



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

CAIO CÉSAR DAS CHAGAS SILVA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO DE
Momordica charantia* FRENTE AO MICROCRUSTÁCEO *Artêmia salina leach

Vitória de Santo Antão
2018

CAIO CÉSAR DAS CHAGAS SILVA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO DE
Momordica charantia FRENTE AO MICROCRUSTÁCEO *Artêmia salina leach***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Colegiado do Curso de
Graduação em Nutrição do Centro
Acadêmico de Vitória da Universidade
Federal de Pernambuco em cumprimento a
requisito parcial para obtenção do grau de
Bacharel em Nutrição, sob orientação da
Professora Dra. Simey de Souza Leão
Pereira Magnata.

Vitória de Santo Antão

2018

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Fernanda Bernardo Ferreira, CRB4-2165

S586a Silva, Caio César das Chagas.
Análise fitoquímica e avaliação toxicológica do extrato de Momordica charantia frente ao microcrustáceo Artêmia Salina Leach. / Caio César das Chagas Silva. - Vitória de Santo Antão, 2018.
34 folhas.; il.

Orientadora: Simey de Souza Leão Pereira Magnata.
TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Nutrição, 2018.
Inclui referências.

1. Melão de São Caetano. 2. Toxicidade. 3. Fitoquímica. I. Magnata, Simey de Souza Leão Pereira (Orientadora). II. Título.

633.88 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-225/2018

CAIO CÉSAR DAS CHAGAS SILVA.

Análise fitoquímica e avaliação toxicológica do extrato de *Momordica charantia*
frente ao microcrustáceo *Artêmia Salina Leach*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do
Centro Acadêmico de Vitória da Universidade
Federal de Pernambuco em cumprimento a
requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel
em Nutrição

Data: 15/01/2018.

Banca Examinadora

Caio César da Silva Guedes

Luiz da Silva Maia Neto

Simey de Souza Leão Pereira Magnata

AGRADECIMENTOS

A todos os familiares que acreditaram no meu potencial, a minha Orientadora Simey Magnata por toda paciência e direcionamento desde sempre, aos que me ajudaram na execução dos testes, também aos meus amigos que estavam presentes todos os dias na sala de aula e também aos que me davam suporte fora dela, aos momentos compartilhados com Mariana Ferreira e também a Joana Arruda por sempre me apoiar e me ajudar nas coletas e Ednaldo Alves por ceder todo o material herbáceo.

RESUMO

A utilização de plantas medicinais como alternativa terapêutica no Brasil é resultante da forte influência cultural dos indígenas, das tradições africanas e da cultura européia trazida pelos colonizadores. Para o presente estudo realizou-se uma análise fitoquímica por meio de cromatografia em camada delgada e também teste de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina leach*, no extrato hidroalcoólico das folhas de *Momordica charantia* coletadas na zona rural da cidade de Limoeiro-PE. A planta é comumente conhecida como Melão-de-São-Caetano ou Melão-Amargo mas isso vai depender da região do país onde é encontrada, ela também é muito utilizada na medicina tradicional de diversos países por possuir diversas propriedades terapêuticas. Os testes realizados na espécie coletada revelaram a presença de flavonóides, taninos e alcaloides. E também uma $DI_{50} > 1000$ reforçando assim que o extrato possui pouca toxicidade. Nesse contexto, diante da baixa toxicidade encontrada, na concentração estudada, este trabalho traz a perspectiva do uso da *Momordica charantia* como antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano; respeitando-se as propriedades e percentuais dos metabólitos secundários encontrados nesta espécie vegetal.

Palavras-chave: Melão-de-São-Caetano. Melão-Amargo. *Cucurbitaceae*. *Momordica charantia* L. Fitoquímica. Toxicidade.

ABSTRACT

The use of medicinal plants as a therapeutic alternative in Brazil is a result of the strong cultural influence of the indigenous peoples, the African traditions and the European culture brought by the colonizers. The present study carried out a phytochemical analysis by means of thin layer chromatography and also toxicity test against the microcrack *Artemia Salina* Leach, in the ethanolic extract of the leaves of *Momordica charantia* collected in the rural area of the city of Limoeiro-PE. The plant is commonly known as Melon-de-São-Caetano or Melon-Amargo but this will depend on the region of the country where it is found, it is also widely used in traditional medicine in several countries because it possesses diverse therapeutic properties. The tests performed on the collected species revealed the presence of flavonoids, tannins and alkaloids. And also a $DI_{50} > 1000$ reinforcing so the extract has little toxicity. In this context, due to the low toxicity found in the concentration studied, this work presents the perspective of the use of *Momordica charantia* as antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial; respecting the properties and percentages of the secondary metabolites found in this plant species.

Keywords: Melon-de-São-Caetano. Melon-Bitter. Cucurbitaceae. *Momordica charantia* L. Phytochemistry. Toxicity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	9
3 JUSTIFICATIVA	10
4 REVISÃO DA LITERATURA	11
5 MATERIAL E MÉTODOS	11
5.1 Amostragem.....	11
5.2 Obtenção do extrato.....	11
5.3 Análise do perfil fitoquímico	13
5.3.1 <i>Cromatografia em camada delgada</i>	13
5.4 Avaliação da toxicidade por <i>Artemia Salina</i>	14
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
6.1 Teste fitoquímico.....	17
6.2 Análise estatística da toxicidade	22
7 CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65% a 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (VEIGA JUNIOR et al., 2005).

As plantas medicinais estão entre os principais recursos utilizados na Medicina Tradicional ou Medicina Complementar / Alternativa, sendo empregada pela população brasileira nos seus cuidados com a saúde, seja na Medicina Tradicional/Popular ou nos programas públicos de fitoterapia provenientes do SUS, alguns com mais de 20 anos de existência. Entre todas as Práticas Integrativas e Complementares, as plantas medicinais e a fitoterapia são as mais presentes no sistema, segundo informação do (BRASIL, 2015).

