

Óleo fixo de *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae) e suas atividades anticolinesterásica, antimicrobiana e antifúngica

Fixed oil of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae) and its anticholinesterase, antimicrobial and antifungal activities

Aceite fijo de *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae) y sus actividades anticolinesterasa, antimicrobiana y antifúngica

Recebido: 02/06/2021 | Revisado: 08/06/2021 | Aceito: 11/06/2021 | Publicado: 26/06/2021

Samara Raquel de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8418-7121>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: sambio2015@gmail.com

Francisco Cardoso Figueiredo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2938-6480>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: fcfigueiredo19@hotmail.com

Vicente Paulo da Costa Neto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4553-6573>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: costanetovp@gmail.com

Layana Karine Farias Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1431-2422>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: layana_farias@hotmail.com

Enayra Silva Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5346-7876>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: enayra.sousa@hotmail.com

José Ribeiro Santos Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2197-2020>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: jribeiro@ufpi.edu.br

Chistiane Mendes Feitosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8013-1761>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: chistiane@ufpi.edu.br

José Evando Aguiar Beserra Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0490-9612>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: evando@ufpi.edu.br

Humberto Medeiros Barreto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5054-7555>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: hmbarreto@ufpi.edu.br

Antônio Alberto Jorge Farias Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2349-3843>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: albertojorgecastro@gmail.com

Daniela Reis Joaquim de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-0332>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: danielarjfreitas@ufpi.edu.br

Lívio César Cunha Nunes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1178-7940>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: liviocesar@hotmail.com

Resumo

Este estudo avaliou as atividades anticolinesterásica, antimicrobiana e fungicida do óleo fixo das sementes de araticum (*Annona coriacea* Mart., família Annonaceae), obtido com etanol como solvente extrator. O óleo fixo foi testado *in vitro* contra a enzima acetilcolina, cepas bacterianas gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *S.*

epidermides) e gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), e fungos (*Candida albicans*, *C. krusei*, *Neoscytalidium dimidiatum* e *Fusarium sacchari*). O óleo fixo mostrou-se inibidor da enzima acetilcolinesterase, com inibição variando de 37 a 84%. Foi inativo contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos, com MIC ≥ 1024 , através do ensaio antimicrobiano. Permitiu controles de crescimento micelial de *N. dimidiatum* nas cinco doses testadas (0.1, 0.5, 1.0, 2.0 e 3.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$). Não foi observado controle significativo contra *F. sacchari*, as doses 1, 2 e 3 (0.1, 0.5 e 1.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$) apresentaram porcentagens baixas de inibição, enquanto as doses 4 e 5 apresentaram controle, entretanto, o mesmo não diferiu do crescimento micelial no tratamento controle com meio de cultura. Pode-se concluir que o óleo fixo das sementes de araticum é um forte candidato ao desenvolvimento de fitofármacos à base de *A. coriacea* contra fungos patogênicos.

Palavras-chave: Araticum; Cerrado; Bioatividade; Biotecnologia; Crescimento micelial.

Abstract

This study evaluated the anticholinesterase, antimicrobial and fungicidal activities of the fixed oil from araticum seeds (*Annona coriacea* Mart., Annonaceae family), obtained with ethanol as an extracting solvent. The fixed oil was tested in vitro against the enzyme acetylcholine, gram-positive (*Staphylococcus aureus* and *S. epidermides*) and gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) bacterial strains, and fungi (*Candida albicans*, *C. krusei*, *Neoscytalidium dimidiatum* and *Fusarium sacchari*). Fixed oil proved to be an inhibitor of the acetylcholinesterase enzyme, with inhibition varying from 37 to 84%. It was inactive against gram-positive, gram-negative bacteria and fungi, with MIC ≥ 1024 , through the antimicrobial assay. It allowed control of mycelial growth of *N. dimidiatum* in the five doses tested (0.1, 0.5, 1.0, 2.0 and 3.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$). There was no significant control against *F. sacchari*, doses 1, 2 and 3 (0.1, 0.5 and 1.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$) showed low percentages of inhibition, while doses 4 and 5 showed control, however, it did not differ from mycelial growth in the control treatment with culture medium. It can be concluded that the fixed oil from araticum seeds is a strong candidate for the development of phytopharmaceuticals based on *A. coriacea* against pathogenic fungi.

Keywords: Araticum; Cerrado; Bioactivity; Biotechnology; Mycelial growth.

