil	Folhas	DUTRA et al., 2012
Nornuciferina	Brasil	Folhas	DUTRA et al., 2012
<i>Annona purpurea</i>			
Anonaina	Costa Rica	Madeira	CASTRO et al., 1996
(+)-Apoglaziovina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Aterospermidina	Costa Rica	Madeira	CASTRO et al., 1996
Cassamedina	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
Dehidrolirinidina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
O-Demetilpurpureina	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
7-Formil-dehidrotalicsimidina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b
N-Formilpurpureina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
(-)-Glaucina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
Glaziovina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
	África	NI	GOTTLIEB; MORS, 1980
(+)-Glaziovina	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
7-Hidroxi-dehidroglaucaína	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
7-Hidroxi-dehidrothalicsimidina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b
Isocoridina	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
(+)-Isocoridina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Lirinidina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b
(-)-Lirinidina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Liriodenina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
	Costa Rica	Madeira	CASTRO et al., 1996
Lisicamina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
N-Metilasimilobina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b
O-Metilaterolina	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
N-Metil-laurotetanina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b

Continua...

... Continuação da Tabela 4

(+)-O-Metilflavinantina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
(-)-Norglaucina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
(-)-Norpallidina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Norpurpureina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b
	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
(+)-Norpurpureina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
(+)-Nortalbaicalidina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Oxoglaucina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Oxonuciferina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
Oxopurpureina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
(-)-Pallidina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
(+)-Predicentrina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
Promucosina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Purpureina	EUA	Folhas e Caules	SONNET; JACOBSON, 1971
(+)-Purpureina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
(+)-Reticulina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Romucosina F	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Romucosina G	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Squamolona	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Talbaicalidina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
Talicipureina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998a
Talicsimidina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1998b
(+)-Talicsimidina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b
Talifolina	Taiwan	Caule	CHANG et al., 2000b

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Annona reticulata

Annomontina	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
Aequalina	China	Rizomas	XU et al., 1992
Anonaina	NI	Cascas	BARGER; WEITNAUER, 1939
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG et al., 1973
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
	Filipinas	Cascas do Tronco	SANTOS, 1930
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG et al., 1970
Asimilobina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
	China	Rizomas	XU et al., 1992
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
Coclorina	India	Folhas	FORGACS et al., 1981
	India	Caule	FORGACS et al., 1981
Coridina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
Glaucina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
3-Hidroxi-nornuciferina	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
Liriodenina	India	Cascas	SAAD et al., 1991
	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
	China	Rizomas	XU et al., 1992
	India	Cascas da Raiz	ANJANEYULU et al., 1965
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG et al., 1973
Metoxiannomontina	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
Michelalbina	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG et al., 1973
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
Norcoridina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
Norushinsunina	China	Rizomas	XU et al., 1992
Oxonantenina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
Oxoushinsunina	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Oxoxylopina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
Reticulina	India	Cascas da Raiz	GOPINATH et al., 1959
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG et al., 1973
	Taiwan	Cascas da Raiz	YANG; CHENG, 1987
Salsolinol	India	Folhas	FORGACS et al., 1981
	India	Caule	FORGACS et al., 1981
Xylopina	Taiwan	Folhas	CHANG et al., 1995
<i>Annona rugulosa</i>			
Anonaina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Asimilobina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Isoboldina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Lanuginosina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Liriodenina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Litseferina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Magnococlina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
N-Metilcocclaurina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Norisocoridina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Nornantenina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
N-Nornuciferina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Reticulina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
Xylopina	Brasil	Folhas	VENDRAMIN et al., 2013
<i>Annona salzmanii</i>			
Anonaina	Brasil	Cascas do Tronco	PAULO et al., 1992
	Brasil	Cascas	CRUZ et al., 2011
Asimilobina	Brasil	Cascas	CRUZ et al., 2011
Isoboldina	Brasil	Cascas do Tronco	PAULO et al., 1992

Continua...

... Continuação da Tabela 4

Laurelliptina	Brasil	Cascas do Tronco	PAULO et al., 1992
Liriodenina	Brasil	Cascas	CRUZ et al., 2011
Reticulina	Brasil	Cascas do Tronco	PAULO et al., 1992
	Brasil	Cascas	CRUZ et al., 2011
Xylopina	Brasil	Cascas	CRUZ et al., 2011

Annona senegalensis

Anonaina	Guinea	Folhas	PHILIPPOV et al., 1995
Isoboldina	Guinea	Folhas	PHILIPPOV et al., 1995
(-)-Isocorydina	Zimbabwe	Folhas	YOU et al., 1995
Liriodenina	Guinea	Folhas	PHILIPPOV et al., 1995
(-)-Roemerina	Zimbabwe	Folhas	YOU et al., 1995

Annona sericea

3-Hidroxi-nornuciferina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
Isoboldina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
Lisicamina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
(S)-N-Metilcocclaurina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
Nornantenina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
Nornuciferina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
Oxonantenina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008
(S)-Reticulina	Brasil	Folhas	CAMPOS et al., 2008

Annona spinescens

(-)-Anonaina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996
	Brasil	Cascas do Tronco	QUEIROZ et al., 1996
(+)-Bracteolina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996

Continua...

... Continuação da Tabela 4

(+)-Norbracteolina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996
(+)-Nordomesticina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996
(-)-Norushinsunina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996
	Brasil	Cascas do Tronco	QUEIROZ et al., 1996
(-)-Pessoína	Brasil	Cascas do Tronco	QUEIROZ et al., 1996
(+)-Reticulina	Brasil	Cascas do Tronco	QUEIROZ et al., 1996
(-)-Spinósina	Brasil	Cascas do Tronco	QUEIROZ et al., 1996
(-)-Stefarina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996
Liriodenina	Brasil	Raiz	QUEIROZ et al., 1996

Annona squamosa

Anonaina	Índia	Cascas	RAO et al., 1978
	Índia	Raiz	RAO et al., 1978
Coridina	China	Galhos	YANG et al., 1992
	Índia	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
	Índia	Cascas	RAO et al., 1978
	Índia	Raiz	RAO et al., 1978
Glaucina	Índia	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
	Índia	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
(+) -Glaucina	Índia	Cascas	RAO et al., 1978
	Índia	Raiz	RAO et al., 1978
Higenamina	Índia	Folhas	WAGNER et al., 1980
Isocoridina	Índia	Cascas	RAO et al., 1978
	Índia	Raiz	RAO et al., 1978
	Índia	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
Lanuginósina	Índia	Folhas	BHAUMIK et al., 1979
Liriodenina	Malásia	Sementes	MORITA et al., 2000
	Índia	Cascas do Caule	LI et al., 1990
	China	Galhos	YANG et al., 1992

Continua...

... Continuação da Tabela 4

(+)-O-Metilarmepavina	India	Folhas	BHAUMIK et al., 1979
Norcoridina	India	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
Norisocoridina	India	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
Samoquasina A	Malásia	Sementes	MORITA et al., 2000
Squamosamida	China	Galhos	YANG et al., 1992
Moupinamida	China	Galhos	YANG et al., 1992
Roemerina	India	Folhas e Caules	BHAKUNI et al., 1972
(-)-Xylopina	India	Folhas	BHAUMIK et al., 1979

3.5. Considerações sobre atividade antioxidante *in vitro*

Atualmente, o interesse no estudo dos compostos fenólicos tem aumentado muito, devido principalmente à habilidade antioxidante destas substâncias em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais à saúde humana (DORMAN et al., 2003).

Os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica como resultado de reações metabólicas que envolvem a transferência de elétrons. São moléculas que perderam um elétron de sua camada mais externa, ficando com outro desemparelhado e, por razões quânticas, esta tende a emparelhar com outro elétron de alguma outra molécula. Por este motivo, os radicais livres se tornam espécies muito instáveis, com meia-vida muito reduzida e muito reativas quimicamente (GUERRA FILHO; FANNAN, 1994; MOREIRA, 2013).

Como o elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio, os radicais livres são denominados de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e a presença desses radicais no organismo humano torna crítica a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (BARREIROS; DAVID, 2006; MOREIRA, 2013; POMPELLA, 1997).

As principais EROs distribuem-se em dois grupos, os radicalares: hidroxila (HO^\bullet), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroxila (ROO^\bullet) e alcoxila (RO^\bullet); e os não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Dentre as ERNs incluem-se o óxido nítrico (NO^\bullet), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (THOMAS; KAKYANARAMAN, 1997).

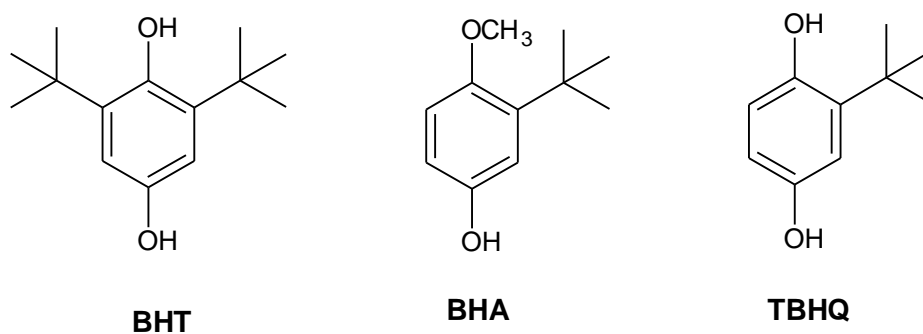
Estes radicais possuem diferentes papéis no organismo e encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Entretanto, seu excesso leva ao estresse oxidativo (conjunto de condições intra e extracelulares que leva à geração exacerbada de radicais livres, causando desequilíbrio na homeostase) e apresenta efeitos deletérios, tais como danos ao DNA, proteínas e organelas celulares, como mitocôndrias e membranas, provocando alterações na estrutura e funções celulares e, dessa forma, se encontram envolvidos em diversas patologias a exemplo de câncer, envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares, degenerativas e neurológicas, choque hemorrágico, catarata,

disfunções cognitivas, dentre outras (ALVES et al., 2010; MANACH e DONOVAN, 2004; KIM et al., 2008).

A produção contínua e em excesso de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de defesas pelo organismo, como o mecanismo de defesa antioxidante, com o intuito de limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos. Os compostos antioxidantes são os agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (SIES, 1993).

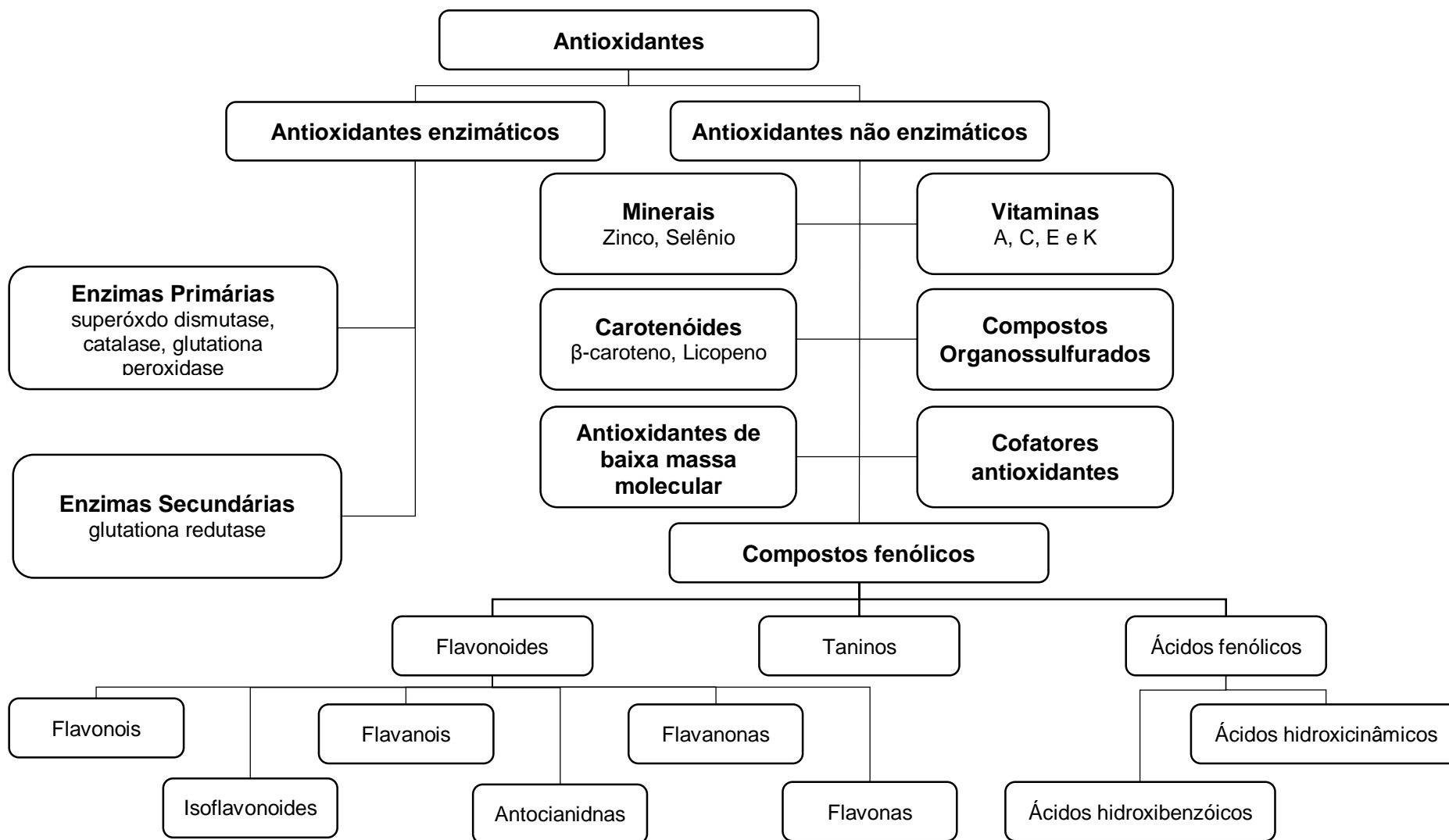
Existem duas categorias de antioxidantes, os de origem natural e os designados sintéticos (CHEUNG et al., 2003). Na indústria alimentar, a prática da adição de antioxidantes de natureza sintética, como o 2- ou 3-terc-butil-4-metoxifenol (BHA) e o di-terc-butilmetilfenol (BHT) e t-butil-hidroquinona (TBHQ) (Figura 17) tem sido frequente para a preservação de alimentos. No entanto, paralelamente têm sido descritas propriedades carcinogênicas, perante o consumo destes tipos de antioxidantes. Desta forma, alguns investigadores defendem a sua substituição por antioxidantes naturais (CONTINI et al., 2008; DUDONNÉ et al., 2009; RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 17 - Exemplos de alguns antioxidantes sintéticos.



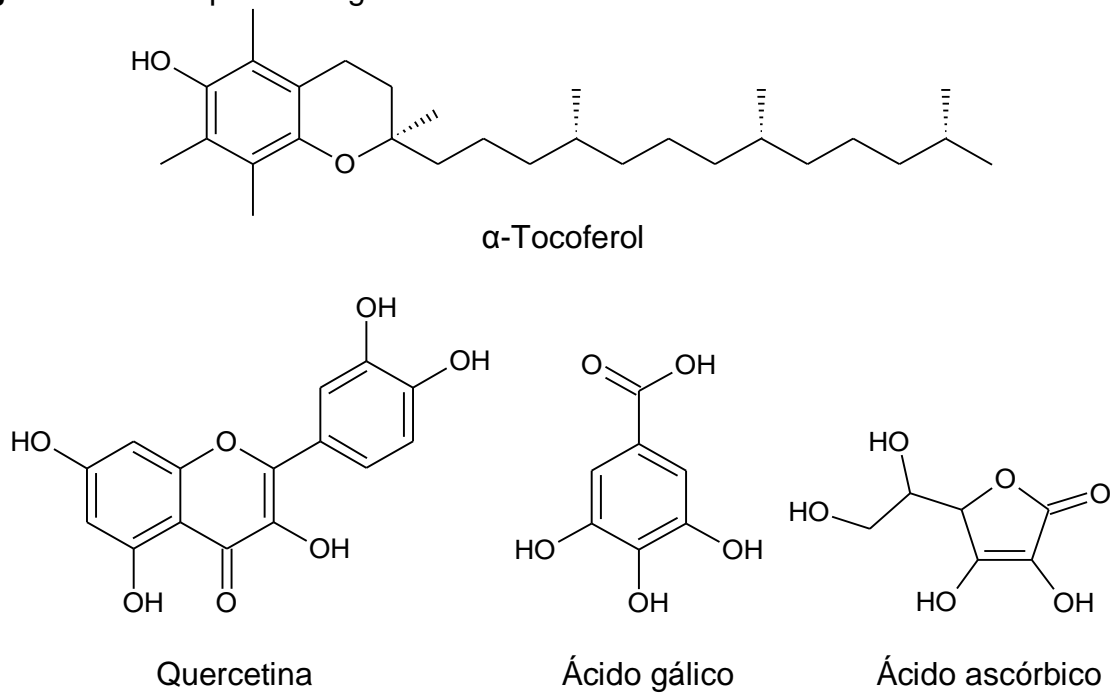
Os antioxidantes naturais dividem-se em dois grandes grupos, os enzimáticos e os não enzimáticos (Fluxograma 1). Os antioxidantes enzimáticos incluem as principais enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase. Alguns exemplos de antioxidantes não enzimáticos incluem a vitamina C, compostos fenólicos hidrossolúveis e compostos lipossolúveis (vitamina E e carotenoides) (RATNAM et al., 2006; NDHLALA et al., 2010).

Fluxograma 1 - Classificação dos antioxidantes. Adaptado de Ratnam et al. (2006).



Algumas substâncias com núcleo fenólico, como α -tocoferol, quercetina, ácido gálico e o ácido ascórbico (antioxidantes naturais – Figura 18) têm a capacidade de atuar como antioxidantes sequestrando radicais livres, prevenindo significativamente a oxidação de lipídios (além de reduzirem e quelarem íons férrico que catalisam a peroxidação lipídica) ou outras moléculas, retardando o envelhecimento e agindo na prevenção de diversas doenças (ALVES et al., 2010; ANDRADE et al., 2007; NEVES et al., 2009; ROESLER et al., 2007;). Estes compostos fenólicos estão presentes nos vegetais nas formas livres ou conjugados (ligados a açúcares e proteínas) e compreendem um grupo de componentes dietéticos não essenciais que estão associados à inibição de diversas doenças (BORGUINI, 2006).

Figura 18 - Exemplos de alguns antioxidantes naturais



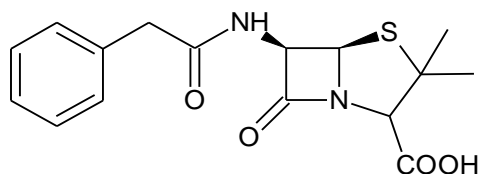
Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; entre eles, os mais usados baseiam-se nos métodos do sequestro dos radicais orgânicos ABTS e DPPH e quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios como o método da co-oxidação do β -caroteno (MORAIS et al., 2013; FRIDRIANI et al., 2013).

3.6. Considerações sobre atividade antimicrobiana

As primeiras descrições sobre o uso de agentes hoje conhecidos como antimicrobianos datam de 3.000 anos. Diversas civilizações antigas já conheciam as propriedades terapêuticas de mofos ou bolores e empregavam estes fungos no tratamento de feridas infectadas. Entretanto, foi somente a partir do século XIX, com o desenvolvimento da alquimia, que as drogas antimicrobianas passaram a ser obtidas por métodos laboratoriais (TAVARES, 2002).

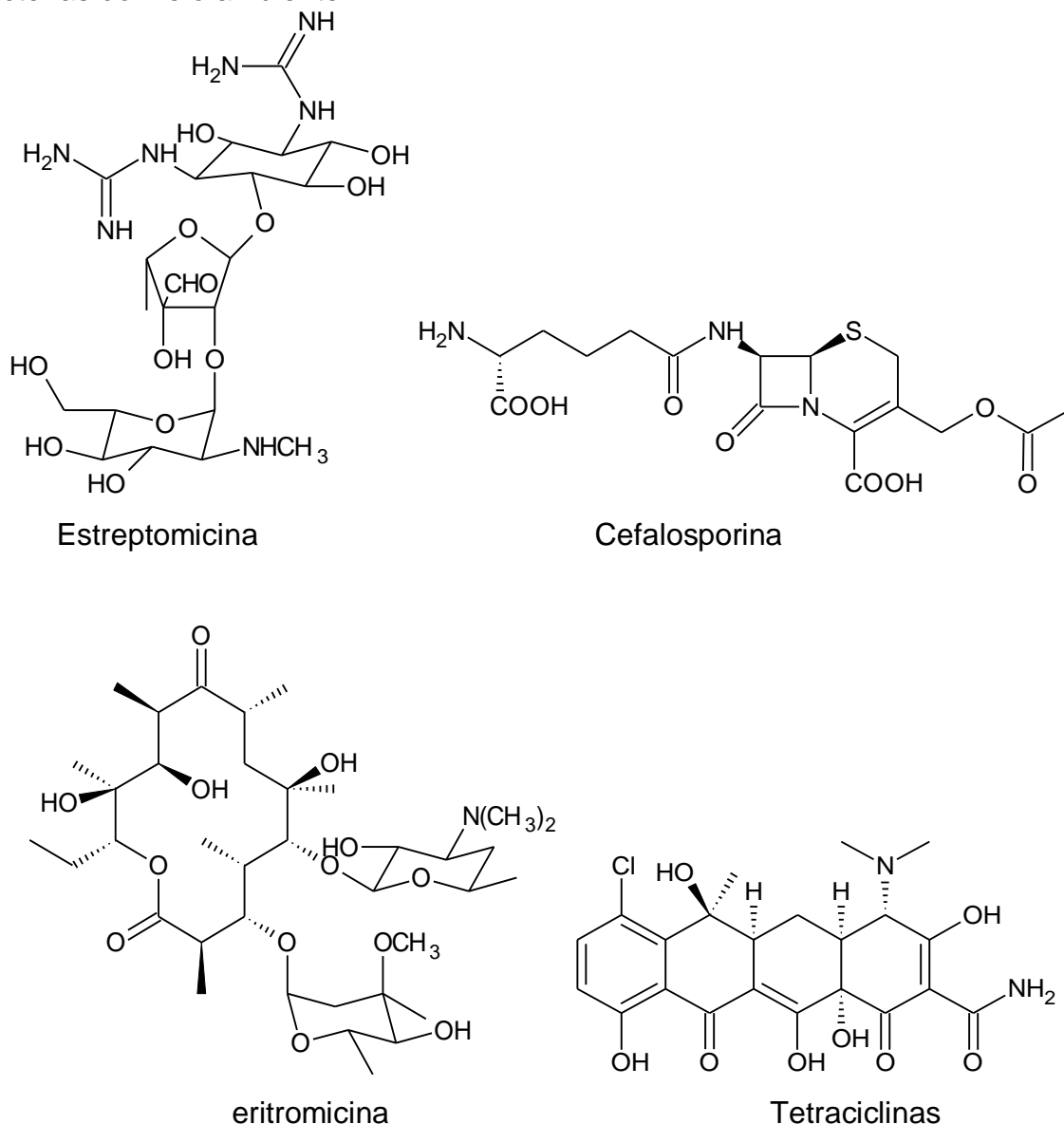
Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias e o grande marco no tratamento das infecções bacterianas ocorreu com a descoberta da penicilina (Figura 19) por Alexander Fleming em 1928. Somente em 1940 Chain, Florey e colaboradores conseguiram isolar estas moléculas das culturas do *Penicillium*, purificar o composto e realizar os primeiros ensaios clínicos com a droga (GUIMARÃES et al., 2010; MEIRELES, 2008).

Figura 19 - Estrutura molecular da penicilina.



A demonstração do efeito terapêutico da penicilina G estimulou a busca por novas substâncias anti-infecciosas originadas do metabolismo de microrganismos (FERNANDES, 2006). As pesquisas realizadas nos anos seguintes levaram à descoberta da estreptomicina, cefalosporina, eritromicina, tetraciclina (Figura 20) e de outros antibióticos naturais, obtidos de fungos ou de bactérias do meio ambiente (MEIRELES, 2008).

Figura 20 - Exemplos de alguns antibióticos naturais, obtidos de fungos ou de bactérias do meio ambiente.



Ao longo das últimas décadas, desde a descoberta das penicilinas naturais, o avanço da indústria farmacêutica levou ao surgimento de diversos antimicrobianos, com espectro de ação cada vez mais amplo. Entretanto, a exposição aos antibacterianos desencadeou resistência bacteriana, limitando as opções terapêuticas dos processos infecciosos (CUNICO et al., 2004).

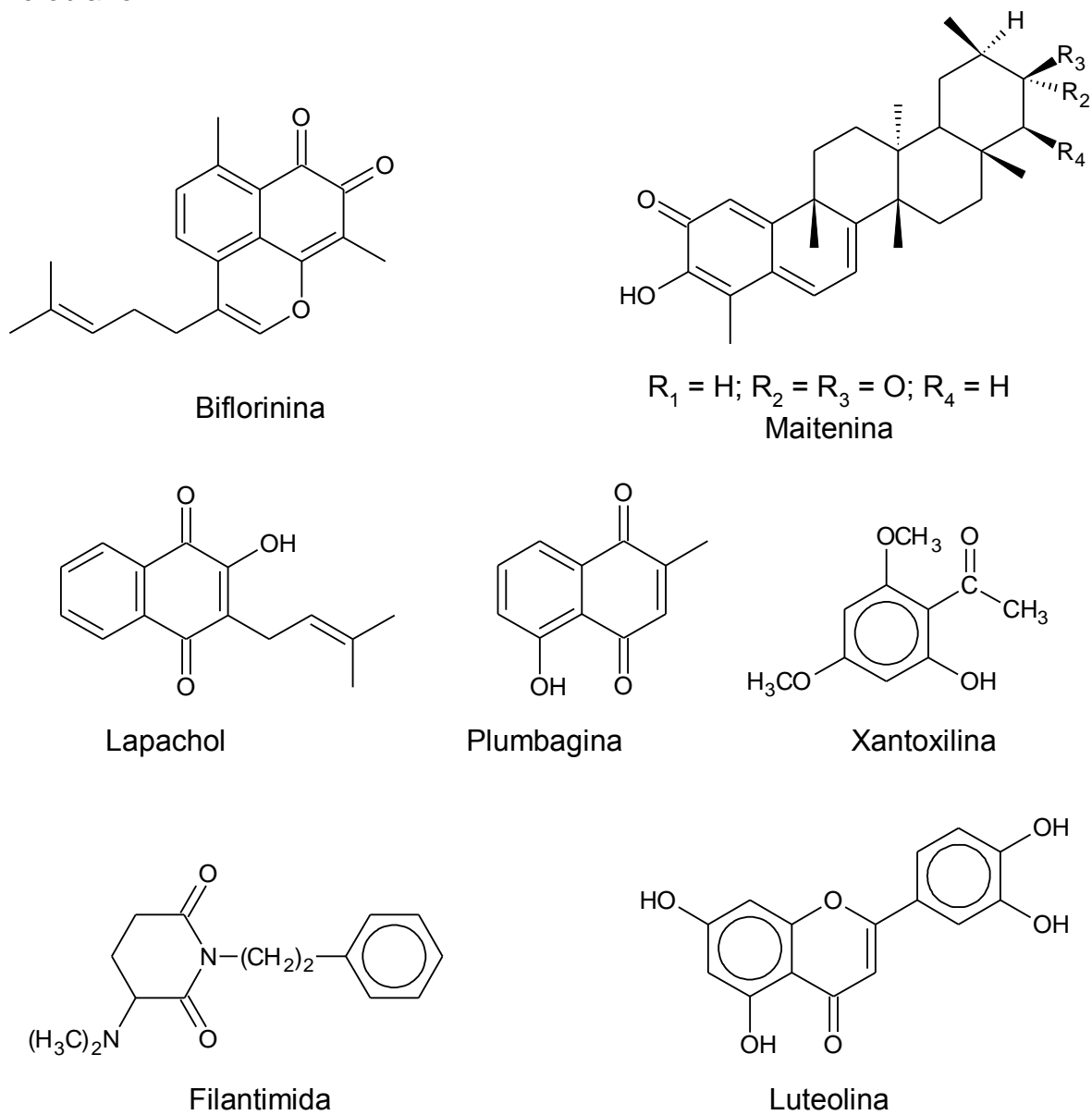
A pesquisa de extratos vegetais com ação antimicrobiana se apresenta como uma saída para o combate aos microrganismos patogênicos e múltiplas drogas devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, levando assim à procura dessas novas alternativas terapêuticas (PALMEIRA et al., 2010).

Os trabalhos relacionados à atividade antimicrobiana de plantas tiveram início na década de 1940. Em 1943, Osborn, pesquisando a atividade de 2300 plantas superiores contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, verificou que plantas pertencentes a 63 gêneros continham substâncias que inibiam o crescimento de um ou ambos os microrganismos (BRASÃO, 2012).

A partir de 1950 foram isolados os primeiros compostos de espécies vegetais: o diterpeno biflorina e o triterpeno maitenina (Figura 21). Outros compostos com propriedades antimicrobianas efetivas contra *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) foram isolados, como o lapachol e derivados, a plumbagina, a xantoxilina, filantimida, luteolina (Figura 21) (REZENDE, 2007; XU; LEE, 2001; ZACCHINO, 2001).

No Brasil, as pesquisas sobre substâncias antimicrobianas de origem vegetal tiveram início com Cardoso & Santos, em 1948, que avaliaram extratos de 100 diferentes plantas, indicadas em terapêutica como anti-inflamatórias ou cicatrizantes. Destas, apenas cinco extratos apresentaram atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichi coli* e *Proteus X-19* (SARTORI, 2005).

Figura 21 - Exemplos de metabólitos secundários inibidores do crescimento microbiano.



3.7. Considerações sobre atividade citotóxica

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças cuja principal característica é o crescimento descontrolado das células. Este termo deriva da palavra grega “*carcinos*” que quer dizer caranguejo. Comumente, esta palavra é usada para designar tumores malignos (BOMFIM, 2013).

Acredita-se que os tumores malignos passaram a ser chamados de câncer em decorrência de uma analogia entre a capacidade de aderência das células neoplásicas e a obstinação de um caranguejo quando se agarra a algo; comparação feita pelo considerado “pai da medicina”, Hipócrates (REDDY et al., 2003; KUMAR et al., 2004).

Uma avaliação cronológica do surgimento do câncer em primeiros fósseis de restos de animais e humanos, demonstra a ocorrência de malignidade na antiguidade. Evidências incluem inscrições, material arqueológico e espécimes paleontológicos. O primeiro diagnóstico histológico na literatura paleontológica relacionado a Egito antigo, foi de um câncer retal em uma múmia egípcia (ZIMMERMAN, 2003; DAVID; ZIMMERMAN, 2010).

O câncer pode ser caracterizado por uma proliferação ou diferenciação celular anormal, onde mesmo quando interrompido seu estímulo, o crescimento celular não cede. O seu desenvolvimento está associado a diversos fatores genéticos, ambientais, ocupacionais e comportamentais, como, por exemplo: a exposição à radiação, como também a algumas substâncias inorgânicas em seres humanos e experimentalmente em animais mostraram-se capazes de produzir danos ao DNA, provocando anormalidades no crescimento e diferenciação celular. É válido salientar que as mutações podem também ocorrer como resultado de erros na replicação celular, sem a interferência de fatores externos ao organismo (DOLL; PETO, 1981).

Os tumores malignos são responsáveis por um número expressivo e crescente de pacientes em todo o mundo, e representam a segunda causa de morte da população mundial (COSTA-LOTUFO et al., 2010). No Brasil, a estimativa é que ocorram mais de 580 mil casos novos no ano de 2014 com maior incidência de 19 tipos, sendo os principais: pele não melanoma (182 mil), próstata (69 mil); mama (57 mil); cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil) e estômago (20 mil) (INCA, 2014).

A busca por substâncias com atividade citotóxica e potencialmente anticancerígena sempre foi uma das prioridades da química medicinal e um grande

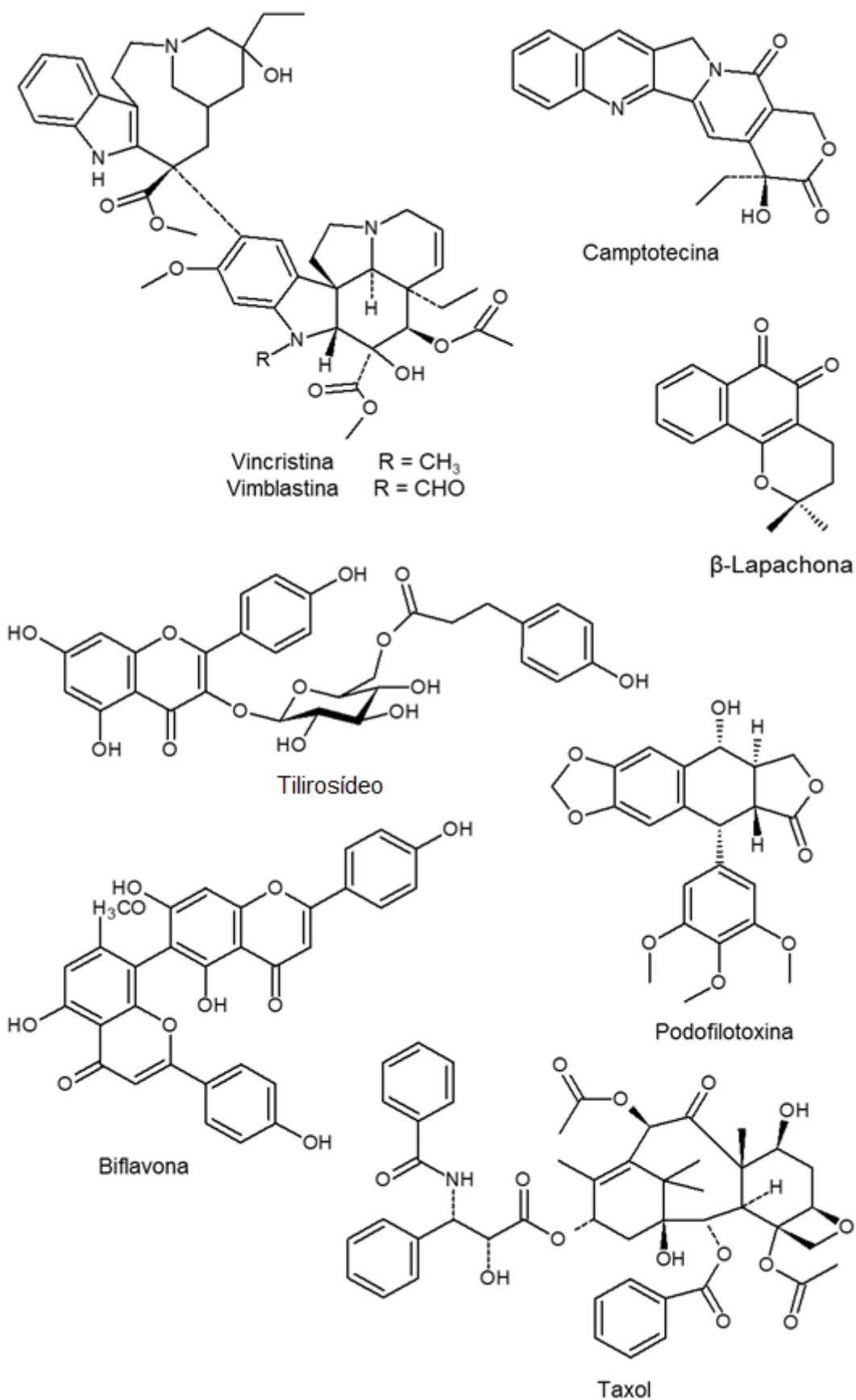
número de abordagens diferentes vem sendo utilizado nessa busca. No entanto, a descoberta de substâncias antitumorais seletivas permanece como um objetivo na pesquisa contra câncer (PISCO et al., 2006).

Apesar dos recentes estudos na área de química medicinal, atualmente os produtos naturais desempenham papel fundamental como fonte de novas drogas ou protótipos para o desenvolvimento de fármacos.

A busca por agentes anticâncer de fonte vegetal iniciou-se nos anos de 1950 com a descoberta e desenvolvimento dos alcaloides da vinca, vincristina e vimblastina, e o isolamento do produto citotóxico podofilotoxina (Figura 22) (CRAGG; NEWMAN, 2005). Como resultado, o Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (NCI) iniciou um extensivo programa de coleção de plantas em 1960, focado principalmente nas plantas da região temperada, o que levou à descoberta de muitos compostos naturais com uma ampla atividade citotóxica (CASSADY; DOUROS, 1980), incluindo o taxol e a camptotecina (Figura 22) (CRAGG; NEWMAN, 2005).

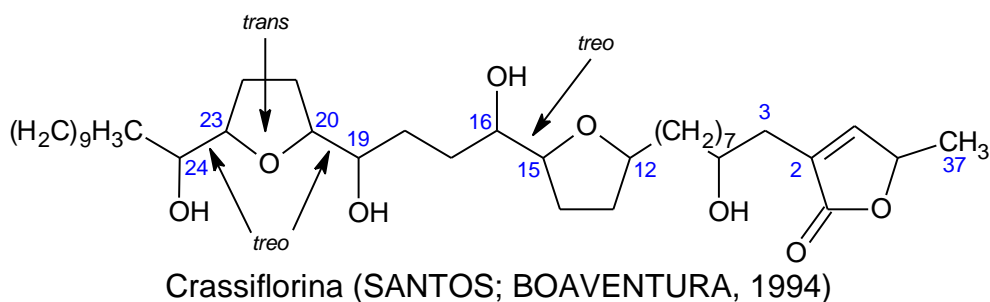
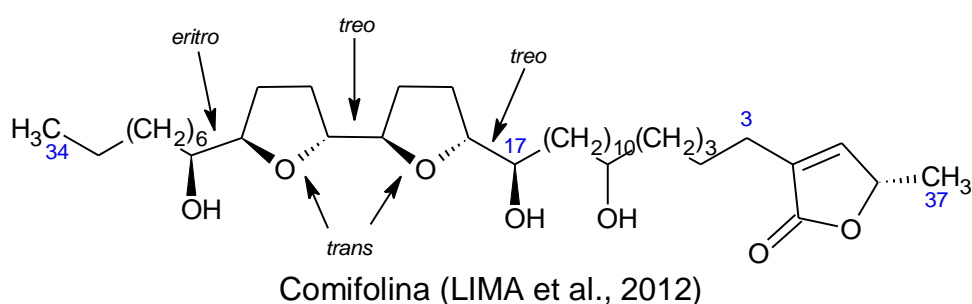
Outra importante classe dos metabólitos especiais que exibem relevantes atividades antitumoral e quimiopreventiva são os flavonoides, presentes em todas as plantas vasculares terrestres. Estudos das frações flavonoídicas da flora brasileira têm revelado novos agentes quimioterápicos, como a biflavona (Figura 22) obtida da espécie *Ouratea hexasperma* (família Ochnaceae), promissora na inibição da síntese do DNA e de proteínas das células do Sarcoma 180 (PISSINATE, 2006); como também, o flavonoide tilirosídeo (Figura 22) isolado da espécie *Solanum crinitum* (família Solanaceae) citotóxico às culturas celulares *in vitro* tanto do carcinoma ascítico de Ehrlich quanto da leucemia humana K562 (ESTEVES-SOUZA et al., 2002).

Figura 22 - Exemplos de metabólitos secundários obtidos do estudo das plantas medicinais.



Recentemente, muitos estudos estão sendo realizados com o objetivo de isolar acetogeninas, que são uma classe de compostos encontrados exclusivamente em espécies da família Annonaceae e que possui ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010), tais como citotóxica, imunossupressora, pesticida, antiparasitária e antimicrobiana (LIMA et al., 2010) e inibidoras do Complexo I mitocondrial (GONZALEZ et al., 1997).

Figura 23 - Exemplos de acetogeninas com atividade citotóxica comprovada.



4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL



4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Coleta e identificação do material botânico

Folhas, talos e frutos de atemoia foram coletados próximo ao Rodeadouro em Petrolina (Coordenadas: 9°23'19" S e 40°29'3" W), estado de Pernambuco, Brasil, no mês de maio de 2012. A identidade botânica da planta foi confirmada pelo professor José Alves de Siqueira Filho e uma exsicata (16310) (Figura 24) e encontra-se depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF) da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF).

Figura 24 - Exsicata da atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*).



Folhas de atemoia foram coletadas, ainda, nos meses de julho e outubro de 2013, no Perímetro Irrigado Senador Nilo Coelho, Núcleo 4, em Petrolina (Coordenadas: 9°20'30,4" S e 40°40'42,1" W), Pernambuco, Brasil. A autenticidade da espécie foi feita por comparação com a exsicata 16310, depositada no HVASF.

4.2. Processamento do material vegetal para obtenção dos extratos brutos

Folhas e talos (primeira coleta) foram submetidos, separadamente, à secagem em estufa com circulação de ar a 45 °C por sete dias consecutivos. Ao final, as partes foram trituradas em moinho mecânico, fornecendo 881 g de folhas e 371 g de talos. As folhas secas e pulverizadas foram maceradas com hexano e, posteriormente, com metanol (881 g de pó seco em 1,5 L de solvente) à temperatura ambiente. Os talos foram submetidos à maceração com álcool etílico (371 g de pó seco em 2 L de solvente). Para cada procedimento, foram realizadas 3 extrações num intervalo de 72 horas entre cada extração. As soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, e após evaporação do solvente, obteve-se os extratos hexânico (EHf - 63 g) e metanólico (EMf – 169 g) das folhas e o extrato etanólico dos talos (EEt – 33 g).

Pequenas quantidades dos extratos foram retiradas e submetidas à realização dos ensaios biológicos

4.3. Estudo químico e biológico dos extratos brutos

4.3.1. Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica foi realizada por cromatografia em camada delgada analítica, com diferentes sistemas de solventes, seguindo metodologia preconizada por WAGNER; BLADT, 1996 (Tabela 5). Todos os solventes e reagentes empregados apresentavam grau de pureza PA - padrão analítico. Os resultados foram interpretados de acordo com critérios qualitativos adotados e expressos na tabela 6, de acordo com a intensidade da pigmentação da amostra eluída na placa, frente aos solventes e reveladores específicos.

Tabela 5 - Sistemas de eluição e reveladores utilizados na triagem fitoquímica em CCD, para as classes específicas de metabólitos secundários.

Grupo Químico	Sistemas de eluição	Reveladores
Alcaloides	Tolueno: acetato de etila: dietilamina (70:20:10, v/v)	Reagente de Dragendorff
Derivados antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10, v/v)	KOH etanólico 10%
Cumarinas	Tolueno: éter etílico (1:1 saturado com ácido acético 10%, v/v)	KOH etanólico 10%
Flavonoides e Taninos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26, v/v)	Reagente NEU
Lignanias	Clorofórmio: metanol: água (70:30:4, v/v)	Vanilina fosfórica
Mono e Diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7, v/v)	Vanilina sulfúrica
Naftoquinonas	Tolueno: ácido fórmico (99:1, v/v)	KOH etanólico 10%
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético glacial: metanol: água (64:32:12:8)	Vanilina
Triterpenos e Esteroides	Tolueno: clorofórmio: etanol (40:40:10, v/v)	Reagente de Lieberman-Burchard

Tabela 6 - Critérios de avaliação da concentração dos metabólitos presentes nos extratos.

Grau de intensidade (concentração)	Critérios
Maior	(+++)
Moderada	(++)
Menor	(+)
ausente	(-)

Os critérios foram estabelecidos com base na intensidade da pigmentação das substâncias nas placas, frente aos eluentes e reveladores específicos, em que (+) equivale a presença do constituinte em menor concentração, (++) em concentração moderada, (+++) em maior concentração e (-) ausência do constituinte químico.

4.3.2. Determinação do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi mensurado através do método colorimétrico que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu (SIGMA) e ácido gálico como padrão, baseado no método descrito por Slinkard; Singleton (1977), apenas os volumes foram ajustados (ALMEIDA et al., 2011b). Para isso, uma alíquota (40 µL) dos extratos e fases diluídos foi adicionada a 3,16 mL de água destilada e 200 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, sendo misturados logo em seguida. A mistura foi deixada em repouso por 6 minutos e posteriormente foram adicionados 600 µL de uma solução estoque de Na₂CO₃ e misturados bem. As soluções finais foram deixadas em repouso a 20 °C por 2 horas. Ao final do processo, a absorbância de cada solução foi determinada em espectrofotômetro (QUIMIS) em 756 nm contra o branco (todos os componentes, exceto a amostra em análise) e os resultados foram plotados em um gráfico que correlaciona a absorbância da amostra com sua concentração. Assim, o teor de compostos fenólicos totais dos extratos foi expresso como mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EqAG/g), através da curva de calibração do ácido gálico. A curva de calibração foi obtida em concentrações que variaram de 50 a 1000 mg/L. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.3.3. Determinação do teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado através do método colorimétrico por complexação metálica descrito anteriormente por Zhishen e colaboradores (1999). Inicialmente, 300 µL dos extratos e fases ou da solução padrão de (+)-catequina foram adicionadas a 1,5 mL de água destilada. Posteriormente, foram adicionados 90 µL de uma solução de NaNO₂. Após 6 minutos de reação, 180 µL de uma solução de AlCl₃.H₂O 10% foram adicionados à mistura. Após 5 minutos de reação, 600 µL de uma solução de NaOH 1M foram adicionados à mistura anterior. Finalmente, completou-se o volume com 330 µL de água destilada e o sistema foi homogeneizado por completo. A absorbância foi mensurada contra o branco em 510 nm, em espectrofotômetro (QUIMIS), imediatamente após a obtenção da mistura final, em comparação com soluções padrões contendo (+)-catequina em concentrações conhecidas. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina por grama de amostra (mg EqC/g) por meio de comparação com a curva padrão da catequina, obtida em concentrações que variaram de 50 a 1000 mg/L. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.3.4. Avaliação da atividade antioxidante

4.3.4.1. Método do sequestro do radical DPPH

A capacidade de sequestro do radical livre foi medida utilizando o ensaio do 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (MENSOR et al., 2001). As soluções estoques (1,0 mg/mL) das amostras e padrões (ácido ascórbico, BHA e BHT) foram preparadas e diluídas até concentrações finais de 243, 81, 27, 9, 3 e 1 µg/mL em etanol. A solução de DPPH foi preparada em etanol na concentração de 50 µg/mL. Foi adicionado 1 mL dessa solução a 2,5 mL das soluções de diferentes concentrações das amostras e padrões, e deixou-se reagir por 30 min à temperatura ambiente. Em seguida, os valores de absorbância foram medidos em 518 nm e convertidas em percentagem da atividade antioxidante (AA), utilizando a seguinte fórmula:

$$\%AA = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100$$

Em que: A_{controle} indica a absorvância do controle e A_{amostra} indica a absorvância para a amostra. Soluções de etanol (1,0 mL) com as amostras em estudo (2,5 mL) foram utilizadas como branco. A solução de DPPH (1,0 mL) com etanol (2,5 mL) foi usada como o controle negativo. Os controles positivos foram os das soluções padrões (ácido ascórbico, BHA e BHT). Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em CE_{50} , onde os valores foram calculados por regressão linear.