Os estudos realizados nessa área têm experimentado um crescimento acelerado, registrando um aumento cuja taxa média é de 10% ao ano, entretanto somente 15 a 17% das plantas existentes no mundo, têm sido estudadas sob o ponto de vista medicinal (SOEJARTO, 1996).

A *Momordica charantia* L. é pertencente à família *Cucurbitaceae*, é muito popular na medicina tradicional em países do oriente médio e Ásia, como é o caso da Índia e Turquia onde é utilizada para cicatrização de feridas e tratamento de úlceras pépticas. O Melão-Amargo (Bitter-Mellon) como também é chamada já possui diversos efeitos comprovados entre eles Anti-hiperglicêmico, anti-viral, anti-microbiano e anti-mutagênico (DEEP et al., 2004).

No Brasil a espécie é conhecida na região amazônica e em várias outras regiões do país como Melão-de-são-caetano podendo ser denominada também de Fruto-de-cobra, Fruto-de-negro, Erva-de-são-caetano, Erva-são-vicente e Erva-de-lavadeira (STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Considerada uma trepadeira, essa espécie possui caule estriado, folhas membranosas, 5-7-lobadas com lobos estreitos na base, gavinha simples, longa, delicada, pubescente; flores masculinas solitárias, em pedúnculo com bráctea reniforme, inteira; cálice com lacínios lanceolado-ovais; estames aglutinados com os

lúculos das anteras; flor feminina longo-pedunculada; fruto capsular carnosos, amarelo quando maduro; sementes vermelhas (STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Os frutos possuem sementes avermelhadas devido a um índice elevado de licopeno que pode ser usado como corante natural em alimentos (ASSUBAIE et al., 2004)

Em nosso país, o uso de plantas medicinais sempre foi expressivo e, ainda hoje, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres e mercados populares. Um Grande número de espécies de plantas tem sido usado popularmente para tratar os sintomas da diabetes, um levantamento feito através da descrição e indicação de ervaíros do Vale do Paraíba-SP constatou que a *Momordica charantia* está entre as ervas mais usadas na medicina popular da região contra a diabetes e também para auxiliar no emagrecimento (ALVARENGA et al., 2017).

M. charantia e *G. sylvestre* são plantas muito usadas no tratamento da *Diabetes mellitus*, como medicamentos manipulados na prática ayurvédica. Além disso, no subcontinente indiano, sucos e extratos de plantas são comumente usados para controlar o açúcar no sangue. Por isso é necessário ter conhecimento dos efeitos adversos dessas drogas (BENIWAL et al., 2017).

O extrato metanólico da folha da *Momordica charantia* mostrou atividades antioxidantes, cito-protetoras e anti-melanogênicas significativas. Estes achados sugeriram que esse extrato pode ser benéfico para prevenir o dano foto-oxidativo e melanogênese da pele (TSAI et al., 2014).

2 OBJETIVOS

Objetivo geral: O presente trabalho tem como objetivo analisar o extrato hidroalcoólico das folhas de *Momordica charantia* colhidas na zona rural da cidade de Limoeiro-PE, quanto a fitoquímica e toxicidade frente a *Artemia Salina Leach*.

Objetivos específicos:

- Coletar das folhas de *Momordica Charantia*;
- Obter o extrato hidroalcoólico;
- Analisar o perfil fitoquímico;
- Avaliar a toxicidade via *Artemia salina leach*.
- Caracterizar a melhor concentração para futuros testes pré-clínicos;

3 JUSTIFICATIVA

O uso terapêutico das plantas com propriedades medicinais tem atravessado muitas gerações, contudo, na maioria das vezes não há estudos que possam elucidar de maneira científica, as propriedades dessas plantas, apontadas pelo conhecimento empírico. Nesse contexto, foi definida a realização de testes fitoquímicos, para que se possa conhecer os componentes presentes na planta e então determinar suas possíveis aplicações, visto que há diversos efeitos benéficos já relatados na literatura relacionados ao gênero *Momordica*. Antes de explorar as potencialidades terapêuticas de uma determinada espécie é necessário que haja a realização de testes iniciais, entre eles, os testes para caracterizar os metabólitos secundários da espécie em estudo. Além disso, é muito importante a realização de testes de toxicidade para verificar se é possível a utilização de seus componentes sem a ocorrência de riscos à saúde do usuário.

Com base no exposto, resolveu-se então submeter a *Momordica charantia* coletada na área rural de Limoeiro-PE, aos testes iniciais afim de identificar os componentes presentes no extrato hidroalcoólico das folhas e também conhecer o seu nível de toxicidade, para que em trabalhos futuros possa-se fazer uso dessa espécie com mais segurança.

4 REVISÃO DA LITERATURA

O Brasil possui a maior parcela da biodiversidade do total mundial, cerca de 15% a 20%, entre os elementos que compõem essa biodiversidade, as plantas são a matéria-prima para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos. Elas também são utilizadas em práticas populares e tradicionais, como remédios caseiros e comunitários (BRASIL, 2016).

O Brasil possui também uma rica diversidade cultural e étnica que resultou em um acúmulo considerável de conhecimentos e tecnologias tradicionais, passados de geração a geração, entre os quais se destacam o vasto acervo de conhecimentos sobre manejo e o uso de plantas medicinais (BRASIL, 2016).

Ainda em concordância com Brasil (2016) a ampliação das opções terapêuticas ofertadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde, é uma importante estratégia com objetivo de melhoria da atenção à saúde da população e à inclusão social..

Embora a *Momordica charantia* seja consumida por uma grande quantidade de pessoas mundialmente e também conhecida por suas diversas aplicações medicinais, não se tem muita informação disponível sobre sua capacidade quimiopreventiva (DEEP et al., 2004).