Resumen

Este estudio evaluó las actividades anticolinesterasa, antimicrobiana y fungicida del aceite fijo de semillas de araticum (*Annona coriacea* Mart., Familia Annonaceae), obtenido con etanol como disolvente extractor. El aceite fijado se probó in vitro contra la enzima acetilcolina, cepas bacterianas grampositivas (*Staphylococcus aureus* y *S. epidermides*) y gramnegativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) y hongos (*Candida albicans*, *C. krusei*, *Neoscytalidium dimidiatum* y *Fusarium sacchari*). El aceite fijo demostró ser un inhibidor de la enzima acetilcolinesterasa, con una inhibición que variaba del 37 al 84%. Fue inactivo frente a bacterias grampositivas, gramnegativas y hongos, con MIC ≥ 1024 , a través del ensayo antimicrobiano. Permitió el control del crecimiento micelial de *N. dimidiatum* en las cinco dosis probadas (0.1, 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$). No hubo control significativo frente a *F. sacchari*, las dosis 1, 2 y 3 (0.1, 0.5 y 1.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$) mostraron bajos porcentajes de inhibición, mientras que las dosis 4 y 5 mostraron control, sin embargo, no difirió del crecimiento micelial en el tratamiento control con medio de cultivo. Se puede concluir que el aceite fijado de semillas de araticum es un fuerte candidato para el desarrollo de fitofármacos a base de *A. coriacea* contra hongos patógenos.

Palabras clave: Araticum; Cerrado; Bioactividad; Biotecnología; Crecimiento micelial.

1. Introdução

O cerrado é considerado a savana tropical mais rica em diversidade vegetal do mundo e o segundo maior bioma da América do Sul, superado apenas pela Amazônia (Franzon; Campos; Proença & Sousa-Silva, 2009; IBGE, 2004; MMA, 2014; Sano et al., 2010). Sua flora é fonte de substâncias bioativas, contendo diversos compostos químicos com atividades biológicas, contudo é extremamente negligenciada (Jepson, 2005; Klink & Machado, 2005; Silva, Fariñas, Felfili & Klink, 2006).

Para a província do cerrado do nordeste, a família Annonaceae ocupa a 13ª posição em relação ao número de gêneros, sendo *Annona* o 5º gênero mais frequente em 178 sítios estudados e, contemplando *Annona coriacea* Mart., como uma das espécies mais frequentes (93,52%), conhecida popularmente como “araticum” (Vieira, Castro, Coutinho, Sousa, Farias, Castro & Martins, 2019).

Um estudo fitoquímico de suas folhas mostrou, por meio de HPLC, uma mistura complexa de acetogeninas anonáceas, com a identificação pela primeira vez de silvaticina e gigantetrocina-A. Além disso, o extrato bruto da folha e as frações ricas em acetogenina foram testados contra cepas de *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis* e *S. salivarius*

revelando potencial para agente antimicrobiano (Terezan et al., 2020). Outras propriedades biológicas são relatadas na literatura, como atividade antifúngica dos extratos etanólicos da casca e folhas frente *Cryptococcus gattii* e *C. neoformans* (Almeida-Apolonio et al., 2019), atividade anticolinesterásica para os extratos metanólicos das folhas e sementes (Formagio et al. 2015; Fernandes & Scapin, 2020). O isolamento de 11 flavonoides das folhas de *A. coriacea* derivados de quercetina, caempferol e glicosídeos de isorhamnetina demonstraram atividade antioxidante através dos ensaios DPPH, FRAP, ABTS⁺ e ORAC (Novaes, Torres, Cornu, Carvalho Lopes, Ferreira & Santos, 2019). O extrato hidroetanólico das folhas avaliou os efeitos ansiolíticos e antidepressivos envolvendo sistemas neurotransmissores importantes, como os gabaérgicos e monoaminérgicos (Monteiro et al., 2020). Contudo, ainda é pouco o que se sabe sobre os metabólitos secundários de *A. coriacea* (Novaes, Torres, Cornu, Carvalho Lopes, Ferreira & Santos, 2019).

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar a atividade anticolinesterásica, antimicrobiana e fungicida do óleo das sementes de *Annona coriacea*.