4.3.4.2. Método do sequestro do radical ABTS

A capacidade para sequestrar o cátion radical ABTS foi determinada de acordo com metodologia descrita previamente (CHEN et al., 2011). Preparou-se a solução de $ABTS^+$ pela reação de 7 mM (5 mL) de ABTS e 2,45 mM (88 μ L) de persulfato de potássio, após incubação à temperatura ambiente, no escuro, durante 16 h. Esta solução foi então diluída com etanol para se obter uma absorvância de $0,700 \pm 0,005$ a 734 nm. A solução $ABTS^+$ (2,7 mL) foi cuidadosamente misturada com 0,3 mL das amostras do teste. A mistura de reação foi deixada em repouso a 30 °C durante 30 min e a absorvância em 734 nm foi registrada em espectrofotômetro. Amostras de Trolox® com as mesmas concentrações foram utilizadas como padrões.

4.3.4.3. Método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico

O método da inibição da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico é baseado na perda da coloração amarela do β -caroteno, devido à sua reação com os radicais formados pela oxidação do ácido linoleico através da aeração do meio (WANNES et al., 2010). A taxa de descoloração do β -caroteno pode ser retardada na presença de antioxidantes. Assim, para o preparo do meio oxidante foram dissolvidos 2 mg de β -caroteno em 10 mL de clorofórmio e foram adicionados a 2 mL desta solução 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40. O clorofórmio foi evaporado sob vácuo a 40 °C e 100 mL de água destilada foram adicionados. Em

seguida, a mistura foi agitada vigorosamente durante 2 minutos, conferindo a oxidação do meio. As soluções dos padrões (ácido ascórbico, BHA e BHT) e das amostras em estudo foram preparadas em etanol na concentração de 1 mg/mL. O meio oxidante (3,0 mL) foi adicionado a uma cubeta contendo 0,12 mL dessas soluções. A absorbância foi medida imediatamente em 470 nm e, em seguida, as amostras foram incubadas em banho-maria a 50 °C, durante 2 horas, quando a absorbância foi medida novamente. O ácido ascórbico, BHT e BHA foram usados como controle positivo. No controle negativo, os extratos foram substituídos por um volume igual de etanol. A porcentagem de atividade antioxidante (%) foi avaliada em termos de branqueamento do β-caroteno utilizando a seguinte fórmula:

$$\%AA = \frac{1 - (A_0 - A_t)}{A_0^0 - A_t^0} \times 100$$

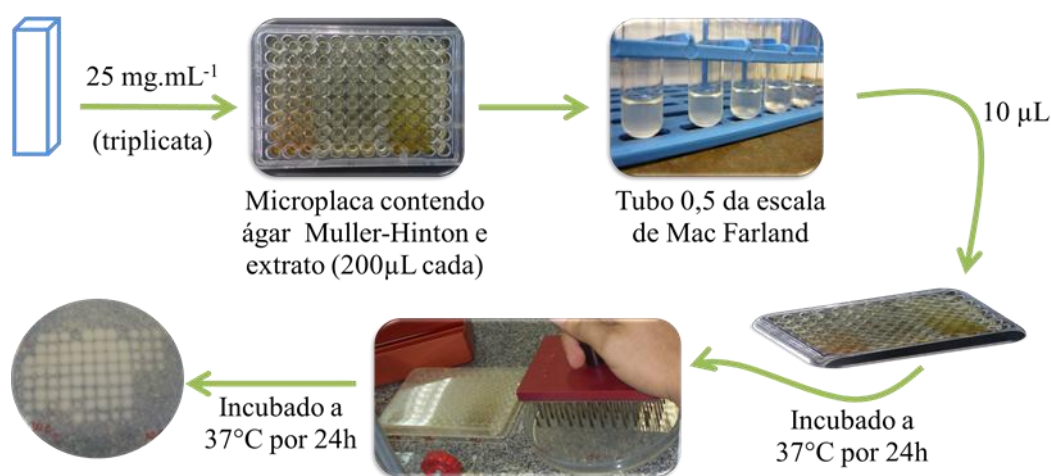
Em que: A_0 é a absorbância inicial e A_t é a absorbância final medida para a amostra de teste, trata-se da absorbância inicial e é a absorbância final medida para o controle negativo (branco). Os resultados foram expressos como porcentagem de atividade antioxidante (% AA). Os testes foram realizados em triplicata.

4.3.5. Avaliação da atividade antibacteriana

A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada frente às cepas de *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* [ATCC 12228] e um isolado clínico de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). A atividade foi determinada por meio do protocolo de microdiluição baseando-se no documento M7-A7 do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), com modificações (OLIVEIRA-JÚNIOR et al., 2012). Os extratos brutos (EEt, EHf e EMf) foram ajustados à concentração de 25.000 µg/mL e submetidos a diluições em série, obtendo-se as concentrações 12.500, 6.250; 3.125; 1.562,5; 781,2; 390,6; 195,3 e 97,6 µg/mL. No preparo do inóculo, colônias foram desenvolvidas em ágar Muller-Hinton (MH) e então suspensas em solução com turbidez equivalente à escala 0,5 de McFarland. Desta suspensão, 10 µL foram inoculados nos poços de microplacas

contendo as diluições seriadas dos extratos. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. Com auxílio de um replicador, alíquotas foram retiradas das microplacas e semeadas na superfície de placas de Petri contendo ágar MH, sendo incubadas a 37 °C por 24 h. A concentração bactericida mínima (CBM) foi definida como sendo a menor concentração do extrato capaz de causar a morte do inóculo bacteriano. Os testes foram realizados em triplicata.

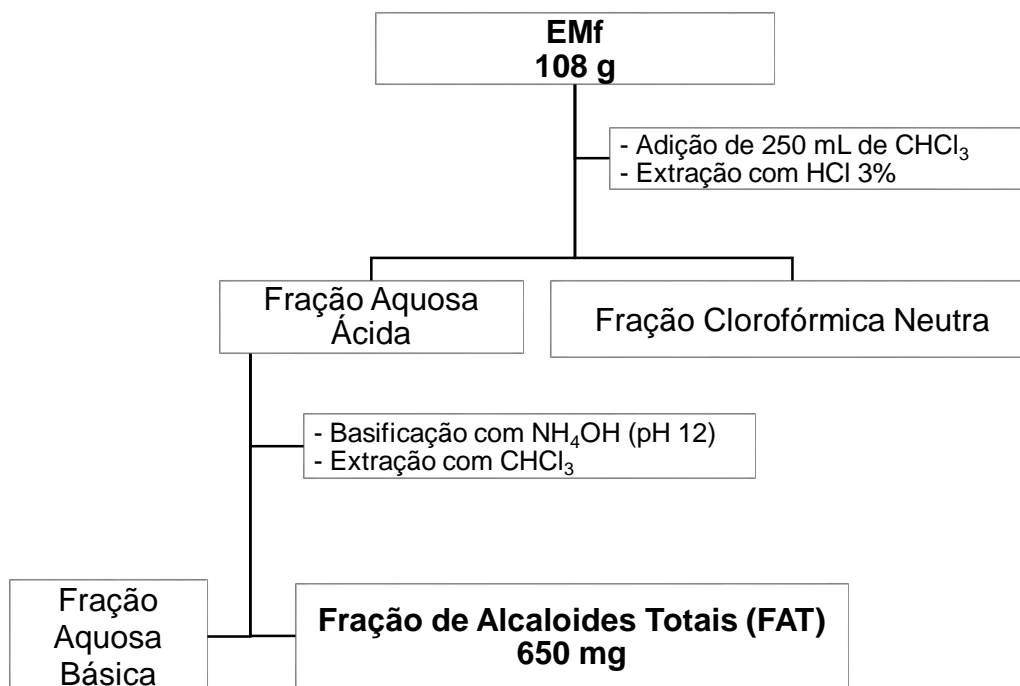
Figura 25 - Esquema de etapas da metodologia empregada na análise de atividade antibacteriana.



4.4. Extração das bases (alcaloides) presentes no extrato metanólico ativo – EMf

A triagem fitoquímica realizada com o extrato metanólico das folhas (EMf) de atemoia, evidenciou a presença de alcaloides. Sendo assim, EMf foi submetido à extração ácido-base seguindo metodologia descrita por Costa e colaboradores (2006). Para tal, ao EMf (108 g) foi adicionado 250 mL de clorofórmio e extraído sucessivamente com solução de ácido clorídrico a 3% v/v, obtendo-se duas frações: a fração aquosa ácida e a fração clorofórmica neutra. A fração aquosa ácida foi basificada com hidróxido de amônio concentrado (NH₄OH) até pH 12 e extraída com CHCl₃ sucessivamente, para obtenção da fração clorofórmica alcaloídica (650 mg) aqui chamada de Fração de Alcaloides Totais (FAT) (Fluxograma 2).

Fluxograma 2 - Fluxograma do tratamento ácido/base do EMf.



4.5. Estudo fitoquímico da Fração de Alcaloides Totais (FAT) proveniente do EMf

A FAT (650 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC) utilizando alumina neutra (óxido de alumínio) da Fluka Analytical como adsorvente. Como eluentes foram utilizados hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. O resultado foi a obtenção de 249 frações de 125 mL cada (Fluxograma 3). As frações obtidas foram monitoradas por cromatografia em camada delgada analítica, CCDA, em placas da Silicycle TLC – Aluminum F₂₅₄, eluídas em variados sistemas de solventes, e as que apresentaram o mesmo fator de retenção foram reunidas (Tabela 7).

Fluxograma 3 - Fracionamento cromatográfico da FAT.

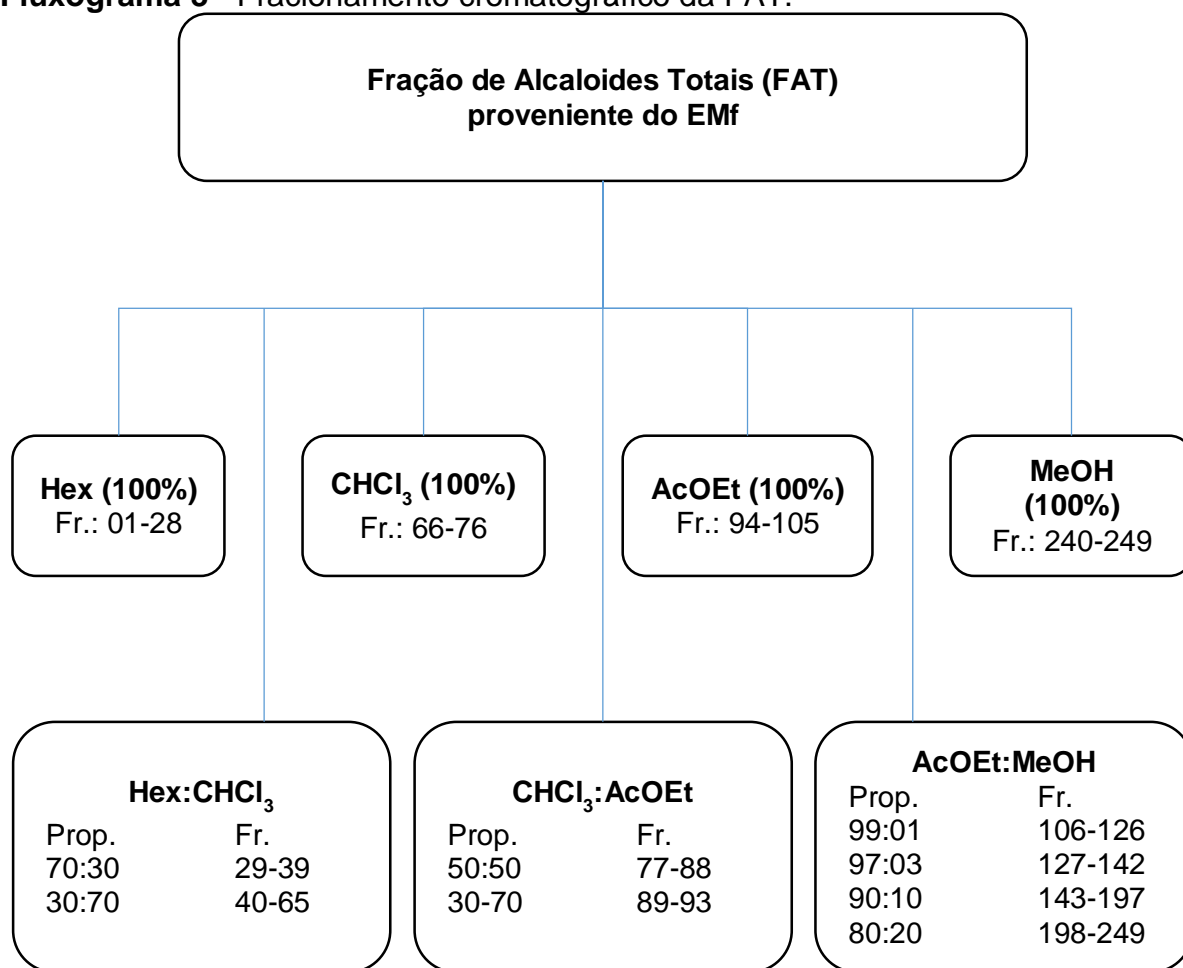


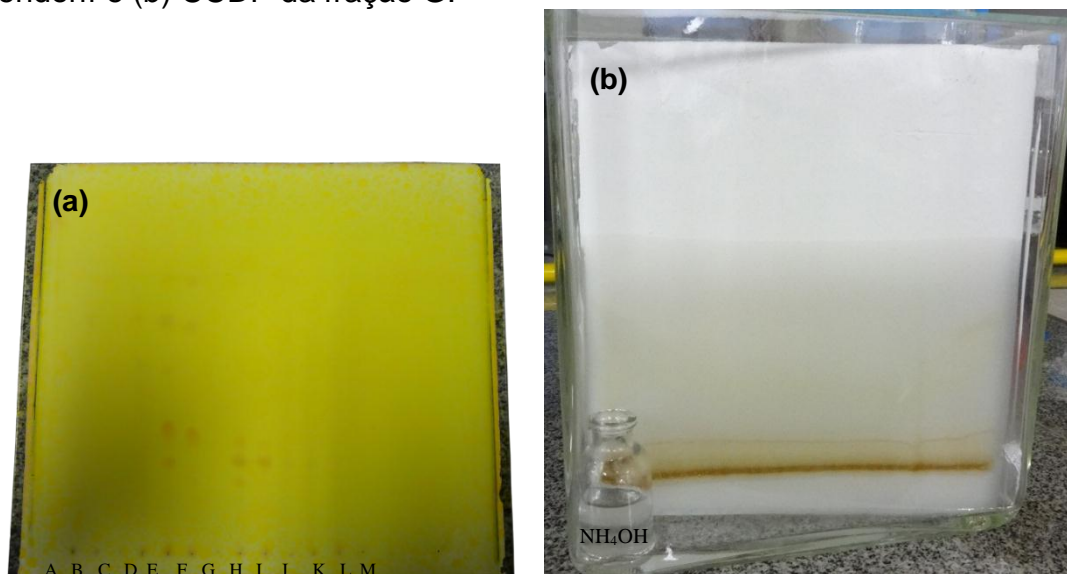
Tabela 7 - Reunião das frações obtidas do fracionamento da FAT proveniente do EMf.

Grupo de Frações	Frações	Rendimento (mg)
A	01-43	73,8
B	44-71	75,1
C	72-84	9,8
D	85-107	5,5
E	108-132	46,6
F	133-145	101,5
G	146-150	35,7
H	151	2,5
I	152-165	42,1
J	166-186	26,6
K	187-199	9,8
L	200-209	11,4
M	210-249	60,0

Os grupos das frações reunidas, frações de A a M, foram submetidas a cromatografia em placas de CCDA (0,25 mm) preparadas com sílica gel 60 PF₂₅₄ (MERCK) e eluídas nos sistemas de solventes CHCl₃:MeOH (95:05) por duas vezes.

O grupo de Frações G, por apresentar resultado positivo para presença de alcaloides quando revelado com reagente de Dragendorff (Figura 26a), foi submetido à cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) (1,00 mm), utilizando CHCl₃:MeOH (95:05) como sistema de eluição e em cuba saturada com NH₄OH (Figura 26b). Este procedimento resultou no isolamento da substância **Aa.1** (3,5 mg), que foi submetida às análises de RMN de ¹H e ¹³C uni e bidimensionais.

Figura 26 - (a) Plca de CCDA das frações A a M da coluna da FAT, reveladas com Dragendorff e (b) CCDP da fração G.



Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN de ^{13}C) uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro Bruker NMR (DRX 500), operando na frequência do hidrogênio a 500 MHz e na do carbono-13 a 125 MHz. A amostra foi preparada para análise solubilizando-se pequena quantidade da mesma em clorofórmio deuterado (CDCl_3) da CIL (Cambridge Isotopes Laboratories). Os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados para RMN de ^1H pelos picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas destes solventes em relação ao TMS (tetrametilsilano): clorofórmio ($\delta_{\text{H}} = 7,24$ ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , em relação ao TMS foi utilizado clorofórmio ($\delta_{\text{C}} = 77,0$ ppm). As multiplicidades das bandas de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (simpleto), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *q* (quarteto), *m* (multiplete).

4.7. Óleos essenciais

4.7.1. Obtenção e caracterização dos óleos essenciais de atemoia – OE.1, OE.2 e OE.3

Para obtenção do OE.1, 1503,5 g de frutos frescos de atemoia foram submetidos ao processo de extração por hidrodestilação adaptado a um aparelho tipo Clevenger, por 2,0 horas. A água residual do processo de extração foi retirada pela diminuição da temperatura ao ponto de congelamento da água para que, uma vez solidificada, o resíduo desta se separasse do óleo essencial que se mantém em fase líquida.

A caracterização foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM), na Universidade Estadual de Campinas. A análise foi realizada em um cromatógrafo Hewlett-Packard 5890 Série II, equipado com detector seletivo de massas Hewlett-Packard 5971, injetor *split/splitless*, utilizando coluna capilar HP-5 (25 m x 0,20 mm x 0,33 diâmetro). Temperaturas: injetor = 220°C, detector = 280°C, coluna = 60°C, 3°C.min⁻¹, 240°C (7 min). Vazão do gás de arraste (He super seco) = 1,0 mL.min⁻¹. O sistema de ionização de elétrons do CG-EM foi de 70 eV. Os índices de retenção (IR) foram determinados por co-injeção de padrões de hidrocarbonetos. Os componentes do óleo foram identificados por comparação com dados da literatura (ADAMS, 2001), dos perfis das bibliotecas Wiley 138 e Nist 98 e por co-injeção de uma série de *n*-alcanos. A amostra foi diluída em acetato de etila (10 mg.mL⁻¹).

O OE.2 foi obtido a partir de 831,8 g de folhas frescas de atemoia, coletadas no mês de julho de 2013. As condições de extração foram iguais às citadas anteriormente. A caracterização química foi realizada por CG-EM, na Universidade de São Paulo. As substâncias presentes no OE.2 foram investigadas em um cromatógrafo à gás acoplado à espectro de massa (Shimadzu QP-2010) usando as seguintes condições: coluna DB-5MS Shimadzu com as dimensões 30 metros x 0,25 mm x 0,25 µm; hélio (99.999%) como gás de arraste em um fluxo constante de 1,1 mL/min⁻¹; volume de injeção 1 µL; injetor *split* de razão 1:40; temperatura de injeção de 240 °C; impactação de elétrons a 70 eV; fonte de ionização a 280 °C. A temperatura do forno foi programada de 100 °C (isotérmica por 5 min), com um

aumento de 10 °C/min até 250 °C (isotérmica por 5 min) e 10 °C/min até 280 °C (isotérmica por 15 min).

Um mistura de hidrocarbonetos lineares (C_9H_{20} – $C_{40}H_{82}$) foi injetada sob as mesmas condições experimentais que as amostras e a identificação dos componentes foi efetuada por comparação com os espectros do banco de dados do equipamento (Wiley 7 e Nist 08) e usando o índice de Kovats, calculado para cada componente (ADAMS, 1995; VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

O OE.3 foi obtido a partir de 100 g de folhas de atemoia secas à temperatura ambiente durante 48 horas. A coleta do material foi realizada em outubro de 2013 e o processo de extração foi por hidrodestilação, em aparelho do tipo Clevenger adaptado, por 3,0 h. A análise da composição química foi realizada na Universidade Federal de Sergipe.

A análise da composição química do OE.3 foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM; Shimadzu, modelo QP 5050A; Kyoto, Japão), equipado com um auto injetor AOC-20i (Shimadzu) e coluna capilar de sílica fundida J&W Scientific (5%-fenil-95%-dimetilpolisiloxano) de 30 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm de espessura de filme, usando He como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL.min⁻¹; temperatura do forno foi programada mantendo-se constante a 50 °C durante 1,5 min, seguido de um aumento de 4 °C.min⁻¹ até atingir 200 °C, depois a 10 °C.min⁻¹ até atingir 250 °C mantendo constante esta temperatura por 5 min.; temperatura do injetor de 250 °C e temperatura do detector de 280 °C; volume de injeção foi de 0,5 µL do óleo diluído em acetato de etila (25 mg.mL⁻¹); taxa de partição do volume injetado de 1:100 e pressão na coluna de 64,20 kPa. As condições do EM foram: detector de captura iônica operando com ionização por impacto de elétrons a 70 eV; velocidade de varredura 1.000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/s e fragmentos detectados na faixa de 40 a 500 Da.

4.7.2. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos – OE.1

A avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos foi realizada no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – CPQBA, da Universidade Estadual de Campinas. As amostras dos óleos foram testadas contra 11 cepas de bactérias e fungos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus hirae*, *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. Os resultados foram expressos em valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) em mg/mL.

4.7.3. Avaliação da atividade citotóxica do óleo essencial dos frutos – OE.1

A avaliação do potencial antitumoral *in vitro*, do óleo essencial dos frutos de atemoia foi realizada no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará.

O estudo citotóxico foi realizado pelo método MTT, descrito primeiramente por Mosmann (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. Este é um método colorimétrico baseado na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. A partir deste estudo é possível definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE et al., 1996).

Para tal, a amostra foi diluída em DMSO P.A. estéril e as substâncias foram testadas na concentração de 5 µg/mL (substância pura).

As linhagens tumorais utilizadas, HCT-116 (colorretal humano), OVCAR-8 (ovário humano) e SF-295 (glioblastoma humano) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

As linhagens celulares utilizadas foram plaqueadas nas concentrações de 0,7 x 10⁶ céls/mL (HCT-116), 0,1 x 10⁶ céls/mL (OVCAR-8) e 0,1 x 10⁵ céls/mL (SF-295). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao

término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média ± desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa GraphPad Prism. Cada amostra foi testada em triplicata em dois experimentos independentes.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (SA), com pouca atividade (PA, inibição de crescimento celular variando de 1 a 50%), com atividade moderada (MO, inibição de crescimento celular variando de 50 a 75%) e com muita atividade (MA, inibição de crescimento variando de 75 a 100%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Extratos brutos

5.1.1. Triagem fitoquímica

Os extratos etanólico dos talos (EEt) e hexânico e metanólico das folhas de atemoia (EHf e EMf, respectivamente) foram submetidos a uma triagem fitoquímica preliminar, com o objetivo de se conhecer os constituintes químicos presentes nos mesmos e caracterizar fitoquimicamente este híbrido.

A triagem detectou a presença de flavonoides, taninos, lignanas, mono e diterpenos em todos os extratos (Tabela 8). O EMf revelou ainda, resultado positivo para presença de outros constituintes como alcaloides, derivados antracênicos, naftoquinonas, triterpenos e esteroides.

Tabela 8 - Resultado da triagem fitoquímica dos extratos brutos de atemoia.

Grupo Químico	EEt	EHf	EMf
Alcaloides	-	-	+
Derivados antracênicos	-	-	++
Cumarinas	-	-	-
Flavonoides e taninos	+	+	++
Lignanas	++	+	+++
Mono e diterpenos	+	+++	++
Naftoquinonas	-	-	+
Triterpenos e esteróides	-	-	+++

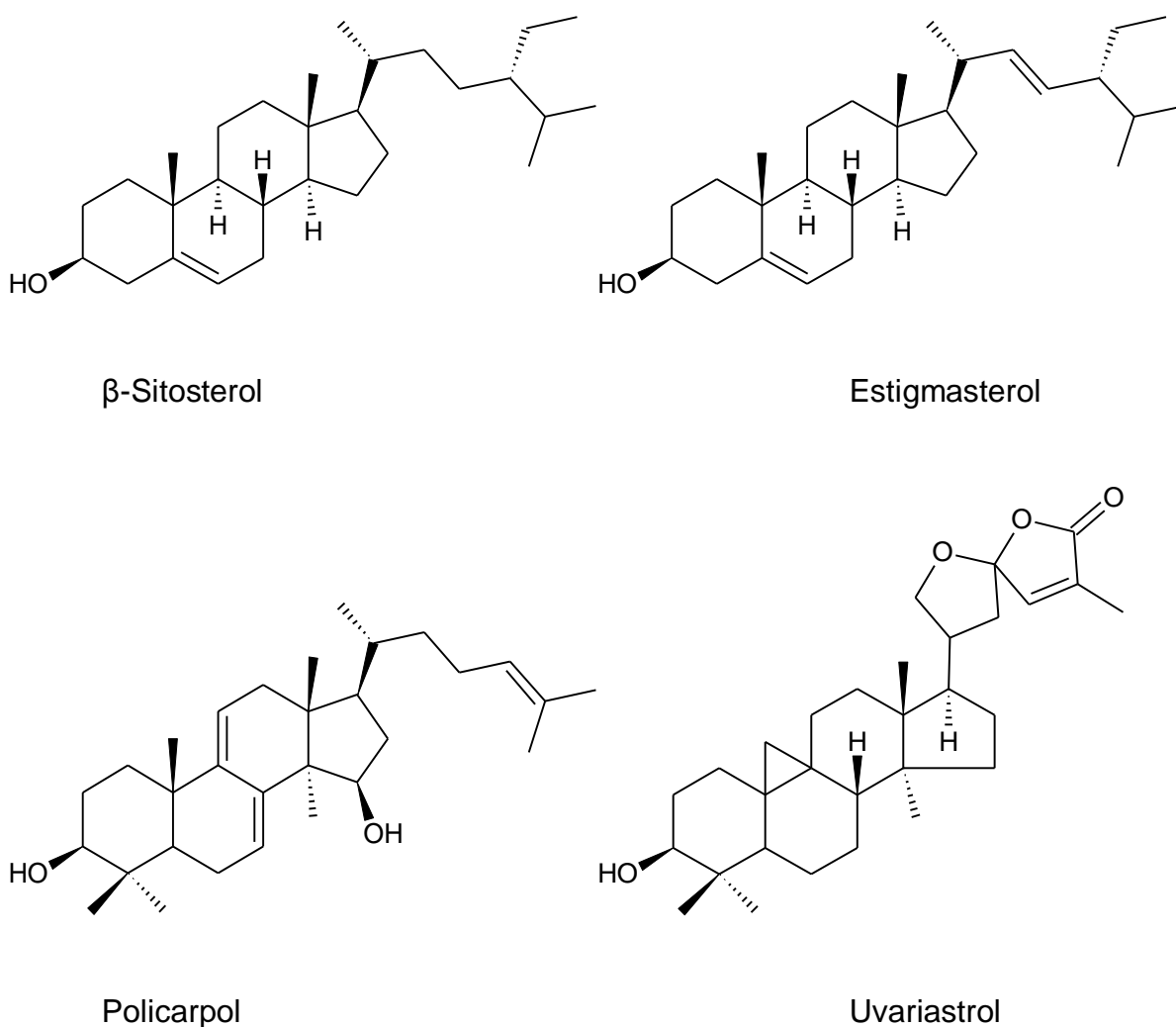
(+) menor concentração; (++) concentração moderada; (+++) maior concentração e (-) ausência do constituinte químico.

A presença de alcaloides no EMf direcionou os estudos visando o isolamento e elucidação estrutural dos mesmos. O isolamento do alcaloide Anomuricina (Figura 41), confirmou este resultado.

Em estudo realizado com extratos metanólico e aquoso da polpa dos frutos de *A. squamosa*, desenvolvido por Nandhakumar & Indumathi (2013), triterpenos e esteroides não foram detectados, assim como em folhas e cascas de *Annona coriacea* Mart (DA SILVA et al., 2010). Porém, há relatos do isolamento destes

constituintes em outras espécies da família Annonaceae, como é o caso do policarpol (Figura 27), triterpeno tetracíclico do tipo lanostano que foi isolado de cascas e galhos de *Unonopsis duckei* (SILVA et al., 2011); uvariastrol (Figura 27), triterpeno cicloartano isolado das cascas do caule de *Uvariastrum zenkeri* (WATERMAN; MOHAMMAD, 1984); β -sitosterol e estigmasterol (Figura 27), isolados de várias espécies do gênero *Annona* como, por exemplo, de *Annona rugulosa* e *Annona vepretorum* (VENDRAMIM, et al., 2013; ARAÚJO, 2013).

Figura 27 - Exemplos de triterpenos e esteroides isolados de espécies da família Annonaceae.



A presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides nestes extratos eram esperadas, uma vez que estes são considerados marcadores químicos do gênero (CHATROU et al., 2004).

5.1.2. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante *in vitro*

Na Tabela 9 encontram-se os valores obtidos nas avaliações da atividade antioxidante, bem como a quantificação estimada da concentração de fenóis e flavonoides totais dos extratos obtidos das partes aéreas da atemoia.

Tabela 9 - Fenóis totais (FT), flavonoides totais (FLT) e atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de atemoia.

Amostra	Fenóis totais (mg EqAG/g)	Flavonoides totais (mg EqC/g)	DPPH (CE ₅₀ , µg/mL)	ABTS (% AA)	β-caroteno (% AA)
EEt	207,80 ± 7,21	151,96 ± 7,30	10,44 ± 1,25	24,81 ± 0,49	16,21 ± 1,97
EHf	74,47 ± 7,50	14,90 ± 4,00	186,00 ± 3,06	-7,15 ± 11,08	41,12 ± 4,35
EMf	75,80 ± 2,64	46,86 ± 2,90	29,87 ± 5,12	10,07 ± 0,72	20,46 ± 5,50
Ác. Ascórbico	---	---	2,57 ± 0,09	---	7,63 ± 1,48
BHA	---	---	4,13 ± 0,31	---	83,11 ± 1,94
BHT	---	---	17,67 ± 3,66	---	85,92 ± 5,90
Trolox	---	---	---	52,98 ± 0,69	---

Os valores de CE₅₀ foram obtidos por interpolação a partir da análise de regressão linear, com 95% de nível de confiança. CE₅₀ é definido como a concentração suficiente para se obter 50% do efeito máximo de uma estimativa de 100%. Os valores são dados como média ± DP (n = 3).

Como podemos observar nos resultados para os extratos, o EEt foi o antioxidante mais efetivo no ensaio do sequestro do DPPH (CE₅₀= 10,44 ± 1,25 µg/mL), que obteve, inclusive, atividade melhor que a do padrão sintético BHT (CE₅₀= 17,67 ± 3,66 µg/mL). Esta alta atividade sequestradora de radicais livres para o EEt pode ser explicada pela presença de compostos fenólicos (207,80 ± 7,21 mg EqAG/g) e de flavonoides (151,96 ± 7,30 mg EqC/g) em maior concentração quando comparado aos outros extratos. Os compostos fenólicos impedem a ação de radicais livres no organismo e uma vez que protegem moléculas como o DNA, podem vir a abortar alguns processos carcinogênicos (SILVA et al., 2010). O teor de compostos fenólicos no extrato etanólico dos talos está diretamente ligado ao resultado da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH, uma vez que estas substâncias podem reduzir este radical à sua forma menos reativa, a hidrazina, por meio da fixação de um hidrogênio que é removido das substâncias fenólicas (SOUSA et al., 2007).

No método do ABTS, o EEt também apresentou melhor atividade antioxidante ($24,81 \pm 0,49\%$) quando comparado aos demais extratos. Essa atividade foi inferior ao padrão Trolox, que apresentou $52,98 \pm 0,69\%$ de atividade sequestradora do radical, seguidos em ordem decrescente de percentual de atividade antioxidante, pelo EMf e EHf, com $10,07 \pm 0,72$ e $-7,15 \pm 11,08\%$, respectivamente. Acredita-se que este valor negativo de %AA esteja relacionado às substâncias presentes no extrato, que ao invés de atuarem como bons doadores de elétrons ou hidrogênio, reduzindo conseqüentemente o radical ABTS, promoveram efeito contrário, agindo então como agente pró-oxidante. Estudos estão sendo desenvolvidos para o isolamento dos constituintes químicos dos extratos.

Na análise de atividade antioxidante pelo método da co-oxidação do β -caroteno frente ao ácido linoleico, o EHf obteve o melhor resultado, com percentual de $41,12 \pm 4,35\%$. O EMf obteve $20,46 \pm 5,50\%$ e o EEt $16,21 \pm 1,97\%$ de atividade antioxidante. As atividades antioxidantes observadas estão diretamente ligadas aos teores de fenóis e de flavonoides totais nos extratos.

Análises de atividade antioxidante utilizando os radicais DPPH, ABTS e ensaio usando a co-oxidação do β -caroteno frente ao ácido linoleico têm sido muito utilizadas para verificar a capacidade seqüestradora de radicais livres de muitos produtos naturais (LI et al., 2011; ALVES et al., 2010).

De acordo com Kuskoski et al. (2005), as metodologias utilizando o sequestro dos radicais DPPH e ABTS medem a atividade de compostos de natureza hidrofílica. A metodologia utilizando a co-oxidação do β -caroteno, por sua vez, mede a atividade de compostos de natureza lipofílica.

5.1.3. Atividade antibacteriana

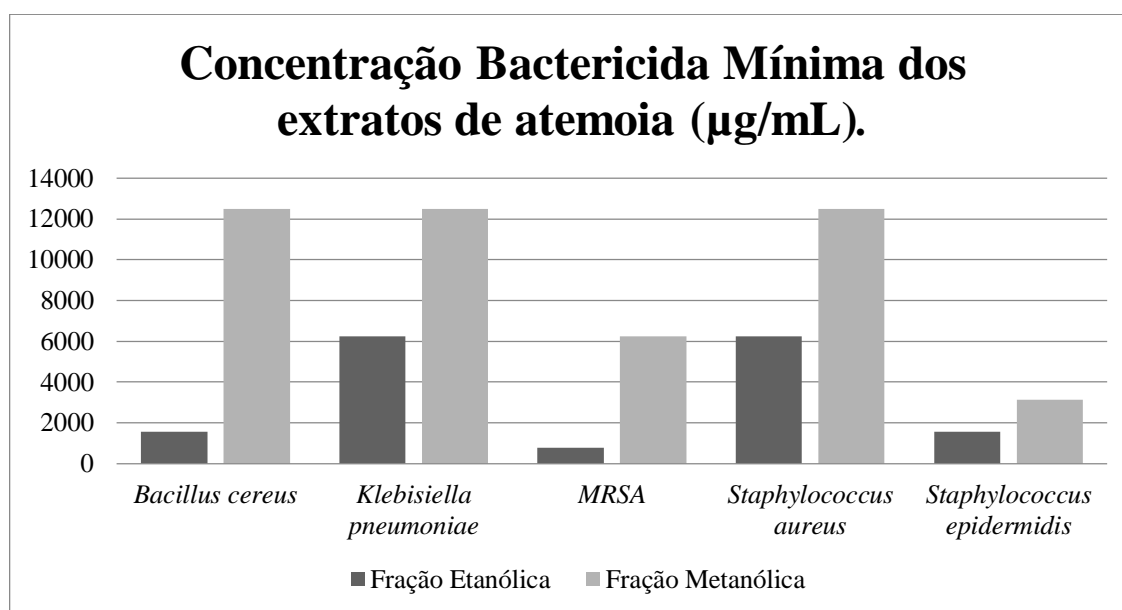
Das dez cepas bacterianas que foram submetidas ao teste de sensibilidade aos extratos de atemoia (Tabela 10), as cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens* e *Shigella flexneri* mostraram-se resistentes às três frações testadas, sendo a primeira um microrganismo Gram-positivo e as demais Gram-negativas. As cepas MRSA, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* e *Klebsiella pneumoniae* (esta última, uma Gram-negativa) foram sensíveis à ação das frações etanólica e metanólica, gerando valores de CBM variando entre 781,2 a 6.250 $\mu\text{g/mL}$ e 3.125 a 12.500

µg/mL, respectivamente. Todas as cepas mostraram-se resistentes à fração hexânica. Os valores encontram-se dispostos na Figura 28.

Tabela 10 - Bactérias submetidas ao teste de sensibilidade aos extratos de atemoia.

Microrganismos	
<i>Enterococcus faecalis</i>	MRSA
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Shigella flexneri</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Figura 28 - Atividade antimicrobiana do extrato etanólico e metanólico de atemoia.



Em estudo de atividade antimicrobiana utilizando-se as folhas de *Annona squamosa*, Chandrashekar & Kulkarni (2011) observaram atividade do extrato sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* e *Salmonella typhi*, sem observar atividade sobre fungos do gênero *Aspergillus*. Aher et al. (2012) avaliaram o potencial antimicrobiano de extratos das sementes de *A. squamosa*, constatando que a fração metanólica apresentou maior atividade antimicrobiana contra cepas de *B. subtilis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Notadamente, microrganismos Gram-negativos mostram-se mais resistentes à ação de antimicrobianos, uma vez que sua parede celular encontra-se protegida por uma camada de lipopolissacarídeos (GOULD, 2009). Das dez cepas testadas, cinco (50%) são classificadas como microrganismos Gram-positivos e outras cinco como Gram-negativos. Observou-se que das cinco cepas susceptíveis a pelo menos uma fração do extrato, quatro pertencem ao grupo das Gram-positivas e apenas a *K. pneumoniae* foi o Gram-negativo sensível.

Das três frações avaliadas no estudo, apenas a etanólica e metanólica produziram algum efeito antimicrobiano. Acredita-se que muito do efeito antimicrobiano dos extratos vegetais se deve, principalmente, à presença de flavonoides em sua composição (AHMAD; BEG 2001). Durante o fracionamento dos extratos, baseando-se na polaridade de seus constituintes, a fração hexânica conservou-se pobre em flavonoides e rica em terpenoides. Devido a esse fato, provavelmente, observa-se fraca ou nenhuma ação antimicrobiana da fração hexânica dos extratos vegetais.

Devido à maior susceptibilidade de microrganismos Gram-positivos, acredita-se que o mecanismo da ação antimicrobiana do extrato provavelmente decorra da interação do mesmo com o peptidoglicano presente na parede celular bacteriana. No entanto, estudos posteriores, visando à elucidação desse mecanismo, devem ser conduzidos.

5.1.4. Identificação e determinação estrutural da substância Aa.1

Do estudo fitoquímico de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*) foi possível o isolamento e identificação da substância **Aa.1**, que se apresentou como um sólido marrom e com coloração azul quando revelado em câmara de irradiação ultravioleta no comprimento de 254 nm.

No espectros de RMN de ^{13}C –DEPT Q (Figuras 29, 30 e 31) da substância Aa.1, foram observados 16 sinais que foram atribuídos a 7 carbonos quaternários (δ_{C} 158,49, 150,12, 146,76, 133,83, 130,56, 114,14, e 101,71), sendo três deles oxigenados, 6 carbonos metínicos (δ_{C} 130,55, 114,12, 101,71 e 56,65) e 3 carbonos metilênicos (δ_{C} 40,93, 39,38 e 22,23). Foram observados ainda 3 sinais correspondentes a carbonos de metoxilas em δ_{C} 61,02 (OCH₃-6), δ_{C} 55,76 (OCH₃-7) e δ_{C} 55,32 (OCH₃-4'). Os sinais de carbonos aromáticos observados, em conjunto

com os sinais de carbonos alifáticos metínico em δ_C 56,65 (C-1), e metilênicos em δ_C 40,93 (C- α), 39,38 (C-3) e 22,23 (C-4), formam um sistema característico de alcaloides de núcleo benziltetraidroisoquinolínico, muito comuns em anonáceas.

A presença de dois sinais de carbonos metínicos aromáticos em δ_C 114,13 (C-3' e C-5') e δ_C 130 (C-2' e C-6') sugere a presença de um grupo benzil *para* dissustituído. O sinal em δ_C 158,49 (C-4') é referente ao carbono aromático tetrassubstituído com uma metoxila.

Figura 29 - Espectro de RMN de ^{13}C – DEPT Q (125 MHz, $CDCl_3$) de Aa.1.

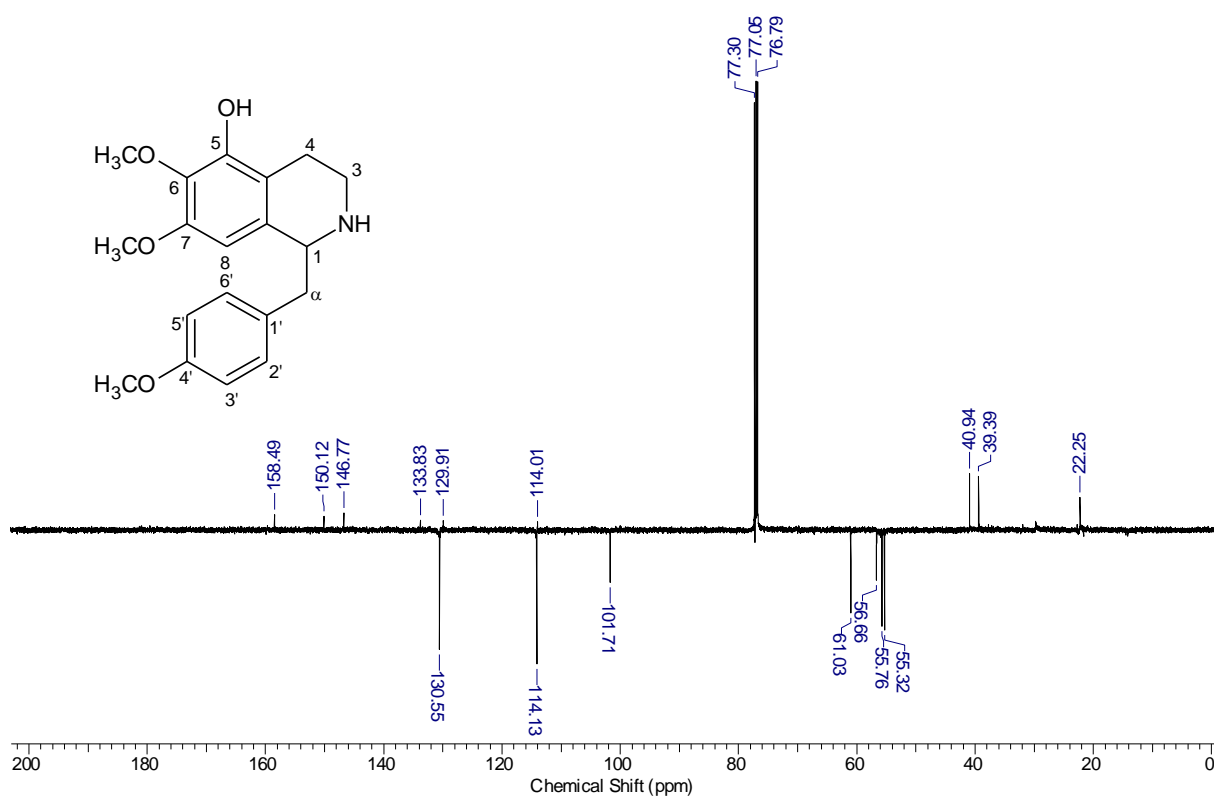


Figura 30 - Expansão da região entre 160 – 75 ppm do espectro de RMN de ^{13}C – DEPT Q (125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.