Os pesquisadores Dia e Krishna (2016), utilizaram um recém-descoberto peptídeo isolado e purificado da *Momordica charantia* em suas pesquisas, o BG-4, o qual possui uma atividade inibitória de tripsina 8,6 vezes maior do que o inibidor de tripsina de soja purificado. A atividade inibitória de tripsina do peptídeo BG-4 é responsável por sua capacidade de causar citotoxicidade ao câncer de cólon em humanos.

Os resultados obtidos mostraram que a BG-4 inibiu a proliferação de células de cancro do cólon HCT-116 e HT-29. Inibiu a formação de colônias de HCT-116 e células de cancro do cólon HT-29, promovendo também a apoptose em células de câncer de cólon HCT-116 e HT-29; além de modificar as expressões de proteínas

associadas à apoptose e ao ciclo celular em células de câncer de cólon, em humanos (DIA; KRISHNA, 2016)

Em relação ao seu potencial hipoglicemiante já existem vários estudos, recentemente Saeed et al. (2017) mostraram em sua pesquisa com ratos do tipo *sprague dawley*, o potencial nutracêutico do Melão-amargo. Para os testes foram utilizados, a casca, a polpa e o fruto integral, tendo sido constatado diminuição no LDL em grupos experimentais, em comparação com ratos alimentados com dieta normal. Já os valores de HDL aumentaram após o consumo do melão-amargo e houve a diminuição dos níveis de glicemia.

Para Fachinan et al. (2017), o mecanismo de ação da capacidade antidiabética de *Momordica charantia* ainda não está explicado com clareza, porém seus estudos apoiam esse efeito, relacionando a propriedades existentes no suco da fruta do Melão-amargo. Em seu rastreio fitoquímico ele pode identificar a presença de taninos e flavonóides, além de antocianinos, esteróides e triterpenóides. As saponinas presentes no suco total se tornaram indetectáveis após filtração. Comprovando também atividades antioxidantes e imunoestimulantes.

Em seus estudos Deng et al. (2017) investigaram os possíveis efeitos do extrato aquoso dos frutos de *Momordica Charantia* contra lesões hepáticas em ratos. Os ratos foram administrados intragástricamente com o extrato aquoso (250, 500 e 750 mg / kg de peso) diariamente por 7 dias. Os grupos controle normal e modelo foram administrados com água destilada, o grupo controle positivo foi intragástricamente administrado vitamina C 250 mg / kg de peso e após a última administração, os ratos foram retidos durante 20 h.

O extrato aquoso de *Momordica charantia* foi responsável por reduzir o soro AST e ALT, reduziu também o teor de óxido nítrico e a proteína a nível de expressão de iNOSin no fígado. Além de aumentar o potencial da membrana mitocondrial e as atividades do sistema respiratório mitocondrial, confirmando assim o efeito protetor do extrato contra lesões hepáticas (DENG et al., 2017)

Saad et al. (2017) comprovaram através de experimentos com ratos *Wistar* machos, que possuíam a condição de hipercolesterolemia, que a administração de 5g / kg do melão-amargo (fruto seco) por via oral melhorava significativamente todos

os genes que eram alterados. E confirmou-se assim, seu efeito hipocolesterolêmico. Os achados confirmaram que o melão-amargo é um complemento potencialmente útil para o tratamento de hipercolesterolemia e seus distúrbios associados; demonstrando efeitos positivos para a saúde humana.

De acordo com Choi et al. (2017) a *Momordica charantia* tem sido usada na medicina coreana tradicional no tratamento da diabetes. Porém há relatos que o melão-amargo causa infertilidade em mamíferos. A partir dessas afirmações foi desenvolvida uma pesquisa com *Hamsters* machos dourados, onde foram administradas doses por via oral em concentrações baixas (0,03 g / kg) ou alta (0,15 g/kg) de extrato etanólico das sementes de Melão-amargo por 8 semanas, diariamente. Os resultados obtidos sugeriram que o extrato não possui influências negativas na atividade reprodutiva dos hamsters.

Além das diversas funções já citadas da *Momordica charantia*, Lim et al. (2017) investigaram seu potencial como adsorvente de baixo custo para remover o corante tóxico cristal de violeta. Os dados obtidos através dos experimentos mostraram que o extrato aquoso do Melão-amargo é um bom adsorvente comparado a outros utilizados na pesquisa (Langmuir, Freundlich, Temkin, Dubinin-Radushkevich, Redlich-Peterson e Sips) .

O desempenho do extrato em relação à remoção do corante se mostrou afetado pela presença de sal, sendo NaCl o mais influente, mesmo assim ainda manteve excelente poder de adsorção; removendo de 82% a 96% (LIM et al., 2017)

No estudo desenvolvido por Chang et al. (2017) foi criado um novo método para a purificação da proteína insolúvel (MAP30) isolada e das sementes da *Momordica charantia* com intuito de sua aplicação no tratamento de bactérias e infecções, com a purificação da proteína pMAL se obteve uma MAP30 altamente ativa e pura.

O uso desse novo método de purificação proporcionou mais bioatividade e efeito sinergista para matar bactérias o que pode significar a redução das doses necessárias de cloranfenicol e eritromicina, uma vez que a MAP30 poderá ser usada em combinação com esses dois fármacos promovendo benefício em termos de

redução dos efeitos colaterais do antibiótico por conta da redução das doses (CHANG et al., 2017)

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Amostragem

As folhas da *Momordica charantia* mostradas na Figura 1 foram coletadas no Sítio Boi Seco, Bairro Gameleira, Limoeiro- PE, Brasil. A coleta do material foi feita de uma única vez no dia 18 de agosto, pois é sabido que mudanças de clima, temperatura e sazonalidade são capazes de alterar a presença de metabólitos secundários do mesmo vegetal para coletas em épocas diferentes. O material botânico foi encaminhado ao herbarium PEUFR da UFRPE, onde foi identificado, confirmado e catalogado com o registro nº 53531, como mostrado na Figura 1.