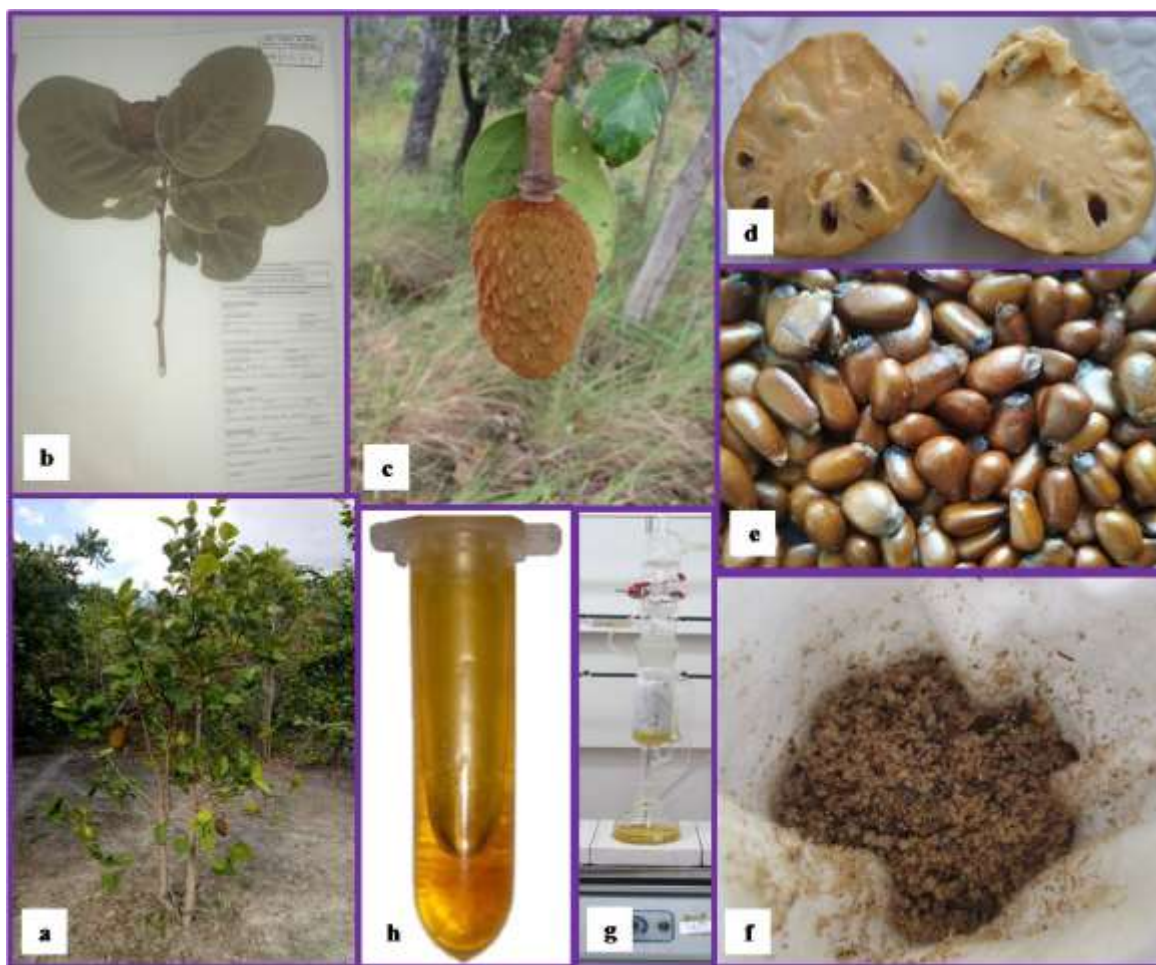
2. Metodologia

Foi realizada uma pesquisa laboratorial *in vitro*, de caráter quantitativo, visto que possui condições de realização das análises controladas e dispõe de resultados numéricos (Pereira, et al., 2018).

2.1 Coleta do material vegetal e extração do óleo fixo de *Annona coriacea*

Frutos maduros de diferentes espécimes de araticum (*Annona coriacea* Mart., Annonaceae) foram coletados no município de Campo Maior, estado do Piauí, Brasil (04°49'40" S, 42°10'08" W e 125/214 m de altitude), nos meses de novembro e dezembro de 2018. Em seguida, foram acondicionados em sacos plásticos e conduzidos ao Laboratório de Biodiversidade do Trópico Ecotonal do Nordeste (LabiOTEN), do Centro de Ciências da Natureza, da Universidade Federal do Piauí – UFPI, onde ocorreu o processo de remoção das sementes para a obtenção do óleo. No Laboratório de BioEletroquímica, do Centro de Ciências da Natureza, da Universidade Federal do Piauí, as amostras foram trituradas em liquidificador industrial e submetidas à extração por quatro horas em equipamento Soxhlet, utilizando o etanol como solvente, sendo eliminado do óleo, posteriormente, por evaporação num rotaevaporador rotativo MA 120, com o banho a uma temperatura de 60 + 5 °C. O óleo foi coletado e armazenado em frascos âmbar e conservados em geladeira (± 5 °C) para evitar proliferação de microrganismos. Este procedimento foi previamente descrito por (Oliveira, Wanderley, Porto, Silva, Silva & Neves, 2011). A pesquisa foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão e Acesso ao Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen, em atendimento a Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos, sob o número de cadastro A2F14A4. Um exemplar voucher foi depositado no Herbário Graziela Barroso (TEPB), da Universidade Federal do Piauí, sob o número de registro 30.764 (Figura 1).

Figura 1: Espécime de “araticum” (*Annona coriacea* Mart., família Annonaceae).



Legenda: a) Porte arbustivo-arbóreo. b) Exsicata depositada. c) Fruto. d) Fruto utilizado para remoção das sementes. e) Sementes. f) Sementes trituradas. g) Extração do óleo em aparelho Soxhlet. h) Óleo extraído. Fonte: Dados da pesquisa (2021).

2.2 Atividade anticolinesterásica (AChE)

Este teste foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental (LAPNEX), do Núcleo de Tecnologia Farmacêutica (NTF), do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí.