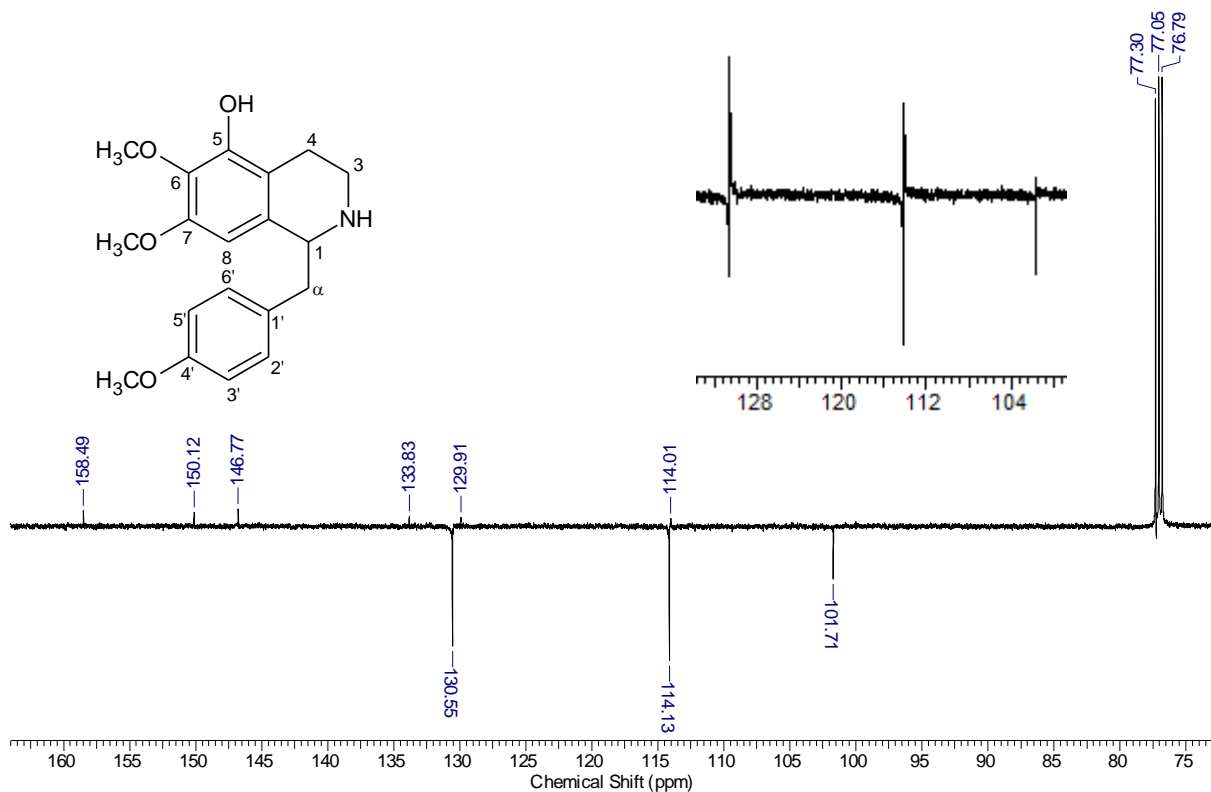
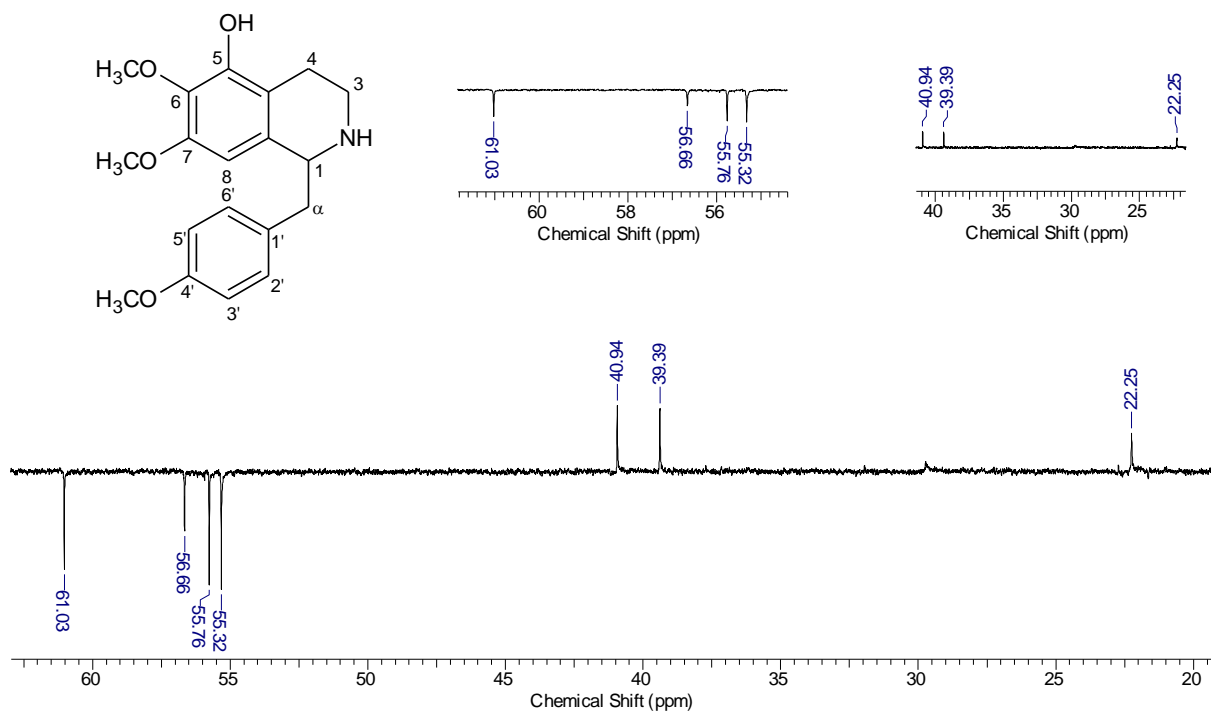


Figura 31 - Expansão da região entre 62 – 20 ppm do espectro de RMN de ^{13}C – DEPT Q (125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.



No espectro de RMN de ^1H de Aa.1 (Figuras 32, 33 e 34) foi observada a presença de um sinal referente a hidrogênio aromático em δ_{H} 6,18 (s, 1H, H-8), característico de hidrogênio aromático blindado por oxigenação nas posições *orto* e *para* (anel A – Figura 41). A observação de sinais de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,90 (d, 2H, H-3'/H-5') e δ_{H} 7,20 (d, 2H, H-2'/H-6') com multiplicidade de dupletos, acoplando através de interação *spin-spin* em *orto* ($J=8,5$ Hz), é característico de anel aromático *para* dissustituído e constituem um típico sistema A_2B_2 (anel C – Figura 41).

Na região de hidrogênios em sistemas alifáticos, foram observados sinais em δ_{H} 2,77 (m, 2H, H-4), δ_{H} 3,07 (m, 2H, H-3/H- α), δ_{H} 3,18 (dd, 1H, H- α), δ_{H} 3,28 (m, 1H, H-3) e δ_{H} 4,25 (t, 1H, H-1). Foram observados ainda, sinais simpletos correspondentes a metoxilas na região de hidrogênios alifáticos em δ_{H} 3,78 (s, 3H, OCH₃-7) e δ_{H} 3,83 (s, 3H, OCH₃-4'), e um sinal em δ_{H} 3,91 (s, 3H, OCH₃-6) que é característico de sinal de metoxila em posição de impedimento estérico. A localização das metoxilas nos carbonos C-4', C-7 e C-6, respectivamente, foi feita por meio da observação dos espectros bidimensionais HMBC. Um simpleto largo em δ_{H} 2,40 (sl, 1H) foi atribuído ao hidrogênio H-3, do grupo amino.

Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl₃) de Aa.1.

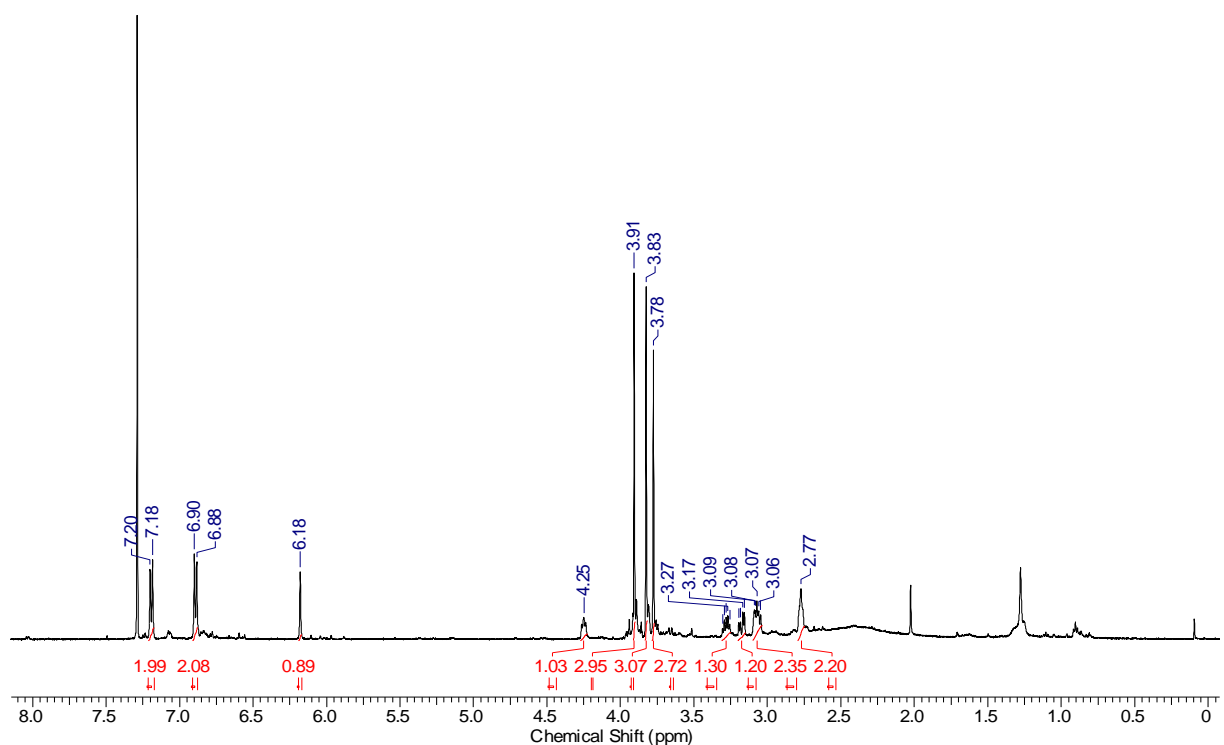


Figura 33 - Expansão da região entre 7,4 - 5,9 ppm do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.

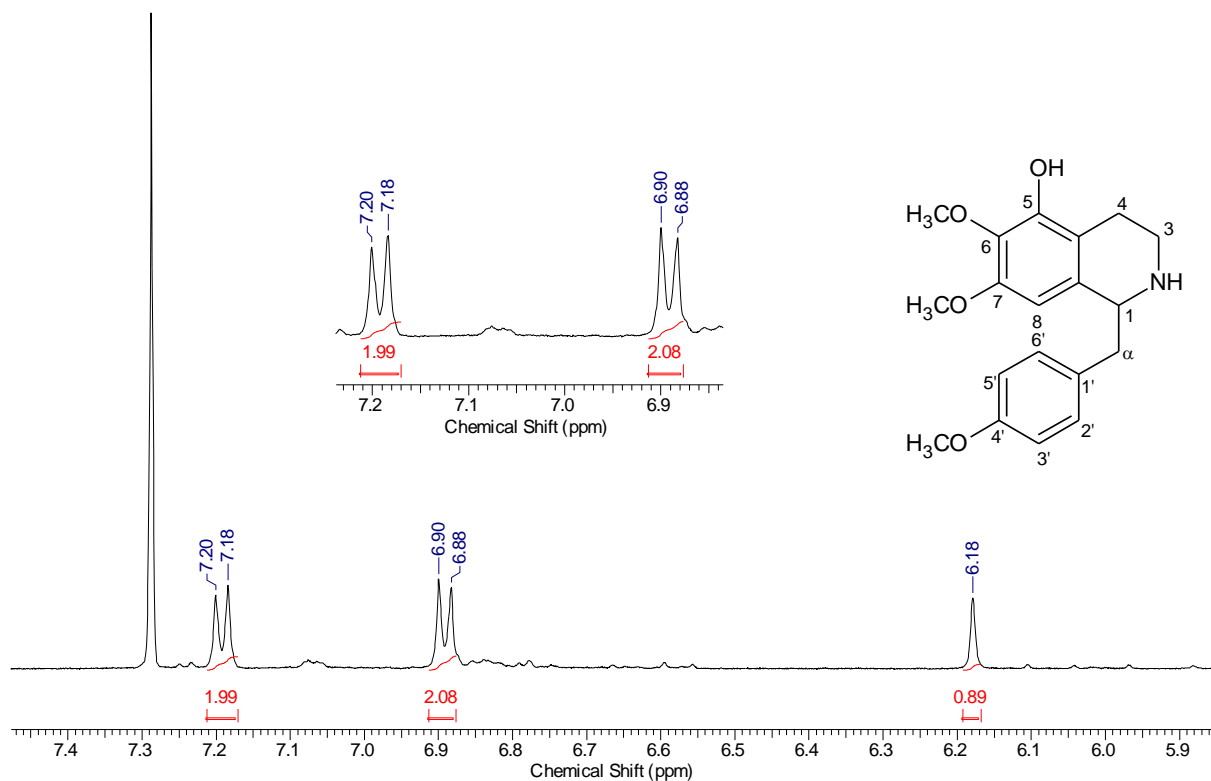
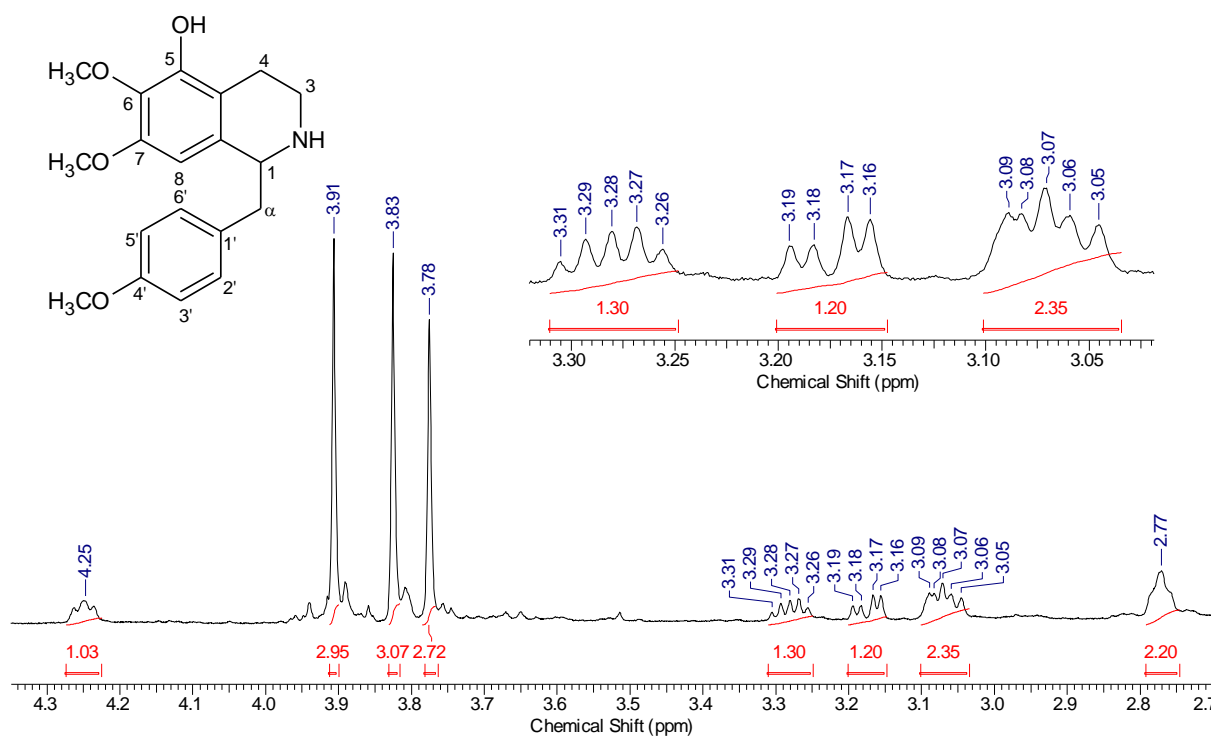


Figura 34 - Expansão da região entre 4,3 – 2,7 ppm do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.



Os espectros de HSQC (Figuras 35 e 36) permitiram estabelecer as correlações diretas ($^1J_{CH}$): CH-1 (δ_H/δ_C 4,25/56,66), CH₂-3 (δ_H/δ_C 3,07 e 3,28/39,39), CH₂-4 (δ_H/δ_C 2,77/22,25), CH₂- α (δ_H/δ_C 3,07 e 3,18/40,94), CH-8 (δ_H/δ_C 6,18/101,71), 2CH-3'/5' (δ_H/δ_C 6,90/114,13) e 2CH-2'/6' (δ_H/δ_C 7,20/130,55), assim como das metoxilas OCH₃-6 (δ_H/δ_C 3,91/61,03), OCH₃-7 (δ_H/δ_C 3,78/55,76) e OCH₃-4' (δ_H/δ_C 3,83/55,32).

Figura 35 - Espectro de RMN de 1H x ^{13}C - HSQC (500 MHz x 125 MHz, $CDCl_3$) de Aa.1.

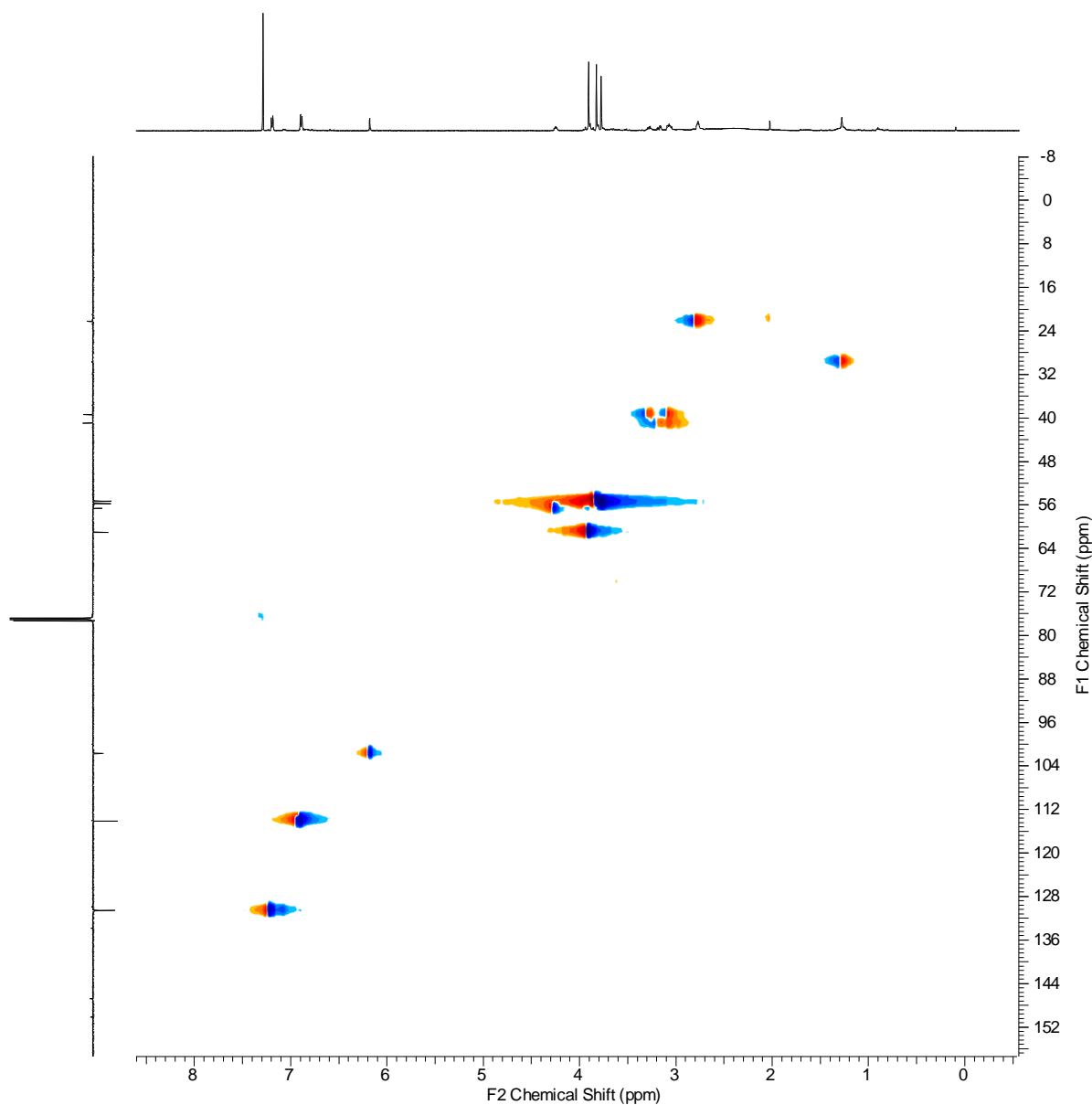
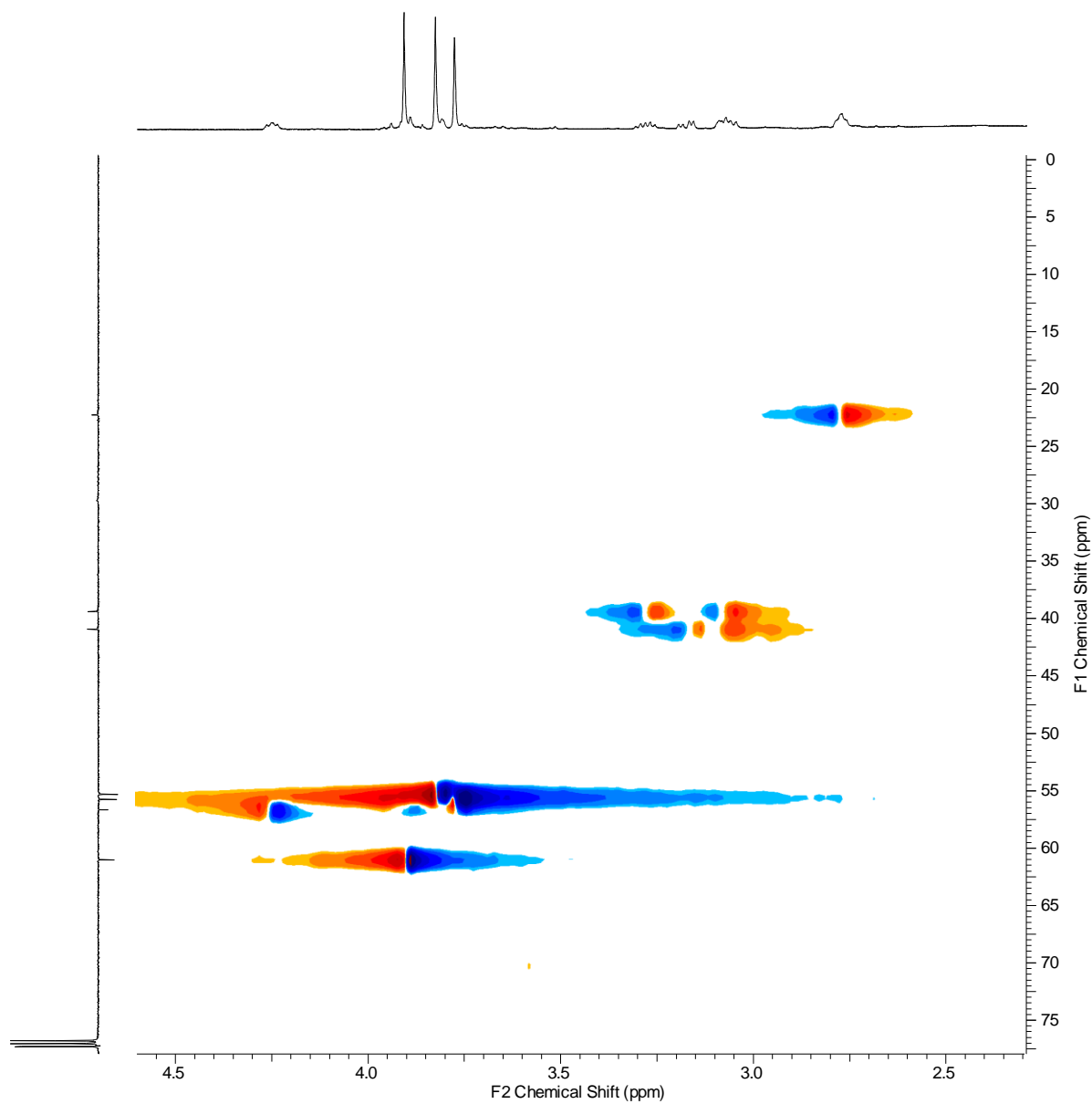


Figura 36 - Expansão da região entre 5,0 - 0 x 77,0 - 0 ppm do espectro de RMN de ^1H x ^{13}C - HSQC (500 MHz x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.



A análise do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (Figura 37) permitiu observar a correlação do hidrogênio aromático em δ_{H} 6,18 com os carbonos em δ_{C} 56,66, 114,01, 133,83 a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$) e com δ_{C} 150,12 a duas ligações ($^2J_{\text{CH}}$). Estes dados confirmam as atribuições feitas ao hidrogênio da posição 8 e aos carbonos C-1, C-4a, C-6 e C-7 na molécula. De maneira análoga, a correlação dos hidrogênios em δ_{H} 4,25 com o carbono em δ_{C} 40,94, dos hidrogênio em δ_{H} 3,07 e 3,18 com os carbonos em δ_{C} 56,66, 101,71 e 129,91, confirmam as atribuições feitas aos hidrogênios dos carbonos sp^3 das posições 1 e α .

A análise do mapa de contornos HMBC permitiu, ainda, confirmar a atribuição feita ao C-4a, uma vez que é observada a correlação a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$) de δ_{H} 3,07, 3,28 e 6,18 e a duas ligações ($^2J_{\text{CH}}$) de δ_{H} 2,77 com o carbono em δ_{C} 114,01. As correlações ($^3J_{\text{CH}}$) dos hidrogênios em δ_{H} 3,91, 3,78 e 3,83 ppm com os carbonos em δ_{C} 133,83, 150,12 e 158,49 ppm, confirmam a localização das metoxilas nos carbonos C-6, C-7 e C-4', respectivamente. Todas as correlações observadas no mapa de contornos HMBC, são mostradas na Figura 38.

Figura 37 - Espectro de RMN de ^1H x ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.

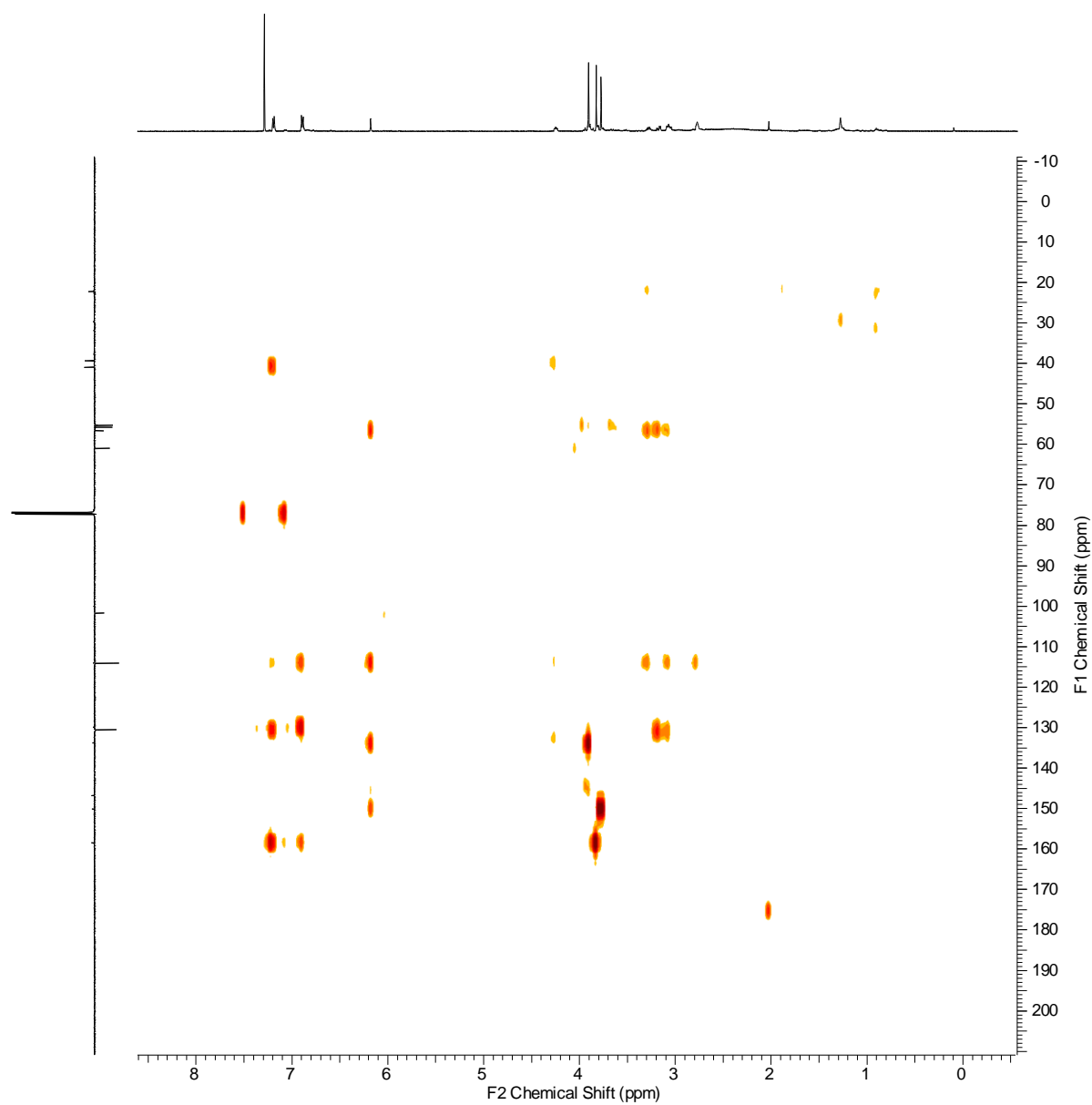
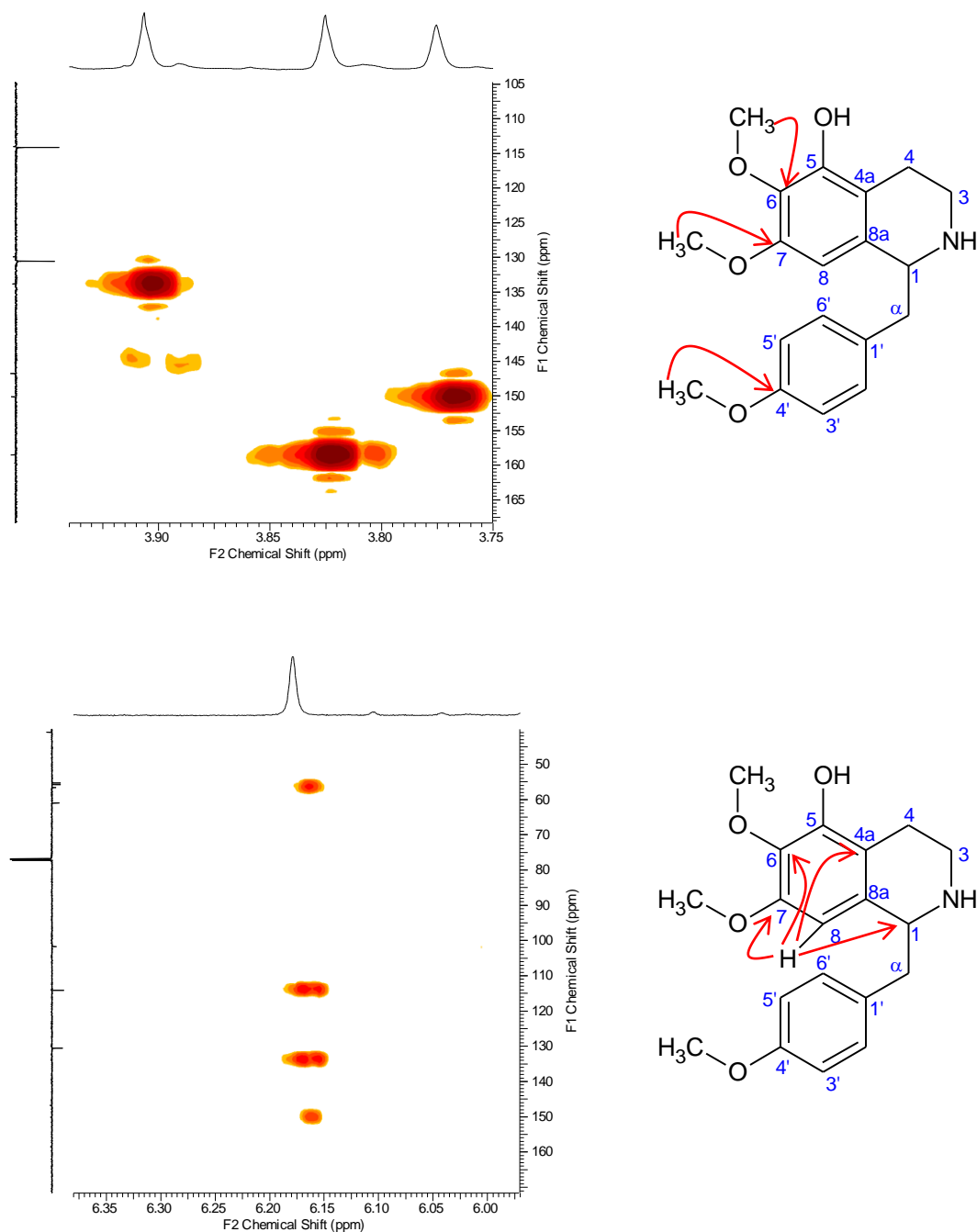
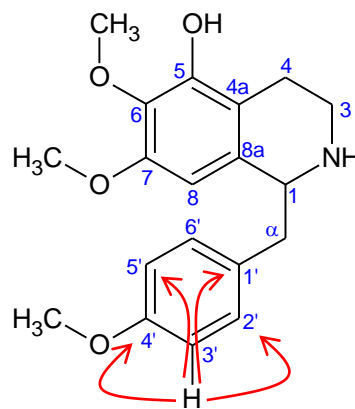
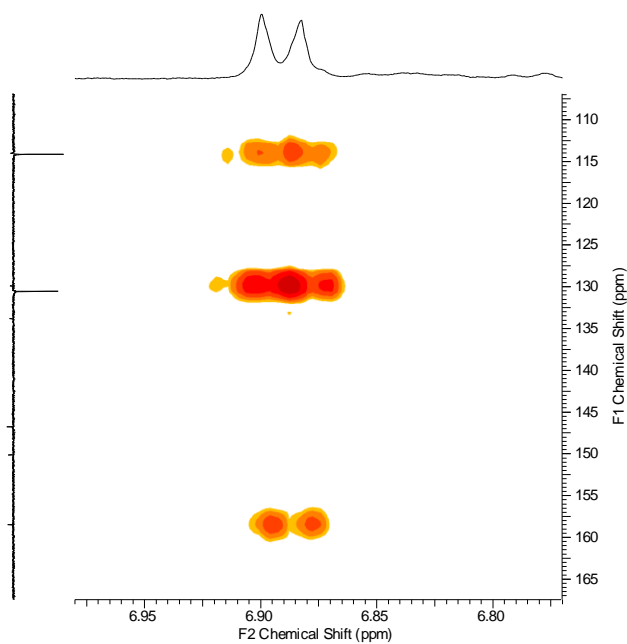
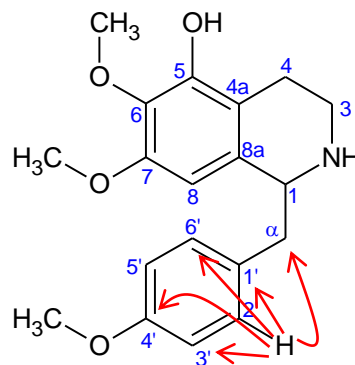
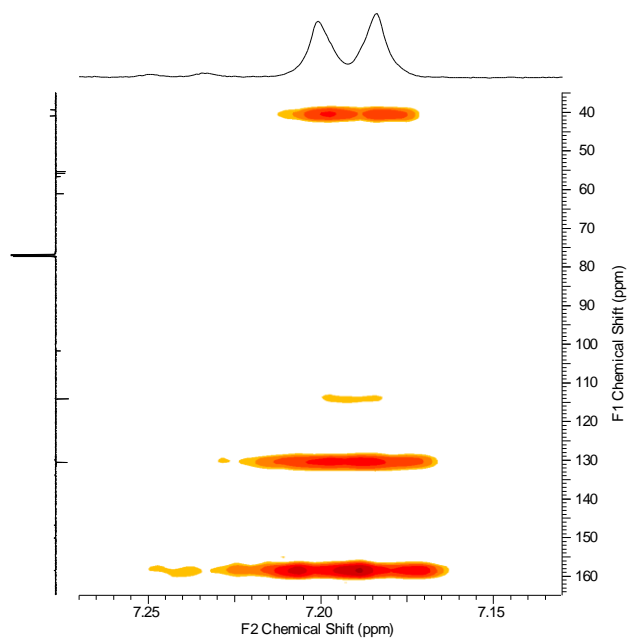


Figura 38 - Correlações observadas nos experimentos HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e suas respectivas expansões no espectro de RMN de ^1H x ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de Aa.1.



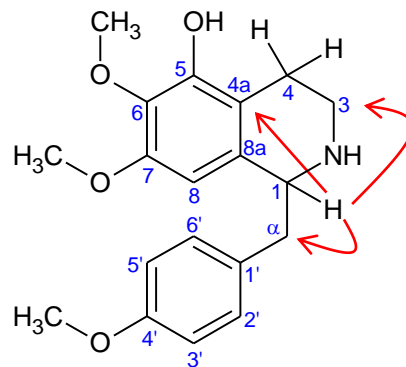
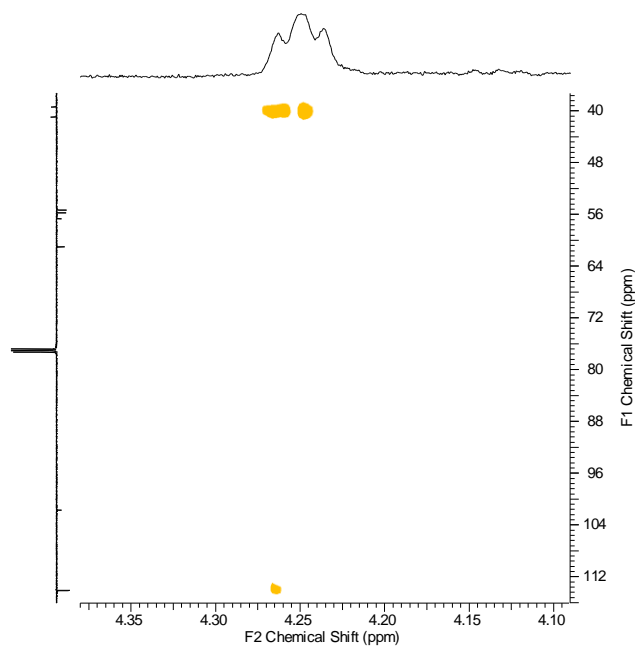
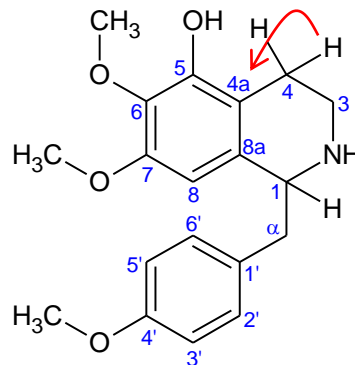
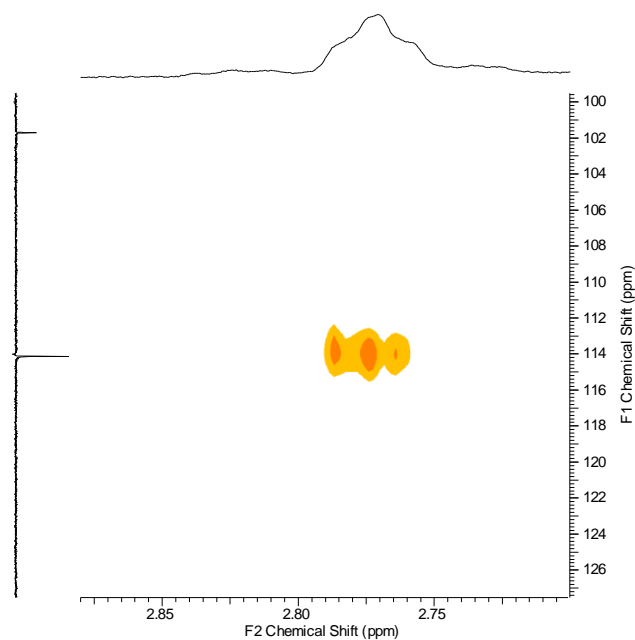
Continua...

... Continuação da Figura 38



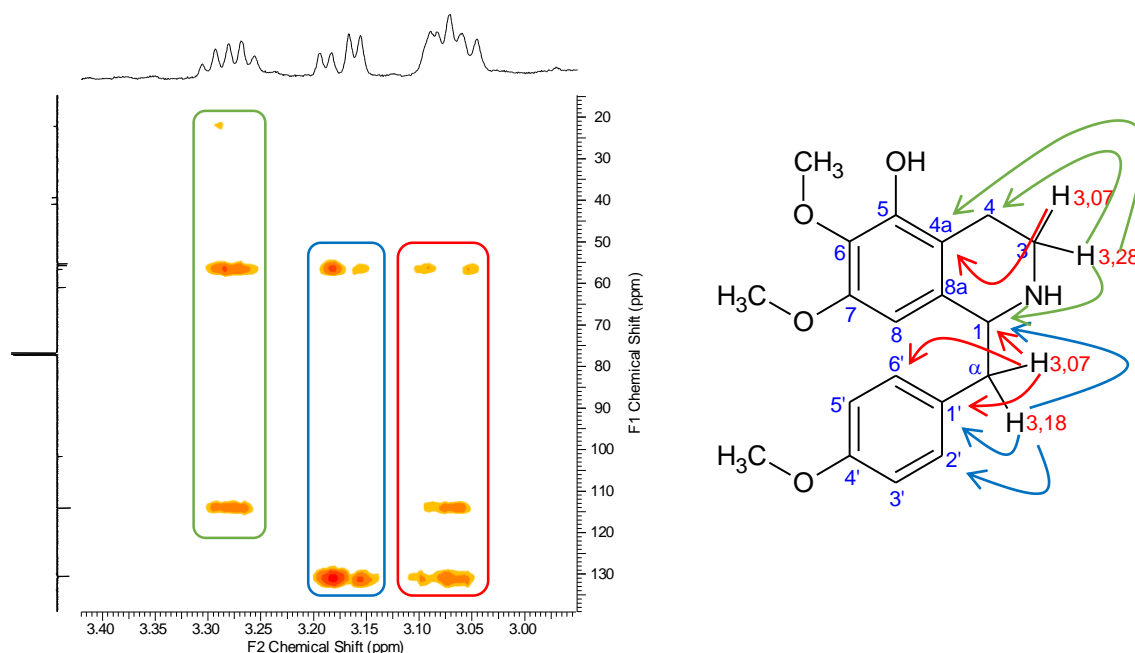
Continua...

... Continuação da Figura 38



Continua...

... Continuação da Figura 38



A presença do grupo hidroxila no anel A, foi evidenciada devido ao sinal de carbono em δ_C 146,7, típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresenta nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos nos mapa de correlações HSQC bem como nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contornos HMBC. A blindagem de CH-8, confirma esta informação.

Por meio da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H} - \text{COSY}$, Figuras 39 e 40) foi possível confirmar as atribuições feitas aos hidrogênios alifáticos de Aa.1, pela observação das interações alílicas do H-1 (δ_H 4,25) com 2H- α (δ_H 3,07 e 3,18), e 2H-4 (δ_H 2,77) com 2H-3 (δ_H 3,07 e 2,28), assim como entre os hidrogênios H-3 e H- α . As correlações observadas entre H2'/6' (δ_H 7,20) com H-3'/5' (δ_H 6,90) confirmam as atribuições feitas ao anel C da molécula.

Figura 39 - Expansão da região entre 4,5 – 2,5 ppm do espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (500 x 500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.