Figura 1 - Folhas da *Momordica charantia*.



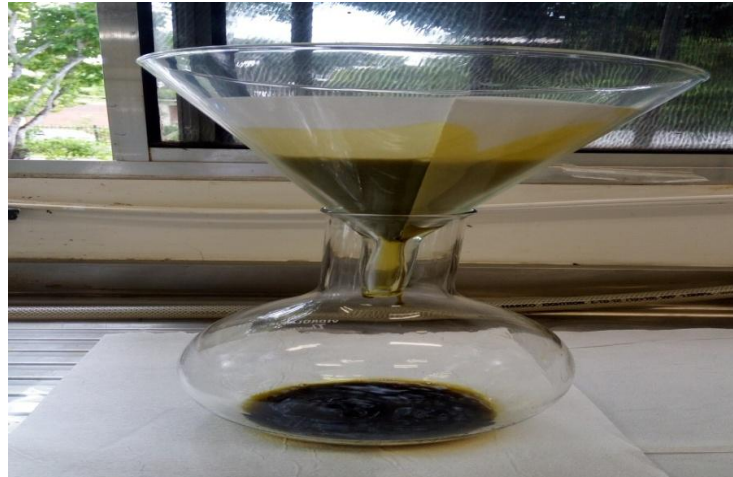
Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

5.2 Obtenção do extrato

Após a secagem do material que levou aproximadamente 10 dias na sombra, as plântulas foram trituradas em moinho de facas mecânico e forrageira. O extrato hidroalcoólico de *Momordica charantia* foi obtido na proporção de $\frac{1}{2}$ (1 kg de folhas da planta para 2 Litros de etanol, 70%). O preparado foi mantido em temperatura ambiente e logo após, agitado por 24hrs e deixado em repouso por 48hrs, e assim

filtrado com o auxílio de um papel de filtro e um funil para a extração de resíduos da planta, conforme mostra a Figura 2. Em seguida tal filtrado passou por rotaevaporação como mostrado na Figura 3.

Figura 2 - ilustração da filtração do extrato.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 3 - Rotaevaporação do extrato



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Na sequência, para liofilizar as folhas da *Momordica charantia*, foi utilizado um liofilizador de bancada (série LV200 da TERRONI). Este equipamento possui: condensador em aço inox com capacidade de 3/5 Kg de gelo por ciclo e temperatura de -55°C , três plataformas para bandejas, com aquecimento; três bandejas em aço inox com área de $0,080\text{ m}^2$ cada; uma bomba de vácuo, que faz a pressão na câmara de secagem chegar a $120\text{ }\mu\text{mHg}$ no final do processo.

Também possui um painel em LCD para facilitar o controle do processo, permitindo controlar alguns parâmetros como o tempo de duração da secagem e o controle individual da temperatura de cada bandeja. Além de indicar a pressão na câmara de secagem, a temperatura do condensador, o tempo decorrido e a finalização do processo. Foram utilizados 500mL de extrato líquido, homogeneizado por 5 minutos e distribuída nas três bandejas do liofilizador, em camadas com cerca de 2 mm de espessura.

Em seguida, as bandejas foram cobertas com filme plástico de PVC e colocadas para congelar em um freezer a -25°C por 40 horas. Após o congelamento, as bandejas foram retiradas do freezer e colocadas imediatamente no liofilizador, que foi ligado 40 minutos antes para que o condensador alcançasse a temperatura adequada.

O tempo total do processo de liofilização foi de 10 horas. Finalizado o processo, o extrato desidratado foi rapidamente removido das bandejas e acondicionado em um recipiente de vidro estéreo e armazenado a uma temperatura de aproximadamente 8 °C. Este produto também apresentou estrutura porosa e quebradiça, e foi facilmente reduzido a pó.

5.3 Análise do perfil fitoquímico

5.3.1 Cromatografia em camada delgada

Uma amostra do extrato foi aplicada com o auxílio de um tubo capilar (SILVA et al., 2010), de forma arbitrária, no lado esquerdo da placa de cromatografia constituída por gel de sílica com dimensões 20 x 20 cm e 0,25 milímetros de espessura (fase estacionária CCD) (Merck - Darmstadt, Alemanha). O padrão correspondente a cada classe de metabólito foi aplicado no lado direito da placa. Tanto o extrato quanto o padrão foram aplicados a um centímetro da base da placa e o líquido foi transferido por capilaridade sobre a superfície da fase estacionária, penetrando-o (SILVA et al., 2010). Em seguida através da técnica de ascensão, na qual a placa cromatográfica foi imersa no solvente (fase móvel), a uma profundidade de aproximadamente 0,5 cm da base do prato em uma cuba cromatográfica. Deste modo, a cromatografia foi desenvolvida com uma fase móvel movendo-se através da

fase estacionária por capilaridade. Ao final do processo, as placas foram removidas da cuba cromatográfica e postas a secar em temperatura ambiente. Em seguida, os reveladores apropriados foram aplicados por borrifamento, a fim de demonstrar a presença ou ausência dos compostos secundários no extrato.

5.4 Avaliação da toxicidade por *Artemia Salina*

O ensaio será adaptado segundo o procedimento descrito na literatura por Meyer et al. (1982), onde os cistos de *Artemia Salina Leach* são postos para eclodir em água do mar em incubadora, na temperatura de 25°C, com iluminação artificial e aeração constante por um período de 48 horas.