2.2.1 Avaliação quantitativa

A atividade inibidora da AChE foi medida utilizando um ensaio de microplacas de 96 poços descrito por Ellman, Courtney, Andres Jr e Featherstone (1961) e, modificado por Rhee, Van de Meent, Ingkaninan e Verpoorte (2001). Trata-se de um método extremamente sensível e baseado na medição da produção de tiocolina quando a acetilcolina é hidrolisada. Isto é conseguido pela reação contínua do tiol com o ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB). Resumidamente, 25 μL da amostra do óleo foram dissolvidos em metanol, juntamente com 50 μL do tampão e 25 μL de 0,22 U / mL de AChE; com agitação levemente da placa, e deixando em repouso a temperatura em torno de 30- 37°C por 15 minutos. O tempo em que a primeira adição da enzima foi realizada foi considerado como tempo zero. Nesse caso, como as análises posteriores foram realizadas por meio de uma leitura de ponto final, a cinética das reações não foi considerada importante (Hostettmann, Borloz, Urbain & Marston, 2006). Depois de 15 min de incubação, 125 μL do DTNB e 25 μL de ATCI foram adicionados. As amostras foram analisadas em triplicata. A leitura foi feita no tempo 0 min e no tempo de 5 min e as absorbâncias da mistura foram medidas a 405 nm, utilizando um leitor de microplacas (Varioskan Flash; Thermo Fisher Scientific, Yokohama, Japão). Uma mistura de

controle foi preparada usando 25 µL de metanol ao invés da amostra de óleo, com todos os outros procedimentos similares a aqueles usados no caso da mistura da amostra. A inibição (percentagem) foi calculada usando a equação:

$$I (\%) = [1 - (A - a) / (C - c)] \times 100$$

Onde: “A” é média das triplicatas das amostras com enzima após 5 min; “a” é a média das triplicatas das amostras com enzima no tempo 0 min; “C” é a média das triplicatas do controle com enzima após 5 min e “c” é a média das triplicatas do controle com enzima no tempo 0 min.

As faixas de concentração crescentes utilizadas para o ensaio de microplacas foram (0,625 – 1,25 – 2,5 – 5 – 10 mg/mL).

2.3 Atividade antimicrobiana

Para o preparo dos inóculos, foram utilizadas as cepas bacterianas gram-positivas (*S. aureus* ATCC 25923; *S. epidermidis* newprow0128), gram-negativas (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* HUT001) e fungos (*C. albicans* ATCC 10231 e *C. krusei* ATCC 34135).

Uma solução-estoque do óleo foi preparada pela dissolução de 10 mg do composto em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), iniciando com uma concentração inicial de 10 mg mL. A solução resultante foi diluída para 1.024 µg mL em água destilada estéril.

A concentração inibitória mínima (CIM) do óleo das sementes de araticum foi determinada pelo ensaio de microdiluição em caldo BHI 10% com suspensões de aproximadamente 10⁵ UFC/mL e concentrações do óleo variando de 512 a 8 µg/mL (Javadpour et al., 1996). A CIM foi definida como a menor concentração da droga em que não foi observado o crescimento de microrganismos.

Para avaliação do óleo como modulador da resistência aos antibióticos, a CIM dos antibióticos norfloxacin e ciprofloxacina foi determinada na presença do óleo das sementes de araticum em concentrações sub-inibitórias (MIC/8 e MIC/4, respectivamente), e em seguida as placas foram incubadas a 37°C por 24 h. Para determinação da CIM, foi adicionada em todos os poços 20 µL de resazurina sódica. As placas foram incubadas por 1 hora a temperatura ambiente e após este período foi realizada a leitura.

2.4 Atividade fungicida

2.4.1 Obtenção dos isolados

As espécies fúngicas *Fusarium sacchari*, agente causador da queratomicose (infecção da córnea) obtido de cana-de-açúcar e *Neoscytalidium dimidiatum*, (COUFPI 239 ou 241) agente que causa a dermatomicose e a onicomomicose (infecção da pele e das unhas, respectivamente), isolado de *Sansevieria trifasciata*, em Teresina, Piauí, Brasil (Monteles, Sousa, Silva Matos, Brito, Melo & Beserra, 2020), foram cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Piauí, local onde também, foram desenvolvidos os testes de controle de crescimento micelial.

2.4.2 Inibição do crescimento micelial do *Fusarium sacchari* e *Neoscytalidium dimidiatum* com óleo fixo de araticum

No ensaio, a atividade fúngica do óleo fixo de araticum foi avaliada sobre o crescimento micelial dos fungos patogênicos *Fusarium sacchari* e *Neoscytalidium dimidiatum*, em concentrações de 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 e 3.0 µL mL⁻¹. Como controle negativo, utilizou-se a testemunha contendo o meio de cultura BDA (batata ágar dextrose, HIMEDIA) e sem o óleo fixo. Inicialmente, o óleo foi solubilizado em 1% de DMSO, homogeneizado em diferentes concentrações junto ao meio de

cultura BDA, após esterilização o meio foi distribuído em placas de Petri, de 90 mm de diâmetro, para solidificar. Em seguida, discos de BDA de 7 mm de diâmetro, contendo micélio fúngico com idade de 7 dias, foram depositados no centro das placas, as quais foram identificadas, vedadas e incubadas em câmara de B.O.D. à temperatura de 24 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas. A primeira avaliação foi realizada após 96 horas de incubação e foi finalizada com o crescimento total das testemunhas. Para cada tratamento avaliado foi realizada três repetições. A determinação da inibição do crescimento dos fungos foi realizada pela média das repetições para cada tratamento, através de valores de PICM (Percentual de Inibição do Crescimento Micelial), conforme descrito por Garcia, Juliatti, Barbosa e Cassemiro (2012), cuja fórmula é:

$$PICM = \frac{(\text{crescimento controle} - \text{crescimento tratamento}) \times 100}{\text{crescimento controle}}$$