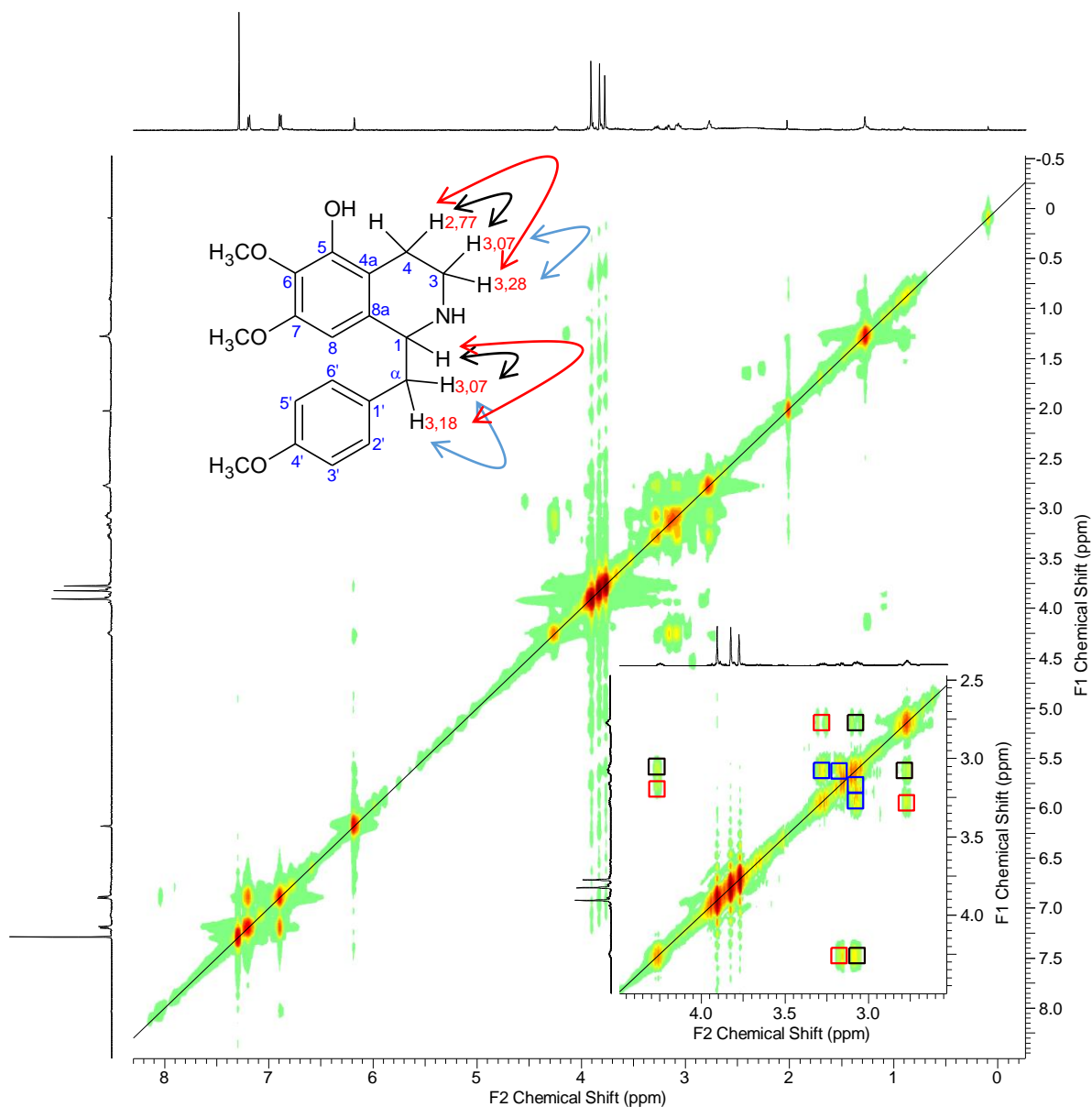
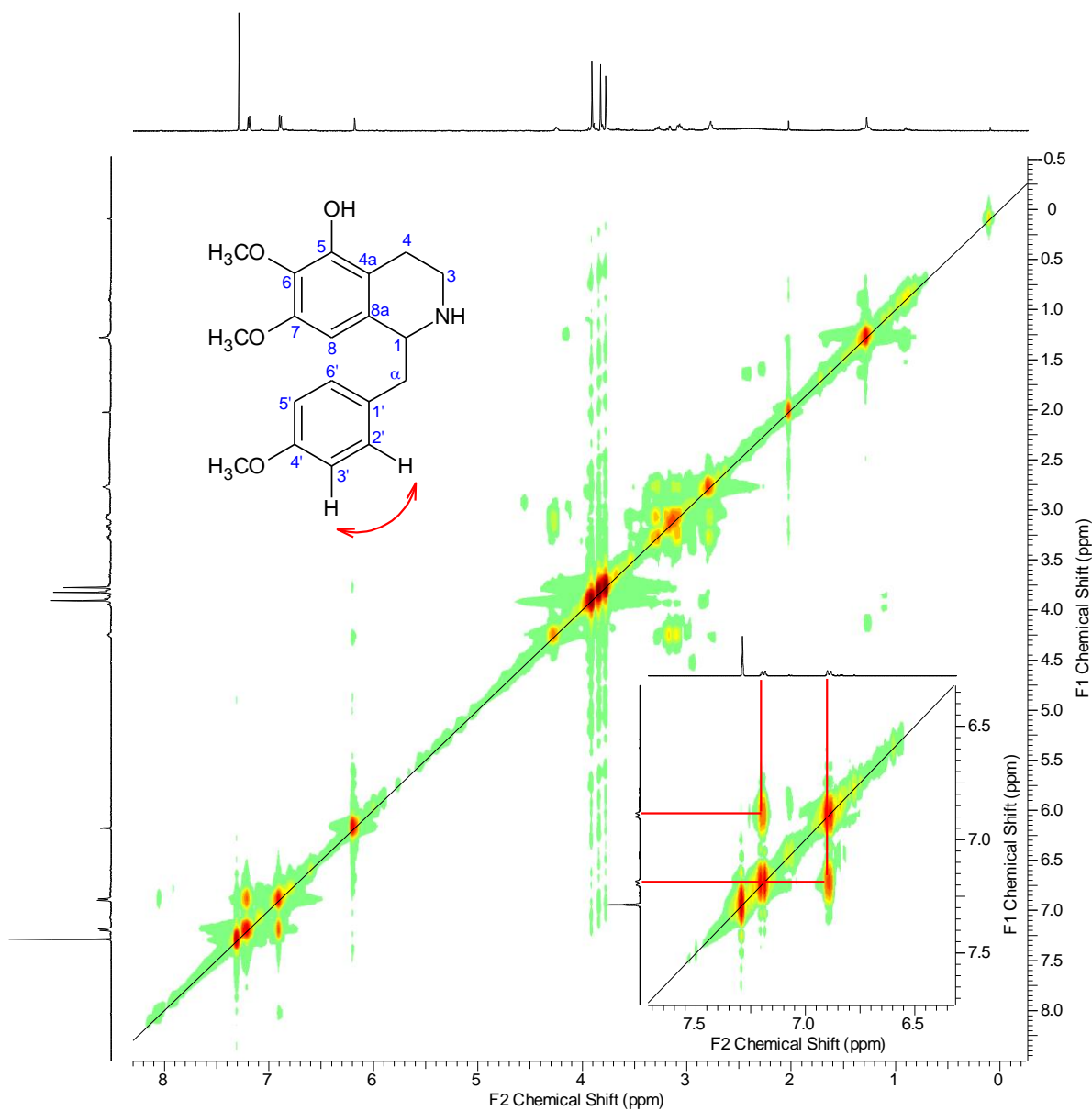


Figura 40 - Expansão da região entre 7,7 - 7,6 ppm do espectro de RMN de ^1H x ^1H - COSY (500 x 500 MHz, CDCl_3) de Aa.1.



Os sinais descritos acima indicam a presença de um alcaloide de núcleo benziltetraidroisoquinolínico, com o anel A pentassubstituído e anel C *para* dissubstituído.

As demais atribuições são mostradas na Tabela 11. Comparação destes dados com os dados da literatura (LEBOEUF et al., 1982), permitiram identificar a substância Aa.1 como sendo o alcaloide 6,7-dimetoxi-1'-(4'-metoxibenzil)-1,2,3,4-tetraidroisoquino-5-ol, conhecido como anomuricina (Figura 41), de fórmula molecular C₁₉H₂₃NO₄, com índice de deficiência de hidrogênios igual a 9, compatível com o esqueleto proposto. É a primeira vez que esta molécula é isolada de atemoia.

Devido a insuficiência de informações oferecidas sobre os deslocamentos químicos da anomuricina, outras literaturas relacionadas a alcaloides benziltetraidroisoquinolínicos foram consultadas (NAZARO, 2013). Os dados de RMN de ¹H e de ¹³C de Aa.1 e os valores de deslocamentos químicos observados na literatura para a anomuricina e para o alcaloide 5,6,7-trimetóxi-1-(4-metóxi-benzil)-2-metil-tetra-hidroisoquinolína são apresentados na Tabela 12.

Figura 41 - Estrutura molecular de Aa.1.

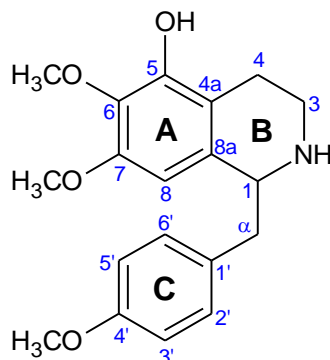
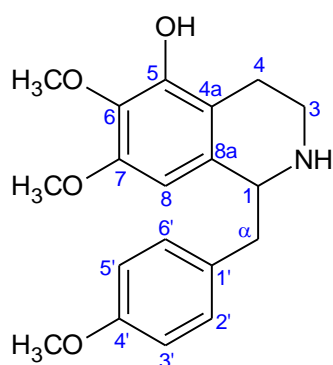
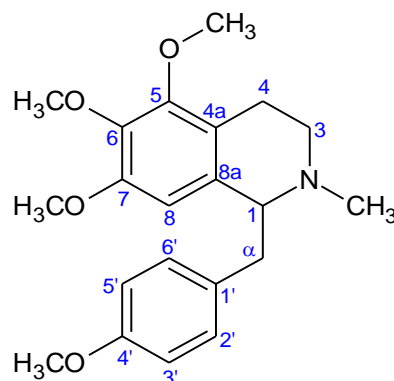


Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz de Aa.1.

C	HSQC		HMBC		COSY
	^{13}C	^1H	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
4a	114,01	-	H-4	2H-3, H-1, H-8	
5	146,77	-			
6	133,83	-		H-8, OCH_3 -6	
7	150,12	-	H-8	OCH_3 -7	
8a	101,71	-			
1'	129,91	-	2H- α , H-2'/6'	H-3'/5'	
4'	158,49	-	H-3'/5'	H-2'/6', OCH_3 -4'	
CH					
1	56,66	4,25 (t)	2H- α	2H-3, H-8	2H- α
8	101,71	6,18 (s)			
2'/6'	130,55	7,20 (d, $J=8,5$ Hz)	H-3'/5'	2H- α	
3'/5'	114,13	6,90 (d, $J=8,5$ Hz)	H-2'/6'	H-3'/5'	
CH₂					
α	40,94	3,07 (m) / 3,18 (dd)	H-1	H-2'/6'	H- α , H-1
3	39,39	3,07 (m) / 3,28 (m)		H-1	H-3
4	22,25	2,77 (m, 2H)	H-3		2H-3
OCH₃					
4'	55,32	3,83 (s)			
6	61,03	3,91 (s)			
7	55,76	3,78 (s)			



LEBOEUF et al., 1982



NAZARO, 2013

Tabela 12 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Aa.1, e comparação com deslocamentos químicos registrados na literatura (solvente CDCl_3).

Aa.1		LEBOEUF et al., 1982	NAZARO, 2013
C	^{13}C	^1H	^{13}C
4a	114,01	-	133,0*
5	146,77	-	150,6
6	133,83	-	120,0
7	150,12	-	150,7
8a	101,71	-	132,0*
1'	129,91	-	140,1
4'	158,49	-	157,9
CH			
1	56,66	4,25 (t)	65,1*
8	101,71	6,18 (s)	107,0*
2'/6'	130,55	7,20 (d, $J= 8,5$ Hz)	130,6
3'/5'	114,13	6,90 (d, $J= 8,5$ Hz)	113,5
CH₂			
α	40,94	3,07 (m) /3,18 (dd)	39,9
3	39,39	3,07 (m) /3,28 (m)	46,1*
4	22,25	2,77 (m, 2H)	19,8
OCH₃			
4'	55,32	3,83 (s)	55,5
6	61,03	3,91 (s)	60,8
7	55,76	3,78 (s)	55,2

* as maiores diferenças nos deslocamentos químicos observados, são ocasionadas pelas diferenças dos substituintes nas moléculas em questão.

5.2. Óleos essenciais

5.2.1. Determinação da composição química do óleos essenciais de atemoia

Foram realizadas análises de composição química de três óleos essenciais: OE.1, OE.2 e OE.3, extraídos dos frutos, folhas frescas e folhas secas de atemoia, respectivamente.

A análise por meio de CG-EM, permitiu identificar 96,23% da composição química de OE.1, sendo que 60,84% corresponde a monoterpenos, 34,54% corresponde a sesquiterpenos e 0,85%, diterpenos. Em OE.2, 91,92% foi identificado entre monoterpenos (11,71%) e sesquiterpenos (86,21%). OE.3 no entanto, só apresentou sesquiterpenos como constituintes (93,90%) (Tabela 13).

Tabela 13 - Percentual de terpenoides identificados e percentual de composição química de OE.1, OE.2 e OE.3.

Classe	OE.1	OE.2	OE.3
Monoterpenos	60,84	11,71	---
Sesquiterpenos	34,54	86,21	93,90
Diterpenos	0,85	---	---
Total Identificado	96,23%	91,92	93,90

O cromatograma de OE.1 (Figura 42) apresentou 29 picos, em que 24 foram identificados. Dentre as substâncias presentes, os monoterpenos linalol (25,70%), α -pineno (10,38%), β -pineno (9,12%) e *trans*-ocimeno (7,43%), e o sesquiterpeno biciclogermacreno (12,58%) foram os constituintes majoritários (Tabela 14).

Figura 42 - Cromatogramas de CG-EM de OE.1: (a) tempo total, (b) expandido (5-20 min) e (c) expandido (22-36 min).

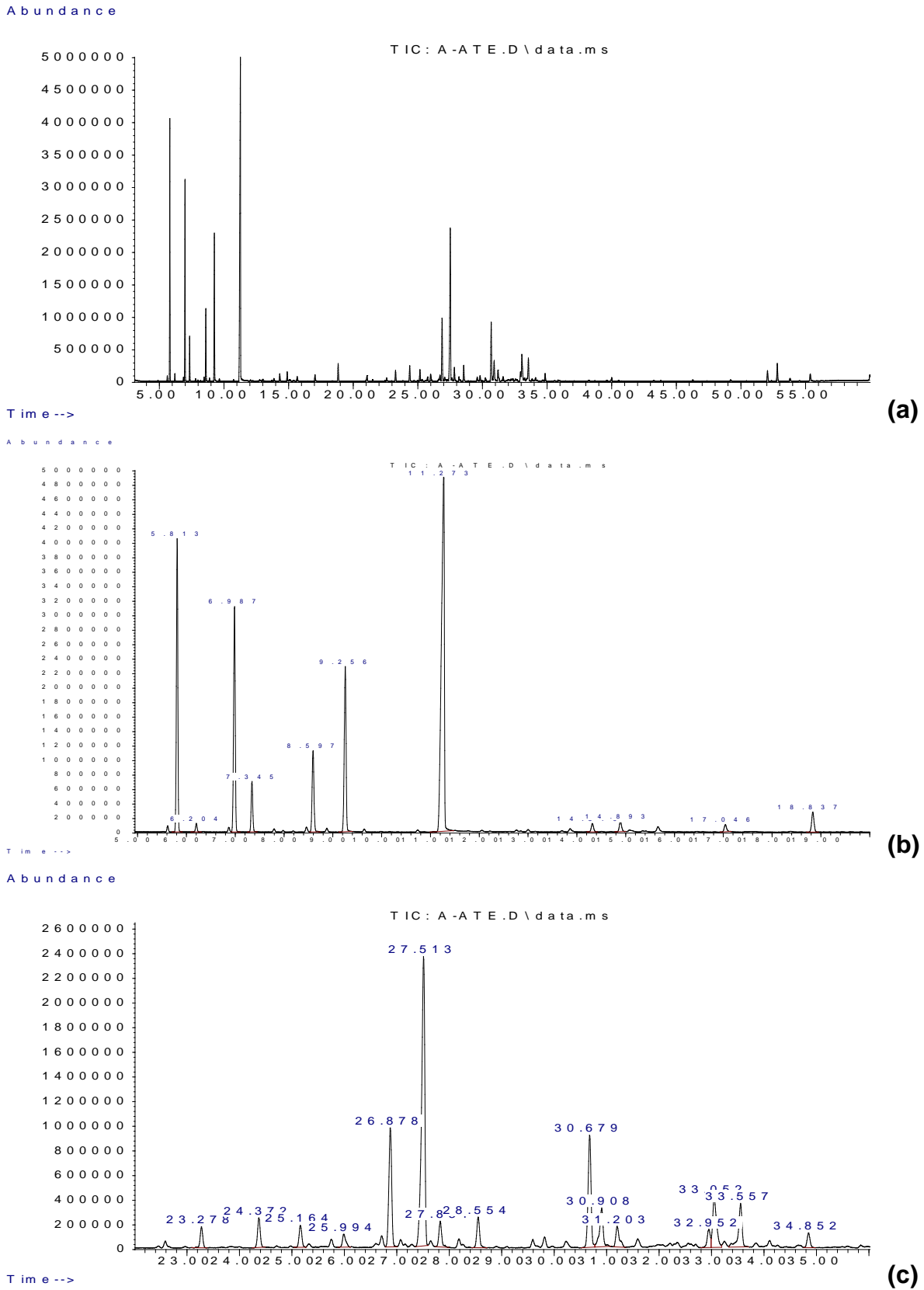


Tabela 14 - Composição química de OE.1.

Pico	t _R (min)	Composto	% rel.	IRR
1	5,82	α-Pineno	10,38	933
2	6,20	Canfeno	0,33	948
3	6,99	β-Pineno	9,12	977
4	7,34	β-Mirceno	1,98	991
5	8,60	Limoneno	3,70	1028
6	9,26	(E)-Ocimeno	7,43	1047
7	11,27	Linalol	25,70	1103
8	14,32	Terpinen-4-ol	0,47	1178
9	14,90	α-Terpineol	0,58	1192
10	17,05	NI	0,41	1243
11	18,84	Acetato de Isobornila	1,15	1286
12	23,28	β-Elemeno	0,73	1392
13	24,37	(E)-Cariofileno	1,06	1418
14	25,17	Aromadendreno	0,81	1438
15	26,00	Dehidro-Aromadendreno	0,58	1459
16	26,88	Germacreno D	4,56	1480
17	27,51	Biciclogermacreno	12,58	1496
18	27,83	α-Bisaboleno	0,97	1504
19	28,55	δ-Cadineno	1,18	1523
20	30,68	Espatulol	4,44	1578
21	30,91	Globulol	1,87	1584
22	31,20	Viridiflorol	1,00	1592
23	32,95	NI	0,76	1639
24	33,05	epi-α-Cadinol	2,63	1641
25	33,56	α-cadinol	2,13	1655
26	34,85	NI	0,58	1690
27	52,06	Kauran-16-ol	0,85	-----
28	52,82	NI	1,42	-----
29	55,37	NI	0,59	-----
Monoterpenos				60,84
Sesquiterpenos				34,54
Diterpenos				0,85
Total Identificado				96,23

t_R: tempo de retenção, NI: não identificado, % rel.: porcentagem relativa; IRR: índice de retenção relativo.

OE.2 apresentou 62 picos, mas somente 39 foram identificados, representado 91,92% da sua composição química (Figura 43). Os constituintes majoritários são os sesquiterpenos biciclogermacreno (21,30%), germacreno D (20,04%) e (*E*)-cariofileno (6,87%), e o monoterpene linalol (6,87%) (Tabela 15).

93,90% da composição química de OE.3 foi identificada como sendo sesquiterpenos, dos quais germacreno D e biciclogermacreno representam mais que 50% da composição química, com 30,23% e 24,61%, respectivamente. (*E*)-cariofileno (11,31%), β -elemeno (7,59%) e δ -Elemeno (7,28%) também são considerados majoritários (Figura 44 e Tabela 16).

Figura 43 - Cromatograma de CG-EM de OE.2.

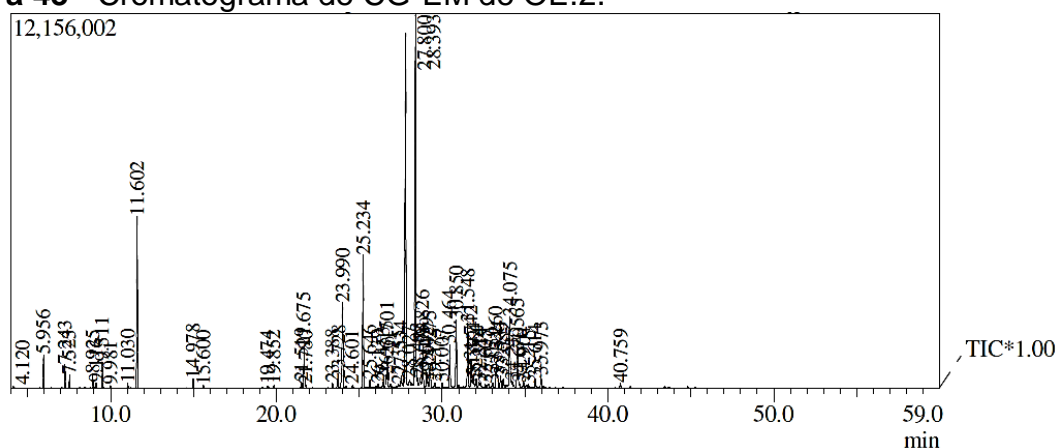


Tabela 15 - Composição química de OE.2.

Pico	T _R (min)	IR exp.	IR lit.	Composto	% rel
1	4,12	---	---	3-Hexen-1-ol	0,05
2	5,95	932	939	α-Pineno	0,95
3	7,24	977	979	β-Pineno	0,75
4	7,52	987	990	Mirceno	0,41
5	8,92	1028	1029	Limoneno	0,49
6	9,11	1033	1037	(Z)-β-Ocimeno	0,16
7	9,51	1043	1050	(E)-β-Ocimeno	0,92
8	9,98	1056	1059	γ-Terpineno	0,09
9	11,03	1084	1088	α-Terpinoleno	0,19
10	11,60	1099	1096	Linalol	7,08
11	14,97	1179	1177	Terpinen-4-ol	0,42
12	15,6	1193	1188	α-Terpineol	0,11
13	19,47	1282	1285	Acetato de bornila	0,09
14	19,85	1291	1294	2-Undecanona	0,11
15	21,51	1329	---	NI	0,24
16	21,67	1333	1338	δ-Elemeno	1,90
17	21,78	1335	---	NI	0,13
18	23,38	1373	1376	α-Copaeno	0,22
19	23,72	1381	1388	β-Bourboneno	0,58
20	23,99	1387	1390	β-Elemeno	4,42
21	24,60	1401	---	NI	0,13
22	25,23	1416	1419	(E)-Cariofileno	6,87
23	25,64	1426	1436	γ-Elemeno	0,37
24	26,13	1438	---	NI	0,08
25	26,45	1446	1460	allo-Aromadendreno	0,21
26	26,61	1450	---	NI	0,57
27	26,70	1452	1454	α-Humuleno	1,53
28	27,35	1468	---	NI	0,11
29	27,53	1472	---	NI	0,50
30	27,8	1478	1481	Germacreno D	20,04
31	28,02	1484	1492	δ-Selineno	0,34
32	28,39	1493	1500	Biciclogermacreno	21,30
33	28,49	1495	1500	α-Muuroleno	0,39

Continua...

... Continuação da Tabela 15

34	28,66	1499	---	NI	0,40
35	28,82	1503	1509	Germacreno A	2,11
36	29,05	1509	1513	γ-Cadineno	0,77
37	29,14	1511	1515	Cubebol	0,21
38	29,27	1515	1523	δ-Cadineno	1,09
39	29,57	1522	---	NI	0,14
40	30,00	1533	---	NI	0,21
41	30,46	1545	1549	Elemol	2,05
42	30,85	1555	1561	Germacreno B	3,45
43	31,54	1572	1578	Espatuleno	3,28
44	31,74	1577	1583	Óxido de cariofileno	1,37
45	31,89	1581	1590	Globulol	0,65
46	32,06	1585	1592	Viridiflorol	0,40
47	32,22	1589	---	Epiglobulol	0,21
48	32,31	1592	---	NI	0,19
49	32,60	1599	---	NI	0,07
50	33,05	1611	---	NI	0,18
51	33,26	1616	---	NI	1,46
52	33,34	1619	---	NI	0,58
53	33,53	1624	---	NI	0,65
54	33,68	1628	---	NI	0,50
55	34,07	1638	1641	Naft-1-ol	4,15
56	34,23	1642	---	NI	0,19
57	34,56	1651	1659	Cadin-4-en-10-ol	2,11
58	34,67	1654	---	NI	0,16
59	34,90	1660	---	NI	0,25
60	35,61	1679	---	NI	0,49
61	35,97	1688	---	NI	0,62
62	40,75	1822	---	NI	0,23
Monoterpenos					11,71
Sesquiterpenos					86,21
Diterpenos					---
Total Identificado					91,92

t_R: tempo de retenção, NI: não identificado, % rel.: porcentagem relativa; IR exp.: índice de retenção do experimento, IR lit.: índice de retenção da literatura.

Figura 44 - Cromatograma de CG-EM de OE.3.

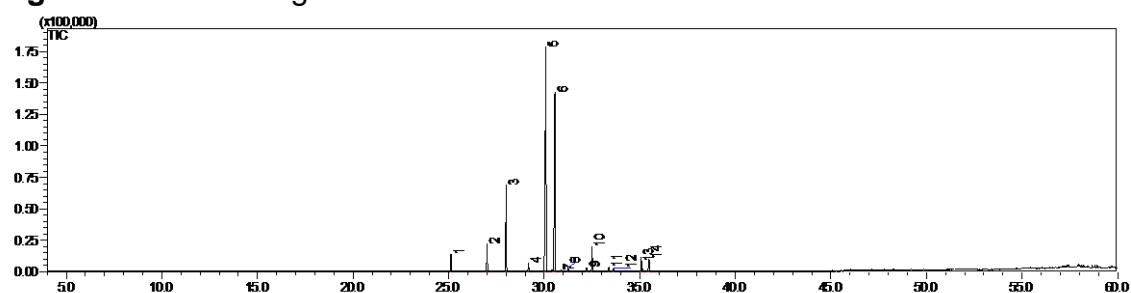
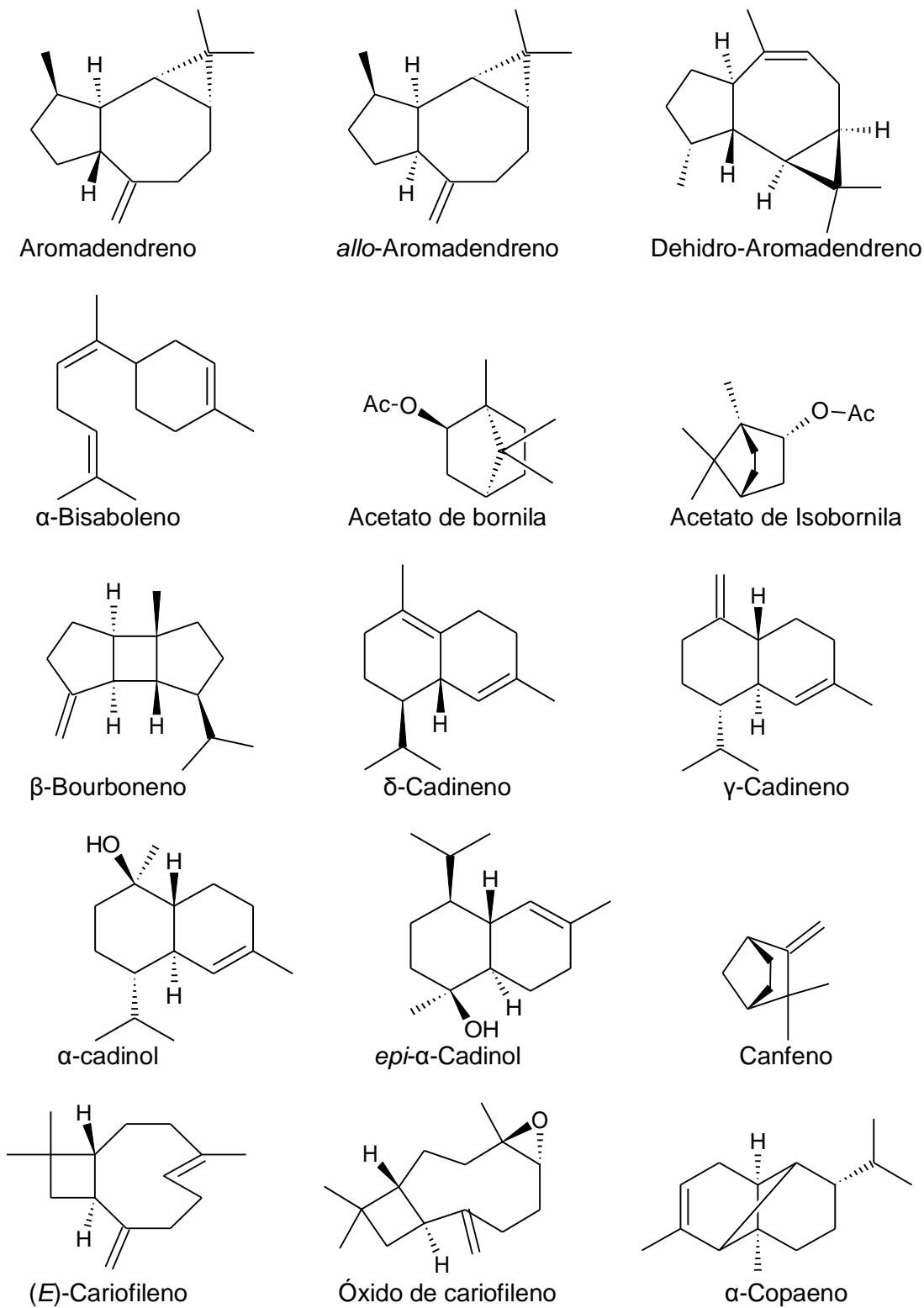


Tabela 16 - Composição química de OE.3.

	Composto	RI ^a	RI ^b	Percentual
1	δ-Elemeno	1330	1335	7.28
2	β-Elemeno	1385	1389	7.59
3	(E)-Cariofileno	1414	1417	11.31
4	α-Humuleno	1450	1452	3.08
5	Germacreno D	1478	1484	30.23
6	Biciclogermacreno	1492	1500	24.61
7	δ-Cadineno	1514	1513	1.42
8	Germacreno B	1554	1559	2.36
9	<i>epi</i> -α-Cadinol	1639	1638	3.72
10	α-Cadinol	1653	1652	3.16
	Monoterpenos Identificados			0.00
	Sesquiterpenos Identificados			93.90
	Total Identificado			93.90

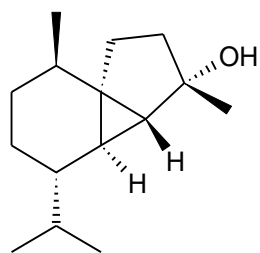
IR (índice de retenção): ^a calculado em coluna RTx-5MS de acordo com Van Den Dool & Kratz (1963) baseado em séries homólogas de alcanos; ^b de acordo com Adams (2001).

Figura 45 - Constituintes químicos identificados em OE.1, OE.2 e OE.3.

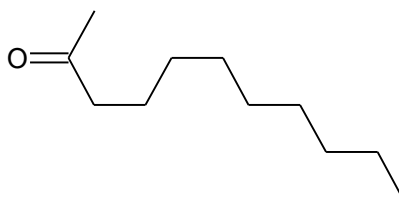


Continua...

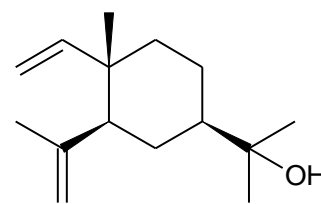
... Continuação da Figura 45



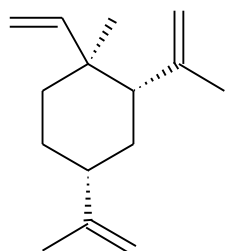
Cubebol



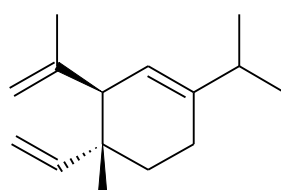
2-Undecanona



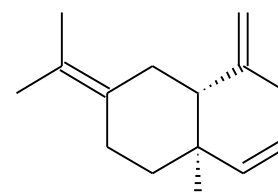
Elemol



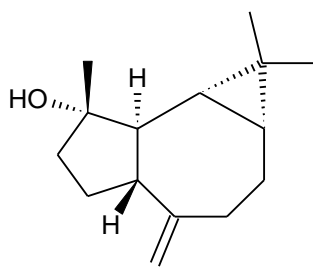
β -Elemeno



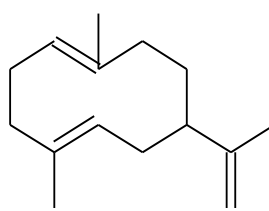
δ -Elemeno



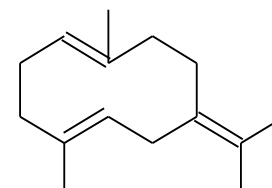
γ -Elemeno



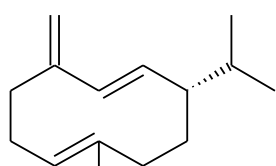
Espatulenol



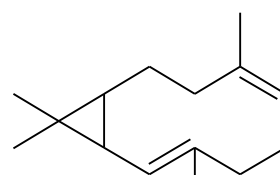
Germacreno A



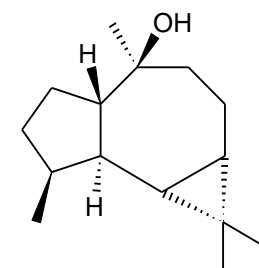
Germacreno B



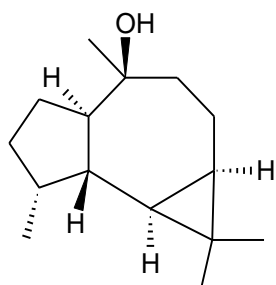
Germacreno D



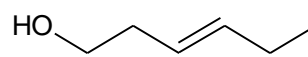
Biciclogermacreno



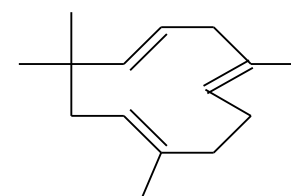
Globulol



Epiglobulol

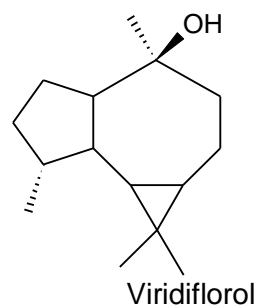
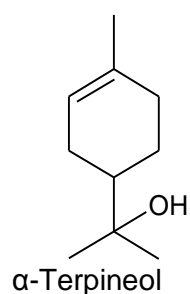
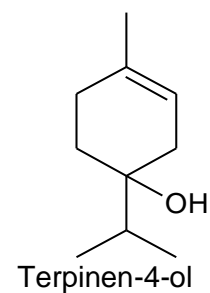
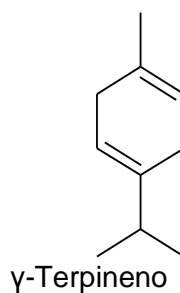
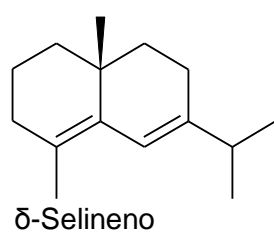
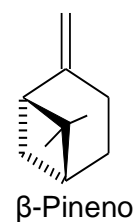
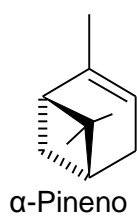
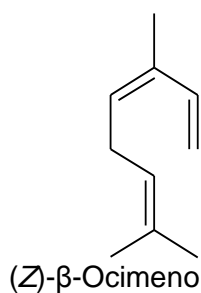
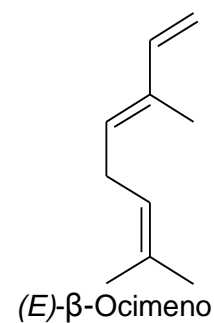
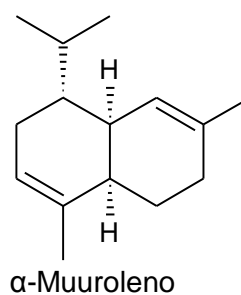
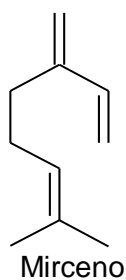
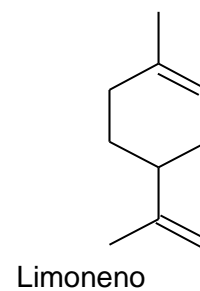
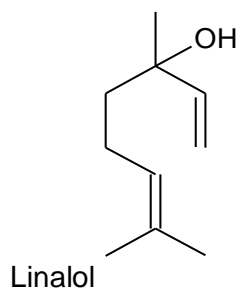
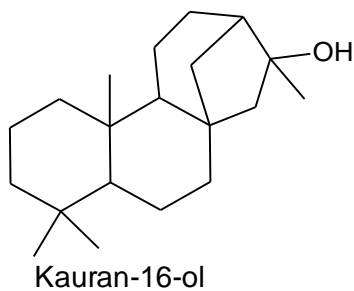


3-Hexen-1-ol



α -Humuleno

Continua...
... Continuação da Figura 45



A maioria dos compostos identificados estão de acordo com os encontrados em óleos essenciais de espécies de Annonaceae. Estudos recentes (SIQUEIRA et

al., 2011) indicaram a presença de α -pineno, β -pineno, canfeno, α -terpineol, β -elemeno, biciclogermacreno, espatulenol, (*E*)-cariofileno, aromadendreno, α -bisaboleno, δ -cadineno, α -cadinol e kauran-16-ol em frutos de *Annona cherimola*.

A maior proporção de α -pineno e biciclogermacreno tem sido observada em diversos óleos essenciais de espécies de *Annona*, indicando que os mesmos podem ser considerados marcadores quimiotaxonômicos do gênero (COSTA et al., 2012). Germacreno D e espatulenol e (*E*)-cariofileno, presentes em OE.2 e OE.3, também são considerados marcadores químicos da família Annonaceae.

5.2.2. Atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos – OE.1

Na análise da atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído dos frutos (OE.1) (Tabela 17), o mesmo apresentou valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) maiores que 2 mg/mL contra todas as cepas testadas, o que indica baixa atividade.

Tabela 17 - Atividade antimicrobiana de OE.1.

<i>Microrganismos</i>	CIM de OE.1
<i>Escherichia coli</i>	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	*
<i>Salmonella choleraesuis</i>	*
<i>Staphylococcus aureus</i>	*
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	*
<i>Enterococcus hirae</i>	*
<i>Candida albicans</i>	*
<i>Candida dubliniensis</i>	*
<i>Candida krusei</i>	*
<i>Candida glabrata</i>	*
<i>Candida tropicalis</i>	*

*CIM > 2mg/mL

5.2.3. Atividade citotóxica do óleo essencial dos frutos – OE.1

O óleo essencial dos frutos de atemoia (OE.1) foi testado quanto à sua citotoxicidade *in vitro*, em linhagens de células tumorais HCT-116 (colorretal humano), OVCAR-8 (ovário humano) e SF-295 (glioblastoma humano) (Tabela 18).

Tabela 18 - Atividade citotóxica e OE.1.

Amostras	SF-295	HCT-116	OVCAR-8
	Média	Média	Média
OE.1	(PA) 10,39 %	(PA) 49,67 %	(PA) 2,47%

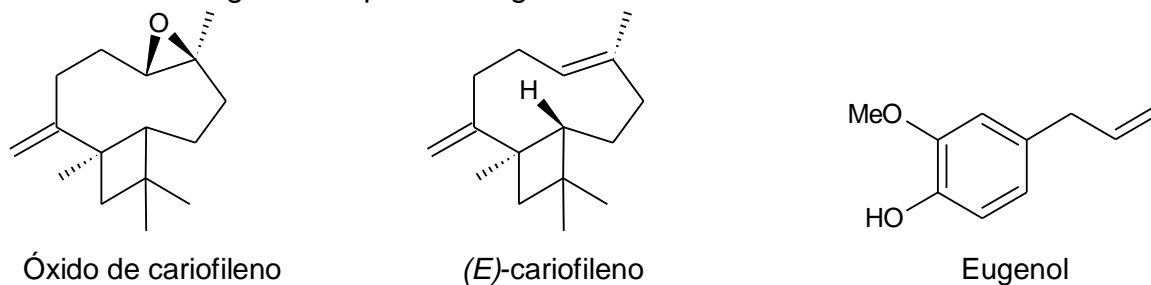
* **Substância insolúvel em DMSO.** Valores de GI% com um intervalo de confiança de 95% obtido por regressão não-linear, feitos em triplicata em 3 linhagens tumorais testadas na dose máxima de 5 µg/mL (substância pura).

Os percentuais de inibição de crescimento celular das células tumorais, diante de OE.1 variaram de 2,47% para OVCAR-8 até 49,67% para HCT-116, sendo que para SF-295, o percentual de inibição foi de 10,30%.

Estudos realizados com outras espécies de anonáceas apresentaram maior potencial citotóxico que os obtidos neste estudo, como é o caso do óleo essencial dos frutos de *Annona vepretorum* (ARAÚJO, 2013), que demonstram atividade moderada contra as células HCT-116, com percentual de inibição 65,57%. Contra as células OVCAR-8 e SF-295, a inibição do crescimento celular foi de 13,15% e 30,32%, respectivamente.

Ahmed et al. (2010), estudando citotoxicidade do óleo essencial e extratos das folhas de *Annona senegalensis*, constataram que os resultados moderados de citotoxicidade estariam relacionados à presença do óxido de cariofileno, principal constituinte identificado na fração considerada moderadamente citotóxica (64,5% da composição). O óleo essencial extraído das folhas de *Annona muricata*, apresentou notada atividade citotóxica *in vitro* em células MCF-7 (mama), com 99,2% de morte celular em 100 µg/mL (OWOLABI et al, 2013). Estes resultados de citotoxicidade foram atribuídos aos constituintes majoritários do óleo essencial que foram (*E*)-cariofileno (38,9%) e eugenol (30,2%) (Figura 46).

Figura 46 - Exemplos de terpenoides responsáveis pela citotoxicidade de óleos essenciais de algumas espécies do gênero *Annona*.



Levando-se em consideração que o percentual de (*E*)-cariofileno em OE.1 foi de 1,06%, e que eugenol e óxido de cariofileno não foram identificados, a baixa atividade citotóxica de OE.1 está relacionada, provavelmente, à ausência de maior quantidade destes constituintes.

6. CONCLUSÕES



6. CONCLUSÕES

- A pesquisa realizada em bancos de dados (NAPRALERT, Web of Science e Chemical Abstract), permitiu reunir neste trabalho, 147 alcaloides identificados em 26 espécies do gênero *Annona*.
- O estudo fitoquímico do híbrido atemoia levou ao isolamento do alcaloide benziltetraidroisoquinolínico Anomuricina, isolado anteriormente de *Annona muricata* e pela primeira vez nesta espécie. Esta substância foi isolada a partir das folhas frescas deste híbrido e identificada por meio de análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais.
- A triagem fitoquímica preliminar dos extratos hexânico e metanólico das folhas (EHf e EMf, respectivamente) e etanólico dos talos (EEt) permitiu caracterizar fitoquimicamente a atemoia, pela constatação da presença de metabólitos secundários comuns no gênero como, monoterpenos, diterpenos, e flavonoides.
- Os resultados da atividade antioxidante dos extratos mostraram que EEt foi o antioxidante mais efetivo nos métodos do sequestro dos radicais DPPH e ABTS, e o EHf apresentou o melhor percentual de atividade antioxidante no ensaio do β -caroteno/ácido linoleico.
- EEt e EMf mostraram-se ativos contra cepas de *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.
- O óleos essenciais extraídos dos frutos (OE.1) e folhas frescas (OE.2) e secas (OE.3) de atemoia, foram caracterizados quimicamente e todos apresentaram sesquiterpenos como constituintes majoritários. biciclogermacreno, germacreno D e (*E*)-cariofileno são alguns dos constituintes que apareceram em todos os óleos de atemoia.

- OE.1 não apresentou elevada citotoxicidade para nenhuma linhagem tumoral, assim como não apresentou atividade antimicrobiana significativa contra nenhuma cepa de bactéria testada.

REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 1995.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2001.

AGUILAR, R. ***Duguetia confusa* Maas**. Flickr. 2005. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/plantaspinunsulaosa/6678427407/in/photolist-bb9FN8-b9xQyM-b9xR6p-b9xPWg-aZQCq8-bb9FJZ-b9xPJK-aZQCjR-b9xP8e-aZQCbT-fxgDJJ-7TG2Jy-bb9FzV-bb9FF8-7TCMSt-bVdRc9-ds7sP9-dhWqKe-ds7sTS-diGJyY-7TG3gQ-dkzW8v-dkzoHn-dhWgVr-diGLAu-diGHUd-dhWuSm-dhVRp5-dkzFny-ds7iSP-dhWyWi-dhVEe4-dkzRB9-dkzyWD-dhWm1T-dhW3Dk-ds7iPH-dhVrzG-dhWLN0-dhVK1M-dkAFpf-dkzMsh-dhVWzr-dhVN3S-dhVA2a-ds7iLH-dkAdGs-dhVnZm-dhWBUN-dkALGh-dhWbTL/>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

AGUILAR, R. ***Guatteria pudica* N. Zamora & Maas**. Flickr. 2008. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/plantaspinunsulaosa/6648857285/in/set-72157637534113364>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

AHER, P. S.; SHINDE, Y. S.; CHAVAN, P. P. *In vitro* evaluation of antibacterial potential of *Annona squamosa* L. against pathogenic bacteria. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Chandigarh, v. 3, n. 5, p. 1457-1460, 2012.