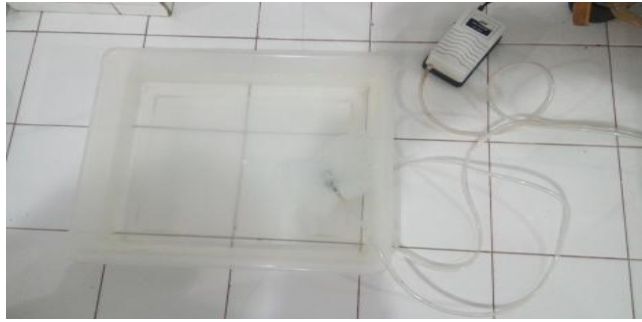
Após a eclosão, eles são dispostos em tubos de ensaio contendo 10 larvas cada com auxílio de uma pipeta Pasteur em sua fase náuplio, com 9 ml de água do mar, onde o extrato hidroalcoólico de *Momordica charantia* obtido é colocado em diferentes concentrações: 100 µg/ml, 125 µg/ml, 500 µg/ml e 1000 µg/ml correspondente a 10% da dosagem utilizada para determinação da DL₅₀, e acrescenta-se 10 µl da concentração do extrato.

O controle negativo utilizado é apenas água do mar contendo artemias, sem adição do extrato; já para compor o controle positivo é utilizada apenas a solução mãe usada como solvente do extrato. O ensaio foi realizado em triplicata, com contagem das artemias vivas e mortas após 24 horas, considerando-se mortos aqueles microcrustáceos que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco, relacionado à quantidade de larvas mortas com as diferentes concentrações do extrato.

É considerado que não há toxicidade, quando a CL₅₀ for maior do que 1000 µg/ml. A atividade citotóxica é considerada fraca se a CL₅₀ for entre 500 e 1000 µg/ml; moderada com CL₅₀ entre 100 e 500 µg/ml; e elevada com CL₅₀ entre 0 e 100 µg/ml. As etapas descritas acima podem ser visualizadas nas figuras 4, 5, 6 e 7.

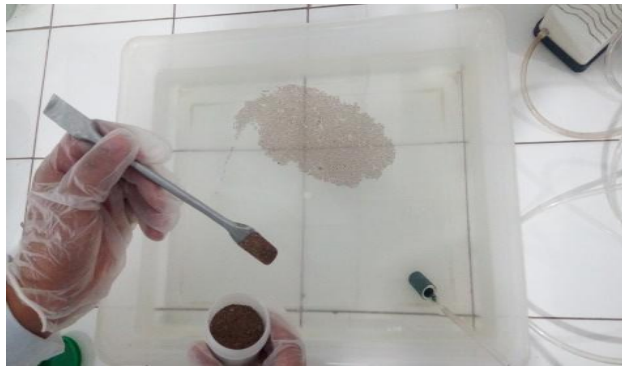
Os resultados são submetidos a tratamento estatístico para determinar a concentração letal média (CL₅₀) do extrato estudado.

Figura 4 - etapa 1, preparação da incubadora.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 5 - etapa 2, dispersão dos cistos de *Artêmia Salina L.* na incubadora.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 6 - etapa 3, incubadora pronta + luz artificial.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 7 - *Artemia Salina* Leach.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Teste fitoquímico

O Quadro 1 apresenta os resultados obtidos após o teste fitoquímico realizado a partir dos referenciais para Flavonóides, Taninos, Alcalóides, Terpenos, Cumarinas e óleos.

Quadro 1 - Resultado do teste fitoquímico.

	Fase Móvel	Revelador	Resultado
Flavonóides	Acetato de etila; ácido fórmico; Ácido acético glacial; Água (100:11:11:26)	Reagente new	Positivo
Taninos	Ácido fórmico; Metanol; Água (67:30:3)	Cloreto Férrico	Positivo
Álcalóides	-	Dragendor ff	Positivo
Terpenos	Tolueno 40; Cloroformio 40; Etanol 10;	Vanilina 1%; Anisalaldeído Sulfúrico	Negativo
Cumarinas	Tolueno: Éter (1:1)	KOH a 10% em etanol sob luz UV 365nm	Negativo
Óleos	Tolueno; Acetato de etila (93:7)	Vanilina 1%	Negativo

Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

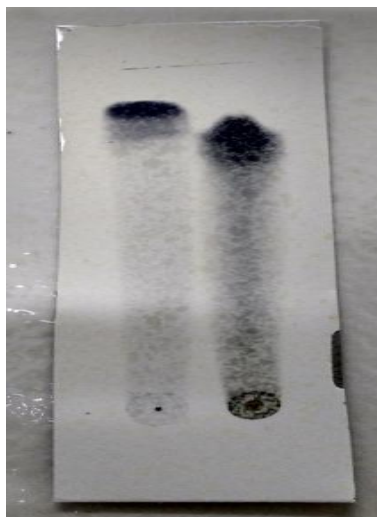
Além disso, a Figura 8, Figura 9, Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 e Figura 14, apresenta o perfil de revelação dos metabólitos secundários testados, na mesma ordem citada anteriormente.

Figura 8 – Resultado positivo flavonóides (luz UV).



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 9 – Resultado positivo Taninos.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura10 – Resultado positivo alcalóides.



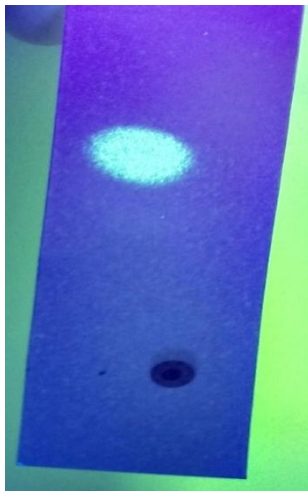
Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura11 - Resultado positivo alcalóides



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 12 – Resultado negativo Cumarina (luz UV).