2.5 Análise estatística

Foram realizadas as análises de homogeneidade e normalidade dos dados (5% de probabilidade). Para o fungo *F. sacchari* (F2), foi feito teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade, pois este não atendeu o pressuposto de normalidade. Os dados para a ação do óleo no fungo *N. dimidiatum* (F1), respeitaram os pressupostos de homogeneidade e normalidade dos dados (5% de probabilidade), onde foi feito o teste de Tukey ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R Core Team (2020). O gráfico é exibido em boxplot para o fungo *F. sacchari* (F2).

3. Resultados e Discussão

3.1 Atividade anticolinesterásica (AChE)

A Tabela 1 apresenta os percentuais de inibição da atividade da AChE pelo óleo das sementes de *A. coriacea* extraído com o solvente etanol. O óleo de araticum mostrou-se inibidor da enzima acetilcolinesterase (AChE), com inibição variando de 37 a 84%.

Vinutha et al. (2007), em seu estudo de inibição da AChE com extratos de plantas medicinais indianas, propôs a classificação dos extratos analisados em: inibidores potentes (> 50% de inibição), inibidores moderados (30-50% de inibição) e inibidores fracos (< 30% de inibição). Assim, de acordo com essa proposta, podemos constatar que a intensidade da inibição da AChE variou de moderada a potente.

A inibição de AchE para a espécie deste estudo foi avaliada por Formagio et al. (2015), onde extratos metanólicos das folhas, sementes e capítulos florais, foram testados em concentrações de 2.0, 1.5 e 1.0 mg mL, respectivamente, resultando em uma porcentagem de inibição de 33% para as folhas, 52% para as sementes e sem inibição para o extrato do capítulo floral. Portanto, o extrato da semente de *A. coriacea* pode ser considerado um candidato promissor para pesquisas futuras sobre a atividade da AchE em diferentes estruturas cerebrais, visto que na literatura não constam dados sobre a atividade desta enzima vegetal.

Tabela 1: Classificação da intensidade de inibição do óleo fixo de araticum (*Annona coriacea* Mart., Annonaceae) utilizado.

Tipo de óleo	Concentrações (mg/mL)	Percentual de inibição (%)	Intensidade da inibição
Extraído com etanol	0,625	37,21	Moderada
	1,25	44,57	Moderada
	2,5	57,36	Potente
	5	63,18	Potente
	10	84,67	Potente

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

3.2 Atividade antimicrobiana

Embora pesquisas abordem os componentes majoritários do óleo fixo de araticum com atividade antimicrobiana (Wille & Kydonieus, 2003; Kaithwas, Mukerjee, Kumar, & Majumdar, 2011), o ensaio realizado mostrou inatividade contra bactérias gram-positiva (*S. aureus* ATCC 25923; *S. epidermidis* newprow0128), gram-negativas (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* HUT001) e fungos (*C. albicans* ATCC 10231 e *C. krusei* ATCC 34135) com MIC ≥ 1024 .

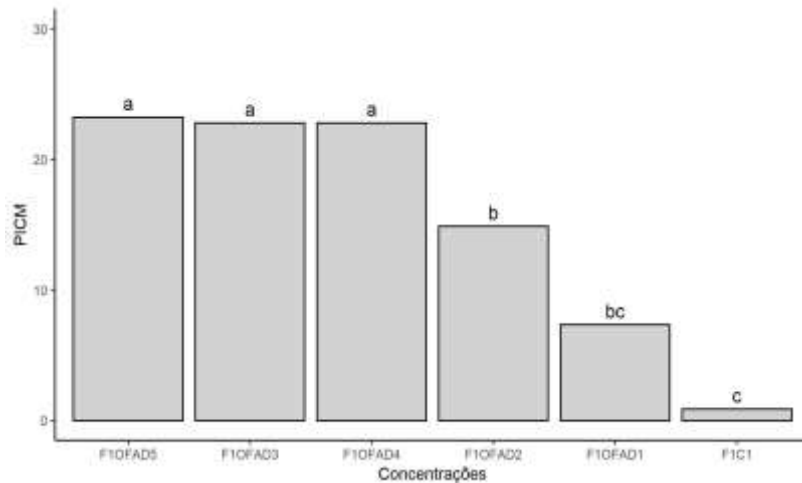
Os resultados deste estudo corroboram com a pesquisa realizada por Afroz et al. (2020), onde o ensaio antibacteriano, realizado através do método de difusão em disco, não mostrou potencial antibacteriano para o extrato metanólico da fruta da graviola (*Annona muricata* L.) frente a *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. No estudo conduzido por Batista, Cesar, Paula, Silva e Raposo (2021) foi demonstrado a inatividade do extrato da folha da graviola contra as cepas da *E. coli*, entretanto verificou-se atividade antibacteriana dos extratos do fruto contra as cepas *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Outro estudo realizado por Cesar, Batista, Paula, Silva e Silva (2021) verificou que extratos metanólicos e suas frações da folha e do fruto de *A. muricata* apresentaram ação inibitória do crescimento sobre as cepas de *C. albicans* e *C. krusei*.