AHMAD, F. B., SALLEHUDDIN, N. K. N. M., ASSIM, Z. Chemical constituents and antiviral study of *Goniothalamus velutinus*. **Journal of Fundamental Sciences**, Malaysia, v. 6, n. 1, p. 72-75, 2010.

AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 74, p. 113–123, 2001.

AHMED, A. L. et al. Cytotoxic essential oil from *Annona sengalensis* Pers. leaves. **Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 4, p. 211-214, 2010.

ALMEIDA, J. R. G. S. et al. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World Journal**, Cairo, v. 2012, p. 1-6, 2012.

ALMEIDA, J. R. G. S. et al. Antinociceptive activity of discretamine isolated from *Duguetia moricandiana*. **Natural Product Research**, Abingdon, v. 25, n. 20, p. 1908-1915, 2011a.

ALMEIDA, J. R. G. S. et al. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, India, v. 2, n. 4, p. 367-374, 2011b.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ANDRADE, C. A. et al. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-Mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

ANJANEYULU, B. et al. Chemical investigation of some Indian plants. **Indian Journal of Chemistry**, New Delhi, v. 3, n. 237, 1965.

ARAÚJO, C. S. **Estudo fitoquímico e atividade biológica *in vitro* de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae)**. 2013. 198f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina, Petrolina, 2013.

BARATA, L. E. S. et al. Plantas Medicinais Brasileiras. IV. *Annona muricata* L. (Graviola). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 4, 2009.

BARGER, G; WEITNAUER, G. Constitution and synthesis of Annonaine. **Helvetica Chimica Acta**, Basel, v. 22, n. 1036, 1939.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recente progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, London, v. 22, n. 2, p. 269-303, 2005.

BERRIDGE, M. V. et al. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, v. 4, p. 14-19, 1996.

BHAKUNI, D.S.; TEWARI, S.; DHAR, M.M. Aporphine alkaloids of *Annona squamosa*. **Phytochemistry**, New York, v. 11, p. 1819-1822, 1972.

BHAUMIK, P.K. et al. Alkaloids from leaves of *Annona squamosa*. **Phytochemistry**, New York, v. 18, p. 1584-1586, 1979.

BOMFIM, I. S. **Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* de uma benzoisoquinolina isolada de *Mitracarpus baturitensis* SUCRE (Rubiacea)**. **Dissertação**. 2013. 68f. Dissertação (Mestrado em farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Campus Fortaleza, Fortaleza, 2013.

BORGUINI, R. G. **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculntu*) orgânico em comparação ao convencional**. 2006. 178f. Tese (Doutorado em saúde pública). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BORUP, I.; KINGSTON, D.G.I. Isolation and structure elucidation of cytotoxic aporphine alkaloids from *Annona acuminata*. **Abstract of Joint Meeting American Society of Pharmacognosy and Society for Economic Botany Boston**, v. 31, 1981.

BORUP GROCHTMANN, I.; KINGSTON, D.G.I. Aporphine alkaloids from *Annona acuminata*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 45, n. 1, p.102, 1982.

BRADLEY, K. ***Annona squamosa* (sugar-apple)**. Flickr, 2011. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/35605280@N05/8453380104/in/photolist-dSZMoQ-aV96mt-aV96iM-iQHgYc-8GbkwZ-a3hZ1D-a3hYZ4-9pioAQ-7Jo9fB-agFdQA-83uwCi-8NoQHG-83uwAM-9Q4bko-7C4uuu-bnaV9A-9PxmMZ-9PxmVK-iuFQFm-iuFm1e-asM3fC-9SDGow-dXdSA5-dNrNL9-aQcbke-82euxg-bzkSyt-9SGdLM-iKhF5T-8FevjA-9v8KBc-92DPrK-8JfRS4-bAmRrG-giiTHD-cPZESA-hgSq9C-bwSVMK-bWaf6U-877oCm-87oSnW-87kTip-87kEda-87p6qj-877pXC-dfMU1W-fN7zT3-8J94GC-ipT5rU-8FsE4H-9fuJBe>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

BRASÃO, M. A. B. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Piper aduncum* l. e seu componente, dilapiol, frente a *staphylococcus* spp. multirresistentes**. 2012. 81f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.

CAMPOS, F.R. et al. Isoquinoline alkaloids from leaves of *Annona sericea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 36, p. 804-806, 2008.

CAROLLO, C. A. et al. Alkaloids and a flavonoid from aerial parts (leaves and twigs) of *Duguetia furfuracea* – Annonaceae. **Journal of the Chilean Chemical Society**, Concepción, v. 51, n. 2, p. 837-841, 2006.

CASSADY, J. M.; DOUROS, J. D. **Anticancer Agents Base on Natural Products Models**. Eds. New York: Academic Press, 1980.

CASTANEDA, P. et al. Constituents of *Annona glabra*. **Fitoterapia**, Milano, v. 65, n. 5, p. 478, 1994.

CASTRO, I. et al. Oxoaporphine alkaloids from *Annona purpurea* wood. **Fitoterapia**, Milano, v. 58, n. 2, p. 181-182, 1996.

COMPANHIA DE ENTERPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. **Programa brasileiro para a modernização da horticultura**: normas de classificação de Anonáceas. São Paulo, v.11, n.1, 2013. 8P

CHANDRASHEKAR, C; KULKARNI, V. R. Isolation, characterization and antimicrobial activity of *Annona squamosa* leaf. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 6, p. 1831-1832, 2011.

CHANG, F. R. et al. Bioactive acetogenins from the seeds of *Annona atemoya*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 7, p. 883-889, 1999.

CHANG, F.R. et al. Chemical constituents from *Annona glabra*. III. **Journal of Chinese Chemical Society**, Peiping, v. 47, p. 913-920, 2000a.

CHANG, F.R. et al. New alkaloids from *Annona purpurea*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 63, n. 6, p. 746-748, 2000b.

CHANG, F.R. et al. Bioactive alkaloids from *Annona reticulata*. **Chinese Pharmaceutical Journal**, Taipei, v. 47, n. 5, p. 483-491, 1995.

CHANG, F.R. et al. Antiplatelet aggregation constituents from *Annona purpurea*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 61, n. 12, p. 1457-1461, 1998a.

CHANG, F.R. et al. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. **Phytochemistry**, New York, v. 49, n. 7, p. 2015-2018, 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**. Oxford, v. 169, p. 5-40, 2012.

CHATROU, L. W.; RAINER, H.; MAAS, P. J. M. Annonaceae (Soursop family). In SMITH N. et al. (eds.). **Flowering Plants of Neotropics**. New York Botanical Garden, 2004. 18-20p.

CHEN, C.Y. et al. Four alkaloids from *Annona cherimola*. **Phytochemistry**, New York, v. 56, n. 7, p. 753-757, 2001.

CHEN, C.Y. et al. Cheritamine, a new n-fatty acyl tryptamine and other constituents from the stems of *Annona cherimola*. **Journal of Chinese Chemical Society**, Peiping, v. 46, n. 1, p. 77-86, 1999.

CHEN, C.Y.; CHANG, F.R.; WU, Y.C. Cherimoline, a novel alkaloid from the stems of *Annona cherimola*. **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 38, n. 35, p. 6247-6248, 1997.

CHEN, C.Y.; CHANG, F.R.; WU, Y.C. Cherinonaine, a novel dimeric amide from the stems of *Annona cherimola*. **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 407-410, 1998a.

CHEN, C.Y. et al. Amides from stems of *Annona cherimola*. **Phytochemistry**, New York, v. 49, n. 5, p. 1443-1447, 1998b.

CHEN, C.Y.; WU, Y.C. Annocherine C, a new C-alpha-hydroxy benzylisoquinoline and other constituents from the leaves of *Annona cherimola*. **Journal of Chinese Chemical Society**, Peiping, v. 48, p. 1203-1206, 2001.

CHEN, W. S. et al. Annonaceous acetogenins from *Annona atemoya* Hort. **Youji Huaxue**, v. 16, n. 2, p. 145-151, 1996.

CHEN, W. S. et al. Atemoyacin A: a new bis-tetrahydrofuranyl annonaceous acetogenin from *Annona atemoya*. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 263-266, 1995a.

CHEN, W. S.; YAOK, Z. J.; WU, Y. L. Study on the chemical constituents of *Annona atemoya* Hort and the isolation and structure of atemoyacin B. **Acta Chimica Sinica**, v. 53, n. 5, p. 516-520, 1995b.

CHEN, W. S.; YU, Q.; WU, Y. L. The isolation and structure of atemoyacin D. **You-Ji Hua Hsueh**, v. 19, n. 4, p. 385-389, 1999.

CHEN, Y. et al. Antitumor activity and toxicity relationship of Annonaceous acetogenins. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 58, p. 394-400, 2013.

CHEN, Y. et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant effects of the ethanolic extract of *Swertia chirayita*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 136, n. 2, p. 309-315, 2011.

CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**. Reading, v. 80, p. 249-255, 2003.

CHULIA, S. et al. Vasodilator effects of liriodenine and norushinsunin, two aporphine alkaloids isolated from *Annona cherimolia*, in rat aorta. **Pharmacology**, Basel, v. 50, n. 6, p. 380-387, 1995.

CONTINI, M. et al. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. **Food Chemistry**. Reading, v. 110, p. 659-669, 2008.

COSTA, E. V. et al. Essential oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. **Natural Product Communications**. Westerville, v. 7, n. 2, p. 265-266, 2012.

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**. Abingdon, v. 27, p. 997-1001, 2013.

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, p. 9714-9720, 2011.

COSTA, E. V. et al. Full NMR analysis of annomontine, methoxyannomontine and N-hydroxyannomontine pyrimidine- β -carboline alkaloids. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 46, n. 1, p. 69-74, 2008.

COSTA, E. V. et al. A Pyrimidine- β -carboline and Other Alkaloids from *Annona foetida* with Antileishmanial Activity. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 69, p. 292-294, 2006.

COSTA, P. R. R. Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Revista Virtual de Química**, vol. 1 n. 1, p.58-66, 2009.

COSTA LOTUFO, L. V. et al. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 100, p. 72-79, 2005.

CRUZ, L. S. et al. Physical and chemical characterization of fractions of fruit atemoya Gefner. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 12, p. 2280-2284, 2013.

CRUZ, P. E. O. **Estudo fitoquímico e investigação das atividades antioxidante, antimicrobiana e larvicida das cascas de *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae)**. 2011. 136f. Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal de Sergipe. Campus São Cristóvão, São Cristóvão, 2011.

CRUZ, P. E. O. et al. Chemical constituents from the bark of *Annona salzmannii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 39, p. 872-875, 2011.

CUNICO, M. M. et al. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v 14, p. 97-103, 2004.

DAVID, A. R.; ZIMMERMAN, M. R. Cancer: n old disease, a new disease or something in between? **Nature Reviews Cancer**, London, v.10, p.728-733, 2010.

DEWICK, P. M. Alkaloids. In: DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. Chichester, New York: John Wiley, 1997. 270-371p.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Ed. UNESP, 2002. 605 p.

DOLL, R.; PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimatives of avoidable risks of cancer in the United States today. **Journal of the National Cancer Institute**, Cary, v. 66, p. 1191-1308, 1981.

DORMAN, H. J. et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

DUDONNÉ, S. et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 57, p. 1768-1774, 2009.

DURET, P.; HOCQUEMILLER, R.; CAVE, A. Annonisin, a bis-tetrahydrofuran acetogenin from *Annona atemoya* seeds. **Phytochemistry**, v. 45, n. 7, p. 1423-1426, 1997b.

DURET, P.; HOCQUEMILLER, R.; CAVE, A. Bulladecin and atemotetrolin, two bis-tetrahydrofuran acetogenins from *Annona atemoya* seeds. **Phytochemistry**, v. 48, n. 3, p. 499-506, 1998.

DURET, P. et al. Atemoyin, a new bis-tetrahydrofuran acetogenin from the seeds of *Annona atemoya*. **Natural Product Letters**, v. 5, n. 4, p. 295-302, 1995.

DURET, P. et al. Annotemoyin-1 and -2: two novel monotetrahydrofuranic gamma-lactone acetogenins from the seeds of *Annona atemoya*. **Natural Product Letters**, v. 8, n. 2, p. 89-95, 1996.

DURET, P. et al. High-speed countercurrent chromatography: a promising method for the separation of the Annonaceous acetogenins. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 20, n. 4, p. 627-635, 1997a.

DUTRA, L. M. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 41, p. 115-118. 2012.

EGYDIO, A. P. M.; VALVASSOURA, T. A.; SANTOS, D. Y. A. C. Geographical variation of isoquinoline alkaloids of *Annona crassiflora* Mart. from cerrado, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 46, p. 145-151, 2013.

ESTEVEZ SOUZA, A. et al. Cytotoxic activities against ehrlich carcinoma and human k562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 13, n. 6, p. 838-842, 2002.

FARIAS, K. S. et al. Antioxidant properties of species from the Brazilian cerrado by different assays. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 15, n. 4, p. 520-528, 2013.

FAUST, J. et al. Alkaloids from *Annona cristalensis*. **Pharmazie**, Berlin, v. 36, n. 713, 1981.

FENNER, R. ET AL. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 3, 2006.

FERNANDES, P. Antibacterial discovery and development-the failure of success? **Nature Biotechnology**, New York, v.24, p.1497-503, 2006.

FERREIRA, G. et al. Caracterización de los frutos de atemoya (*Annona cherimolia* Mill. x *Annona squamosa* L.) cv. Thompson In: CONGRESO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 3, 2002, Quilhota, Chile. **Anais da Sociedade Internacional de Anonáceas**, Universidade Católica de Val Paraíso, 2002. p. 29-31.

FOFANA, S. et al. Alkaloids from *Annona muricata* leaves. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 47, n. 2, p. 321, 2011.

FORGACS, P. et al. Dopamine and tetrahydroisoquinoline alkaloids of *Annona reticulata* L. Annonaceae. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, Paris, v. 15, p. 10-15, 1981.

FRIDRIANI, I.; WINDYASWARI, A. S.; WIRASUTISNA. Antioxidant capacities of various leaves extract from five colors varieties of sweet potatoes tubers using ABTS, DPPR assays and correlation with total flavonoid, phenolic, carotenoid content. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 7, n. 3, p. 130-140, 2013.

GALASTRI, N. A. **Morfoanatomia e Ontogênese de Frutos e Sementes de *Annona dioica* A. St.-Hil, *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. e *Xylopia emarginata* Mart. (Annonaceae)**. 2008. 96p. Dissertação (Mestrado em biociências). Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu, Botucatu, 2008.

GONZALEZ, M. C. et al. Rollimembrin, a novel Acetogenin Inibitor of Mammalian Mitochondrial Complex I. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 1113-1118, 1997.

GOPINATH, K. W. et al. Constitution of reticuline, a new alkaloid from *Annona reticulata*. **Chemische Berichte**, v. 92; 776, 1959.

GOTTLIEB, O. R.; MORS, W. B. Potential utilization of Brazilian wood extractives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 28, n. 2, p. 196-215, 1980.

GOULD, D. Effective strategies for prevention and control of Gram-negative infections. **Nursing Standard**, Londres, v. 23, n. 48, p. 42-46, 2009.

GUERITTE, F.; FAHY, J. The Vinca Alkaloids. In: CRAGG, G.M.; KINGSTON, D. G. I.; NEWMAN, D. J. **Anticancer Agentes from Natural Products**. Boca Raton, FL: ed. Brunner – Routledge Psychology Press, Taylor & Francis Group, 2005. 47-70p.

GUERRA FILHO, S. S.; FANAN, S. Visão cosmética dos radicais livres. **Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 51-54, 1994.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e Desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**. São Paulo, v. 33, n. 3, 667-679, 2010.

HASRAT, J. A. et al. Isoquinoline derivatives isolated from the fruit of *Annona muricata* as 5-HT_{1A} receptor agonists in rats: unexploited antidepressive (lead) products. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 49, n. 11, p. 1145-1149, 1994.

HASRAT, J. A. ET AL. Screening of medicinal plants from Suriname for 5-HT_{1A} ligands: bioactive isoquinoline alkaloids from the fruit of *Annona muricata*. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 4, n. 2, p. 133-140, 1997.

HERBÁRIO VALE DO SÃO FRANCISCO – HVASF. Dados do Registro de *Annona montana* Macfad. 2010. Disponível em:

<<http://www.univasf.edu.br/~hvasf/index.php?page=dados&query=annona>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

HOCQUEMILLER, R. et al. Alkaloids of the Annonaceae. XXXVI. Alkaloids of *Annona crassiflora* Mart. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**. Paris, v. 16, p. 4-6, 1982.

HUI, Y. H. et al. Bullatacin and bullatacinone: two highly potent bioactive acetogenins from *Annona bullata*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 52, n. 3, p. 463-477, 1989.

HUI, Y. H.; WOOD, K. V. M. C.; LAUGHLIN, J. L. Bullatencin, 4-deoxyasimicin, and the uvariamicins: additional bioactive annonaceous acetogenins from *Annona bullata* Rich. (Annonaceae). **Natural Toxins**, New York, v. 1, n. 1, p. 4-14, 1992.

HUTCHINSON, J. **The Genera of Flowering Plants**, v. 1, Oxford: University Press, 1974.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativa 2014 – Incidência de Câncer no Brasil**. Ministério da Saúde. Disponível em:

<<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>> Acesso em: 23 de janeiro de 2014.

JUDD, W.S. et al. **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sinauer Associates, 1999. 598p.

JUSTO, C. F. **Aspectos ecofisiológicos de plantas jovens de *Xylopia brasiliensis* Sprengel em sub-bosque de mata e de eucaliptal**. 2003. 117f. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

KAVATI, R. O. Cultivo de atemoia. In: DONADIO, L.C.; MARTINS, A.B.G.; VALENTE, J.P. **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 39-70p.

KIM, Y.; GIRAUD, D. W.; DRISKELL, J. A. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**. Netherlands, v. 20, n. 6, p. 458-465, 2008.

KUMAR, V. et al. **Pathology basis of disease**. Philadelphia: WB Saunders, 2004.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LAPREVOTE, O. et al. Alkaloids of the Annonaceae. 88. Alkaloids of *Annona paludosa* Auble. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**. Paris, v. 22, n. 3, p. 159-164, 1988.

LEBOEUF, M. et al. The phytochemistry of the Annonaceae. **Phytochemistry**, New York, v. 21, n. 12, p. 2783-2813, 1982.

LEBOEUF, M. et al. Alcaloïdes des Annonacées: XXIX – Alcaloïdes de l'*Annona muricata* L. **Planta Medica**, Stuttgart, v.42, p.37-44, 1981.

LEBOEUF, M. et al. Alkaloids of the Annonaceae. 40. Chemical and pharmacological study of the alkaloids of *Annona montana* Macf. **Plantes Medicinales et Phytotherapie** Paris, v. 16, n. 3, p. 169-184, 1982.

LEBOEUF, M. et al. Anomurine and anomuricine, two new isoquinoline alkaloids from *Annona muricata*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 39, p. 204-205, 1980.

LI, P. et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. **Journal of the Serbian Chemical Society**, Belgrado, v. 76, n. 5, p. 709-717, 2011.

LI, X. H. et al. Bullatacin, bullatacinone and squamone, a new bioactive acetogenin from the bark of *Annona squamosa*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 53, n. 1, p. 81-86, 1990.

LIMA, L. A. R. S. I. et al. Avaliação da atividade citotóxica das sementes de *Annona cornifolia* A. St.-Hil. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 4, 2012.

LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, Reading, v.122, n. 4, p. 1129-1138, 2010.

LOBÃO, A.Q., MELLO SILVA, R., FORZZA, R.C. *Guatteria* (Annonaceae) da Floresta Atlântica brasileira. **Rodriguésia**. Rio de Janeiro, v. 63, p. 1039-1064, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

LORENZI, H., MATOS, F.J.A. **Plantas Mediciniais no Brasil**: Nativas e Exóticas Cultivadas. Nova Odessa: lantarum, 2002.

LÚCIO, A. S. S. C. **Alcaloides azafenantrenos isolados de *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague e Sandwith (Annonaceae)**. 2011. 121f. Dissertação (Mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos). Universidade Federal da Paraíba. João pessoa, PB, 2011.

LÚCIO, A. S. S. C. et al. Alkaloids of the Annonaceae: occurrence and a compilation of their biological activities. **The alkaloids**. No prelo 2014.

MAAS, P. J, M.; WESTRA, L. Y. T. Studies in Annonaceae. II - A monograph of the genus *Anaxagorea* A. St. Hil.- Part 1. **Botanische Jahrbuecher fur Systematik**. v. 105, p. 73-134, 1984.

MAAS, P. J. M.; WESTRA, L. Y. T. Studies in Annonaceae. II - A monograph of the genus *Anaxagorea* A. St. Hil.- Part 1. **Botanische Jahrbuecher fuer Systematik.**, v. 105, p. 73-134. 1984.

MAAS, P., RAINER, H., LOBÃO, A. *Annonaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2012. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB110219>).

MANACH, C., DONOVAN, J. Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. **Free Radical Research**, Yverdon, v. 38, n.8, p.771-785, 2004.

MANICA, I. Taxonomia, morfologia e anatomia. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M.; REBOLÇAS, T. N. H. **Anonáceas, produção e mercado** (Pinha, Graviola, Atemóia e cherimlia). Vitória da conquista: DZF/ EUSB, 1997. 20-35p.

MARSAIOLI, A. J.; RUVEDA, E. A.; REIS, F. A. M. ¹³C NMR Spectral Analysis of some Isoquinoline Alkaloids. **Phytochemistry**, Inglaterra, v. 17, p. 1665-1658, 1978.

MATSUMOTO, R. S. et al. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

MATSUSHIGE, A. et al. Annonamine, a new aporphine alkaloid from the leaves of *Annona muricata*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 60, n. 2, p. 257-259, 2012.

MEIRELES, M. A. O. M. **Uso de antimicrobianos e resistência bacteriana: Aspectos socioeconômicos E comportamentais e seu impacto clínico e ecológico**. 2008. 50p. Monografia (Especialização em microbiologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, p. 127-130, 2001.

MERCADANTE, M. ***Annona crassiflora* Mart. Annonaceae**. Flickr. 2009. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/5057965464/in/set-72157624984205813>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

MERCADANTE, M. ***Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. Annonaceae**. Flickr. 2011. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/43256055@N03/5445197371/in/photolist-9ib4ti-9ib4Ft-9ie96d-9ie9pw-9ie925-8TaFxB-8TaGUT-bA5Vea-8BA7CD-8BDda5-8BDaQA-8BA6Fv-8BA5Kr-8BDdVG-bWqz6L-96bvsP-8TaHkX-8TaG1e-bm4PkX-itrvQi-iRtKiz-iRysnm-c7Y84U-hQHeSW-hQHsKu-a8aXxL-a8852x-iuEZt2-iuGVhH-iuEAbF-iuFWwZ>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

MEYER, TM. The alkaloids of *Annona muricata*. **Ing Ned Indie**, Bandung, v. 8, n. 6, p. 64, 1941.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, São Paulo, vol. 24, No. 1, 105-111, 2001.

MORAIS, M. L. et al. Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, 2013.

MOREIRA, V. S. **Atividade antioxidante e caracterização físico-química de variedades de urucueiros *in natura* e encapsulado**. 2013. 87f. Dissertação (Mestrado em engenharia de alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Itapetinga, Itapetinga, 2013.

MORITA, H. et al. Samoquasine A, a benzoquinazoline alkaloid from the seeds of *Annona squamosa*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 63, n. 12, p. 1707-1708, 2000.

MOSCA, J. L., CAVALCANTE, C. E. B., DANTAS, T. M. Documentos 106: Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. EMBRAPA Agroindústria Tropical. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 65, p. 55-63, 1983.

NANDHAKUMAR, E.; INDUMATHI, P. *In vitro* Antioxidant Activities of Methanol and Aqueous Extract of *Annona squamosa* (L.) Fruit Pulp. **Journal of Acupuncture and Meridian Studies**, v. 6, n. 3, p. 142-148, 2013.

NAZARO, J. M. **Identificação de metabólitos de *Annona dioica* com atividade ixodícida frente ao carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. 2013. 87f. Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campus Campo Grande, Campo Grande, 2013.

NDHLALA, R., MOYO, M.; VAN STADEN, J. Natural antioxidants: fascinating or mythical biomolecules? **Molecules**, v. 15, p. 6905-6930, 2010.

NEVES, L. C. ALENCAR, S. M. CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonóides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas. VII BMCFB, 2009.

NISHIYAMA, Y. et al. Secondary and tertiary isoquinoline alkaloids from *Xylopiya parviflora*. **Phytochemistry**, Inglaterra, v. 67, n. 24, p. 2671-2675, 2006.

NOGUEIRA, E. A.; MELLO, N. T. C.; MAIA, M. L.; **Produção e comercialização de Anonáceas em São Paulo e Brasil**: Informações econômicas, SP, v. 35, n. 2, 2005.

OLIVEIRA, A. B. et al. Geovanine, a new azaanthracene alkaloid from *Annona ambotay* Aubl. **Phytochemistry**, New York, v. 26, n. 9, p. 2650-2651, 1987.

OLIVEIRA, M. C. et al. Germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) CV 'GEFNER' submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 544-554, 2010.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. G. et al. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of extracts from the flowers of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, Rajasthan, v. 4, n. 10, p. 4489-4494, 2012.

OMAR, S. et al. Phenanthrene lactans from *Goniothalamus velutinus*. **Phytpchemistry**, New York, vol. 31, n. 12, p. 4395-4397, 1992.

OWOLABI, M. S. et al. The cytotoxic activity of *Annona muricata* leaf oil from Badagary, Nigeria. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**. v. 1, n. 1, p. 1-3, 2013.

PALMEIRA, J. D. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcolóico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1, p. 33-37, 2010.

PAULO, M. D. Q. et al. Antimicrobial activity of benzylisoquinoline alkaloids from *Annona salzmanii* D.C. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 36, n. 1, p. 39-41, 1992.

PHILIPOV, S.; KANDE, K.M.; MACHEV, K. Alkaloids of *Annona senegalensis*. **Fitoterapia**, Milano, v. 66, n. 3, p. 275-276, 1995.

PINHEIRO, M. L. B. et al. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. São Paulo, v. 20 n. 6, p. 1095-1102, 2009.

PINO, J. *Annona* fruits (chapter 14). **Handbook of Fruit and Vegetable Flavors** (ed Y. H. Hui), John Wiley & Sons, Inc. New Jersey: Hoboken, 2010. 231-247p.

PISCO, L. et al. Synthesis of compounds with antiproliferative activity as analogues of prenylated natural products existing in Brazilian propolis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 41, p. 401-407, 2006.

PISSINATE, K. **Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos**. 2006. 93f. Dissertação (Mestrado em química orgânica). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2006.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.67,n.5, p.289-297, 1997.

QUEIROZ, E. F. et al. Pesseoie and spinosine, two catecholic berbines from *Annona spinescens*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 59, n. 4, p. 438-440, 1996.

RAHIER, N. J.; THOMAS, C. J.; HECHT, S. M. Camptothecin and its Analogs. In: CRAGG, G. M.; KINGSTON, D. G. I.; NEWMAN, D. J. **Anticancer Agents from Natural Products**. Boca Raton: ed. Brunner-Routledge Psychology Press, Taylor & Francis Group, 2005. 05-22p.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, 2006.

RAO, R. V. K.; MURTY, N.; RAO, J. V. L. N. S. Occurrence of borneol and camphor and a new terpene in *Annona squamosa*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 40, p. 170-171, 1978.

RASAMIZAFY, S. et al. Alkaloids of *Annona hayesii*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 50, n. 4, p. 759-761, 1987.

RATNAM, D. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, Amsterdan, v. 113, p. 189-207, 2006.

REDDY, L.; ODHAV, B.; BHOOLA, K. D. Natural products for cancer prevention: a global perspective. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v.99, p. 1-13, 2003.

REZENDE, C. M. Vladimir Prelog and the stereochemistry of organic molecules: a centenary of birt. **Química Nova**. São Paulo, v. 30, n. 4, 2007.

RIBEIRO, J.E.L.S. et al. **Flora da Reserva Ducke**: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus: Inpa, 1999. 800p.

RIBEIRO, L. A. A. et al. O Ácido (8)17,12E,14-labdatrieno-18-óico (labdano302), diterpeno tipo labdano isolado de *Xylopija langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae) relaxa a traquéia isolada de cobaia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Curitiba, v. 17 n. 2, 2007.

RINALDI, M. V. N. **Avaliação da atividade antibacteriana e citotóxica dos alcalóides isoquinolínicos de *Annona hypoglauca* Mart.** 2007. 125p. Dissertação (Mestrado em fármaco e medicamentos) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

RIOS, J. L.; CORTES, D.; VALVERDE, S. Acetogenins, aporphinoids and azaanthraquinone from *Annona cherimolia* seeds. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 55, n. 3, p. 321-323, 1989.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RUAS, G. W. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de lisozimas**. 2010. 80p. Dissertação (Mestrado em fármaco e medicamentos). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SAAD, J. M. et al. Reticulatacin: a new bioactive acetogenin from *Annona reticulata* (Annonaceae). **Tetrahedron**, Oxford, v. 47, n. 16/17, p. 2751-2756, 1991.

SAITO, M. L.; ALVARENGA, M. A. Alkaloids from *Annona cacans*. **Fitoterapia**, Milano, v. 65, n. 1, p. 87, 1994.

SANDOVAL, D. et al. Annonelliptine, an alkaloid from *Annona elliptica*. **Phytochemistry**, New York, v. 24, n. 2, p. 375-376, 1985.

SANDOVAL LOPEZ, D.; RIPPERGER, H. Chemical studies in Cuban species of the genus *Annona*. I. *Annona bullata* Rich. **Revista Cubana de Farmacia**, Habana, v. 20, n. 10, p. 83-86, 1986.

SANEWSKI, G.M. **Gustard apples**: cultivation and crop protection. Brisbane: Queensland Department of Primary Industries, 1991. 103p.

SANTOS, A. C. Alkaloid from *Annona reticulata*. **Philippine Journal of Sciences**, v. 43, p. 561, 1930.

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

SANTOS, G. A.; LIBREA, J. R.; SANTOS, A. C. The alkaloids of *Annona muricata*. **Philippine Journal of Sciences**. v. 96, p. 399, 1967.

SANTOS, L. P.; BOAVENTURA, M. A. Crassiflorina, uma acetogenina tetra-hidrofurânica citotóxica de *Annona crassiflora* (araticum). **Química Nova**. São Paulo, v.17, n.5, p.387-391, 1994.

SANTOS, L. P. et al. Grossamide and N-*trans*-caffeoyltyramine from *Annona crassiflora* seeds. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 62, n. 1, p. 76, 1996.

SANTOS, P. R. D.; MORAIS, A. A.; BRAZ FILHO, R. Alkaloids from *Annona dioica*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 396-400, 2003.

SARTORI, M. R. K. **Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores da *Acmela brasiliensis* SPRENG (*Wedelia paludosa*) (ASTERACEAE)**. 2005. 81p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2005.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. Clonagem de quatro espécies de Annonaceae potenciais como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 286-289, 2003.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. A review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SILVA JÚNIOR, M. C. et al. **100 Árvores do Cerrado -Guia de Campo**. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado, 2005.

SILVA, F. C. et al. Atividade antimicrobiana do policarpol isolado de *Unonopsis duckei* In: 34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Florianópolis, 2011. **Anais da Sociedade Brasileira de Química**, Centro de Convenções do Costão do Santinho Resort, 2011. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/34ra/resumos/T0353-1.pdf>> Acesso em 28 de janeiro de 2014.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, M. S. et al. Alkaloids and other constituents from *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.

SIMÃO, S. Anoneira. In: **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, p. 313-326, 1998.

SIMEON, S.; RIOS, J. L.; VILLAR, A. Alkaloids from *Annona cherimolia* (Mill.) stem bark. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, Paris, v. 23, n. 3, p. 159-161, 1989.

SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.

SIQUEIRA, C. A. T. et al. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity. **Revista brasileira de farmacognosia**, Curitiba, v. 21, n. 1, 2011.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, p. 49-55, 1977.

SONNET, P. E.; JACOBSON, M. Tumor inhibitors II: cytotoxic alkaloids from *Annona purpurea*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, v. 60, n. 8, p. 1254-1256, 1971.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, I. V. et al. Efeito do desbaste de frutos na produção e comercialização da pinha (*Annona squamosa* L.). **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, n. 2, p. 89-88, 2012.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 82-85p.

TANNEBERGER, W. **Annonaceae: *Asimina triloba*** - American Pawpaw flower. Flickr. 2010. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/tanneberger/4552373097/>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. Sao Paulo: Editora Atheneu, 2002. 1216p.

THOMAS., C. E.; KAKYNARAMAN, B. **Oxygen Radicals and the Disease Process**. USA: Edited by Craig E. Thomas and Balaraman Kakynamaran, 1997.

TIAN, L. J. et al. Study on chemical constituents of *Annona glabra*. **Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao**, v. 32, n. 1, p. 10-12, 2001.

TOKUNAGA, T. A. **Cultura da Atemóia**. Campinas: CATI, 2000. 80p. (Boletim Técnico, 233).

TOSCAN, C. M. **Atividade antimicrobiana e antioxidante de terpenoides**. 2010. 69p. Dissertação (Mestrado em biotecnologia). Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

URZUA, A.; CASSELS, B. K. Preliminary studies of the alkaloids of *Annona cherimolia*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 8, n. 3, p. 133-134, 1977.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-467, 1963.

VEGA, M. R. G. et al. Flavonoids from *Annona dioica* leaves and their effects in Ehrlich carcinoma cells, DNA-topoisomerase I and II. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1554-1559, 2007.

VENDRAMIM, M. E. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona rugulosa* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 49, p. 152-155, 2013.

VILLAR DEL FRESNO, A.; RIOS CANAVATE, J. L. Alkaloids from *Annona cherimolia* seed. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 46, n. 3, p. 438, 1983.

VILLAR, A. et al. Alkaloids from *Annona cherimolia* leaves. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 48, n. 10, p. 151-152, 1985.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2nd ed. New York: Springer, 1996.

WAGNER, H.; REITER, M.; FERSTL, W. New drugs with cardiotoxic activity. I. Chemistry and pharmacology of the cardiotoxic active principle of *Annona squamosa* L. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 40, p. 77-85, 1980.

WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, p. 1362-1370, 2010.

WARTHEN, D.; GOODEN, E. L.; JACOBSON, M. Tumor inhibitors: liriodenine, a cytotoxic alkaloid from *Annona glabra*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington v. 58, p. 637, 1969.

WATANABE, H. S. et al. Perfil de comercialização das anonáceas nas CEASAS brasileiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, edição especial, p. 65-70, 2014.

WATERMAN, P.; MOHAMMAD, I. Uvariastrol, a novel cycloartane triterpene from the stem bark of *Uvariastrum zenkeri*. **Phytochemistry**, New York, v. 23, n. 9, p. 2077–2079, 1984.

WONGSA, N.; KANOKMEDHAKUL, S.; KANOKMEDHAKUL, K. Cananginones A–I, linear acetogenins from the stem bark of *Cananga latifolia*. **Phytochemistry**, New York, v. 72, p. 1859–1864, 2011.

WU, P. et al. Annonaceous acetogenins from roots of *Annona atemoya* Hort. **You-Ji Hua Hsueh**, v. 19, n. 1, p. 46-52, 1999.

WU, Y. C.; CHANG, F. R.; CHEN, C. Y. Tryptamine-derived amides and alkaloids from the seeds of *Annona atemoya*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 68, n. 3, p. 406-408, 2005.

WU, Y. C. et al. Cytotoxic alkaloids of *Annona montana*. **Phytochemistry**, New York, v. 33, n. 2, p. 497-500, 1993.

WYLLIE, S. G. et al. Volatile flavor components of *Annona atemoya* (custard apple). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 5, p. 768-770, 1987.

XU, H. X.; LEE, S. F. Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, n. 1, p. 39-43, 2001.

XU, L. Z. et al. Alkaloids of *Annona reticulata*. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 17, n. 5, p. 295-296, 1992.

YANG, T. H.; CHEN, C. M. Studies on the alkaloids of *Annona glabra*. II. **Chinese Pharmaceutical Journal**, Taipei, v. 25, n. 1, 1973.

- YANG, T. H.; CHEN, C. M. Studies on the alkaloids of *Annona montana*. **Proceedings of the National Science Council**, Republic of China, v. 3, p. 63-66, 1979.
- YANG, T. H.; CHEN, C. M.; KONG, H. H. Studies on the constituents of Annonaceous plants: I. Alkaloids of *Annona reticulata*. **Taiwan K'o Hsueh**, v. 24, p. 99, 1970.
- YANG, T. H.; CHENG, M. Y. The alkaloids of *Annona reticulata* L. II. **Journal of Chinese Chemical Society**, Peiping, v. 39, n. 3, p. 195-201, 1987.
- YANG, T. H.; LIN, S. J.; WANG, H. C. Studies on the constituents of *Annona cherimola*, Structure of anomoline. **The Chinese Pharmaceutical Journal**, v. 43, n. 6, p. 457-463, 1991.
- YANG, T. H.; CHEN, C. M.; KONG, H. H. Constituents of Annonaceous plants. I. Alkaloids of *Annona reticulata*. **Beiyi Xuebao**, v. 3, p. 130-135, 1973.
- YANG, T. H.; CHEN, C. M.; KUAN, S. S. Alkaloids of *Annona glabra*. I. Isolation of (-)-N-methylactinodaphnine. **Journal of Chinese Chemical Society**, Peiping, v. 18, p. 133, 1971.
- YANG, X. J. et al. Studies on the chemical constituents of *Annona squamosa*. **Acta Pharmaceutica Sinica**, China, v. 27, n. 3, p. 185-190, 1992.
- YOU, M. et al. (-)-Roemerine, an aporphine alkaloid from *Annona senegalensis* that reverses the multidrug-resistance phenotype with cultured cells. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 58, n. 4, p. 598-604, 1995.
- ZACCHINO, S. Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. In: YUNES, R. A. CALIXTO, J. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Agros, 2001. 47-75p.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, Reading, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.
- ZIMMERMAN, M. R. **The Scientific study of mummies**. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press, 2003.

APÊNDICE



RESUMOS SIMPLES



TRIAGEM FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, FENÓIS E FLAVONOIDES TOTAIS DE TALOS DE ATEMÓIA (ANNONACEAE)

SUZANA VIEIRA RABÊLO¹; ADNA MAELLY TELLES DOS SANTOS¹; LEANDRA MACEDO DE ARAÚJO GOMES¹; JACKSON ROBERTO GUEDES DA SILVA ALMEIDA¹

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco

Introdução: A atemoia é um híbrido interespecífico entre a cherimóia (*Annona cherimola* Mill.) e a pinha, ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.). Estudos sobre fitoquímica e atividade biológica ainda são escassos no Brasil. **Objetivos:** Realizar a triagem fitoquímica e determinar o conteúdo de fenóis totais e de flavonóides totais presentes nos talos de atemoia. **Métodos:** A triagem fitoquímica foi realizada em placas de CCDA usando sistemas de solventes e padrões para cada classe de metabólito secundário, e a atividade antioxidante (AA) *in vitro* foi realizada pelo método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico. O teor de fenóis totais *in vitro* foi medido utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e padrão o ácido gálico. O teor de flavonoides totais foi determinado espectrometricamente, utilizando-se $AlCl_3$. **Resultados:** A triagem fitoquímica mostrou a forte presença de mono e diterpenos em Aa-Hex. Aa- $CHCl_3$ mostrou forte presença de alcaloides, lignanas, mono-diterpenos e presença moderada de saponinas, triterpenos e esteróides. Aa-AcOEt apresentou resultado positivo para todas as classes de metabólitos testadas, enquanto que Aa-MeOH mostrou antracenos, naftoquinonas, saponinas, triterpenos e esteróides. Aa-MeOH obteve o melhor percentual de $AA_{\beta\text{-caroteno}}$ (68,70%) e maiores teores de fenóis totais, igual a 291,67 mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g), e de flavonóides totais, igual a 148,11 mg equivalente de catequina por grama de extrato (mg EC/g). A fase Aa-AcOEt obteve 45,01% de $AA_{\beta\text{-caroteno}}$, teor de fenóis totais igual a 215,67 mg EAG/g e teor de flavonóides totais igual a 92,32 mg EC/g. As demais fases não apresentaram resultados significativos. **Conclusões:** Os resultados apresentados neste estudo mostram que a maior parte dos compostos fenólicos, entre eles os flavonóides, está concentrada nas fases Aa-MeOH e Aa-AcOEt. Os resultados de $AA_{\beta\text{-caroteno}}$ podem estar relacionadas à presença destas substâncias nos extratos.

Palavras-chave: Annonaceae; Atemóia; Fitoquímica.

Apoio Financeiro: CNPq, FACEPE.



COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE CITOTÓXICA E ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ATEMÓIA (*A. cherimola* x *A. squamosa*)

Rabêlo SV1, Guimarães AL1, Oliveira AP1, Duarte MCT2, Sartoratto A2, Duarte RMT2, Pessoa CO3, Costa MP3, Costa-Lotuffo LV3, Morais MO3, Almeida JRGS1.

1: Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56.304-205, Petrolina-PE, Brasil.

2: Universidade Estadual de Campinas, 13.081-970, Campinas-SP, Brasil.

3: Universidade Federal do Ceará, 60.430-270, Fortaleza-CE, Brasil.

Introdução: Atemóia é um híbrido das espécies *Annona cherimola* x *Annona squamosa*. Seu cultivo é bastante recente, principalmente no Nordeste, e estudos sobre composição química e atividade biológica ainda são pouco abordados. O objetivo deste trabalho foi qualificar a composição química, avaliar as atividades citotóxica e antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial dos frutos desta espécie. **Métodos:** O óleo essencial dos frutos foi obtido por hidrodestilação, utilizando um aparelho do tipo Clevenger, e analisado por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectro de Massas (CG-EM). O hidrolato obtido foi submetido à partição com hexano, clorofórmio e acetato de etila. Da fase hexânica, após concentração em rotavapor, obteve-se um óleo de cor amarela, o qual também foi submetido a testes para avaliação da atividade antimicrobiana. A análise de citotoxicidade do óleo essencial extraído dos frutos foi realizada utilizando o método colorimétrico de microcultura de tetrazólio (MTT) [1], sobre três linhagens de células tumorais: HCT-116 (colorretal humano), OVCAR-8 (ovário humano) e SF-295 (glioblastoma humano). A atividade antimicrobiana do óleo dos frutos e do hidrolato, foi testada contra 11 cepas de bactérias e fungos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus hirae*, *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. **Resultados e Discussões:** O cromatograma do óleo essencial dos frutos apresentou 29 picos, em que 24 foram identificados, correspondendo a 96,23% da composição do óleo. Dentre as substâncias presentes, os monoterpenos linalol (25,70%), alfa-pineno (10,38), beta-pineno (9,12 %) e trans-cimeno (7,43 %), e o sesquiterpeno biciclogermacreno (12,58 %) foram os constituintes majoritários. A inibição de crescimento celular das células tumorais, diante do óleo dos frutos, foi de 10,30 % para SF-295, 49,67 % para HCT-116 e 2,47

% para a linhagem OVCAR-8. Na análise da atividade antimicrobiana, o mesmo apresentou valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) maiores que 2 mg/mL contra todas as cepas testadas, o que indica baixa atividade. Para o óleo do hidrolato, a CIM foi 1,2 mg/mL contra *Streptococcus pneumoniae*, 1,8 mg/mL contra *Escherichia coli* e *Enterococcus hirae* e para as demais cepas, os valores foram maiores que 2 mg/mL. A composição química do óleo do hidrolato será investigada posteriormente. Conclusão: Este estudo contribuiu para ampliar o conhecimento da composição química e atividade biológica dos frutos de atemoia. O óleo essencial dos frutos não apresentou elevada toxicidade para nenhuma linhagem tumoral, assim como não apresentou atividade antimicrobiana significativa contra nenhuma cepa de bactéria testada.

Agradecimentos: CNPq/ CAPES/ FACEPE

Referências:

1. MOSMANN, T.J. (1983). *Journal of Immunological Methods*. 65: 55–63.

Sessão Científica: Outros tópicos relacionados.

IX SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA

10 A 14 DE ABRIL DE 2013

GOIÂNIA - GOIÁS

CERTIFICADO



Certificamos que SUZANA VIEIRA RABÊLO participou do IX SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA apresentando o trabalho com o título "COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE CITOTÓXICA E ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ATEMÓIA (*A. cherimola* x *A. squamosa*)" na forma Poster com a participação do(s) co-autor(es) RABÊLO, S.V.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; DUARTE, M. C. T.; SARTORATTO, A.; DUARTE, R. M. T.; PESSOA, C. O.; COSTA, M. P.; COSTA-LOTUFFO, L. V.; MORAIS, M. O.; ALMEIDA, J. R. G. S.

Goiânia, 13 de abril de 2013

Prof. Dr. José Realino de Paula
Presidente da Comissão Organizadora

Prof. Dr. Cid Aimbiré M. Santos
Presidente da Sociedade Brasileira de Farmacognosia



TRIAGEM FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE *ANNONA ATEMOYA* (ANNONACEAE)

Suzana V. Rabêlo¹, Amanda L. Guimarães¹, Amanda C. S. Morais¹, Ana P. Oliveira¹, Raimundo G. O. Júnior¹, Jackson R. G. S. Almeida¹.