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 13 – Resultado negativo Terpenos.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Figura 14 – Resultado negativo óleos.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

O resultado da abordagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico das folhas de *Momordica charantia* obtido através do teste de cromatografia de camada delgada (CCD), presente no quadro 1, constatou resultado positivo para Flavonóides, Taninos e Alcalóides. E resultado negativo para Terpenos, Cumarinas e Óleos, corroborando com o trabalho de Zocoler et al., (2006) que apontaram resultados positivos para os grupos de flavonóides, saponinas, taninos e esteróides/triterpenos e resultado negativo para os outros grupos testados como os Alcalóides, eles acreditam que o resultado negativo para alcalóides se deu devido à baixa concentração no caule e folhas utilizadas, devido à época em que se coletou ou a outros problemas técnicos que podem ter ocorrido.

Weng et al., (2013) estudaram um triterpeno de tipo cucurbitano (DMC) isolado da *Momordica charantia*, que foi responsável por induzir a apoptose em células de câncer de mama através da ativação do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR).

Bai et al., (2016) assim como Zocoler et al., (2006) e Weng et al., (2013) também constaram a presença de triterpenos em sua pesquisa com o Melão-Amargo, esse triterpeno (TCD) foi isolado e utilizado em testes sendo comprovada sua ação na supressão da proliferação de MCF-7 e MDA-MB-231, células do câncer de mama, por meio de apoptose e autofagia.

A não constatação de terpenos/triterpenos nessa pesquisa de caracterização fitoquímica e de toxicidade do Melão-Amargo pode ter ocorrido por alguma especificidade da variedade encontrada na zona rural da cidade de Limoeiro, ou provavelmente por algum problema técnico ocorrido no momento da coleta armazenamento ou processamento visto que maior parte das variedades estudadas tanto no Brasil quanto na Ásia possuem esse componente.

Segundo Nobre et al., (2005) a qualidade dos extratos pode ser influenciada por alguns parâmetros, como: método de extração, granulometria da matéria vegetativa e razão planta/solvente. Por isso a padronização é de grande importância para a qualidade dos resultados. A solução extrativa que apresenta o maior nível de conteúdo total de flavonóides é o etanol 70%, mostrando assim que o etanol possui uma grande capacidade de extração de flavonóides da *Momordica charantia*.

Tan et al., (2014) a partir dos diversos efeitos terapêuticos apontados pela literatura para esse gênero, resolveram determinar o conteúdo total de flavonóides (TFC) dos frutos de 6 espécies diferentes de Melão-amargo, utilizando 5 solventes diferentes, entre eles a água. E nestes testes, a acetona mostrou-se o melhor dos cinco solventes para a extração de flavonóides da variedade Moonlight (23,2 mg equivalentes de rutina (RE) / g).

6.2 Análise estatística da toxicidade

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos durante as observações no teste de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia Salina Leach*.

Tabela 1 - Resultado de toxicidade

CONCENTRAÇÕES	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3
100 µg/ml	10	10	10
125 µg/ml	10	10	10
500 µg/ml	10	10	9
1000 µg/ml	9	9	8

Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Legenda:

CONTROLE NEGATIVO: Água do mar + *Artemias* ;

CONTROLE POSITIVO: Água do mar + 10 µg de etanol 70%;

TUBO 1/ TUBO 2/ TUBO 3: Os números correspondem a quantidade de *ARTEMIAS* vivas;

NÃO HOUVE MORTES NOS GRUPOS CONTROLE*

Tabela 2 - resultado da toxicidade.

Dosagem (µg/ml)	Mortalidade (%)	Desvio padrão (DP%)
100	0	0
125	0	0
500	3,33	0,57
1000	10,11	0,19

Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Legenda:

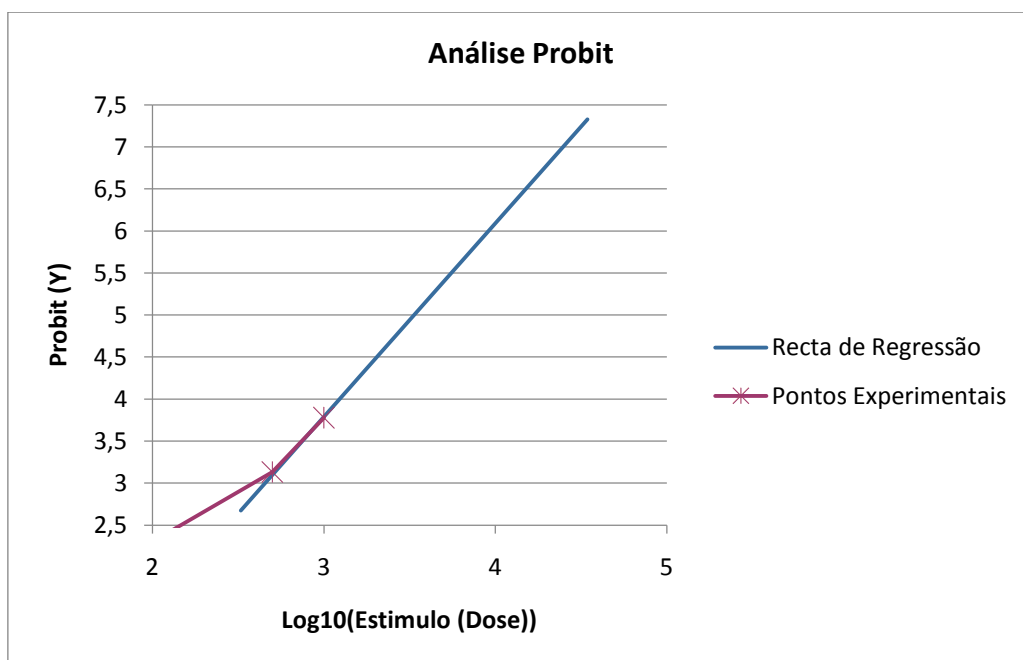
Dosagem (µg/ml): Dosagens utilizadas nos ensaios em µg/ml.