3.3 Atividade fungicida

A utilização do óleo fixo de araticum permitiu controles de crescimento micelial de *N. dimidiatum* nas cinco doses testadas (Figura 2), as doses 3, 4 e 5 (1.0, 2.0 e 3.0 $\mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente) não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, porém, foram alcançadas porcentagens de controle de crescimento acima de 20% em comparação ao tratamento controle, apenas com meio de cultura BDA, nos poucos dias de avaliação, considerando a baixa concentração das doses utilizadas neste estudo pode-se inferir que o óleo possui potencial para testes posteriores de controle deste patógeno de importância fitopatológica e médica.

Em estudo *in vitro* desenvolvido na Malásia com isolados de importância clínica, *N. dimidiatum* mostrou-se suscetível ao miconazol, ao clotrimazol, voriconazol e a anfotericina B, em diferentes níveis de sensibilidade, no entanto, foi resistente ao cetoconazol (James et al., 2017), um importante antifúngico utilizado no controle de diversas infecções. Resultado semelhante foi observado em ensaio realizado na Colômbia com isolados obtidos a partir de onicomicoses, o patógeno mostrou alta sensibilidade a terbinafrina e baixa sensibilidade ao itraconazol, além disso a infecção por *N. dimidiatum* foi clinicamente semelhante à causada por *Trichophyton rubrum*, o que dificulta a identificação da doença em clínica médica (Gil-González, Gómez-Velásquez, Loaiza-Díaz, Florez-Muñoz, Hernández-Herrera & Mesa-Arango, 2020), estes dados demonstram que o fungo possui sensibilidade variável a diferentes antimicóticos.

Figura 2: Percentual de inibição do crescimento micelial de *Neoscytalidium dimidiatum* pelo óleo fixo das sementes de araticum (*Annona coriacea* Mart.).

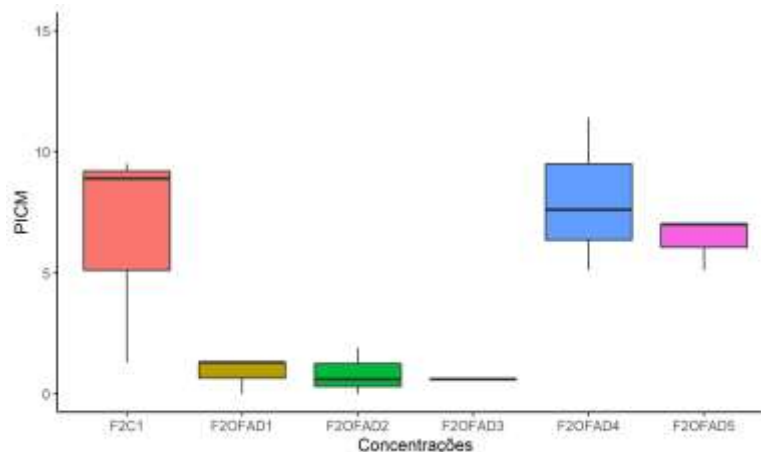


Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Considerando o crescimento de ocorrências de resistência a antimicóticos e o aumento na incidência de infecções por espécies pouco estudadas e menos comuns, a identificação de moléculas e compostos com potencial de controle e menor toxicidade se torna necessária ao desenvolvimento de tratamentos (Wiederhold, 2017), neste contexto, a identificação de potencial antifúngico do óleo fixo de araticum dá subsídios a estudos futuros de avaliação de controle em maiores doses e diferentes espécies de fungos patogênicos e/ou fitopatogênicos.

Não foi observado controle significativo do óleo fixo de araticum contra *F. sacchari*, as doses 1, 2 e 3 ($0.1, 0.5$ e $1.0 \mu\text{L mL}^{-1}$) não diferiram entre si e apresentaram porcentagens baixas de inibição do crescimento do fungo (Figura 3), as doses 4 e 5 apresentaram controle, no entanto, o mesmo não diferiu do crescimento micelial no tratamento controle com meio de cultura BDA, neste estudo foram adotadas doses baixas a fim de avaliar a capacidade de inibição mesmo em baixas concentrações, isto pode ter influenciado nos resultados obtidos, visto que o óleo apresentou potencial para controle de *N. dimidiatum*.