1. NEPLAME, Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Annona atemoya é um híbrido de *Annona cherimola* x *Annona squamosa*. Seu cultivo é bastante recente, principalmente no Nordeste, e estudos sobre composição química e atividade biológica ainda são pouco abordados. O objetivo deste trabalho foi realizar a triagem fitoquímica no extrato etanólico dos talos (EEt), hexânico (EHf) e metanólico (EMf) das folhas de *Annona atemoya*, bem como avaliar a atividade antioxidante (AA) *in vitro* pelo sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), do radical ABTS [sal de amônio do ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzenotiazolina-6-sulfônico)] e pelo método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico. Os teores de fenóis e flavonoides totais também foram determinados. Neste estudo, o EEt e EHf, apresentaram resultado positivo para flavonoides, taninos, lignanas, monoterpenos e diterpenos, e resultado negativo para alcaloides, antracenos, cumarinas, naftoquinonas, triterpenos e esteroides. O EMf revelou a presença de todos os constituintes citados anteriormente, exceto de cumarinas. A quantificação do teor de fenóis mostrou melhor resultado para o EEt (207,80 mg EAG/g). No método do DPPH, o EEt foi o antioxidante mais efetivo, com valor de $CE_{50} = 10,44 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$. Esta alta atividade sequestradora de radicais livres para o EEt pode ser explicada pela presença de flavonoides em maior concentração (151,96 mg EC/g). No método do ABTS, o EEt apresentou melhor atividade antioxidante (24,81%) enquanto o Trolox apresentou 52,98% de atividade. Todos os extratos apresentaram baixa atividade antioxidante no método de inibição da auto-oxidação do β -caroteno. Estudos estão sendo desenvolvidos para o isolamento dos constituintes químicos dos extratos. Apoio: CNPq/FACEPE.



RESUMOS EXPANDIDOS



**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE
ATEMÓIA (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.)**

¹RABÊLO, SUZANA VIEIRA; ²COSTA, MATEUS MATIUZZI DA; ¹LIBÓRIO, RAFAEL CUNHA; ²ALMEIDA, JACKSON ROBERTO GUEDES DA SILVA

¹Pós-graduação em Recursos Naturais do Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Av. José de Sá Maniçoba, s/n, CEP: 56.304-205, fone: (87) 2101-6863 E-mail: suzana_rabelo@yahoo.com.br; rafael.liborio17@gmail.com, Petrolina-PE, Brasil

²Universidade Federal do Vale do São Francisco, Av. José de Sá Maniçoba, s/n, CEP: 56.304-205, fone: (87) 2101-6862. E-mail: mateus.costa@univasf.edu.br; jackson.guedes@univasf.edu.br, Petrolina-PE, Brasil

INTRODUÇÃO. A família Annonaceae compreende um grande número de gêneros e espécies, cuja maioria é nativa das regiões tropicais. Dados quimiotaxonômicos caracterizam esta família pela presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides, principalmente diterpenos (SILVA et al., 2009). Além disso, recentemente os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica estão sendo intensificados devido à presença das acetogeninas, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010).

A atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) é um híbrido interespecífico entre a cherimóia (*Annona cherimola* Mill.) e a pinha, ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) (OLIVEIRA et al., 2010). Apesar de o cruzamento entre espécies ocorrer naturalmente, a espécie atemóia foi resultado de um cruzamento intencional, com o objetivo de se obter um fruto de tão boa qualidade quanto a cherimóia, e que se adaptasse ao clima tropical da melhor forma. É de cultivo recente no Nordeste, sendo inserida pela primeira vez na região nos projetos de irrigação do Vale do São Francisco em 1997. Muitos estudos sobre fisiologia e qualidade pós-colheita foram realizados (PEREIRA; KAVATI, 2011). Os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica ainda são escassos no Brasil. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos obtidos dos talos e folhas de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.).

MATERIAL E MÉTODOS. As folhas e talos de atemóia foram coletados no município de Petrolina-PE (Coordenadas: 9°23'19" S e 40°29'3" W), em maio de 2012. Uma exsicata (16310) encontra-se depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF) da

Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). As partes coletadas da espécie foram secas em estufa com circulação de ar a 45 °C por sete dias consecutivos e, em seguida, foram trituradas em moinho mecânico, fornecendo 881 g de folhas e 371 g de talos. As folhas secas e pulverizadas foram maceradas com hexano e metanol à temperatura ambiente. Os talos foram submetidos à maceração com álcool etílico. Para cada procedimento, foram realizadas 3 extrações num intervalo de 72 horas entre cada extração. As soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se os extratos hexânico (EHf) e metanólico (EMf) das folhas e, o extrato etanólico dos talos (EEt).

Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro*: A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos do sequestro dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (FALCÃO et al., 2006), e 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS), bem como pelo método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico (CHEN et al., 2011). Os resultados obtidos foram comparados com os antioxidantes comerciais ácido ascórbico, butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroxitolueno (BHT) quando nos ensaios DPPH e β -caroteno/ ácido linoleico, e o padrão Trolox quando no ensaio do ABTS.

Determinação de fenóis totais: O conteúdo de compostos fenólicos totais foi medido em triplicata para cada extrato, conforme o método de Slinkard e Singleton (1977), com adaptações (ALMEIDA et al., 2011), usando o reagente de Folin-Ciocalteu e padrão de ácido gálico.

Determinação do teor de flavonoides totais: O teor de flavonoides totais foi determinado usando um método colorimétrico descrito por Dewanto et al. (2002). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina por grama de extratos (mg de EqC/g) por meio da curva de calibração com catequina. A curva de calibração foi obtida com concentrações de catequina variando de 50-1000 mg/L.

Avaliação da atividade antimicrobiana: A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada frente às cepas de *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* [ATCC 12228] e um isolado clínico de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). A atividade foi determinada por meio do protocolo de microdiluição baseando-se no documento M7-A7 do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), com modificações (OLIVEIRA-JÚNIOR et al., 2012). Os ensaios foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO. Atividade Antioxidante, fenóis e flavonoides: Na Tabela 1, encontram-se os valores obtidos nas avaliações da atividade antioxidante, bem como a quantificação estimada da concentração de fenóis e flavonoides totais dos extratos obtidos das partes aéreas da atemoia.

Como podemos observar nos resultados para os extratos, o EEt foi o antioxidante mais efetivo nos ensaios do sequestro dos radicais ABTS ($24,81 \pm 0,49\%$) e DPPH ($IC_{50} = 10,44 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$). Esta alta atividade sequestradora de radicais livres para o EEt pode ser explicada pela presença de compostos fenólicos ($207,80 \pm 7,21 \text{ mg EqAG/g}$) e de flavonoides ($151,96 \pm 7,30 \text{ mg EqC/g}$) em maior concentração quando comparado aos outros extratos. No ensaio do β -caroteno/ ácido linoleico, o EHf obteve o melhor resultado para a atividade antioxidante, com percentual de $41,12 \pm 4,35\%$. O EMf obteve $20,46 \pm 5,50\%$ e o EEt $16,21 \pm 1,97\%$ de atividade antioxidante.

Atividade Antimicrobiana: Das dez cepas bacterianas que foram submetidas ao teste de sensibilidade aos extratos de atemoia, as cepas MRSA, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* e *Klebsiella pneumoniae* (esta última, uma Gram-negativa) foram sensíveis à ação das frações etanólica e metanólica, gerando valores de CBM variando entre 781,2 a 6.250 $\mu\text{g/mL}$ e 3.125 a 12.500 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Todas as cepas mostraram-se resistentes à fração hexânica. Os valores encontram-se dispostos na Figura 1.

TABELA 1 - Fenóis totais (FT), Flavonoides totais (FLT) e atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de atemoia.

Amostra	Fenóis totais (mg EqAG/g)	Flavonoides totais (mg EqC/g)	DPPH (IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$)	ABTS (% AA)	β -caroteno (% AA)
EEt	$207,80 \pm 7,21$	$151,96 \pm 7,30$	$10,44 \pm 1,25$	$24,81 \pm 0,49$	$16,21 \pm 1,97$
EHf	$74,47 \pm 7,50$	$14,90 \pm 4,00$	$186,00 \pm 3,06$	$-7,15 \pm 11,08$	$41,12 \pm 4,35$
EMf	$75,80 \pm 2,64$	$46,86 \pm 2,90$	$29,87 \pm 5,12$	$10,07 \pm 0,72$	$20,46 \pm 5,50$
Ác. Ascórbico	---	---	$2,57 \pm 0,09$	---	$7,63 \pm 1,48$
BHA	---	---	$4,13 \pm 0,31$	---	$83,11 \pm 1,94$
BHT	---	---	$17,67 \pm 3,66$	---	$85,92 \pm 5,90$
Trolox	---	---	---	$52,98 \pm 0,69$	---

Os valores de IC_{50} foram obtidos por interpolação a partir da análise de regressão linear, com 95% de nível de confiança. IC_{50} é definido como a concentração suficiente para se obter 50%

do efeito máximo de uma estimativa de 100%. Os valores são dados como média \pm DP (n = 3).

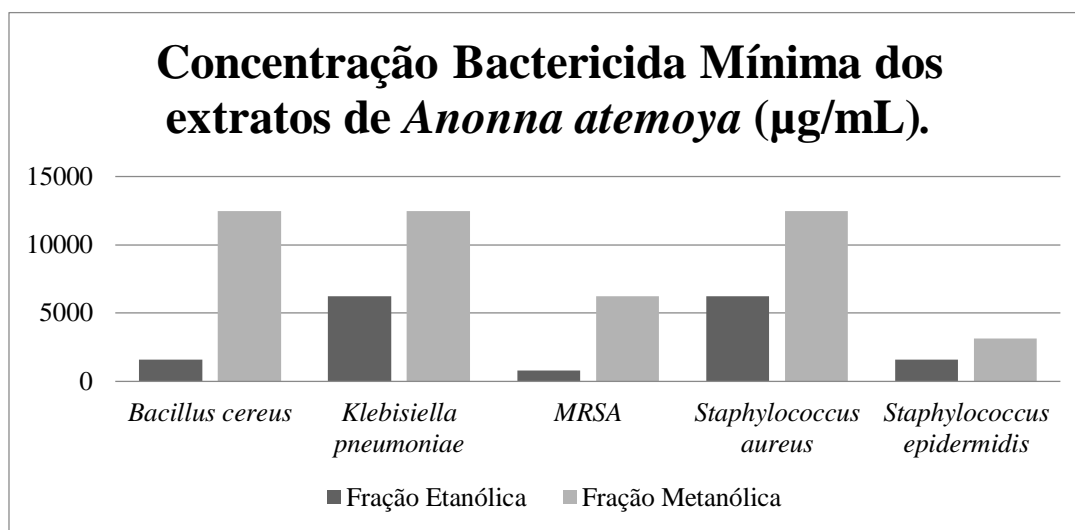


FIGURA 1 - Atividade antimicrobiana do extrato etanólico e metanólico de atemoia.

CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste estudo mostram que os extratos obtidos de talos e folhas de atemoia possuem atividades antioxidante e antimicrobiana. As atividades apresentadas podem estar relacionadas à presença de substâncias fenólicas nos extratos, principalmente os flavonoides.

REFERÊNCIAS:

- ALMEIDA, J. R. G. S.; OLIVEIRA, M. R.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; RIBEIRO, L. A. A.; LÚCIO, A. S. S. C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). **International Journal of Pharma and Bio Science**, Andhra Pradesh, v. 2, n. 4, p. 367-374, 2011.
- CHEN, Y.; HUANG, B.; HE, J.; HAN, L.; ZHAN, Y.; WANG, Y. *In vitro* and *in vivo* antioxidant effects of the ethanolic extract of *Swertia chirayita*. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 136, n. 2, p. 309-315, 2011.
- DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K.; LIU, R. H. J. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 10, p. 3010-3014, 2002.

FALCÃO, D. Q.; COSTA, E. R.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; KUSTER R. M.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante e antimicrobiana de *Calceolaria chelidonioides* Humb. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n. 1, p. 73-76, 2006.

MATSUMOTO, R. S.; RIBEIRO, J. P. N.; TAKAO, L. K.; LIMA, M. I. S. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasílica**, Feira de Santana, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; ARAÚJO, C. S.; SANTANA, C. R. R.; SOUZA, G. R.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; SIQUEIRA-FILHO, J. A.; PACHECO, A. G. M.; ALMEIDA, J. R. G. S. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of extracts from the flowers of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, Rajasthan, v. 4, n. 10, p. 4489-4494, 2012.

PEREIRA, F. M.; KAVATI, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, volume Especial, E. 092-108, 2011.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.



V International Congress & Brazilian Meeting about Annonaceae: from gene to exportation
August 19th to 23rd, 2013, Botucatu, São Paulo, Brazil



CERTIFICATE

We certify that SUZANA VIEIRA RABÊLO has presented the study “**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ATEMÓIA (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) - RABÊLO, SUZANA VIEIRA; COSTA, MATEUS MATIUZZI DA; LIBÓRIO, RAFAEL CUNHA; ALMEIDA, JACKSON ROBERTO GUEDES DA SILVA**”, in the POSTER form, at the V-International Congress and V Brazilian Meeting about Annonaceae: from gene to exportation.



Prof.ª Dr.ª Gisela Ferreira
President of the V International Congress and V Brazilian Meeting about Annonaceae: from gene to exportation



Prof.ª Dr.ª Maria Dalva Cesario
Diretor of the Institute of Bioscience
UNESP Botucatu, São Paulo, Brasil



ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE ANONÁCEAS
Atemoia, Cherimóia, Pineira e Graviola



CATI
COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL

ARTIGOS CIENTÍFICOS



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ATEMOIA (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.)¹

SUZANA VIEIRA RABÊLO², MATEUS MATTUZZI DA COSTA³, RAFAEL CUNHA LIBÓRIO⁴,
JACKSON ROBERTO GUEDES DA SILVA ALMEIDA⁵

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi quantificar os teores de fenóis e flavonoides totais, bem como avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos obtidos dos talos e folhas de atemoia (*A. cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.), que pertence à família Annonaceae. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de sequestro dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS), bem como pelo método da cooxidação do β -caroteno/ácido linoleico. A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos foi analisada contra 10 cepas de bactérias. Os resultados da atividade antioxidante dos extratos mostraram que o extrato etanólico dos talos (EEt) foi o antioxidante mais efetivo ($IC_{50} = 10,44 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$) no método do sequestro do DPPH, bem como no sequestro do radical ABTS ($24,81 \pm 0,49\%$). O extrato hexânico das folhas apresentou o melhor percentual de atividade antioxidante no ensaio do β -caroteno/ácido linoleico ($41,12 \pm 4,35\%$). Os extratos etanólico dos talos e metanólico das folhas mostraram-se ativos contra cepas de *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

Termos para indexação: plantas medicinais, atemoia, atividade antibacteriana, radicais livres.

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM ATEMOIA (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.)

ABSTRACT - The aim of this study was to quantify the levels of total phenols and flavonoids as well as to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from stems and leaves of atemoia (*A. cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.), which belongs to the Annonaceae family. The antioxidant activity was evaluated by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) scavengers methods, as well as the method of co-oxidation of β -carotene/linoleic acid. The antimicrobial activity of the extracts was assessed against 10 strains of bacteria. The results showed that the antioxidant activity of the ethanolic extract from the stems (EEt) was the most effective antioxidant ($IC_{50} = 10.44 \pm 1.25 \text{ mg/ml}$) by the DPPH method, as well as in the ABTS radical scavenger ($24.81 \pm 0.49\%$). The hexane extract of the leaves showed the best percentage of antioxidant activity by β -carotene/linoleic acid test ($41.12 \pm 4.35\%$). The ethanolic and metabolic extracts were active against strains of *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*.

Index terms: medicinal plants, atemoia, antibacterial activity, free radicals.

¹(Trabalho 119-13) - Recebido em: 14-03-2013. Aceito para publicação em: 12-11- 2013. V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de Agosto de 2013)-Bomacatu-SP.

²Mestranda em Recursos Naturais do Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56.304-205, Petrolina-PE, Brasil. E-mail: suzana_rabelo@yahoo.com.br, Bolsista FACEPE.

³Ph.D., Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, Brasil. E-mail: mateus.costa@univasf.edu.br

⁴Mestrando em Recursos Naturais do Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, Brasil. E-mail: rafael.liborio17@gmail.com, Bolsista CAPES.

⁵Ph.D., Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Mediciniais, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, Brasil. E-mail: jackson.guedes@univasf.edu.br

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE
ATEMOIA (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.)**

Suzana Vieira Rabêlo¹, Mateus Matiuzzi da Costa², Rafael Cunha Libório³, Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida⁴

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi quantificar os teores de fenóis e flavonoides totais, bem como avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos obtidos dos talos e folhas de atemoia (*A. cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.), que pertence à família Annonaceae. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de sequestro dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS), bem como pelo método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico. A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos foi analisada contra 10 cepas de bactérias. Os resultados da atividade antioxidante dos extratos mostraram que o extrato etanólico dos talos (EET) foi o antioxidante mais efetivo ($IC_{50} = 10,44 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$) no método do sequestro do DPPH, bem como no sequestro do radical ABTS ($24,81 \pm 0,49\%$). O extrato hexânico das folhas apresentou o melhor percentual de atividade antioxidante no ensaio do β -caroteno/ácido linoleico ($41,12 \pm 4,35\%$). Os extratos etanólico dos talos e metanólico das folhas mostraram-se ativos contra cepas de *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.
Termos para indexação: plantas medicinais, atemoia, atividade antibacteriana, radicais livres.

**ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM
ATEMOIA (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.)**

ABSTRACT - The aim of this study was to quantify the levels of total phenols and flavonoids as well as to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from stems and leaves of atemoia (*A. cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.), which belongs to the Annonaceae family. The antioxidant activity was evaluated by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) scavengers methods, as well as the method of co-oxidation of

β -carotene/linoleic acid. The antimicrobial activity of the extracts was assessed against 10 strains of bacteria. The results showed that the antioxidant activity of the ethanolic extract from the stems (EEt) was the most effective antioxidant ($IC_{50} = 10.44 \pm 1.25$ mg/ml) by the DPPH method, as well as in the ABTS radical scavenger ($24.81 \pm 0.49\%$). The hexane extract of the leaves showed the best percentage of antioxidant activity by β -carotene/linoleic acid test ($41.12 \pm 4.35\%$). The ethanolic and methanolic extracts were active against strains of *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*.

Index terms: medicinal plants, atemoia, antibacterial activity, free radicals.

INTRODUÇÃO

A família Annonaceae compreende um grande número de gêneros e espécies, cuja maioria é nativa das regiões tropicais, com cerca de 2.500 espécies distribuídas em aproximadamente 135 gêneros (ALMEIDA et al., 2012). No Brasil foram registrados 29 gêneros, compreendendo cerca de 260 espécies (PONTES et al., 2004).

Dados quimiotaxonômicos caracterizam esta família pela presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides, principalmente diterpenos (SILVA et al., 2009). Recentemente, os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica das anonáceas estão sendo intensificados devido à presença das acetogeninas, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010), tais como citotóxica, imunossupressora, pesticida, antiparasitária e antimicrobiana (LIMA et al., 2010).

A atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) é um híbrido interespecífico entre a cherimoia (*A. cherimola* Mill.) e a pinha ou fruta-do-conde (*A. squamosa* L.) (OLIVEIRA et al., 2010). Apesar de o cruzamento entre espécies ocorrer naturalmente, o híbrido atemoia foi resultado de um cruzamento intencional, com o objetivo de se obter um fruto de tão boa qualidade quanto a cherimoia, e que se adaptasse melhor ao clima tropical. A atemoia é de cultivo recente no Nordeste, tendo sido inserida pela primeira vez na região, nos projetos de irrigação do Vale do São

Francisco em 1997. Alguns estudos sobre fisiologia e qualidade pós-colheita foram realizados com esta planta (SCALOPPI-JUNIOR; MARTINS, 2003; OLIVEIRA et al., 2010; PEREIRA; KAVATI, 2011). Já os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica ainda são escassos no Brasil.

O presente trabalho teve como objetivo determinar os teores de fenóis e flavonoides totais, assim como avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos de atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material vegetal: Folhas e caules de atemoia foram coletados em Petrolina (Coordenadas: 9°23'19" S e 40°29'3" W), Estado de Pernambuco, Brasil, no mês de maio de 2012. A identidade botânica da planta foi confirmada pelo professor José Alves de Siqueira Filho e uma exsicata (16310) encontra-se depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF) da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF).

Processamento do material vegetal e obtenção dos extratos: As partes coletadas da espécie foram submetidas, separadamente, à secagem em estufa com circulação de ar a 45 °C por sete dias consecutivos. Ao final, as partes foram trituradas em moinho mecânico, fornecendo 881 g de folhas e 371 g de talos. As folhas secas e pulverizadas foram maceradas com hexano (440 g do pó seco em 2 L de solvente) e metanol (440 g de pó seco em 1,5 L de solvente) à temperatura ambiente. Os talos foram submetidos à maceração com álcool etílico (371 g de pó seco em 2 L de solvente). Para cada procedimento, foram realizadas 3 extrações num intervalo de 72 horas entre cada extração. As soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, e após evaporação do solvente, obteve-se os extratos hexânico (EHf - 63 g) e metanólico (EMf – 169 g) das folhas e o extrato etanólico dos talos (EEt – 33 g).

Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*: A atividade antioxidante usando o método do sequestro do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi realizada usando metodologia descrita por Falcão et al. (2006). Os resultados obtidos

foram comparados com os antioxidantes comerciais ácido ascórbico, butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroxitolueno (BHT). A capacidade para sequestrar o cátion radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS⁺) foi determinada de acordo com metodologia descrita por Chen et al. (2011). A solução de ABTS⁺ foi preparada pela reação de ABTS 7 mM (5 mL) e 2,45 mM (88 µL) de persulfato de potássio, após incubação à temperatura ambiente no escuro durante 16 h. Foi então diluída com etanol a 80% para se obter uma absorvância de 0,700 ± 0,005 a 734 nm. A solução ABTS⁺ (2,7 mL) foi cuidadosamente misturada com 0,3 mL das amostras do teste. A mistura de reação foi deixada em repouso a 30 °C durante 30 min e a absorvância a 734 nm foi medida em espectrofotômetro (Marca QUIMIS, modelo Q798U2M). Amostras de Trolox com as mesmas concentrações foram usadas como padrões. No método da co-oxidação do β-caroteno frente ao ácido linoleico foi utilizada a metodologia descrita por Chen et al. (2011).

Determinação de fenóis totais: O conteúdo de compostos fenólicos totais foi medido em triplicata para cada extrato, conforme o método de Slinkard & Singleton (1977), com adaptações propostas por Almeida et al. (2011), usando o reagente de Folin-Ciocalteu e soluções padrão de ácido gálico na faixa de concentração de 50-1000 mg/L. O teor de fenóis totais, expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EqAG/g), foi calculado a partir da equação da reta obtida para a curva de calibração. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Determinação do teor de flavonoides totais: O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico descrito por Dewanto et al. (2002) usando soluções padrão de catequina na faixa de concentração de 50-1000 mg/L. O teor de flavonoides totais, expresso em mg de equivalentes de catequina por grama de amostra (mg EqC/g), foi calculado a partir da equação da reta obtida para a curva de calibração. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Avaliação da atividade antimicrobiana: A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada frente às cepas de *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* [ATCC 12228] e um isolado clínico de *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina

(MRSA). A atividade foi determinada por meio do protocolo de microdiluição baseando-se no documento M7-A7 do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), com modificações propostas por Oliveira-Júnior et al. (2012). Os três extratos (EEt, EHf e EMf) foram ajustados à concentração de 25.000 µg/mL e submetidos a diluições em série, obtendo-se as concentrações 12.500, 6.250; 3.125; 1.562,5; 781,2; 390,6; 195,3 e 97,6 µg/mL. No preparo do inóculo, colônias foram desenvolvidas em ágar Muller-Hinton (MH) e então suspensas em solução com turbidez equivalente à escala 0,5 de McFarland. Desta suspensão, 10 µL foram inoculados nos poços de microplacas contendo as diluições seriadas dos extratos. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. Com auxílio de um replicador, alíquotas foram retiradas das microplacas e semeadas na superfície de placas de Petri contendo ágar MH, sendo incubadas a 37 °C por 24 h. A concentração bactericida mínima (CBM) foi definida como sendo a menor concentração do extrato capaz de causar a morte do inóculo bacteriano. Os testes foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises de atividade antioxidante utilizando os radicais DPPH, ABTS e ensaio usando a co-oxidação do β-caroteno frente ao ácido linoleico têm sido muito utilizadas para verificar a capacidade sequestradora de radicais livres de muitos produtos naturais (VIZZOTTO et al., 2012; LI et al., 2011; ALVES et al., 2010).

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das avaliações da atividade antioxidante, bem como da quantificação estimada da concentração de fenóis e flavonoides totais dos extratos obtidos das partes aéreas da atemoia.

O EEt foi o antioxidante mais efetivo no ensaio do sequestro do DPPH ($IC_{50} = 10,44 \pm 1,25$ µg/mL), obtendo melhor atividade que a do padrão sintético BHT ($IC_{50} = 17,67 \pm 3,66$ µg/mL). Esta alta atividade sequestradora de radicais livres para o EEt pode ser explicada pela presença de compostos fenólicos ($207,80 \pm 7,21$ mg EqAG/g) e de flavonoides ($151,96 \pm 7,30$ mg EqC/g) em maior concentração quando comparado aos outros extratos. Os compostos fenólicos impedem a ação de radicais livres no organismo e uma vez que protegem moléculas como o DNA, podem vir a abortar

alguns processos carcinogênicos (SILVA et al., 2010). O teor de compostos fenólicos no extrato etanólico dos talos está diretamente ligado ao resultado da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH, uma vez que estas substâncias podem reduzir este radical à sua forma menos reativa, a hidrazina, por meio da fixação de um hidrogênio que é removido das substâncias fenólicas (SOUSA et al., 2007).

No método do ABTS, o EEt também apresentou melhor atividade antioxidante ($24,81 \pm 0,49\%$) quando comparado aos demais extratos. Essa atividade foi inferior ao padrão Trolox, que apresentou $52,98 \pm 0,69\%$ de atividade sequestradora do radical, seguidos em ordem decrescente de percentual de atividade antioxidante, pelo EMf e EHf, com $10,07 \pm 0,72$ e $-7,15 \pm 11,08\%$, respectivamente. Acredita-se que este valor negativo de porcentagem de atividade antioxidante (%AA) esteja relacionado às substâncias presentes no extrato, que ao invés de atuarem como bons doadores de elétrons ou hidrogênio, reduzindo conseqüentemente o radical ABTS, promoveram efeito contrário, agindo então como agente pró-oxidante. Estudos estão sendo desenvolvidos para o isolamento dos constituintes químicos dos extratos.

De acordo com Kuskoski et al. (2005), as metodologias utilizando o sequestro dos radicais DPPH e ABTS medem a atividade de compostos de natureza hidrofílica. A metodologia utilizando a co-oxidação do β -caroteno, por sua vez, mede a atividade de compostos de natureza lipofílica. Nesta metodologia é medida a capacidade que os extratos têm de inibir a oxidação do β -caroteno, frente ao ácido linoleico. Nesta análise, o EHf obteve o melhor resultado para a atividade antioxidante, com percentual de $41,12 \pm 4,35\%$. O EMf obteve $20,46 \pm 5,50\%$ e o EEt $16,21 \pm 1,97\%$ de atividade antioxidante. As atividades antioxidantes observadas estão diretamente ligadas aos teores de fenóis e de flavonoides totais nos extratos. Os antioxidantes comerciais BHA e BHT foram mais efetivos neste modelo, apresentando percentuais de atividade antioxidante de $83,11 \pm 1,94$ e $85,92 \pm 5,90$, respectivamente.

Das dez cepas bacterianas que foram submetidas ao teste de sensibilidade aos extratos de atemoia, as cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens* e *Shigella flexneri* mostraram-se resistentes aos três extratos testados, sendo a primeira um microrganismo Gram-positivo e as demais

Gram-negativas. As cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Klebsiella pneumoniae* (esta última, uma Gram-negativa) foram sensíveis à ação dos extratos etanólico e metanólico, gerando valores de CBM variando entre 781,2 a 6.250 µg/mL e 3.125 a 12.500 µg/mL, respectivamente. Todas as cepas mostraram-se resistentes ao extrato hexânico. Na Figura 1 são apresentados os resultados obtidos. Destacamos a ação do extrato etanólico sobre a cepa de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Além de representar um dos principais patógenos associados a infecções hospitalares, o *S. aureus* é também um dos principais agentes isolados de pacientes com infecções de pele, e essas cepas foram incluídas no nosso estudo porque são resistentes a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (GELATTI et al., 2009). No nosso estudo, a cepa mostrou-se sensível à ação do extrato etanólico, o que nos motiva a dar continuidade ao estudo deste extrato em relação à atividade antibacteriana. Em estudo de atividade antimicrobiana utilizando-se as folhas de *Annona squamosa*, Chandrashekar & Kulkarni (2011) observaram atividade do extrato sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* e *Salmonella typhi*, sem observar atividade sobre fungos do gênero *Aspergillus*. Aher et al. (2012) avaliaram o potencial antimicrobiano de extratos das sementes de *A. squamosa*, constatando que a fração metanólica apresentou maior atividade antimicrobiana contra cepas de *B. subtilis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Notadamente, micro-organismos Gram-negativos mostram-se mais resistentes à ação de antimicrobianos, uma vez que sua parede celular encontra-se protegida por uma camada de lipopolissacarídeos (GOULD, 2009). Das dez cepas testadas, cinco (50%) são classificadas como micro-organismos Gram-positivos e outras cinco como Gram-negativos. Observou-se que das cinco cepas susceptíveis a pelo menos uma fração do extrato, quatro pertencem ao grupo das Gram-positivas e *K. pneumoniae* foi a única cepa Gram-negativa sensível.

Dos três extratos avaliados no estudo, apenas os extratos etanólico e metanólico produziram algum efeito antimicrobiano. Acredita-se que muito do efeito antimicrobiano dos extratos vegetais se deve, principalmente, à presença de flavonoides em sua composição (AHMAD; BEG 2001). Durante a obtenção dos

extratos, baseando-se na polaridade de seus constituintes, o extrato hexânico conservou-se pobre em flavonoides e rico em terpenoides. Devido a esse fato, provavelmente, observa-se fraca ou nenhuma ação antimicrobiana do extrato hexânico das folhas.

Devido à maior susceptibilidade de micro-organismos Gram-positivos, acredita-se que o mecanismo da ação antimicrobiana do extrato provavelmente decorra da interação do mesmo com o peptidoglicano presente na parede celular bacteriana, e que caracteriza uma barreira mais frágil do que a parede celular das bactérias Gram-negativas. No entanto, estudos posteriores, visando à elucidação desse mecanismo, devem ser conduzidos.

CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste estudo mostram que a atemoia possui atividades antioxidante e antimicrobiana. As atividades apresentadas podem estar relacionadas à presença de substâncias fenólicas nos extratos, principalmente os flavonoides. Estudos estão sendo realizados para o isolamento dos constituintes químicos desta espécie, para que os mesmos possam ser testados em modelos experimentais, e assim, determinarmos os compostos responsáveis pelas atividades biológicas dos extratos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa, bem como à FACEPE e à CAPES pelas bolsas de mestrado concedidas. Agradecemos também ao CRAD/UNIVASF pela identificação botânica da planta.

REFERÊNCIAS

AHER, P. S; SHINDE, Y. S; CHAVAN, P. P. *In vitro* evaluation of antibacterial potential of *Annona squamosa* L. against pathogenic bacteria. **International Journal**

of **Pharmaceutical Sciences and Research**, Chandigarh, v. 3, n. 5, p. 1457-1460, 2012.

AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 74, p. 113–123, 2001.

ALMEIDA, J. R. G. S.; ARAÚJO, E. C. C.; RIBEIRO, L. A. A.; LIMA, J. T.; NUNES, X. P.; LÚCIO, A. S. S. C.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World Journal**, Cairo, v. 2012, p. 1-6, 2012. doi: 10.1100/2012/859210.

ALMEIDA, J. R. G. S.; OLIVEIRA, M. R.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; RIBEIRO, L. A. A.; LÚCIO, A. S. S. C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). **International Journal of Pharma and Bio Science**, Andhra Pradesh, v. 2, n. 4, p. 367-374, 2011.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

CHANDRASHEKAR, C; KULKARNI, V. R. Isolation, characterization and antimicrobial activity of *Annona squamosa* leaf. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 6, p. 1831-1832, 2011.

CHEN, Y.; HUANG, B.; HE, J.; HAN, L.; ZHAN, Y.; WANG, Y. *In vitro* and *in vivo* antioxidant effects of the ethanolic extract of *Swertia chirayita*. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 136, n. 2, p. 309-315, 2011.

DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K.; LIU, R. H. J. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 10, p. 3010-3014, 2002.

FALCÃO, D. Q.; COSTA, E. R.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; KUSTER R. M.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante e antimicrobiana de *Calceolaria chelidonioides* Humb. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n. 1, p. 73-76, 2006.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. A. *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 5, 501-506, 2009.

GOULD, D. Effective strategies for prevention and control of Gram-negative infections. **Nursing Standard**, Londres, v. 23, n. 48, p. 42-46, 2009.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LI, P.; HUO, L.; SU, W.; LU, R.; DENG, C.; LIU, L.; DENG, Y.; GUO, N.; LU, C.; HE, C. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. **Journal of the Serbian Chemical Society**, Belgrado, v. 76, n. 5, p. 709-717, 2011.

LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, Reading, v. 122, n. 4, p. 1129-1138, 2010.

MATSUMOTO, R. S.; RIBEIRO, J. P. N.; TAKAO, L. K.; LIMA, M. I. S. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

OLIVEIRA, M. C.; FERREIRA, G.; GUIMARÃES, V. F.; DIAS, G. B. Germinação de sementes de atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) CV 'GEFNER' submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 544-554, 2010.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; ARAÚJO, C. S.; SANTANA, C. R. R.; SOUZA, G. R.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; SIQUEIRA-FILHO, J. A.; PACHECO, A. G. M.; ALMEIDA, J. R. G. S. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of extracts from the flowers of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, Rajasthan, v. 4, n. 10, p. 4489-4494, 2012.

PEREIRA, F. M.; KAVATI, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, volume Especial, E. 092-108, 2011.

PONTES, A. F.; BARBOSA, M. R. V.; MAAS, P. J. M. Flora Paraibana: Annonaceae Juss. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 18, n. 2, p. 281-293, 2004.

SCALOPPI-JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. Clonagem de quatro espécies de Annonaceae potenciais como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 286-289, 2003.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, M. S.; TAVARES, J. F.; QUEIROGA, K. F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, J. R. G. S.; SILVA, S. A. S. Alkaloids and other constituents from *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analyses automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, Washington, v. 28, p. 49-55, 1977.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R. S.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

VIZZOTTO, M.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, M. C.; FETTER, M. R. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes genótipos de amoreira-preta (*Rubus* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 853-858, 2012.

TABELA 1 - Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de atemoia.

Amostra	Fenóis totais (mgEqAG/g)	Flavonoides totais (mgEqC/g)	DPPH (IC₅₀, µg/ml)	ABTS (%AA)	β-caroteno (%AA)
EEt	207,80 ± 7,21	151,96 ± 7,30	10,44 ± 1,25	24,81 ± 0,49	16,21 ± 1,97
EHf	74,47 ± 7,50	14,90 ± 4,00	186,00 ± 3,06	-7,15 ± 11,08	41,12 ± 4,35
EMf	75,80 ± 2,64	46,86 ± 2,90	29,87 ± 5,12	10,07 ± 0,72	20,46 ± 5,50
Ácido ascórbico	---	---	2,57 ± 0,09	---	7,63 ± 1,48
BHA	---	---	4,13 ± 0,31	---	83,11 ± 1,94
BHT	---	---	17,67 ± 3,66	---	85,92 ± 5,90
Trolox	---	---	---	52,98 ± 0,69	---

Os valores de IC₅₀ foram obtidos por interpolação a partir da análise de regressão linear, com 95% de nível de confiança. IC₅₀ é definido como a concentração suficiente para se obter 50% do efeito máximo de uma estimativa de 100%. Os valores são dados como média ± DP (n = 3). EEt: extrato etanólico dos talos; EHf: extrato hexânico das folhas; EMf: extrato metanólico das folhas; BHA: butilhidroxianisol; BHT: butilhidroxitolueno; mg EqAG: miligramas de equivalente de ácido gálico; mg EqC: miligramas de equivalente de catequina; DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; ABTS: 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico; AA: atividade antioxidante.

Concentração bactericida mínima dos extratos de atemoia ($\mu\text{g/mL}$).

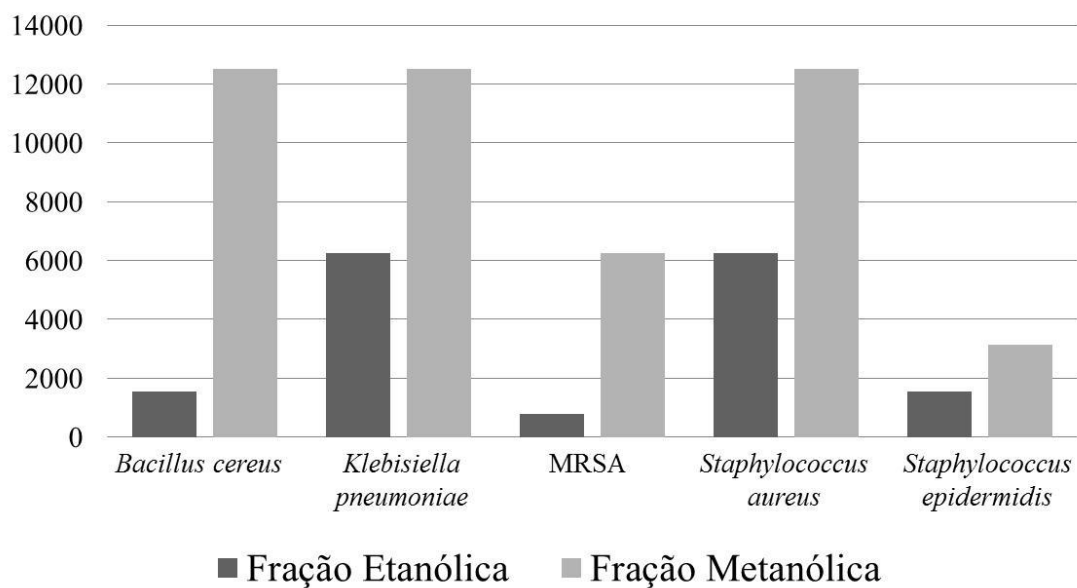


FIGURA 1 - Atividade antimicrobiana dos extratos etanólico e metanólico das folhas de atemoia.

CAPÍTULOS DE LIVROS



In: Nutraceuticals and Functional Foods: Natural Remedy ISBN: 978-1-62948-783-0
Editors: S. K. Brar, S. Kaur and G. S. Dhillon © 2014 Nova Science Publishers, Inc.

The license for this PDF is unlimited except that no part of this digital document may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted commercially in any form or by any means. The publisher has taken reasonable care in the preparation of this digital document, but makes no expressed or implied warranty of any kind and assumes no responsibility for any errors or omissions. No liability is assumed for incidental or consequential damages in connection with or arising out of information contained herein. This digital document is sold with the clear understanding that the publisher is not engaged in rendering legal, medical or any other professional services.

Chapter 3

OCCURRENCE OF ALKALOIDS IN SPECIES OF THE GENUS *ANNONA* L. (ANNONACEAE): A REVIEW

*Suzana Vieira Rabêlo*¹, *Camila de Souza Araújo*¹,
*Vicente Carlos de Oliveira Costa*², *Josean Fechine Tavares*²,
*Marcelo Sobral da Silva*², *José Maria Barbosa Filho*²
and *Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida*^{1,*}

¹Center of Studies and Research of Medicinal Plants,
Federal University of San Francisco Valley, Petrolina, Pernambuco, Brazil

²Federal University of Paraíba, Paraíba, Brazil

ABSTRACT

The genus *Annona* L. is one of the most important of the Annonaceae family due to its edible fruits and medicinal properties. About 26 out of 175 species have been examined for alkaloids, and 147 of these compounds have been identified or, if new, their structures have been determined. Many of the isolates are commonly distributed isoquinoline alkaloids and its derivatives (benzylisoquinoline, aporphine and oxoaporphine alkaloids). The present work is a review of articles published in the literature (88 references) regarding alkaloids isolated from plants of the genus *Annona*. This review covers a period from 1930 to 2013. The keywords used for the literature search for this review were *Annona*, Annonaceae, alkaloids, isoquinoline alkaloids, medicinal plants and natural products. The search was carried out using Chemical Abstracts and the data bank of the University of Illinois in Chicago NAPRALERT (Acronym for NATURAL PRoducts ALERT), updated to April 2013. The references found in the search were then studied in detail.

Keywords: *Annona*, Annonaceae, Alkaloids, Isoquinoline, Phytochemistry, Pharmacology, Biological Activity

* Corresponding author: jackson.guedes@univasf.edu.br.

--- CHAPTER ---

Occurrence of alkaloids in species of the genus *Annona* L. (Annonaceae): a review

Suzana Vieira Rabêlo¹, Camila de Souza Araújo¹, Vicente Carlos de Oliveira Costa², Josean Fechine Tavares², Marcelo Sobral da Silva², José Maria Barbosa Filho³ and Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida^{1,*}

¹Center of Studies and Research of Medicinal Plants, Federal University of San Francisco Valley, 56.304-205, Petrolina, Pernambuco, Brazil

²Federal University of Paraíba, 58.051-970, João Pessoa, Paraíba, Brazil

*Corresponding author: jackson.guedes@univasf.edu.br

ABSTRACT

The genus *Annona* L. is one of the most important of the Annonaceae family due to its edible fruits and medicinal properties. About 26 out of 175 species have been examined for alkaloids, and 147 of these compounds have been identified or, if new, their structures have been determined. Many of the isolates are commonly distributed isoquinoline alkaloids and its derivatives (benzylisoquinoline, aporphine and oxoaporphine alkaloids). The present work is a review of articles published in the literature (88 references) regarding alkaloids isolated from plants of the genus *Annona*. This review covers a period from 1930 to 2013. The keywords used for the literature search for this review were *Annona*, Annonaceae, alkaloids, isoquinoline alkaloids, medicinal plants and natural products. The search was carried out using Chemical Abstracts and the data bank of the University of Illinois in Chicago NAPRALERT (Acronym for NATURAL PRoducts ALERT), updated to April 2013. The references found in the search were then studied in detail.

Key-words: *Annona*, Annonaceae, Alkaloids, Isoquinoline, Phytochemistry, Pharmacology, Biological Activity.

- I. INTRODUCTION
- II. METHODS
- III. RESULTS AND DISCUSSION
- IV. CONCLUSION
- ACKNOWLEDGEMENT
- REFERENCES

INTRODUCTION

The Annonaceae family was catalogued in 1789 by Jussieu (Hutchinson, 1974). Annonaceae is a large family comprising about 129 genera and more than 2000 species. According to Chatrou et al. (2004) the family comprising 135 genera and 2500 species, which are distributed mainly in tropical and subtropical regions of the world. Chemical studies with species of this family have reported the isolation of terpenoids (mainly diterpenes), essential oils whose the composition is predominantly of monoterpenes and sesquiterpenes, and alkaloids, especially isoquinoline alkaloids (Almeida et al., 2012).

One of the important characteristics of Annonaceae species is the presence of isoquinoline alkaloids. This family is considered the centre of distribution of isoquinoline alkaloids. The benzylisoquinoline reticuline (**1**), the aporphines asimilobine (**2**) and anonaine (**3**) and the oxoaporphine liriodenine (**4**) have been detected in species of *Annona*. Recent studies describe the isolation of reticuline, asimilobine and liriodenine in some species of *Annona*, such as *Annona foetida* Mart., *Annona pickelii* (Diels) H. Rainer, *Annona salzmännii* A. DC., and *Annona sericea* Dunal, all native to Brazil (Campos et al., 2008; Costa et al., 2011; Cruz et al., 2011; Dutra et al., 2012). These alkaloids were found in leaves and barks of *A. crassiflora* from the Guianas (Hocquemiller et al., 1982). Anonaine, asimilobine, liriodenine, and reticuline have been described in several species of

Annona, and could be considered as chemotaxonomic markers of this genus (Cruz et al., 2011). The structure of these alkaloids is showed in the Figure 1, below.