Mortalidade (%): Resultado da Taxa de mortalidade em porcentagem (%)

Desvio padrão (DP%): Resultado do desvio padrão em porcentagem (%)

Através de análise feita no software estatístico *STATPLUS*® pudemos comprovar uma ***DL₅₀***>***1000****

Gráfico 1 - Análise de Probit do Melão amargo.



Fonte: SILVA, C.C.C., 2017.

Ensaio biológico são importantes ferramentas para o diagnóstico e são adequados para determinar os efeitos de agentes físicos e químicos em organismos, em testes e em condições experimentais específicas. Esses efeitos são avaliados pela reação de organismos, tais como morte, crescimento, proliferação,

multiplicação, alterações estruturais, fisiológicas ou histológicas, também se deve considerar que o efeito tóxico sobre os sistemas biológicos é exercido através da ação de todas as substâncias nocivas presentes no meio ambiente, inclusive aquelas que não são tóxicas, mas que afetam as propriedades químicas ou físicas do sistema em consequência as condições de vida desses organismos (MORALES et al., 2004)

Os resultados obtidos a partir de bioensaios se referem, primeiramente, aos organismos utilizados no ensaio e às condições que foram estipuladas no procedimento do teste. Uma vez que um efeito nocivo é identificado e avaliado por meio de testes biológicos padronizados e ele pode indicar níveis de perigo que podem ser transferidos e assimilados para outros organismos (MORALES et al., 2004).

Quando comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e dos fitoterápicos pode parecer trivial. Isto, entretanto, não é verdade. A toxicidade de plantas medicinais pode ser considerada um problema sério (VEIGA JUNIOR et al., 2005).

Segundo Costa et al., (2017), realizaram uma triagem fitoquímica com o suco de sisal obtido por dois processos distintos, coletados em Valente (BA), o estudo também avaliou a toxicidade dos extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* em uma plantação de milho. Foram feitos testes colorimétricos e de precipitação para detectar componentes químicos do resíduo e para detecção de fitotoxicidade, os extratos etanólico, butanólico e acetato de etila foram testados em comparação com o inseticida natural a base de óleo de Nim e o sintético metomil.

Onde foram encontrados indícios da presença de taninos, triterpenos e saponinas em todas as amostras do resíduo, porém, em amostras que não foram levadas à decocção foram encontrados, alcalóides e cumarinas, o que não comprometeria a atividade inseticida. Em ambos os experimentos de fitotoxicidade, o extrato de acetato de etila foi o que proporcionou os menores efeitos, enquanto o extrato etanólico, na concentração de 100 mg.ml⁻¹, causou os maiores danos nas folhas do milho dentre os tratamentos (COSTA et al., 2017) .

As potencialidades terapêuticas da maioria das espécies utilizadas na medicina popular brasileira ainda não são conhecidas, várias dessas espécies são comumente utilizadas para o tratamento do câncer. Outro estudo, investigou-se a atividade citotóxica de 18 plantas de 16 famílias que são encontradas na região nordeste do Brasil incluindo a *Momordica charantia*. Os resultados obtidos *in vitro* mostraram os extratos *B. sericea*, *D. repens*, *H. bracteatus*, *I. purga*, *I. coccinea*, *M. piriri*, *O. longifolia* e *P. capitata* como os de atividade citotóxica mais potente (SILVA et al., 2016).

O resultado da toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Momordica charantia* foi obtido através dos ensaios feitos com o microcrustáceo *Artemia Salina Leach* e a análise dos resultados feita no software estatístico STATPLUS©. Neste estudo, ficou comprovado uma **DL₅₀>1000*** indicando assim uma baixa toxicidade do extrato, similarmente ao observado por Deep et al., (2004) em sua pesquisa sobre a atividade quimiopreventiva de *M. charantia* contra tumorigênese pré-estomacal, onde os ratos mesmo com uma suplementação dietética a longo prazo contendo a *M. charantia* não desenvolveram efeitos tóxicos.

As pesquisas recentes de Kunde et al., (2017) utilizando células epiteliais *in vitro* e o azul de tripan para o teste de viabilidade, mostraram que na ausência de estresse do retículo endoplasmático o extrato aquoso de *Momordica charantia* não apresentou toxicidade celular até 2,0% p/v e nenhum efeito significativo na expressão basal de mRNA de marcadores de estresse do retículo em células de adenocarcinoma humano LS174T.

Porém no pré-tratamento das células de LS174T com extrato de *Momordica charantia* seguido pela indução de estresse no retículo endoplasmático, foi encontrada uma diminuição significativa na expressão de mRNA dos marcadores de estresse. Os estudos demonstram a eficácia do extrato na redução da expressão do estresse reticular e marcadores inflamatórios em células epiteliais do cólon, sugerindo o extrato de Melão-amargo como uma intervenção dietética na melhoria desse tipo de estresse celular e reforçando ainda mais a sua baixa toxicidade (KUNDE et al., 2017)

Diante dos resultados encontrados nesta pesquisa e dos resultados presentes na literatura e comentados neste trabalho, é válido continuar os testes com o gênero *Momordica* para de fato esclarecer todos os seus potenciais biológicos.

7 CONCLUSÕES

Através dos testes realizados com o a variedade de *Momordica charantia* coletada na zona rural da cidade Limoeiro-PE, foi constatado através do parecer fitoquímico realizado por cromatografia de camada delgada a presença de compostos do tipo flavonóides, taninos e alcalóides, compostos que também são confirmados em outros trabalhos que utilizaram o extrato do melão-amargo. Quanto a presença de Terpenos o extrato hidroalcoólico utilizado mostrou resultado negativo o que difere da maior parte da literatura consultada que mostra que tanto variedades brasileiras quanto asiáticas possuem esse composto, sugerindo então uma característica específica da variedade pesquisada ou algum problema técnico que ocorreu durante a coleta, armazenamento ou processamento que pode ter influenciado na perda do componente.