Figura 3: Percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium sacchari* pelo óleo fixo das sementes de araticum (*Annona coriacea* Mart.).



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Em ensaio com óleos essenciais na concentração de 1% contra o desenvolvimento de *Fusarium sp.*, isolado de cana-de-açúcar, Tico, Silva, Silva, Silva e Nascimento (2019) obtiveram 100% de inibição de crescimento micelial com óleos obtidos de capim limão, erva-doce e manjericão. O óleo de aroeirinha (*Schinus terebinthifolius* Raddi.) na dose de 3000 mg L⁻¹ alcançou inibição de 27% do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, para *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* o tratamento controle alcançou diâmetro de colônia de 18 mm e na concentração de 3000 mg L⁻¹ de 8,6 mm (Fonseca et al., 2015) demonstrando que, em geral, doses mais altas de óleos tem sido mais eficientes no controle de fungos do gênero, desta forma, ensaios utilizando concentrações maiores podem ser realizados, para que se avalie o potencial real do óleo fixo de araticum no controle de *F. sacchari*.

4. Considerações Finais

O óleo fixo das sementes de *A. coriacea* apresentou 84% de inibição da enzima acetilcolinesterase, considerado potente quanto a intensidade de inibição, configurando um valor promissor na abertura de novos estudos.

Embora o óleo fixo de araticum apresente componentes majoritários com ação antimicrobiana comprovada, os resultados deste estudo refutam tal potencial, no que concerne as bactérias gram-positivas (*S.aureus* ATCC 25923; *S. epidermidis* newprow0128), gram-negativas (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* HUT001) e fungos (*C. albicans* ATCC 10231 e *C. krusei* ATCC 34135).

Conforme os resultados apresentados no teste fúngico contra *N. dimidiatum* e *F.sacchari*, pode-se registrar que o óleo fixo de *A. coriacea* possui grandes perspectivas para estudos mais amplos acerca do seu potencial contra essas espécies, visando sua utilização na produção de fitofármacos eficazes para o tratamento de doenças infecciosas, como a queratomicose, dermatomicose e a onicomomicose.

Contudo, há necessidade de estudos adicionais, para desenvolver formulações apropriadas e métodos de aplicações de fitofármacos à base de *A. coriacea* contra fungos patogênicos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Boris Timah Acha por revisar a língua inglesa neste manuscrito. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí / Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - FAPEPI / CAPES [Nº 006/2018] pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Afroz, N., Hoq, M. A., Jahan, S., Islam, M. M., Ahmed, F., Shahid-Ud-Daula, A. F. M., & Hasanuzzaman, M. (2020). Methanol soluble fraction of fruits of *Annona muricata* possesses significant antidiarrheal activities. *Heliyon*, 6(1), e03112.
- Almeida-Apolonio, A. A. D., Dantas, F. G. D. S., Rodrigues, A. B., Cardoso, C. A. L., Negri, M., Oliveira, K. M. P. D., & Chang, M. R. (2019). Antifungal activity of *Annona coriacea* Mart. ethanol extracts against the aetiological agents of cryptococcosis. *Natural product research*, 33(16), 2363-2367.
- Batista, A. K. R., Cesar, K. K. F. A., Paula, L. R., da Silva, F. L., & Raposo, H. L. O. (2021). Potencial antibacteriano (in vitro) do extrato metanólico da *Annona muricata* L. *Research, Society and Development*, 10(5), e33510514950-e33510514950.
- Brasil, I. B. G. E. (2004). Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. Mapa de Biomas do Brasil.
- Cesar, K. K. F. A., Batista, A. K. R., Paula, L. R., da Silva, R. T., & da Silva, F. L. (2021). Ação antifúngica de extratos e frações de *Annona muricata* L. sobre *Candida* spp. *Research, Society and Development*, 10(5), e28010514938-e28010514938.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Fernandes, R. D. M. N., & Scapin, E. (2020). Plantas típicas do cerrado brasileiro usadas como inibidores da acetilcolinesterase: uma revisão sistemática. *DESAFIOS-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins*, 7(3), 20-31.