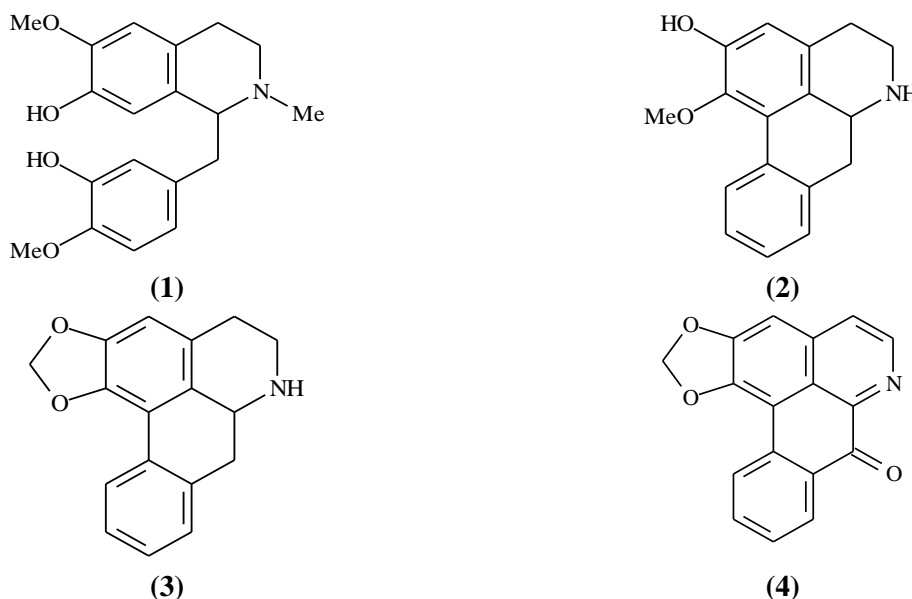


Figure 1. Chemical structures of some natural alkaloids isolated from species of the genus *Annona*.

The genus *Annona* L. belongs to the Annonaceae family and comprises approximately 175 species of trees and shrubs. Economically, this genus is the most important of the Annonaceae family due to its edible fruits and medicinal properties. Several *Annona* species furnish edible fruits, some of them very much appreciated in Brazil, such as *Annona crassiflora* (“araticum”), *Annona squamosa* (“fruta do conde”) and *Annona muricata* (“graviola”). The fruits are usually consumed “in natura” or used in juices, desserts or ice-cream preparations (Dutra et al., 2012). Previous chemical and pharmacological investigations on some species of this genus have indicated the presence of important bioactive compounds, exhibiting various pharmacological activities including cytotoxicity against various tumor cell lines, antimicrobial, antioxidant, antiplatelet, and antiparasitic properties, in particular against *Leishmania* sp. and *Trypanosoma cruzi*. These activities generally are attributed to the presence of alkaloids, acetogenins, and terpenes. In Brazil the genus *Annona* contain close to 60 species, with the largest part occurring in forests and few representatives in open areas (Costa et al., 2011).

There are three previous reviews of the literature on alkaloids from the Annonaceae family. The first was published by Leboeuf et al. (1982a) and the second was by Saito (1995). Recently, a review of alkaloids from the genus *Duguetia* has been published (Pérez and Cassels, 2010). In the work shown in this chapter, the 26 species shown in the Table 1 were surveyed. The purpose of this chapter is to review the occurrence of alkaloids in the genus *Annona*. We do not pretend to do a comprehensive review of the literature, but rather to present introductory information on the subject.

METHODS

With the objective of contributing to these studies, a literature search on the occurrence of alkaloids from the genus *Annona* was carried out. The keywords used for the literature search for this review were *Annona*, Annonaceae, alkaloids, isoquinoline alkaloids, medicinal plants and natural products. The search was carried out using Chemical Abstracts and the data bank of the University of Illinois in Chicago NAPRALERT (Acronym for NATural PRoducts ALERT), updated to April 2013. The references found in the search were later consulted and then studied in detail. Only those plants whose studies led to the isolation of alkaloids were included in this review.

The data are organized in alphabetical order of alkaloid names, with a list of botanical species from which they were isolated as well as part of plant, geographical distribution and references. These data are shown in Table 1. The present compilation includes data from most the papers published between 1930 and 2013.

RESULTS AND DISCUSSION

About 26 out of 175 species of *Annona* have been examined for alkaloids, and 147 of these compounds have been identified. In this section we present some considerations about species of the genus *Annona* studied in Brazil, its popular uses, chemical constituents and biological activities of plant extracts. Consultation of various literature sources resulted in the elaboration of a list of some alkaloids from chemically investigated *Annona* species (Table 1). It should be noted that most of the references cited are not first-hand observations, but compilations copied from other sources. For details on the isolation and structural determination, the original references should be consulted.

Annona dioica St. Hill.

Annona dioica is a shrub distributed throughout the States of São Paulo, Minas Gerais, Paraná and Mato Grosso, Brazil, commonly called “ceraticum (do campo, or grande)”, “arixicum” and “ariticum”. The fruits and leaves are used against rheumatism and the seeds to heal diarrhea. Chemical investigation of this species resulted in the isolation of several alkaloids, including liriodenine (Santos et al., 2003).

Annona foetida Martius

This annonaceous plant, known commonly as “envira-ata” and “graviola do mato” is a tropical native tree found in the Brazilian and Peruvian Amazon. In folk medicine the leaves and bark decoction are used for treatment of rheumatism, intermittent fevers and ulcers (Costa et al., 2011). Its seeds are traditionally used in Brazil as an insecticide and antiparasitic. Previous studies reports the isolation and characterization of a new pyrimidine- β -carboline alkaloid, named *N*-hydroxyannomontine, together with previously reported annomontine and the oxoaporphinic alkaloids *O*-methylmoschatoline and liriodenine. The antiparasitic activity was evidenced for the crude extract and investigated for each purified compound on *Leishmania braziliensis* and *L. guyanensis*, the main causes of leishmaniasis in the Brazilian state of the Amazon (Costa et al., 2006).

Annona pickelii (Diels) H. Rainer

Annona pickelii is a small tree (3–5 m tall) endemic to Brazil and popularly known as “araticum-do-mato”, “araticum-da-mata”, “jaquirinha-do-mato”, and “jussara”. It is found only in the States of Paraíba, Pernambuco and Sergipe, occurring in dense forests of “restinga”. Asimilobine, liriodenine, lysicamine and nornuciferine were isolated from the leaves of this species (Dutra et al., 2012).

Annona rugulosa (Schltdl.) H. Rainer

This species is a tree up to 12 m high and 40 cm diameter, found in South and Southeast of Brazil in “Mata Atlântica”. It is popularly known as “araticum-de-porco”, “araticum-verde”, “araticum-de-comer”, “araticum” and “anona”. In folk medicine the tea from leaves is used against kidney infection and sore throat (Vendramin et al., 2013). Previous work reported the isolation and identification of eight aporphine alkaloids (anonaine, nornantenine, *N*-nornuciferine, xylopine, norisocorydine, litseferine, asimilobine and isoboldine); two oxoaporphine alkaloids (lanuginosine and liriodenine); and tree benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids (magnococline, reticuline and *N*-methylcoclaurine).

Anonaine, *N*-nornuciferine, xylopine, liriodenine and asimilobine are ubiquitous in Annonaceae, and are found in all most genera of this family, mainly in the *Annona* (Leboeuf et al., 1982a; Costa et al., 2006; Costa et al., 2011). They are considered as chemotaxonomic markers of the genera of Annonaceae, especially *Annona* (Cruz et al., 2011). Magnococline was described for the first time in the Annonaceae family (Vendramin et al., 2013).

Annona salzmanii A. DC.

Annona salzmanii is a tree of 6–20 m tall popularly known as “araticum-da-mata” and “araticum-apé”. It is very common in Brazil, mainly in the States of Bahia, Pernambuco, and Paraíba. Some of its organs (leaves, roots, and seeds) are used in folk medicine to treat several human ailments such as verminosis, dysentery, ulcers and inflammatory conditions (Cruz et al., 2011).

Table 1. Alkaloids from chemically investigated *Annona* species.

Chemical name	Place (part used)	References
	<i>Annona acuminata</i>	
Anonaine	Not stated (stem)	Borup and Kingston, 1981
Homomoschatoline	Panama (Entire plant)	Borup-Grochtmann and Kingston, 1982
Liridine	Not stated (stem)	Borup and Kingston, 1981
Liriodenine	Panama (Entire plant)	Borup-Grochtmann and Kingston, 1982
	Not stated (stem)	Borup and Kingston, 1981
Lysicamine	Panama (Entire plant)	Borup-Grochtmann and Kingston, 1982
	Not stated (stem)	Borup and Kingston, 1981
	<i>Annona amazonica</i>	
Cassythicine	Brazil (stem)	Pinheiro et al., 2009
Liriodenine	Brazil (stem)	Pinheiro et al., 2009
	<i>Annona ambotay</i>	
Geovanine	Brazil (trunkwood)	Oliveira et al., 1987
Liriodenine	Brazil (trunkwood)	Oliveira et al., 1987
<i>O</i> -Methylmoschatoline	Brazil (trunkwood)	Oliveira et al., 1987
	<i>Annona atemoya</i>	
Atemoine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Behenoyltryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Cerotoyltryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
Cleistopholine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Heptacosanoyl-4,5-dihydroxytryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Lignoceroyltryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Lignoceroyl-4,5-dihydroxytryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Nonadecanoyltryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Octacosanoyltryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Pentacosanoyl-4,5-dihydroxytryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005
<i>N</i> -Tricosanoyl-4,5-dihydroxytryptamine	Taiwan (seed)	Wu et al., 2005

(Continues)

Table 1 (continued)

	<i>Annona bullata</i>	
(R)-Anonaine	Cuba (leaf)	Sandoval-Lopez and Ripperger, 1986
Atherospermidine	USA (bark)	Hui et al., 1992
Liriodenine	Cuba (leaf)	Sandoval-Lopez and Ripperger, 1986
	Not stated (bark)	Hui et al., 1989
	<i>Annona cacans</i>	
Aristololactam A-II	Brazil (stem)	Saito and Alvarenga, 1994
Aristololactam B-II	Brazil (stem)	Saito and Alvarenga, 1994
Asimilobine	Brazil (stem)	Saito and Alvarenga, 1994
Liriodenine	Brazil (stem)	Saito and Alvarenga, 1994
Michelalbine	Brazil (stem)	Saito and Alvarenga, 1994
Stepharine	Brazil (stem)	Saito and Alvarenga, 1994
	<i>Annona cherimolia</i>	
Annocherine A	Taiwan (stem)	Chen et al., 2001
Annocherine B	Taiwan (stem)	Chen et al., 2001
Annocherine C	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
Anonaine	Spain (seed)	Villar del Fresno and Rios-Canavate, 1983
	Spain (seed)	Rios et al., 1989
	China (stem)	Yang et al., 1991
(+)-Anonaine	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
(-)-Anonaine	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
Anolobine	China (stem)	Yang et al., 1991
(-)-Anolobine	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
Anomoline	China (stem)	Yang et al., 1991
Artabonatine B	Taiwan (stem)	Chen et al., 2001
Asimilobine	China (stem)	Yang et al., 1991
(-)-Asimilobine	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
Cherianoine	Taiwan (stem)	Chen et al., 2001
Cherimoline	Taiwan (stem)	Chen et al., 1997

(Continues)

Table 1 (continued)

Cherimonaine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1998a
Cheritamine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
Cleistopholine	Spain (seed)	Rios et al., 1989
(-)-Corydine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
(-)-Corypalmine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
Corytuberine	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
(-)-Discretamine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
Doryphornine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
<i>cis</i> -Feruloyltyramine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1998b
(+)-Glaziovine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
(+)-Isoboldine	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
Lanuginoside	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
Lanuginosine	Spain (seed)	Villar del Fresno and Rios-Canavate, 1983
	Spain (seed)	Rios et al., 1989
	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
Liriodenine	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
	Spain (root)	Chulia et al., 1995
	Spain (seed)	Villar del Fresno and Rios-Canavate, 1983
	Spain (seed)	Rios et al., 1989
	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
	Chile (twig)	Urzua and Cassels, 1977
Lysicamine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
	Chile (twig)	Urzua and Cassels, 1977
(-)- <i>N</i> -Methylasimilobine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
Michelalbine	China (stem)	Yang et al., 1991
(+)-Norisocorydine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
(+)-Nornanteine	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
(-)-Norstephalagine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
Norushinsunine	Spain (root)	Chulia et al., 1995
(-)-Norushinsunine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989
(-)-Nuciferine	Spain (stem bark)	Simeon et al., 1989

(Continues)

Table 1 (continued)

Oxoasimilobine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
Oxonantenine	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
Oxoushinsunine	China (stem)	Yang et al., 1991
Oxoxylopine	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
(+)-Pronuciferine	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
Reticuline	China (stem)	Yang et al., 1991
(+)-Reticuline	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
	Chile (twig)	Urzua and Cassels, 1977
(-)-Romucosine	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
Romucosine H	Taiwan (stem)	Chen et al., 2001
(-)-Stepholidine	Spain (leaf)	Villar et al., 1985
(-)-Stepholidine	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
Tetrahydropalmatine	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
Thalifoline	Taiwan (stem)	Chen et al., 1999
(-)-Xylopine	Taiwan (leaf)	Chen and Wu, 2001
(-)-Xylopine	Spain (stembark)	Simeon et al., 1989
	<i>Annona crassiflora</i>	
Annoretine	Brazil (not specified)	Egydio et al., 2013
Anonaine	Guyana (leaf)	Hocquemiller et al., 1982
	Guyana (stembark)	Hocquemiller et al., 1982
	Brazil (not specified)	Egydio et al., 2013
Asimilobine	Guyana (leaf)	Hocquemiller et al., 1982
	Guyana (stembark)	Hocquemiller et al., 1982
Grossamide	Brazil (seed)	Santos et al., 1996
Liriodenine	Guyana (leaf)	Hocquemiller et al., 1982
	Guyana (stembark)	Hocquemiller et al., 1982
Reticuline	Guyana (leaf)	Hocquemiller et al., 1982
	Guyana (stembark)	Hocquemiller et al., 1982
Romucosine	Brazil (not specified)	Egydio et al., 2013
<i>N-trans</i> -Caffeoyltyramine	Brazil (seed)	Santos et al., 1996
Xylopine	Brazil (not specified)	Egydio et al., 2013

(Continues)

Table 1 (continued)

	<i>Annona cristalensis</i>	
Liriodenine	Cuba (leaf + stem)	Faust et al., 1981
(<i>R</i>)-Coclaurine	Cuba (leaf + stem)	Faust et al., 1981
	<i>Annona dioica</i>	
1-Aza-5,9,10-trimethoxy-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroanthracene	Brazil (wood)	Santos et al., 2003
Geovanine	Brazil (wood)	Santos et al., 2003
Liriodenine	Brazil (wood)	Santos et al., 2003
1,2-methylenedioxy-6 α ,7-dehydroaporphine-4(S)-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-3,4-dihydro-2(1H)-pyridinone	Brazil (wood)	Santos et al., 2003
	<i>Annona elliptica</i>	
Annonelliptine	Cuba (leaf + stem)	Sandoval et al., 1985
	<i>Annona foetida</i>	
Annomontine	Brazil (bark)	Costa et al., 2006
Liriodenine	Brazil (bark)	Costa et al., 2006
<i>N</i> -Hydroxyannomontine	Brazil (bark)	Costa et al., 2006
<i>O</i> -Methylmoschatoline	Brazil (bark)	Costa et al., 2006
	<i>Annona glabra</i>	
Anonaine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
Annonbraine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
(-)-Anolobine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
(-)-Anonaine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
Asimilobine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
(-)-Asimilobine	Taiwan (fruit)	Chang et al., 2000a
Atherospermidine	USA (trunk)	Warthen et al., 1969
1-Aza-2-oxo-4-methyl,1-2-dihydroanthracene-9-10-dione	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a

(Continues)

Table 1 (continued)

<i>N</i> - <i>para</i> -Coumaroyltyramine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
Dehydrocorydalmine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
<i>N</i> - <i>trans</i> -Feruloyltyramine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
(-)- <i>N</i> -Formylanonaine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
Isoboldine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
(-)-Kikemanine	Taiwan (fruit)	Chang et al., 2000a
Liriodenine	Taiwan (fruit)	Chang et al., 2000a
	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
Lysicamine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000a
<i>N</i> -Methylactinodaphnine	Taiwan (leaf)	Yang et al., 1971
(+)-Nordomesticine	Taiwan (fruit)	Chang et al., 2000a
Nornuciferine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
(-)-Nornuciferine	Taiwan (fruit)	Chang et al., 2000a
Norushinsunine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
Oxoglaucine	China (entire plant)	Tian et al., 2001
Phanostenine	Mexico (leaf)	Castaneda et al., 1994
Reticuline	Taiwan (leaf)	Yang et al., 1971
	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
Roemerine	Taiwan (stem)	Yang and Chen, 1973
(+)-Stepharine	Taiwan (fruit)	Chang et al., 2000a
<i>Annona hayesii</i>		
Annopholine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(-)-Anonaine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(-)-Asimilobine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
Cleistopholine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
3-Hydroxy-(-)-nornuciferine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
Liriodenine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(+)-Litseferine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
Lysicamine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(+)-Nordomesticine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(-)-Nornuciferine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(-)-Norushinsunine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987

(Continues)

Table 1 (continued)

(-)-Nuciferine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(-)-Roemerine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
(-)-Stepharine	Colombia (trunkbark)	Rasamizafy et al., 1987
	<i>Annona montana</i>	
Anonaine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Taiwan (stembark)	Yang and Chen, 1979
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
Annolatine	Taiwan (leaf)	Wu et al., 1993
Annomontine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
Annoretine	Taiwan (leaf)	Wu et al., 1993
Argentinine	Taiwan (leaf)	Wu et al., 1993
	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Taiwan (leaf)	Yang and Chen, 1979
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
Asimilobine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
Atherospermine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
	Taiwan (stembark)	Yang and Chen, 1979
Coclaurine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b

(Continues)

Table 1 (continued)

Coreximine	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
Isoboldine	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
Liriodenine	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
	Taiwan (leaf)	Wu et al., 1993
Oxoushinsunine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
Reticuline	Taiwan (stembark)	Yang and Chen, 1979
	Taiwan (leaf)	Yang and Chen, 1979
Xylopine	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (rootbark)	Leboeuf et al., 1982b
Anonaine	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (stembark)	Leboeuf et al., 1982b
	Guyana (trunkbark)	Leboeuf et al., 1982b
Anonamine	<i>Annona muricata</i>	
	Surinam (fruit)	Hasrat et al., 1994
	Guinea (leaves)	Fofana et al., 2011
Anomuricine	Japan (leaves)	Matsushige et al., 2012
	Japan (leaves)	Matsushige et al., 2012
Anomurine	Guyana (root)	Leboeuf et al., 1980
	Guyana (bark)	Leboeuf et al., 1981
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1981
Anomurine	Guyana (root)	Leboeuf et al., 1980
	Guyana (bark)	Leboeuf et al., 1981

(Continues)

Table 1 (continued)

	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1981
Anonaine	Surinam (fruit)	Hasrat et al., 1997
Asimilobine	Surinam (fruit)	Hasrat et al., 1997
Atherospermine	Philippines (stem bark)	Santos et al., 1967
Atherosperminine	Guyana (root)	Leboeuf et al., 1980
	Guyana (bark)	Leboeuf et al., 1981
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1981
Coclaurine	Guinea (leaves)	Fofana et al., 2011
(+)-Coclaurine	Guinea (root)	Leboeuf et al., 1980
	Guinea (bark)	Leboeuf et al., 1981
	Guinea (leaf)	Leboeuf et al., 1981
(-)-Coreximine	Guyana (bark)	Leboeuf et al., 1981
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1981
	Guyana (root)	Leboeuf et al., 1980
<i>O-O</i> -Dimethylcoclaurine	Japan (leaves)	Matsushige et al., 2012
Isolaureline	Guinea (leaves)	Fofana et al., 2011
(<i>R</i>)-4'- <i>O</i> -Methylcoclaurine	Japan (leaves)	Matsushige et al., 2012
Muricine	Not Stated (bark)	Meyer, 1941
Muricinine	Not Stated (bark)	Meyer, 1941
(<i>S</i>)-Norcorydine	Japan (leaves)	Matsushige et al., 2012
Nornuciferine	Surinam (fruit)	Hasrat et al., 1997
Reticuline	Philippines (stem bark)	Santos et al., 1967
(+)-Reticuline	Guyana (root)	Leboeuf et al., 1980
	Guyana (bark)	Leboeuf et al., 1981
	Guyana (leaf)	Leboeuf et al., 1981
<i>Annona paludosa</i>		
Anonaine	French Guiana (root bark)	Laprevote et al., 1988
Asimilobine	French Guiana (root bark)	Laprevote et al., 1988
Coreximine	French Guiana (root bark)	Laprevote et al., 1988
Dihydropalmatine	French Guiana (root bark)	Laprevote et al., 1988
Reticuline	French Guiana (root bark)	Laprevote et al., 1988
Scoulerine	French Guiana (root bark)	Laprevote et al., 1988

(Continues)

Table 1 (continued)

Tetrahydropalmatine	French Guiana (rootbark)	Laprevote et al., 1988
	<i>Annona pickelii</i>	
Asimilobine	Brazil (leaves)	Dutra et al., 2012
Liriodenine	Brazil (leaves)	Dutra et al., 2012
Lysicamine	Brazil (leaves)	Dutra et al., 2012
Nornuciferine	Brazil (leaves)	Dutra et al., 2012
	<i>Annona purpurea</i>	
Anonaine	Costa Rica (wood)	Castro et al., 1996
(+)-Apoglaziovine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Atherospermidine	Costa Rica (wood)	Castro et al., 1996
Cassamedine	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
Dehydrolirinidine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
O-Demethylpurpureine	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
7-Formyl-dehydrothalicsimidine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b
N-Formylpurpureine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
(-)-Glaucine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
Glaziovine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
	Africa (part not specified)	Gottlieb and Mors, 1980
(+)-Glaziovine	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
7-Hydroxy-dehydroglaucine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
7-Hydroxy-dehydrothalicsimidine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b
Isocorydine	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
(+)-Isocorydine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Lirinidine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b
(-)-Lirinidine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Liriodenine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
	Costa Rica (wood)	Castro et al., 1996
Lysicamine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
N-Methylasimilobine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b
O-Methylatheroline	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
N-Methyl-laurotetanine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b

(Continues)

Table 1 (continued)

(+)- <i>O</i> -Methylflavinantine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
(-)-Norglaucine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
(-)-Norpallidine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Norpurpureine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b
	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
(+)-Norpurpureine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
(+)-Northalbaicalidine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Oxoglaucine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Oxonuciferine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
Oxopurpureine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
(-)-Pallidine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
(+)-Predicentrine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
Promucosine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Purpureine	USA (leaf + stem)	Sonnet and Jacobson, 1971
(+)-Purpureine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
(+)-Reticuline	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Romucosine F	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Romucosine G	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Squamolone	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Thalbaicalidine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
Thalicipureine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998a
Thalicsimidine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1998b
(+)-Thalicsimidine	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
Thalifoline	Taiwan (stem)	Chang et al., 2000b
	<i>Annona reticulata</i>	
Annomontine	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
Aequaline	China (rhizome)	Xu et al., 1992
Anonaine	Not Stated (bark)	Barger and Weitnauer, 1939

(Continues)

Table 1 (continued)

	Taiwan (rootbark)	Yang et al., 1973
	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
	Philippines (trunkbark)	Santos, 1930
Asimilobine	Taiwan (rootbark)	Yang et al., 1970
	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
	China (rhizome)	Xu et al., 1992
Coclaurine	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
	India (leaf)	Forgacs et al., 1981
	India (stem)	Forgacs et al., 1981
Corydine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
Glaucine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
3-Hydroxy-nornuciferine	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
Liriodenine	India (bark)	Saad et al., 1991
	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
	China (rhizome)	Xu et al., 1992
	India (rootbark)	Anjaneyulu et al., 1965
Methoxyannomontine	Taiwan (rootbark)	Yang et al., 1973
Michelalbine	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
	Taiwan (rootbark)	Yang et al., 1973
	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
Norcorydine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
Norushinsunine	China (rhizome)	Xu et al., 1992
Oxonantenine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
Oxoushinsunine	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
Oxoylopine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995
Reticuline	India (rootbark)	Gopinath et al., 1959
	Taiwan (rootbark)	Yang et al., 1973
	Taiwan (rootbark)	Yang and Cheng, 1987
Salsolinol	India (leaf)	Forgacs et al., 1981
	India (stem)	Forgacs et al., 1981
Xylopine	Taiwan (leaf)	Chang et al., 1995

(Continues)

Table 1 (continued)

	<i>Annona rugulosa</i>	
Anonaine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Asimilobine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Isoboldine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Lanuginosine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Liriodenine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Litseferine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Magnococline	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
N-Methylcoclaurine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Norisocorydine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Nornantenine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
N-Nornuciferine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Reticuline	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
Xylopine	Brazil (leaves)	Vendramin et al., 2013
	<i>Annona salzmanii</i>	
Anonaine	Brazil (trunkbark)	Paulo et al., 1992
	Brazil (bark)	Cruz et al., 2011
Asimilobine	Brazil (bark)	Cruz et al., 2011
Isoboldine	Brazil (trunkbark)	Paulo et al., 1992
Laurelliptine	Brazil (trunkbark)	Paulo et al., 1992
Liriodenine	Brazil (bark)	Cruz et al., 2011
Reticuline	Brazil (trunkbark)	Paulo et al., 1992
	Brazil (bark)	Cruz et al., 2011
Xylopine	Brazil (bark)	Cruz et al., 2011
	<i>Annona senegalensis</i>	
Anonaine	Guinea (leaf)	Philipov et al., 1995
Isoboldine	Guinea (leaf)	Philipov et al., 1995
(-)- Isocorydine	Zimbabwe (leaf)	You et al., 1995
Liriodenine	Guinea (leaf)	Philipov et al., 1995
(-)-Roemerine	Zimbabwe (leaf)	You et al., 1995

(Continues)

Table 1 (continued)

	<i>Annona sericea</i>	
3-Hydroxy-nornuciferine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
Isoboldine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
Lysicamine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
(S)-N-Methylcoclaurine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
Nornantenine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
Nornuciferine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
Oxonantenine	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
(S)-Reticuline	Brazil (leaves)	Campos et al., 2008
	<i>Annona spinescens</i>	
(-)-Anonaine	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
	Brazil (trunkbark)	Queiroz et al., 1996
(+)-Bracteoline	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
(+)-Norbracteoline	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
(+)-Nordomesticine	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
(-)-Norushinsunine	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
	Brazil (trunkbark)	Queiroz et al., 1996
(-)-Pessoine	Brazil (trunkbark)	Queiroz et al., 1996
(+)-Reticuline	Brazil (trunkbark)	Queiroz et al., 1996
(-)-Spinosine	Brazil (trunkbark)	Queiroz et al., 1996
(-)-Stepharine	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
Liriodenine	Brazil (root)	Queiroz et al., 1996
	<i>Annona squamosa</i>	
Anonaine	India (bark)	Rao et al., 1978
	India (root)	Rao et al., 1978
	China (twig)	Yang et al., 1992
	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972
Corydine	India (bark)	Rao et al., 1978
	India (root)	Rao et al., 1978
	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972
Glaucine	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972

(Continues)

Table 1 (continued)

(+)-Glaucine	India (bark)	Rao et al., 1978
	India (root)	Rao et al., 1978
Higenamine	India (leaf)	Wagner et al., 1980
Isocorydine	India (bark)	Rao et al., 1978
	India (root)	Rao et al., 1978
	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972
Lanuginosine	India (leaves)	Bhaumik et al., 1979
Liriodenine	Malaysia (seed)	Morita et al., 2000
	India (stembark)	Li et al., 1990
	China (twig)	Yang et al., 1992
(+)- <i>O</i> -Methylarmepavine	India (leaves)	Bhaumik et al., 1979
Norcorydine	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972
Norisocorydine	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972
Samoquasine A	Malaysia (seed)	Morita et al., 2000
Squamosamide	China (twig)	Yang et al., 1992
Moupinamide	China (twig)	Yang et al., 1992
Roemerine	India (leaves + stem)	Bhakuni et al., 1972
(-)-Xylopine	India (leaves)	Bhaumik et al., 1979

CONCLUSION

Many authors have discussed the importance and potential of medicinal plants as sources of new therapeutic agents. Alkaloids are an important group of diversely distributed, chemically, biologically and commercially significant natural products. The Annonaceae family is among the 20 most important alkaloid-containing plant families (Cordell et al., 2001) and the genus *Annona* can be considered as an excellent source of alkaloids, mainly isoquinoline- derived. Some alkaloids such as anonaine, asimilobine, liriodenine and reticuline have been described in several species of *Annona*, and could be considered as chemotaxonomic markers of this genus. This work has made a significant contribution to the chemotaxonomy of the Annonaceae family and the genus *Annona*.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to express their sincere thanks to the College of Pharmacy, The University of Illinois at Chicago, Chicago, Illinois 60612-7231, U.S.A., for helping with the computer aided NAPRALERT search and Brazilian agencies CNPq and FACEPE for financial support.

REFERENCES

- Almeida, JRGS; Araújo, ECC; Ribeiro, LAA; Lima, JT; Nunes, XP; Lúcio, ASSC; Agra, MF; Barbosa-Filho, JM. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1-6.
- Anjaneyulu, B; Rao, VB; Ganguly, AK; Govindachari, TR; Joshi, BS; Kamat, VN; Manmade, AH; Mohamed, PA; Rahimtula, AD; Saksena, AK; Varde, DS; Viswanathan, N. Chemical investigation of some Indian plants. *Indian Journal of Chemistry*, 1965, 3, 237.
- Barger, G; Weitnauer, G. Constitution and synthesis of Annonaine. *Helvetica Chimica Acta*, 1939, 22, 1036.
- Bhakuni, DS; Tewari, S; Dhar, MM. Aporphine alkaloids of *Annona squamosa*. *Phytochemistry*, 1972, 11, 1819-1822.
- Bhaumik, PK; Mukherjee, B; Juneau, JP; Bhacca, NS; Mukherjee, R. Alkaloids from leaves of *Annona squamosa*. *Phytochemistry*, 1979, 18, 1584-1586.
- Borup-Grochtmann, I; Kingston, DGI. Aporphine alkaloids from *Annona acuminata*. *Journal of Natural Products*, 1982, 45 (1), 102.
- Borup, I; Kingston, DGI. Isolation and structure elucidation of cytotoxic aporphine alkaloids from *Annona acuminata*. *Abstract of Joint Meeting American Society of Pharmacognosy and Society for Economic Botany Boston*, 1981, 31.
- Campos, FR; Batista, RL; Batista, CL; Costa, EV; Barison, A; Santos, AG; Pinheiro, MLB. Isoquinoline alkaloids from leaves of *Annona sericea* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2008, 36, 804-806.
- Castaneda, P; Garcia, E; Mata, R; Rico, V. Constituents of *Annona glabra*. *Fitoterapia*, 1994, 65 (5) 478.
- Castro, I; Villegas, JR; Soeder, B; Castro, O; Soeder, B. Oxoaporphine alkaloids from *Annona purpurea* wood. *Fitoterapia*, 1996, 58 (2), 181-182.
- Chang, FR; Chen, CY; Hsieh, TJ; Cho, CP; Wu, YC. Chemical constituents from *Annona glabra*. III. *Journal of Chinese Chemical Society*, 2000a, 47, 913-920.

Chang, FR; Chen, CY; Wu, PH; Kuo, RY; Chang, YC; Wu, YC. New alkaloids from *Annona purpurea*. *Journal of Natural Products*, 2000b, 63 (6), 746-748.

Chang, FR; Wei, JL; Teng, CM; Wu, YC. Antiplatelet aggregation constituents from *Annona purpurea*. *Journal of Natural Products*, 1998a, 61 (12), 1457-1461.

Chang, FR; Wei, JL; Teng, CM; Wu, YC. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. *Phytochemistry*, 1998b, 49 (7), 2015-2018.

Chang, FR; Chen, KS; Ko, FN; Teng, CM; Wu, YC. Bioactive alkaloids from *Annona reticulata*. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 1995, 47 (5), 483-491.

Chatrou, LW; Rainer, H; Maas, PJM. Annonaceae (Soursop family). Smith, N. et al. (eds.). *Flowering Plants of Neotropics*. New York Botanical Garden, p. 18-20, 2004.

Chen, CY; Wu, YC. Annocherine C, a new c-alpha-hydroxy benzylisoquinoline and other constituents from the leaves of *Annona cherimola*. *Journal of Chinese Chemical Society*, 2001, 48, 1203-1206.

Chen, CY; Chang, FR; Pan, WB; Wu, YC. Four alkaloids from *Annona cherimola*. *Phytochemistry*, 2001, 56 (7), 753-757.

Chen, CY; Chang, FR; Teng, CM; Wu, YC. Cheritamine, a new n-fatty acyl tryptamine and other constituents from the stems of *Annona cherimola*. *Journal of Chinese Chemical Society*, 1999, 46 (1), 77-86.

Chen, CY; Chang, FR; Wu, YC. Cherinonaine, a novel dimeric amide from the stems of *Annona cherimola*. *Tetrahedron Letters*, 1998a, 39 (5/60), 407-410.

Chen, CY; Chang, FR; Yen, HF; Wu, YC. Amides from stems of *Annona cherimola*. *Phytochemistry*, 1998b, 49 (5), 1443-1447.

Chen, CY; Chang, FR; Wu, YC. Cherimoline, a novel alkaloid from the stems of *Annona cherimola*. *Tetrahedron Letters*, 1997, 38 (35), 6247-6248.

Chulia, S; Noguera, MA; Ivorra, MD; Cortes, D; D'ocon, MP. Vasodilator effects of liriodenine and norushinsunin, two aporphine alkaloids isolated from *Annona cherimolia*, in rat aorta. *Pharmacology*, 1995, 50 (6), 380-387.

Cordell, GA; Quinn-Beattie, ML; Farnsworth, NR. The potential of alkaloids in drug discovery. *Phytotherapy Research*, 2001, 15, 183-205.

Costa, EV; Pinheiro, MLB; Souza, ADL; Barison, A; Campos, FR; Valdez, RH; Nakamura, TU; Dias-Filho, BP; Nakamura, CV. Trypanocidal Activity of Oxoaporphine and Pyrimidine- β -Carboline Alkaloids from the Branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). *Molecules*, 2011, 16, 9714-9720.

Costa, EV; Pinheiro, ML; Xavier, CM; Silva, JR; Amaral, AC; Souza, AD; Barison, A; Campos, FR; Ferreira, AG; Machado, GM; Leon, LL. A pyrimidine- β -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *Journal of Natural Products*, 2006, 69 (2), 292-294.

Cruz, PEO; Costa, EV; Moraes, VRS; Nogueira, PCL; Vendramin, ME; Barison, A; Ferreira, AG; Prata, APN. Chemical constituents from the bark of *Annona salzmannii* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39, 872-875.

Dutra, LM; Costa, EV; Moraes, VRS; Nogueira, PCL; Vendramin, ME; Barison, A; Prata, APN. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, 41, 115-118.

Egydio, APM, Valvassoura, TA, Santos, DYAC. Geographical variation of isoquinoline alkaloids of *Annona crassiflora* Mart. from cerrado, Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 46, 145-151.

Faust, J; Preiss, A; Ripperger, H; Sandoval, D; Schreiber, K. Alkaloids from *Annona cristalensis*. *Pharmazie*, 1981, 36, 713.

Fofana, S; Ziyayev, R; Abdusamatov, A; Zakirov, SKh. Alkaloids from *Annona muricata* leaves. *Chemistry of Natural Compounds*, 2011, 47 (2), 321.

Forgacs, P; Desconclois, JF; Mansard, D; Provost, J; Tiberghien, R; Tocquer, J; Touche, A. Dopamine and tetrahydroisoquinoline alkaloids of *Annona reticulata* L. Annonaceae. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 1981, 15, 10-15.

Gopinath, KW; Govindachari, TR; Pai, BR; Viswanathan, N. Constitution of reticuline, a new alkaloid from *Annona reticulata*. *Chemische Berichte*, 1959, 92; 776.

Gottlieb, OR; Mors, WB. Potential utilization of Brazilian wood extractives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1980, 28 (2), 196-215.

Hasrat, JA; Pieters, L; De Backer, JP; Vauquelin, G; Vlietinck, AJ. Screening of medicinal plants from Suriname for 5-HT_{1A} ligands: bioactive isoquinoline alkaloids from the fruit of *Annona muricata*. *Phytomedicine*, 1997, 4 (2), 133-140.

Hasrat, JA; De Bruyne, T; De Bakcer, JP; Vauquelin, G; Vlietinck, AJ. Isoquinoline derivatives isolated from the fruit of *Annona muricata* as 5-HT_{1A} receptor agonists in rats: unexploited antidepressive (lead) products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1994, 49 (11), 1145-1149.

Hocquemiller, R; Cave, A; Jacquemin, H; Touche, A; Forgacs, P. Alkaloids of the Annonaceae. XXXVI. Alkaloids of *Annona crassiflora* Mart. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 1982, 16, 4-6.

Hui, YH; Wood, KV; Mc Laughlin, JL. Bullatencin, 4-deoxyasimicin, and the uvariamicins: additional bioactive annonaceous acetogenins from *Annona bullata* Rich. (Annonaceae). *Natural Toxins*, 1992, 1 (1), 4-14.

Hui, YH; Ruprecht, JK; Liu, YM; Anderson, JE; Smith, DL; Chang, CJ; Mc Laughlin, JL. Bullatacin and bullatacinone: two highly potent bioactive acetogenins from *Annona bullata*. *Journal of Natural Products*, 1989, 52 (3), 463-477.

Hutchinson, J. *The Genera of Flowering Plants*, v. 1, University Press, Oxford, 1964.

Laprevote, O; Leboeuf, M; Cave, A; Provost, J; Forgacs, P; Jacquemin, H. Alkaloids of the Annonaceae. 88. Alkaloids of *Annona paludosa* Aubl. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 1988, 22 (3), 159-164.

Leboeuf, M; Cavé, A; Bhaumik, PK; Mukherjee, B; Mukherjee, R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, 1982a, 21 (12), 2783-2813.

Leboeuf, M; Cave, A; Forgacs, P; Tiberghien, R; Provost, J; Touche, A; Jacquemin, H. Alkaloids of the Annonaceae. 40. Chemical and pharmacological study of the alkaloids of *Annona montana* Macf. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 1982, 16 (3), 169-184.

Leboeuf, M; Legueut, C; Cave, A; Desconclois, JF; Forgacs, P; Jacquemin, H. Alkaloids of Annonaceae. XXXIX. Alkaloids of *Annona muricata*. *Planta Medica*, 1981, 42, 37-44.

Leboeuf, M; Leguet, C; Cave, A; Desconclois, JF; Forgacs, P. Anomurine and anomuricine, two new isoquinoline alkaloids from *Annona muricata*. *Planta Medica*, 39, 204-205.

Li, XH; Hui, YH; Rupprecht, JK; Liu, YM; Wood, KV; Smith, DL; Chang, CJ; Mc Laughlin, JL. Bullatacin, bullatacinone and squamone, a new bioactive acetogenin from the bark of *Annona squamosa*. *Journal of Natural Products*, 1990, 53 (1), 81-86.

Martínez-Vázquez, M; Estrada-Reyes, R; Escalona, AGA; Velázquez, IL; Martínez-Motac, L; Morenod, J; Heinze, G. Antidepressant-like effects of an alkaloid extract of the aerial parts of *Annona cherimolia* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 139, 164-170.

Matsushige, A; Kotake, Y; Matsunami, K; Otsuka, H; Ohta, S; Takeda, Y. Annonamine, a new aporphine alkaloid from the leaves of *Annona muricata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 60 (2), 257-259.

Meyer, TM. The alkaloids of *Annona muricata*. *Ing Ned Indie*, 1941, 8 (6) 64.

Morita, H; Sato, Y; Chan, KL; Choo, CY; Itokawa, H; Takeya, K; Kobayashi, J. Samoquasine A, a benzoquinazoline alkaloid from the seeds of *Annona squamosa*. *Journal of Natural Products*, 2000, 63 (12), 1707-1708.

Oliveira, AB; Oliveira, GG; Carazza, F; Maia, JGS. Geovanine, a new azaanthracene alkaloid from *Annona ambotay* Aubl. *Phytochemistry*, 1987, 26 (9), 2650-2651.

Paulo, MDQ; Barbosa-Filho, JM; Lima, EO; Maia, RF; De Cassia, BCCR; Kaplan, MAC. Antimicrobial activity of benzyloisoquinoline alkaloids from *Annona salzmanii* D.C. *Journal of Ethnopharmacology*, 1992, 36 (1), 39-41.

Pérez, EG; Cassels, BK. Alkaloids from the genus *Duguetia*. *The Alkaloids: Chemistry and Biology*, 2010, 68, 83-156.

Philipov, S; Kande, KM; Machev, K. Alkaloids of *Annona senegalensis*. *Fitoterapia*, 1995, 66 (3), 275-276.

Pinheiro, MLB; Xavier, CM; Souza, ADL; Rabelo, DM; Batista, CL; Batista, RL; Costa, EV; Campos, FR; Barison, A; Valdez, RH; Nakamura, TU; Nakamura, CV. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2009, 20 (6), 1095-1102.

Queiroz, EF; Roblot, F; Cave, A; Paulo, MDQ; Fournet, A. Pessoine and spinosine, two catecholic berbines from *Annona spinescens*. *Journal of Natural Products*, 1996, 59 (4), 438-440.

Rao, RVK; Murty, N; Rao, JVLNS. Occurrence of borneol and camphor and a new terpene in *Annona squamosa*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1978, 40, 170-171.

Rasamizafy, S; Hocquemiller, R; Cassels, BK; Cave, A. Alkaloids of *Annona hayesii*. *Journal of Natural Products*, 1987, 50 (4), 759-761.

Rios, JL; Cortes, D; Valverde, S. Acetogenins, aporphinoids and azaanthraquinone from *Annona cherimolia* seeds. *Planta Medica*, 1989, 55 (3), 321-323.

Saad, JM; Hui, YH; Rupprecht, JK; Anderson, JE; Kozlowski, JF; Zhao, GX; Wood, KV; Mc Laughlin, JL. Reticulatacin: a new bioactive acetogenin from *Annona reticulata* (Annonaceae). *Tetrahedron*, 1991, 47 (16/17), 2751-2756.

Saito, ML. Review of phytochemistry of Annonaceae Jussieu. *Lecta-USF*, 1995, 13 (1/2), 101-186.

Saito, ML; Alvarenga, MA. Alkaloids from *Annona cacans*. *Fitoterapia*, 1994, 65 (1), 87.

Sandoval-Lopez, D; Ripperger, H. Chemical studies in Cuban species of the genus *Annona*. I. *Annona bullata* Rich. *Revista Cubana de Farmacia*, 1986, 20 (10), 83-86.

Sandoval, D; Preiss, A; Schreiber, K; Ripperger, H. Annonelliptine, an alkaloid from *Annona elliptica*. *Phytochemistry*, 1985, 24 (2), 375-376.

Santos, PRD; Morais, AA; Braz-Filho, R. Alkaloids from *Annona dioica*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2003, 14 (3), 396-400.

Santos, LP; Boaventura, MAD; Oliveira, AB; Cassady, JM. Grossamide and *N-trans*-caffeoyltyramine from *Annona crassiflora* seeds. *Planta Medica*, 1996, 62, (1), 76.

Santos, GA; Librea, JR; Santos, AC. The alkaloids of *Annona muricata*. *Philippine Journal of Sciences*, 1967, 96, 399.

Santos, AC. Alkaloid from *Annona reticulata*. *Philippine Journal of Sciences*, 1930, 43, 561.

Simeon, S; Rios, JL; Villar, A. Alkaloids from *Annona cherimolia* (Mill.) stem bark. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 1989, 23 (3), 159-161.

Sonnet, PE; Jacobson, M. Tumor inhibitors II: cytotoxic alkaloids from *Annona purpurea*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1971, 60 (8), 1254-1256.

Tian, LJ; Han, Y; Meng, ZS; Xia, C; Zhang, JH. Study on chemical constituents of *Annona glabra*. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 2001, 32 (1), 10-12.

Urzua, A; Cassels, BK. Preliminary studies of the alkaloids of *Annona cherimolia*. *Revista Latinoamericana de Química*, 1977, 8 (3), 133-134.

Vendramin, ME; Costa, EV; Santos, EP; Pinheiro, MLB; Barison, A; Campos, FR. Chemical constituents from the leaves of *Annona rugulosa* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 49, 152-155.

Villar, A; Mares, M; Rios, JL; Cortes, D. Alkaloids from *Annona cherimolia* leaves. *Journal of Natural Products*, 1985, 48 (10), 151-152.

Villar del Fresno, A; Rios-Canavate, JL. Alkaloids from *Annona cherimolia* seed. *Journal of Natural Products*, 1983, 46 (3), 438.

Wagner, H; Reiter, M; Ferstl, W. New drugs with cardiotoxic activity. I. Chemistry and pharmacology of the cardiotoxic active principle of *Annona squamosa* L. *Planta Medica*, 1980, 40, 77-85.

Warthen, D; Gooden, EL; Jacobson, M. Tumor inhibitors: liriodenine, a cytotoxic alkaloid from *Annona glabra*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1969, 58, 637.

Wu, YC; Chang, FR; Chen, CY. Tryptamine-derived amides and alkaloids from the seeds of *Annona atemoya*. *Journal of Natural Products*, 2005, 68 (3), 406-408.

Wu, YC; Chang, GY; Duh, CY; Wang, SK. Cytotoxic alkaloids of *Annona montana*. *Phytochemistry*, 1993, 33 (2), 497-500.

Xu, LZ; Li, KM; Sun, NJ; Kong, J. Alkaloids of *Annona reticulata*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 1992, 17 (5), 295-296.

Yang, XJ; Xu, LZ; Sun, NJ; Wang, SC. Studies on the chemical constituents of *Annona squamosa*. *Yao Hsueh Hsueh Pao*, 1992, 27 (3), 185-190.

Yang, TH; Lin, SJ; Wang, HC. Studies on the constituents of *Annona cherimola*, structure of anomoline. *Zhonghua Yaoxue Zazhi*, 1991, 43 (6), 457-463.