Já o teste de toxicidade feito através do bioensaio com o microcrustáceo *Artêmia Salina Leach*. mostrou uma **$DL_{50} > 1000$** , ou seja, revelando a baixa toxicidade do extrato obtido a partir desta espécie presente em Limoeiro/PE. Nesse contexto, e justamente por sua baixa toxicidade que seus diversos componentes com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-cancerígenas, anti-hiperglicêmicas, entre outras, precisam ser mais estudados e suas potencialidades exploradas em benefício da saúde humana.

REFERÊNCIAS

ALVARENGA, Caroline Ferreira et al. Uso de plantas medicinais para o tratamento do diabetes mellitus no vale do Paraíba-SP. **Revista Ciência e Saúde On-line**, Campina Grande, v. 2, n. 2, p. 36-44, 2017.

ASSUBAIE, N. F. et al. Evaluation of some important chemical constituents of Momordicacharantia cultivated in Hofuf, Saudi Arabia. **Journal of Biological Sciences (Pakistan)**, Faisalabad, v. 02, n. 04, p. 628-630, 2004.

BAI, Li-Yuan et al. A triterpenoid from wild bitter gourd inhibits breast cancer cells. **Scientific Reports**, London, v. 6, p. 1-10, 2016.

BENIWAL, P. et al. How harmful can herbal remedies be? a case of severe acute tubulointerstitial nephritis. **Indian Journal of Nephrology**, New Delhi, v. 27, n. 6, p. 459-461, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS**. Brasília: DF, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e fitoterápicos**. Brasília: DF, 2016.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e fitoterápicos**. Brasília: DF, 2016.

COSTA, M. Ferreira et al. Composição química e toxicidade foliar de extratos do resíduo líquido de sisal. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 26, n. 3, p. 372-384, 2017.

CHANG, Ching-Dong et al. Novel purification method and antibiotic activity of recombinant Momordica charantia MAP30. **3 Biotech**, Berlin, v. 7, n. 1, p. 2-11, 2017.

CHOI, Donchan et al. Bitter Melon Seed Extract does not Alter Photoperiodic Effects on Reproduction of Male Golden Hamsters. **Development & Reproduction**, Seul, v. 21, n. 2, p. 215-221, 2017.

DANDAWATE, Prasad R. et al. Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. **Chinese Journal of Natural Medicines**, Nanjing, v. 14, n. 2, p. 81-100, 2016.

DEEP, Gagan et al. Cancer preventive potential of Momordica charantia L. against benzo (a) pyrene induced fore-stomach tumourigenesis in murine model system. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v. 6, n. 3, p.319-322 2004.

DENG, Yuanyuan et al. Protective effect of Momordica charantia water extract against liver injury in restraint-stressed mice and the underlying mechanism. **Food & Nutrition Research**, Lund, v. 61, n. 1, p. 1-11, 2017.

DIA, Vermont P.; KRISHNAN, Hari B. BG-4, a novel anticancer peptide from bitter gourd (Momordica charantia), promotes apoptosis in human colon cancer cells. **Scientific reports**, London, v. 6, p. 1-12, 2016.

FACHINAN, Rufine et al. Evidence of Immunosuppressive and Th2 Immune Polarizing Effects of Antidiabetic Momordica charantia Fruit Juice. **BioMed research international**, New York, v.17, p. 1-13, 2017.

KUNDE, Dale A. et al. Bitter melon protects against ER stress in LS174T colonic epithelial cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 17, n. 1, p. 2-10, 2017.

LIM, Linda BL et al. Potential use of Momordica charantia (bitter gourd) waste as a low-cost adsorbent to remove toxic crystal violet dye. **Desalination and Water Treatment**, London, v. 82, p. 121-130, 2017.

MORALES, Gabriela Castillo et al. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Ottawa: IDRC, 2004.

NOBRE, C. P. et al. Standardization of extracts from Momordica charantia L.(Cucurbitaceae) by total flavonoids content determination. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 24, n. 4, p. 562-566, 2005.

SAAD, Dalia Yossri et al. Effects of Karela (Bitter Melon; Momordica charantia) on genes of lipids and carbohydrates metabolism in experimental hypercholesterolemia: biochemical, molecular and histopathological study. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 17, n. 1, p. 319-320, 2017.

SAEED, Farhan et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of different parts and formulations of bitter gourd (Momordica Charantia). **Lipids in health and disease**, London, v. 16, n. 1, p. 211-221, 2017.

SILVA, Thiago B. C. et al. Cytotoxic potential of selected medicinal plants in northeast Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 16, n. 1, p. 190-199, 2016.

SOEJARTO, Djaja Djendoel. Biodiversity prospecting and benefit-sharing: perspectives from the field. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 51, n. 1-3, p. 1-15, 1996.

STASI, Luiz Claudio; HIRUMA-LIMA, Clélia Akiko. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Unesp, 2002.

TAN, Sing Pei et al. Extraction of flavonoids from bitter melon. **Food and Nutrition Sciences**, Irvine, v. 5, n. 05, p. 458-465, 2014.

TSAI, Tsung-Hsien et al. Antioxidant, cell-protective, and anti-melanogenic activities of leaf extracts from wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) cultivars. **Botanical Studies**, Taiwan, v. 55, n. 1, p. 78-89, 2014.

VEIGA JUNIOR, Valdir F. ; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparrecida M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WENG, Jing-Ru et al. Cucurbitane triterpenoid from *Momordica charantia* induces apoptosis and autophagy in breast cancer cells, in part, through peroxisome proliferator-activated receptor γ activation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v.13, n.7 , p.1-12, 2013.

ZOCOLER, Analice Martins Daleffi et al. Contribuição ao Controle de Qualidade Farmacognóstico das Folhas e Caules de Melão-de-São Caetano (*Momordica charantia* L.-Cucurbitaceae). **Acta Farm. Bonaerense**, Buenos Aires, v. 25, p. 22-27, 2006.