- Fonseca, M. C. M., Lehner, M. D. S., Gonçalves, M. G., Paula Júnior, T. J. D., Silva, A. F., Bonfim, F. P. G., & Prado, A. L. (2015). Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(1), 45-50.
- Formagio, A. S. N., Vieira, M. C., Volobuff, C. R. F., Silva, M. S., Matos, A. I., Cardoso, C. A. L., ... & Carvalho, J. E. (2015). In vitro biological screening of the anticholinesterase and antiproliferative activities of medicinal plants belonging to Annonaceae. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48(4), 308-315.
- Franzon, R. C., Campos, L. D. O., Proença, C. E. B., & Sousa-Silva, J. C. (2009). Araçás do gênero psidium: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. *Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)*.
- Garcia, R. A., Juliatti, F. C., Barbosa, K. A. G., & Cassemiro, T. A. (2012). Antifungal activity of vegetable oils and extracts against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bioscience Journal*, 28(1), 48-57.
- Gil-González, M., Gómez-Velásquez, J. C., Loaiza-Díaz, N., Florez-Muñoz, S. V., Hernández-Herrera, G. N., & Mesa-Arango, A. C. (2020). Onychomycosis caused by the environmental mold *Neoscytalidium dimidiatum* in Colombia, and in vitro antifungal susceptibility evaluation. *Medical Mycology*.
- Hostettmann, K., Borloz, A., Urbain, A., & Marston, A. (2006). Natural product inhibitors of acetylcholinesterase. *Current Organic Chemistry*, 10(8), 825-847.
- James, J. E., Santhanam, J., Lee, M. C., Wong, C. X., Sabaratnam, P., Yusoff, H., & Razak, M. F. A. (2017). In vitro antifungal susceptibility of *Neoscytalidium dimidiatum* clinical isolates from Malaysia. *Mycopathologia*, 182(3-4), 305-313.
- Javadpour, M. M., Juban, M. M., Lo, W. C. J., Bishop, S. M., Alberty, J. B., Cowell, S. M., & McLaughlin, M. L. (1996). De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. *Journal of medicinal chemistry*, 39(16), 3107-3113.
- Jepson, W. (2005). A disappearing biome? Reconsidering land-cover change in the Brazilian savanna. *Geographical Journal*, 171(2), 99-111.
- Kaithwas, G., Mukerjee, A., Kumar, P., & Majumdar, D. K. (2011). *Linum usitatissimum* (linseed/flaxseed) fixed oil: antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *Inflammopharmacology*, 19(1), 45-52.
- Klink, C. A., & Machado, R. B. (2005). A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, 1(1), 147-155.
- Ministério do Meio Ambiente (MMA) (2014). *Diagnóstico Estratégico MacroZEE do Bioma Cerrado: Dinâmicas do Cerrado*.
- Monteiro, Á. B., de Souza Rodrigues, C. K., do Nascimento, E. P., dos Santos Sales, V., de Araújo Delmondes, G., da Costa, M. H. N., & Kerntopf, M. R. (2020). Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Annona coriacea* (Mart.) and caffeic acid in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 136, 111049.
- Monteles, R. P., Sousa, E. S., da Silva Matos, K., de Brito, V. S. T., de Melo, M. P., & Beserra, J. E. A. (2020). *Neoscytalidium dimidiatum* causes leaf blight on *Sansevieria trifasciata* in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes*, 15(1), 1-4.
- Novaes, P., Torres, P. B., Cornu, T. A., de Carvalho Lopes, J., Ferreira, M. J. P., & Dos Santos, D. Y. A. C. (2019). Comparing antioxidant activities of flavonols from *Annona coriacea* by four approaches. *South African journal of botany*, 123, 253-258.
- Oliveira, L. C. P., Wanderley, M. D., Porto, A. G., da Silva, F. S., da Silva, F. T. C., & Neves, E. (2011). Estudo da extração e avaliação do rendimento de óleo de baru. *Outubro*, 1(1).
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica: UFSM, NTE.
- Rhee, I. K., van de Meent, M., Ingkaninan, K., & Verpoorte, R. (2001). Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of chromatography A*, 915(1-2), 217-223.
- Silva, J. F., Fariñas, M. R., Felfili, J. M., & Klink, C. A. (2006). Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. *Journal of biogeography*, 33(3), 536-548.
- Team, R. C. (2020). R: A language and environment for statistical computing.
- Terezan, A. P., Junqueira, J. G. M., Wakui, V. G., Kato, L., Oliveira, C. M. A., Martins, C. H. G., & Severino, V. G. P. (2020). Qualitative analysis of the acetogenins from *Annona coriacea* (Annonaceae) leaves by HPLC-Q-Orbitrap and their antibacterial potential against oral pathogens. *Natural Product Research*, 1-7.
- Tico, B. M., da Silva, H. F., da Silva, E. C., Silva, G. R., & do Nascimento, L. C. (2019). Óleos essenciais no controle do *Fusarium* sp. da cana de açúcar in vitro. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, 7(3).
- Vieira, L. T., Castro, A. A., Coutinho, J. M., de Sousa, S. R., de Farias, R. R., Castro, N. M., & Martins, F. R. (2019). A biogeographic and evolutionary analysis of the flora of the North-eastern cerrado, Brazil. *Plant Ecology & Diversity*, 12(5), 475-488.
- Vinutha, B., Prashanth, D., Salma, K., Sreeja, S. L., Pratiti, D., Padmaja, R., & Deepak, M. (2007). Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 359-363.
- Wiederhold, N. P. (2017). Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. *Infection and drug resistance*, 10, 249.
- Wille, J. J., & Kydonieus, A. (2003). Palmitoleic acid isomer (C16: 1Δ6) in human skin sebum is effective against gram-positive bacteria. *Skin Pharmacology and Physiology*, 16(3), 176-187.