Yang, TH; Cheng, MY. The alkaloids of *Annona reticulata* L. II. *Taiwan Yao Hsueh Tsa Chih*, 1987, 39 (3) 195-201.

Yang, TH; Chen, CM. Studies on the alkaloids of *Annona montana*. *Proc Natl Sci Counc Repub China*, 1979, 3, 63-66.

Yang, TH; Chen, CM. Studies on the alkaloids of *Annona glabra*. II. *Taiwan Yao Hsueh Tsa Chih*, 1973, 25, 1.

Yang, TH; Chen, CM; Kong, HH. Constituents of anonaceous plants. I. Alkaloids of *Annona reticulata*. *Pei I Hsueh Pao*, 1973, 1973, 130.

Yang, TH; Chen, CM; Kuan, SS. Alkaloids of *Annona glabra*. I. Isolation of (-)-*N*-methylactinodaphnine. *Journal of Chinese Chemical Society*, 1971, 18, 133.

Yang, TH; Chen, CM; Kong, HH. Studies on the constituents of annonaceous plants: I. Alkaloids of *Annona reticulata*. *Taiwan K'o Hsueh*, 1970, 24, 99.

You, M; Wickramaratne, DBM; Silva, GL; Chai, HY; Chagwedera, TE; Farnsworth, NR; Cordell, GA; Kinghorn, AD; Pezzuto, JM. (-)-Roemerine, an aporphine alkaloid from *Annona senegalensis* that reverses the multidrug-resistance phenotype with cultured cells. *Journal of Natural Products*, 1995, 58 (4), 598-604.

Essential Oils in *Annona* species (Annonaceae)

Suzana Vieira Rabelo¹, Jullyana de Sousa Siqueira Quintans², Emmanoel Vilaça Costa³,
Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida⁴, Lucindo José Quintans Junior^{5,*}

¹Center for Studies and Research of Medicinal Plants (NEPLAME), Federal University of San Francisco Valley (UNIVASF), 56.304-205, Petrolina, Pernambuco, Brazil. E-mail: suzana_rabelo@yahoo.com.br

²Department of Physiology, Federal University of Sergipe, 49.100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil. E-mail: jullyanas@yahoo.com.br

³Department of Chemistry, Federal University of Sergipe, 49.100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil. E-mail: emmanoelvc@gmail.com

⁴Center for Studies and Research of Medicinal Plants (NEPLAME), Federal University of San Francisco Valley (UNIVASF), 56.304-205, Petrolina, Pernambuco, Brazil. E-mail: jackson.guedes@univasf.edu.br

⁵Department of Physiology, Federal University of Sergipe, 49.100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil. E-mail: lucindo_jr@yahoo.com.br

*Corresponding Author: Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n, 49.100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil. Phone: +55-79-21056645; Fax: +55-79-3212-6640. E-mail: lucindo_jr@yahoo.com.br; lucindo@pq.cnpq.br

Addresses and emails of Departmental Contact in his (??? Não entendi esta frase...) absence (spare email): Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n, 49.100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil. Phone: +55-79-21056645; Fax: +55-79-3212-6640. E-mail: lucindo_jr@yahoo.com.br; lucindo@pq.cnpq.br

Abbreviated title of paper (short title): *Annona* essential oils

ABSTRACT

The genus *Annona* L. is one of the most important of the Annonaceae family due to its edible fruits and medicinal properties. This genus has revealed the presence of different classes of active metabolites, such as isoquinoline and pyrimidine- β -carboline alkaloids, acetogenins, lectins and volatile oils. The constitution of essential oils is predominantly mono and sesquiterpenes. The major constituents are α -pinene and β -pinene, myrcene, *p*-cymene, limonene, linalool, 1,8-cineole, caryophyllene and caryophyllene oxide. The present chapter is a review of articles published in the literature regarding the chemical composition, bioactivity and uses of volatile constituents from species of the genus *Annona* in food science. The flavor composition of the most common *Annona* species is summarized in this chapter, including *A. atemoya*, *A. cherimolia*, *A. coriacea*, *A. foetida*, *A. glabra*, *A. muricata*, *A. pickelii*, *A. reticulata*, *A. salzmannii*, *A. senegalensis*, *A. squamosa* and *A. vepretorum*.

Key Words: volatile constituents, *Annona*, Annonaceae, food science, terpenoids.

List of Abbreviations: EO (essential oil); MIC (minimum inhibitory concentration); HRGC (high resolution gas chromatography); GC (gas chromatography); MS (mass spectrometry); FID (flame ionization detector); IC (inhibitory concentration); ORAC (Oxygen Radical-Absorbance Capacity); DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).

INTRODUCTION

Annonaceae is one of the largest Magnoliidae families, with about 2,400 species distributed in 108 genera, mostly pantropical (Chatrou et al., 2012). In Brazil, they are found in 385 species, of which 158 are endemic, with the majority, about 259 species occurring in the Amazonian domain (Lobão et al., 2012). The members of this family play a significant role in the composition of Brazilian vegetation and due to this they have been subject of great interest (Maas et al., 2001).

The Annonaceae family was catalogued in 1789 by Jussieu (Hutchinson, 1974). Chemical studies with species of this family have reported the isolation of terpenoids (mainly diterpenes), essential oils whose composition is predominantly of monoterpenes and sesquiterpenes, and alkaloids, especially isoquinoline alkaloids (Almeida et al., 2012).

This family contains a considerable number of plant species with economic significance because of their edible fruits around the world, namely tropical America, Australia, Africa, India, Malaysia and Mediterranean Europe (Shashirekha et al., 2008).

The genus *Annona* L. belongs to the Annonaceae family and comprises approximately 162 species of trees and shrubs (Chatrou et al., 2012). Economically, this genus is the most important of the Annonaceae family due to its edible fruits and medicinal properties. Several *Annona* species furnish edible fruits, some of them very much appreciated in Brazil, such as *Annona crassiflora* (“araticum”), *Annona squamosa* (“fruta do conde”) and *Annona muricata* (“graviola”). The fruits are usually consumed “in natura” or used in juices, desserts or ice-cream preparations (Dutra et al., 2012). Previous chemical and pharmacological investigations on some species of this genus have indicated the presence of important bioactive compounds, exhibiting various pharmacological activities including cytotoxicity against various tumor cell lines, antimicrobial, antioxidant, antiplatelet and antiparasitic properties, in particular against *Leishmania* sp. and *Trypanosoma cruzi*. These activities are generally attributed to the presence of alkaloids, acetogenins and terpenes. In Brazil, the genus *Annona* contains around 60 species, with the largest part occurring in forests and few representative in open areas (Costa et al., 2011a).

Numerous species among the Annonaceae are odorous; these fragrances are the consequence of the presence of essential oils, mainly containing terpene compounds. Few volatile substances have been studied so far in comparison with alkaloids and acetogenins. Several reviews have been dedicated to these volatile substances: first, a general review published in 1989 (Ekundayo, 1989), and three further studies on *Cananga odorata* flower oil (Lawrence, 1986), as a consequence of the economic importance of this species which supplies Ylang-Ylang oil to the perfume industry. Most studies have been made on oils obtained by steam distillation (in 3/4 of cases), the other works concern volatile fractions extracted by organic solvents. These compounds are basically mono- and sesquiterpenoids. Typical constituents include α -pinene (1), β -pinene (2), myrcene (3), *p*-cymene (4), limonene (5), linalool (6), and 1,8-cineole (7). The sesquiterpenoids represented another common group of components. Figure 1 shows some structures of representative constituents of essential oils of *Annona* species.

Several studies have been dedicated to oils isolated from various parts of species of Annonaceae, mainly species belonging to *Xylopia* and *Annona* genera which are the most numerous (Fournier et al., 1999). Considering that this family has 108 genera and 2,400 species, only the flavor composition of the most common *Annona* species is summarized in this chapter, including *A. atemoya*, *A. cherimolia*, *A. coriacea*, *A. foetida*, *A. glabra*, *A. muricata*, *A. pickelii*, *A. reticulata*, *A. salzmannii*, *A. senegalensis*, *A. squamosa* and *A. vepretorum*.

BOTANICAL ASPECTS

The name *Annona* is derived from the Latin word “annual harvest”. This genus is the most important source of edible fruits from Annonaceae family. These species are shrubs or small trees, with height from 5 to 11 m; they are erect or somewhat spreading and possess gray-brown bark, often rough and corrugated (Pino, 2001).

The botanical aspects of the genus *Annona* are described by Pinto et al. (2005) as follows:

The genus presents numerous unifying characteristics, especially relating to plant height, root system, bark, stem, floral biology, pollination, fruit set and fruit type. There are important variations among *Annona* seedlings in the same species, affecting not only the mature foliage and productivity of the plants, but also the fruit size, form, color, quality and number of seeds in the fruit. These variations are often pronounced enough to have resulted in several botanical names for the same species.

In general, the *Annona* are shrubs or small trees, whose height varies from 5 to 11 m depending on several factors, such as species, climate, soil and crop management. They are erect or somewhat spreading in habit, with gray-brown bark, often rough and corrugated. Generally, *Annona* stems are ferruginous to greyish, and tomentose when young but later becoming glabrous. With few exceptions, *Annona* are deciduous, even tropical species, especially when cultivated in areas with dry or cool seasons and without irrigation.

The root system has abundant thin lateral roots and a taproot that is not as strong as in other tropical fruit trees, such as mango (*Mangifera indica* L.). Although the taproot is not generally pronounced, the lighter the soil texture the longer the taproot will grow. The taproot of an adult soursop tree can reach approximately 1.5 to 1.8 m in depth in oxisols of the Cerrado ecosystem (Brazilian savannah) in Central Brazil.

Annona flowers are hermaphrodite, usually somewhat fragrant, solitary or in fascicles with 2 to 4 flowers, with three green sepals and six petals arranged into two verticils. The external verticil has three yellow-greenish petals and the internal one has three yellowish petals. The flowers have several conglomerated and spirally arranged stamens below and around an upper globose-shaped (conical) dome of numerous united carpels, which have one ovule each. After fertilization, the united carpels will form a syncarp or composite fruit.

Flowering starts when the plant is three to four years old, although it may occasionally occur earlier depending upon environmental conditions. Anthesis (flower opening) starts

slowly, with the separation of the apex of the external petals and takes from 6 to 8 h to complete.

Pollination is mainly carried out by insects or sometimes by wind. The fact that flowers are protogynous (pistils are mature before pollen is liberated from anthers) suggests that self-pollination is not the rule for *Annona*. Due to the protogynous flowers, fruit set may be poor when the pollinating insect populations are small, and small, asymmetric fruits may be produced, since fruit size and form depends on the number and position of fertilized ovules. As a result, the number of fruits per plant, and fruit size and shape are highly dependent on abundant insect pollination and amenable to control via hand pollination where the pollinating insects are rare.

Leaves with impressed primary vein on the upper side; indument of simple (to stellate) hairs; bracts 2 per flower; flowers solitary or in few- to many-flowered, terminal, leaf opposed, or infra-axillary inflorescences, sepals connate or free, petals free, sometimes connate at the base, often thick and fleshy, white, yellow, rarely orange or red; fruit syncarpous composed of many carpels, many-seeded (Maas et al., 2001).

USAGE AND APPLICATIONS

Essential oils are aromatic and volatile liquids extracted from plants. The chemicals in essential oils are secondary metabolites, which play an important role in plant defense as they often possess antimicrobial properties. The interest in essential oils and their application in food preservation has been amplified in recent years by an increasingly negative consumer perception of synthetic preservatives. Furthermore, food-borne diseases are a growing public health problem worldwide, calling for more effective preservation strategies (Hyldgaard et al., 2012).

Although the food industry primarily uses essential oils as flavorings, they represent an interesting source of natural antimicrobials for food preservation. However, application of essential oils as food preservatives requires detailed knowledge about their properties, i.e., the minimum inhibitory concentration (MIC), the range of target organisms, the mode of action, and the effect of food matrix components on their antimicrobial properties (Hyldgaard et al., 2012). The purpose of this section is to provide an overview of chemical composition and bioactivities about the essential oils obtained from species of the genus *Annona*, and to identify research avenues that can facilitate the implementation of essential oil constituents as natural food preservatives in foods.

The most frequent terpenoids constituents (those monoterpenes and sesquiterpenes whose yield is above 2% and that are mentioned in more than 5 different studies) are shown in Figure 1. The skeleton of each terpene is also given to all these constituents. These compounds are α -pinene (1), β -pinene (2), myrcene (3), *p*-cymene (4), limonene (5), linalool (6), 1,8-cineole (7), (*E*)-caryophyllene (8) and caryophyllene oxide (9). These terpenes are present in many oils; therefore, they have no special significance in the Annonaceae oils. From the data presented in the studies, it can be seen that fruits are the organs which are most studied because many Annonaceae fruits are edible. On the contrary, few studies have been performed on leaves and flowers.

USAGE AND APPLICATIONS IN FOOD SCIENCE

In general, *Annona* species are consumed as fresh fruits, but they are also widely used in semi-processed and processed products, especially desserts. As world demand for exotic flavors and healthy foods expands, the use of *Annona* fruits is also likely to expand (Pinto et al., 2005).

The composition of the volatile fraction of foods is essential for the characterization and the identity of these materials. The flavor of a certain product, which is one of the main attributes for sensory analysis and consumer's acceptance, is given by the combination of (usually) many volatile molecules (Bicas et al., 2011).

Sometimes, one substance alone is able to reflect the approximate flavor of a product and, in this case, it is called "impact compound". But, in some circumstances, it is the combination of substances that, together, interacts with the receptors from the nasal mucosa and is interpreted by the brain to create a sensory impression typical for each product. In all cases, aroma compounds are extremely important for industry and are used for the elaboration of different products, from foods, beverages and cosmetics to perfumes (Bicas et al., 2011).

In this section, the volatile constituents and bioactivity of most common species of the genus *Annona* are reviewed. These species present an increasing economic importance in tropical regions, especially in the market of eccentric juices.

***Annona atemoya* Aubl.**

Annona atemoya Aubl. is reported to dominate the commercial market in Australia. The fruit volatiles of *A. atemoya* (the hybrid between *Annona squamosa* L. and *Annona cherimolia* Mill.) are identified. *A. squamosa* is a popular fruit of the tropical states of India, with a very sharp and short season, lasting for about 3 months a year. This fruit is popularly

known as sweet sop, is heart-shaped weighing about 150 g, with a very bumpy skin. When ripe, pulp is creamy, very sweet and pleasantly flavored. It is usually eaten as a dessert fruit and finds immense applications in the preparations of beverages and ice creams (Bicas et al., 2011; Chikhalikar et al., 2000).

***Annona cherimolia* Mill.**

Annona cherimolia Mill. is a subtropical fruit tree that originated from frost-free valleys of the Andes at an altitude of between 700 and 2,400 m. The common names include cherimoia (Brazil), cabeça-de-negro, anona do Chile (Portugal), chirimorrinon (Venezuela), cherimoya (Colombia, Ecuador, Cuba), anona (Costa Rica), chirimoyo (Espanña, Chile), and others (Pino, 2010). Regardless of its unusual appearance, cherimoya is readily accepted by the Western consumers due to its fine taste and flavor (Pino, 2010). The pulp of this fruit is creamy, very sweet and pleasantly flavored, and it is well known as a dessert fruit and has a lot of applications in ice creams and beverages (Bicas et al., 2011; Chikhalikar et al., 2000).

The cherimoya fruit is consumed mostly fresh, generally chilled and often with salt and lemon. Fruit pulp is often mixed with wine, milk (to make milk shakes) and yogurt, processed into ice cream and sherbet, and baked into cookies and pastries. Most of these preparations, and others, can be made at home (Cordeiro et al., 2005).

Cherimoya is heart-shaped with a smooth skin which becomes dull red when the fruit is ripe. When ripe, the pulp is creamy, very sweet and delicately flavored. In the study of volatile components of Cuban *Annona* fruits, forty-seven volatile components were identified in *A. cherimolia*. The major volatiles in cherimoya were α -thujene, α -pinene, terpinen-4-ol and germacrene D (Pino, 2000).

***Annona coriacea* Mart.**

Annona coriacea Mart., popularly known as “marolo”, “araticum”, “araticum-liso” (Souza and Lorenzi, 2008), has been used as traditional medicine for the treatment of parasites, ulcers and inflammation processes and is also reported for rheumatism and as anti-helminthic (Siqueira et al., 2011).

The essential oil of the leaves from *A. coriacea* was extracted by hydrodistillation in a Clevenger apparatus and analyzed by GC/MS and GC/FID. The oil yield was 0.05% m/m. Sixty compounds were identified, in a complex mixture of sesquiterpenes (76.7%), monoterpenes (20.0%) and other constituents (3.3%). Bicyclogermacrene was its major compound (39.8%) followed by other sesquiterpenes. Most of the monoterpenes were in low

concentration (< 1%). Only β -pinene and pseudolimonene presented the highest level of 1.6%. The volatile oil presented antileishmanial and trypanocidal activities against promastigotes of four species of *Leishmania* and trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*, showing to be more active against *Leishmania* (L.) *chagasi* (IC₅₀ 39.93 μ g/ml) (95% CI 28.00-56.95 μ g/ml) (Siqueira et al., 2011).

***Annona foetida* Mart.**

Annona foetida Mart. is a species commonly known as “araticum caatinga”, “envirata” or “graviola do mato,” and is a tropical tree found in the Brazilian and Peruvian Amazon region. Besides the antileishmanial activity demonstrated by the extracts, fractions and pure compounds isolated from this source, this species is also reported to be used in folk medicine in Northeastern Brazil against rheumatism, intermittent fevers and ulcers, particularly the leaves and the bark (Correa et al., 1984).

The essential oil from leaves of *A. foetida* obtained by hydrodistillation was analyzed by GC/FID and GC/MS. The results showed that the major constituents were bicyclogermacrene (35.12%), (*E*)-caryophyllene (14.19%) and α -copaene (8.19%). The antimicrobial and antileishmanial activities were investigated. The oil showed potent antimicrobial activity against *Candida albicans* and *Rhodococcus equi*. The oil also showed significant antileishmanial activity, giving the best results against *Leishmania guyanensis*. A preliminary cytotoxicity assay for this oil was carried out on hamster and mice (Balb/c) peritoneal macrophages. The results obtained were similar to pentamidine and considered not to be cytotoxic to macrophages (Costa et al., 2009).

***Annona glabra* L.**

Annona glabra L. is an indigenous wild tree, common in all Cuban swamps, mainly along the coast line. It blossoms from April to June and bears a round or oblong fruit in August. The whitish pulp is sweet and somewhat aromatic (Pino et al., 2002).

The species *A. glabra* is a small tree called araticum-do-brejo, araticum-caca, araticum-cortiça, araticum-da-praia, araticum-de-boi, araticum-da-água, araticum-do-mangue and araticum-panam, which grows in many places in Northern and Northeastern Brazil. The common names include pond apple, alligator apple, monkey apple, corkwood, bobwood (United States) and bagá (Cuba) (Pino, 2010). The fruit has an edible yellow pulp and they are cultivated in Brazil and Central America. Santos et al. (1998) analyzed by GC/MS the volatile constituents of the fruits of pond apple (*A. glabra*) growing wild in North Brazil. The most

abundant class of compounds found in the aromas was terpenoids, principally α -pinene, limonene, α -phellandrene and (*E*)- β -ocimene. The concentrations of terpenoid compounds vary according to the different stages of ripening (Bicas et al., 2011).

***Annona muricata* L.**

Annona muricata L. is a small tropical fruit tree named “guanabana” or “soursop”. Originating in Central America, it is grown in many tropical and subtropical regions, including parts of South America, Africa, Asia and Australia (Kossouh et al., 2007). When the fruit is ripe, the pulp is creamy, acid and delicately flavored. It is usually eaten as a dessert fruit, but can be made into drinks and ice creams (Pino et al., 2001).

Soursop fruits are occasionally consumed fresh or more commonly made into juices, ice creams or sherbets. Most people consider them to be too acid for eating fresh, but they are esteemed for making refreshing drinks, nectars, ice creams and similar foods. Nectar (sweetened pulp) can be prepared and used after dilution with 3 parts of water. In Java, Indonesia, fruits of soursop are added to soup (sajoer) (Cordeiro et al., 2005).

Another industrial application involves the extraction of essential oils present in soursop pulp. These oils, such as esters of aliphatic acids, have potential to improve the flavor of processed fruit products (Jirovetz et al., 1998a).

Two works were carried out on *A. muricata*. The first was reported by Pélissier et al. (1994) on leaves, parings and fruit pulp. From the leaf oil, 59 compounds were identified, principally β -caryophyllene (31.4%), δ -cadinene (6.7%), α -muurolene (5.5%) T- and α -cadinol (4.3%). The second work was reported by Boyom et al. (1996) on the leaves and seeds; in leaves: β -caryophyllene or (*E*)-caryophyllene (40%) and in seeds: α -phellandrene (25%), were preponderant. For comparison the study of the chemical composition of the leaf oil of *A. muricata* growing in Benin was carried out. Essential oils from leaves of *A. muricata* were obtained by steam distillation with a very low percentage. Analysis made by GC and GC/MS showed the presence of 80 compounds. The most abundant constituents were β -caryophyllene (13.6%), δ -cadinene (9.1%), *epi*- α -cadinol (8.4%) and α -cadinol (8.3%) (Kossouh et al., 2007).

The fruit contributed to the economic growth of several tropical countries in tropical America, Africa, Malaysia and Australia (Shashirekha et al., 2008) and can be utilized in the development of exotic processed products. This fruit is cherished for its unique and pleasant flavor, and the white pulp is usually used for manufacturing various kinds of products, i.e., juice blends, puree, syrups, jams and ice-cream. Moreover, the soursop pulp has already been

marketed in Europe, North America and Brazil. Essential oil compounds of the *A. muricata* fresh fruit pulp from Cameroon were identified by Jirovetz et al. (1998a), using a gas chromatographic/mass spectrometric (GC/FID and GC/MS) and olfactometric methods. More than 50 compounds were identified where esters of aliphatic acids are especially dominating, with methyl 2-hexenoate, ethyl 2-hexenoate, methyl 2-octenoate and methyl 2-butenate as main compounds. Additional mono- and sesquiterpenes such as α -caryophyllene, 1,8-cineole, linalool, (*R*)-terpineol, linalyl propionate and calarene are highly concentrated in the essential oil of these fresh fruits (Bicas et al., 2011).

***Annona pickelii* (Diels) H. Rainer**

Annona pickelii (Diels) H. Rainer is a small tree (3-5 m tall) endemic to Brazil and popularly known as “araticum-do-mato”, “araticum-da-mata”, “jaquirinha-do-mato”, and “jussara” (Pontes et al., 2004; Maas et al., 2011). It is found only in the States of Paraíba, Pernambuco and Sergipe, occurring in dense forests of “restinga” (Pontes et al., 2004; Dutra et al., 2012).

A total of 21 compounds were identified in the essential oil of *A. pickelii*, sesquiterpenes predominated in essential oil. Bicyclogermacrene (38.0%), (*E*)-caryophyllene (27.8%), α -copaene (6.9%) and α -humulene (4.0%) were the main components of *A. pickelii*. The essential oil showed potent trypanocidal and antitumor activities (Costa et al., 2013). The essential oils showed significant antioxidant capacity in the ORAC and DPPH assays. The antimicrobial activity of this essential oil was also evaluated against bacteria and fungi, as well as the larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae (Costa et al., 2011b).

***Annona reticulata* L.**

Annona reticulata L. is commonly referred to as custard apple or bullock’s heart. The bullock’s heart has a smooth skin fruit that becomes dull red when ripe. Its custard-like pulp is rather sugary and less flavored than the other familiar species, such as *A. squamosa* (sweetsop) and *A. muricata* (soursop). The fruits are eaten fresh and the pulp can be used to flavor ice cream. Less volatile substances such as alkaloids, diterpenoids and acetogenins have been identified so far from the various parts of the plant (Ogunwande et al., 2006).

The flavour of custard apple pulp is considered to be poor and hence of little commercial value, although it is a popular backyard fruit that attracts children. Chilling of this fruit, as well as other *Annona*, improves the flavor (Cordeiro et al., 2005).

Bullock's heart is very popular in Cuba, where it is commonly known as mamón. This fruit is also known as custard apple (United States), anona, anona colorada (México), corazón (Venezuela), anón pelón (Colombia), araticum-do-mato (Brazil) and others. This fruit has been introduced in diverse regions of the American tropics and Southeastern Asia, without achieving a level of importance comparable to that of *A. cherimolia* or *A. squamosa*. Pulp is eaten fresh or made into sherbets and jams. The bullock's heart has also a smooth skin and its custard-like pulp rather than sugary and less flavorful than the other species. They are usually eaten as dessert fruits but can be made into drinks, sherbets or blended with ice cream. Forty-nine volatile components were identified in *A. reticulata*. The major volatiles in bullock's hearts were α -pinene, β -pinene and germacrene D (Pino, 2010).

A review of the literature revealed that only a few papers deal with the volatiles from the leaves of the plant. The main components of the leaf oil from India (Jirovetz et al., 1998b) were the sesquiterpenes spathulenol (7.4%), δ -cadinene (6.5%), elemol (4.6%), α -copaene (4.0%) and α -eudesmol (3.0%) in combination with monoterpenes terpinen-4-ol (4.0%) and α -terpineol (3.8%). The root oil was found to be rich in spathulenol (11.9%), δ -cadinene (9.3%), α -muurolene (6.8%), β -bisabolene (5.2%) and α -bergamotene (3.1%).

The major compounds of the fruit oil from Cuba (Pino et al., 2000) were α -pinene (23.8%), β -pinene (17.7%), germacrene D (10.5%) and limonene (5.9%). In another investigation, the principal constituents of the fruit volatiles from four cultivars (Cenizo, Rojo, Verde and De Ojo) of Cuban origin were α -pinene (50.0-100.5 mg/kg), β -pinene (71.5-97.1 mg/kg), myrcene (12.6-20.1 mg/kg), limonene (14.2-20.5 mg/kg), terpinen-4-ol (1.1-22.0 mg/kg) and germacrene D (10.0-27.3 mg/kg) (Pino et al., 2003). The fruit oil from Malaysia was found to comprise mainly terpinen-4-ol and α -terpineol as the major constituents, while the sample analyzed by Bartley from Australia (Bartley, 1987) was shown to be rich in alkanes (mainly methyl and ethyl esters of C₃ to C₆ aliphatic chain), in addition to some terpenoid compounds. Also, limonene and β -linalool were the two terpenoid compounds identified from the fruit sample collected from Brazil (Augusto et al., 2000).

Hydrodistilled oil obtained from the leaves of *Annona reticulata* grown in Nigeria was analyzed by capillary GC and GC/MS. Thirty-nine components were characterized. These consisted of 18 monoterpenes amounting to 29.0%, 20 sesquiterpenes totaling 52.9% and one aromatic esters making up 10.9%. The oil contained (*E,E*)-farnesyl acetate (19.0%), ar-turmerone (12.0%), benzyl benzoate (10.9%) and γ -terpinene (7.4%) as the major constituents (Ogunwande et al., 2006).

Volatile components of bullock's heart growing in Cuba were isolated by simultaneous steam distillation–solvent extraction analyzed by GC/MS. The major volatiles were β -pinene, α -pinene, and germacrene D from the 49 identified constituents. Furthermore, the volatile compounds were isolated from four cultivars of bullock's heart fruit from Cuba by simultaneous steam distillation–solvent extraction. In total, 180 volatile constituents were detected by HRGC and capillary GC/MS in the aroma extracts. The authors conclude that the presence of many terpene compounds is thought to contribute to the unique flavor of the bullock's heart fruit (Bicas et al., 2011; Pino et al., 2003).

***Annona salzmannii* A. DC.**

Annona salzmannii A. DC. is a tree of 6-20 m tall popularly known as “araticum-da-mata” and “araticum-apé” (Pontes et al., 2004). It is very common in Brazil, mainly in the States of Bahia, Pernambuco, and Paraíba (Pontes et al., 2004). Some of its organs (leaves, roots, and seeds) are used in folk medicine to treat several human ailments such as verminosis, dysentery, ulcers, and inflammatory conditions (Corrêa, 1984).

A total of 23 compounds were identified in the essential oil of *A. salzmannii*. δ -cadinene (22.6%), (*E*)-caryophyllene (21.4%), α -copaene (13.3%), bicyclogermacrene (11.3%) and germacrene D (6.9%) were the main components. The essential oils showed potent trypanocidal and antitumour activities (Costa et al., 2013). The essential oil showed significant antioxidant capacity in the ORAC and DPPH assays. The antimicrobial activity of these essential oil was also evaluated against bacteria and fungi, as well as the larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae (Costa et al., 2011b).

***Annona senegalensis* Pers.**

Annona senegalensis Pers. is a shrub with height range 1-2 m. Its leaves are large, oval and entire and they are fragrant when crushed. The flowers are yellowish, waxy, closely petalled and very fragrant. The fruits are pulpy, solid and orange at maturity. Fresh fruit contain many seeds in a sweet and fragrant pulp (Nébié et al., 2005).

Different parts of *Annona senegalensis* are used in traditional medicinal to treat diseases such as respiratory, eye and skin diseases. It is also used to treat diarrhoea, elevated blood pressure, dysentery and as antidote against snake and scorpion venom, while the bark is used as an insecticide. The essential oil, obtained by steam distillation of air-dried leaves of *A. senegalensis* growing in Burkina Faso was analyzed by GC and GC/MS. The oil was found to

contain germacrene D (19.2%), β -caryophyllene (19.1%), γ -cadinene (11.1%) and α -humulene (9.7%) as major components (Nébié et al., 2005).

Wild soursop fruits are sold in local markets in Africa. The fruit has a pineapple-like odor and sweet taste. It keeps for only a few days. It is used in sherbets, ice creams and for making drinks (Cordeiro et al., 2005).

***Annona squamosa* L.**

Sugar apple (*Annona squamosa* L.) seems to be native to southeastern Mexico, in dry areas and until 1,000 m in altitude, although it grows well in regions of medium humidity. The plant is a small tree which grows wild in many places in the north of South America, Central America and the Caribbean region. The common names include anona, araticum and fruta-do-conde (Brazil), sweetsop and sugar apple (English language countries), kaneelapell (Suriname), sitaphal (India) and schuppenannone (Germany). The pulp may be eaten raw and tastes aromatic sweet, with a custard-like flavor, and it is used also to prepare juices, jellies and compotes. In Brazil the fruits are highly appreciated (Bicas et al., 2011).

The chemical composition of the fruit pulp of *Annona squamosa* growing in the Brazilian Amazon was investigated and compared with data of specimens occurring in Southeastern Asia. In accordance with the sweet taste of the fruit pulp, the amounts of sugars were found to be quite high (58% of dry mass). The triglyceride concentration was found to be very low. The presence of the diterpenoid compound kaur-16-en-18-oic acid in a considerable amount (0.25% of dry mass) was detected in the lipid fraction. The essential oil of the fruit pulp was obtained and its volatile constituents were identified by GC-MS. The major compounds were α -pinene (25.3%), sabinene (22.7%) and limonene (10.1%) (Andrade et al., 2001).

Sweetsop or custard apple (*A. squamosa*), a native plant to the West Indies is being cultivated throughout India. Its medicinal properties are well known. Its root is a drastic purgative and is administered for acute dysentery in West Indies. Leaves are applied as poultice over boils and ulcers in Brazil. Several reports have been published covering the nonvolatiles of *A. squamosa*. The composition of custard apple leaf oil has also been the subject of several studies. In 1954, the leaf oil was reported to contain α -pinene (7%), caryophyllene (50%) and a cadinane sesquiterpene. In 1977, carvone (24.9%), linalool (7.7%) and diacetyl (9.3%) were tentatively identified. However, very recent studies reported the presence of germacrene D (17.5%) and β -elemene (12%) as major constituents along with α -pinene, β -pinene, sabinene, bicyclogermacrene, T-cadinol and T-muurolol. The oil from the

leaves of *Annona squamosa* has been analyzed by GC and GC/MS. β -Cedrene (23%) and β -caryophyllene (14%) were found to be the major compounds (Joy and Rao, 1997).

The sugar apple is consumed as a fresh dessert fruit, or used for preparing juice and ice cream. In the latter case, it should not be pasteurized or cooked, but simply blended into the semi-solid cream just before freezing (Cordeiro et al., 2005). Leal (1990) reports that it can also be used to make wine, as can cherimoya.

The powdered seeds are used as insecticide and to treat dandruff by the native peoples of Northern Brazil. The pulp may be eaten raw and tastes aromatic sweet, with a custard-like flavor. It is used also to prepare juices, jellies and compotes. In Brazil the fruits are highly appreciated, commercial plantations exist in the southeastern and northeastern regions. In the Amazon region there are few plantations yet. In general, the fruits are sold at a high price (approximately U.S.\$ 0.50 each fruit) there. Therefore, a growing economic importance of *A. squamosa* fruits in that region is to be predicted in the medium term (Bicas et al., 2011; Andrade et al., 2001).

Storage of the fresh fruits of *A. squamosa* has limitations, since it is perishable, and cold storage is not promising because of the development of an unattractive brown color on the skin which decreases the market value (Purohit, 1995).

***Annona vepretorum* Mart.**

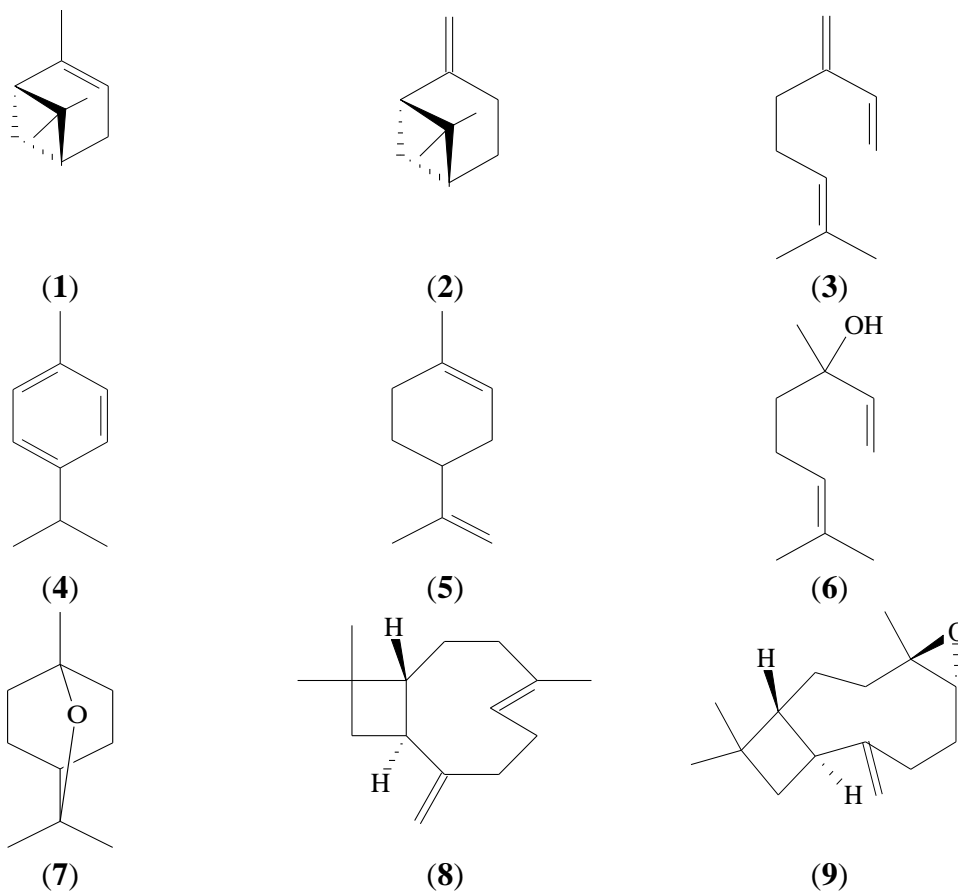
Annona vepretorum Mart. is a shrub or tree of 2.5-10 m tall (Maas et al., 2001) popularly known as “araticum” and “araticum-bruteiro” (Oral communications received from local woodsmen known as ‘mateiros’, data no published). It is endemic of the northeast area of Brazil, particularly found in the States of Bahia, Pernambuco and Sergipe (Maas et al., 2001; Costa et al., 2012).

The essential oil of the leaves of *Annona vepretorum* Mart. is constituted predominantly by monoterpenes (29.2%) and sesquiterpenes (68.9%) compounds. The major compounds identified were bicyclogermacrene (43.7%), spathulenol (11.4%), α -felandrene (10.0%), α -pinene (7.1%), (*E*)- β -ocimene (6.8%), germacrene D (5.8%) and *p*-cymene (4.2%). The trypanocidal activity against *Trypanosoma cruzi* epimastigote forms, as well as, the antimicrobial and antioxidant proprieties was investigated. The essential oil showed a potent trypanocidal activity with IC₅₀ value of 31.9 ± 1.3 μ g/ml. For antimicrobial activity, the best result was observed against *Candida tropicalis* with a MIC value of 100 μ g/ml. For antioxidant capacity the essential oil showed weak activity (Costa et al., 2012).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express their sincere thanks to Brazilian agencies CNPq, FACEPE and FAPITEC for financial support.

Figure 1. Representative constituents of essential oils from species of *Annona*.



REFERENCE LIST

- Almeida, J.R.G.S., Araújo, E.C.C., Ribeiro, L.A.A., Lima, J.T., Nunes, X.P., Lúcio, A.S.S.C., Agra, M.F., Barbosa-Filho, J.M. (2012). Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1-6.
- Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G.B., Maia, J.H.G.S., Fabricius, H., Marx, F. (2001). Chemical characterization of the fruit of *Annona squamosa* L. occurring in the Amazon. *Journal of Food Composition and Analysis* 14, 227-232.
- Augusto, F., Valente, A.L.P., Tada, E.S., Rivellino, S.R. (2000). Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 873, 117-127.
- Bartley, J.P. (1987). Volatile constituents of custard apple. *Chromatographia* 23, 129-131.
- Bicas, J.L., Molina, G., Dionísio, A.P., Barros, F.F.C., Wagner, R., Maróstica-Junior, M.R., Pastore, G.M. (2011). Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. *Food Res Int* 44, 1843-1855.
- Boyom, F.F., Zollo, P.H.A., Menut, C., Lamaty, G., Bessière, J.M. (1996). Aromatic plants of Tropical Central Africa. Part XXVII - Comparative Study of the Volatile Constituents of Five Annonaceae Species Growing in Cameroon. *Flav. Fragr. J.* 11, 333-338.
- Chatrou, L.W., Pirie, M.D., Erkens, R.H.J., Couvreur, T.L.P., Neubig, K.M., Abbott, J.R., Mols, J.B., Maas, J.W., Saunders, R.M.K., Chase, M.W. (2012). A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. *Bot J Linn Soc* 169, 5-40.
- Chikhalikar, N.V., Sahoo, A.K., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R. (2000). Studies on frozen pourable custard apple (*Annona squamosa* L.) pulp using cryoprotectants. *J Sci Food Agric* 80, 1339-1342.
- Cordeiro, M.C.R., Pinto, A.C.Q., Andrade, S.R.M. (2005). Uses (Chapter 7). In: *Annona* species. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, UK, 41-43.
- Corrêa, M.P. (1984). Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, RJ: IBDF.
- Costa, E.V., Dutra, L.M., De Jesus, H.C.R., Nogueira, P.C.L., Moraes, V.R.S., Salvador, M.J., Prata, A.P.N. (2011b). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oils of *Annona salzmannii* and *A. pickelii* (Annonaceae). *Nat Prod Commun* 6, 907-912.

- Costa, E.V., Dutra, L.M., Nogueira, P.C., Moraes, V.R., Salvador, M.J., Ribeiro, L.H., Gadelha, F.R. (2012). Essential oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. *Nat Prod Commun.* 7, 265-266.
- Costa, E.V., Dutra, L.M., Salvador, M.J., Ribeiro, L.H., Gadelha, F.R., Carvalho, J.E. (2013). Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. *Nat Prod Res.* 27, 997-1001.
- Costa, E.V., Pinheiro, M.L.B., Silva, J.R.A., Maia, B.H.L.N.S., Duarte, M.C.T., Amaral, A.C.F., Machado, G.M.C., Leon, L.L. (2009). Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). *Quim. Nova* 32, 78-81.
- Costa, E.V., Pinheiro, M.L.B., Souza, A.D.L., Barison, A., Campos, F.R., Valdez, R.H., Nakamura, T.U., Dias-Filho, B.P., Nakamura, C.V. (2011a). Trypanocidal activity of oxoaporphine and pyrimidine- β -carboline alkaloids from the branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). *Molecules* 16, 9714-9720.
- Dutra, L.M., Costa, E.V., Moraes, V.R.S., Nogueira, P.C.L., Vendramin, M.E., Barison, A., Prata, A.P.N. (2012). Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). *Biochem Syst Ecol* 41, 115-118.
- Ekundayo, O. (1989). A review of the volatiles of the Annonaceae. *J. Essent. Oil Res* 1, 223-245.
- Fournier, G., Leboeuf, M., Cavé, A. (1999). Annonaceae Essential Oils: A Review. *J Essent Oil Res* 11, 131-142.
- Hutchinson, J. The Genera of Flowering Plants, v. 1, University Press, Oxford, 1974.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology* 3, 1-24.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Ngassoum, M.B. (1998a). Essential oil compounds of the *Annona muricata* fresh fruit pulp from Cameroon. *J Agric Chem* 46, 3719-3720.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Shafi, P.M., Saidutty, A. (1998b). Analysis of the essential oils of the leaves and roots of *Annona reticulata* from South-India. *Ernaehrung* 22, 9-10.
- Joy, B., Rao, J.M. (1997). Essential oil of the leaves of *Annona squamosa* L., *J Essent Oil Res* 9, 349-350.
- Kossouh, C., Moudachirou, M., Adjakidje, V., Chalchat, J.C., Figuéredo, G. (2007). Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. *J Essent Oil Res* 19, 307-309.

- Lawrence, B.M. (1986). Progress in essential oil. *Perfum Flavor* 11, 111-125.
- Leal, F. (1990). Sugar Apple. In: Fruits of Tropical and Subtropical Origin Composition, Properties and Uses. Edited by S. Nagy, Shaw P. E. and Wardowski W. F. Florida Science Source, Inc., Lake Alfred, Fla.: pp. 149-158.
- Lobão, A.Q., Mello-Silva, R., Forzza, R.C. (2012). *Guatteria* (Annonaceae) da Floresta Atlântica brasileira. *Rodriguésia* 63, 1039-1064.
- Maas, P.J.M., Maas-van de Kamer, H., Junikka, L., Mello-Silva, R., Rainer, H. (2001). Annonaceae from Central-eastern Brazil. *Rodriguésia* 52, 65-98.
- Nébié, R.H.C., Yaméogo, R.T., Bélanger, A., Sib, F.S. (2005). Chemical composition of leaf essential oil of *Annona senegalensis* Pers. from Burkina Faso. *J. Essent. Oil Res* 17, 331-332.
- Ogunwande, I.A., Ekundayo, O., Olawore, N.O., Kasali, A.A. (2006). Essential oil of *Annona reticulata* L. leaves from Nigeria. *J. Essent. Oil Res* 18, 374-376.
- Pélissier, Y., Marion, C., Koné, D., Lamaty, G., Menut, C., Bessière, J.M. (1994). Volatile components of *Annona muricata* L. *J. Essent. Oil Res* 6, 411-414.
- Pino, J. (2010). *Annona* fruits (chapter 14). Handbook of Fruit and Vegetable Flavors (pp. 231–247). New Jersey: Hoboken.
- Pino, J.A. (2000). Volatile components of Cuban *Annona* fruits. *J. Essent Oil Res* 12, 613-616.
- Pino, J.A., Agüero, J., Marbot, R. (2001). Volatile components of Soursop (*Annona muricata* L.). *J. Essent Oil Res* 13, 140-141.
- Pino, J.A., Marbot, R., Agüero, J. (2002). Volatile components of Baga (*Annona glabra* L.) fruit. *J. Essent Oil Res* 14, 252-253.
- Pino, J.A., Marbots, R., Fuentes, V. (2003). Characterization of volatiles in Bullock's Heart (*Annona reticulata* L.) fruit cultivars from Cuba. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3826-3839.
- Pinto, A.C.Q., Cordeiro, M.C.R., Andrade, S.R.M., Ferreira, F.R., Filgueiras, H.A.C., Alves, R.E., Kinpara, D.I. (2005). *Annona* species. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, UK, 6-7.
- Pontes, A.F., Barbosa, M.R.V., Maas, P.J.M. (2004). Flora Paraibana: Annonaceae Juss. *Acta bot bras* 18, 281-293.
- Purohit, A.G. (1995). Annonaceous fruits. In D. K. Salunkhe, & S. S. Kadam (Eds.), Handbook of fruit science and technology (pp. 377–385). New York: Marcel Dekker Press.
- Santos, A.S., Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G.B., Maia, J.G.S. (1998). Volatile constituents of fruits of *Annona glabra* L. from Brazil. *Flav Fragr J* 13, 148-150.

- Shashirekha, M.N., Baskaran, R., Rao, L.J., Vijayalakshmi, M.R., Rajarathnam, S. (2008). Influence of processing conditions on flavour compounds of custard apple (*Annona squamosa* L.). *LWT - Food Science and Technology* 41, 236-243.
- Siqueira, C.A.T., Oliani, J., Sartoratto, A., Queiroga, C.L., Moreno, P.R.H., Reimão, J.Q., Tempone, A.G., Fischer, D.C.H. (2011). Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity. *Braz J Pharmacogn* 21, 33-40.
- Souza, V.C., Lorenzi, H. (2008). Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fenerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum.