



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

GISELE NAYARA BEZERRA DA SILVA

**INVESTIGAÇÃO FARMACOLÓGICA DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS EM
EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Momordica charantia***

Recife

2020

GISELE NAYARA BEZERRA DA SILVA

**INVESTIGAÇÃO FARMACOLÓGICA DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS EM
EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Momordica charantia***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências, da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Área de concentração: Morfotecnologia

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Ivone Antônia de Souza

Coorientador: Prof^ª. Dr^ª. Rosângela Estevão Alves Falcão

Recife

2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Silva, Gisele Nayara Bezerra da
Investigação farmacológica de atividades biológicas em extrato etanólico das folhas de *Momordica charantia* / Gisele Nayara Bezerra da Silva. - 2020.

59 f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ivone Antônia de Souza.
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Rosângela Estevão Alves Falcão.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, Recife, 2020.
Inclui referências e anexos.

1. Plantas medicinais. 2. Drogas – Resistências em microrganismos. 3. Plantas – Composição. I. Souza, Ivone Antônia de (orientadora). II. Falcão, Rosangela Estevão Alves (coorientadora) III. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-109

GISELE NAYARA BEZERRA DA SILVA

**INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS EM EXTRATO ETANÓLICO
DAS FOLHAS DE *Momordica charantia***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências, da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Aprovada em: 27/02/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a. Ivone Antônia de Souza (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dr^a. Eliete Cavalcante de Silva (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dr^a. Patrícia Lins Azevedo do Nascimento (Examinador Externo)

Centro Universitário Tabosa de Almeida/ ASCES-UNITA

A minha mãe por todo companheirismo, compreensão, grande amor de carinho.

A meu pai por todo apoio, respeito e amor.

A minha irmã Juliana por sempre está a meu lado em todos os momentos.

A minha inesquecível avó por todo conhecimento transmitido com todo carinho sobre plantas e suas curas, amor e pelo seu respeito (*in memoriam*),

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada seria possível. À minha família que sempre me apoia em todos os momentos. Agradeço à Professora Ivone Antônia de Souza por seu acolhimento, compreensão e pelo apoio para a realização deste trabalho. Agradeço à Professora Rosângela Estevão Alves Falcão pela orientação, por todo apoio, compreensão e apoio para a realização deste trabalho. Aos colegas do grupo de pesquisa “Produtos Naturais”, às amigas Nabuêr, Tamires, Marcela e Marília por todo apoio e momentos de descontração. Aos docentes da Universidade de Pernambuco - *campus* Garanhuns por todo apoio e por todo conhecimento proporcionado. Aos docentes do programa de Pós-graduação em Morfotecnologia por todo conhecimento proporcionado ao longo do curso. Elaine, Laura e Edjalma, técnicos dos laboratórios da Universidade de Pernambuco (UPE) por todo auxílio nos experimentos. A todos os envolvidos meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

As plantas apontadas como medicinais fornecem um amplo material de estudo exploratório sobre propriedades farmacológicas na botânica. Entre estas propriedades destacam-se as atividades antioxidante e antimicrobiana, visto que na atualidade a exigência por antibióticos mais eficazes torna-se uma necessidade cada vez maior, em decorrência da rápida resistência adquirida pelos micro-organismos. E se tratando de antioxidantes, é imprescindível uma alternativa para contornar o excesso de radicais livres no organismo e suas consequências. Portanto o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante, quantificação do teor de fenólicos, atividade antimicrobiana, bem como realizar ensaio toxicológico em folhas de *Momordica charantia*, popularmente conhecida por melão-de-são-caetano, comumente utilizada na medicina alternativa. Para avaliação da capacidade de sequestro de radicais livres foi escolhido o método DPPH e ABTS. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão por poço, frente a cepas *Klebsiella pneumoniae* ATCC 29665, *Enterococcus faecalis* ATCC 6057 e *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416. O extrato etanólico mostrou pouca atividade antimicrobiana na concentração de 100 mg/mL, exibindo diâmetro de halo formado de 7,3 mm frente às cepas *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*. Na concentração de 50mg/mL não houve inibição do crescimento bacteriano, possivelmente em decorrência da resistência exibida por estes micro-organismos, além da formação de biofilme dos mesmos. A porcentagem de captura de radical aumentou conforme a elevação da concentração final da amostra, exibindo certa similaridade com demais trabalhos presentes na literatura científica. No ensaio toxicológico, as células continuaram viáveis em todas as concentrações do extrato. Na avaliação fitoquímica foi possível identificar a presença de compostos como flavonoides e saponinas. Entretanto há uma necessidade de uma abordagem minuciosa para a detecção de compostos responsáveis por tal atividade.

Palavras chaves: Antimicrobiano. Antioxidante. Melão-de-são-caetano. Plantas medicinais.

ABSTRACT

The plants identified as medicinal provide a broad exploratory study material on pharmacological properties in botany. Among these properties stand out the antioxidant and antimicrobial activities, since nowadays the requirement for more effective antibiotics becomes an increasing need, due to the rapid resistance acquired by microorganisms. And when it comes to antioxidants, an alternative is essential to circumvent the excess free radicals in the body and its consequences. Therefore, the present work aimed to evaluate antioxidant activity, quantification of phenolic content, antimicrobial activity, as well as to perform toxicological assay on leaves of *Momordica charantia*, popularly known as são caetano melon, commonly used in alternative medicine. To evaluate the sequestration capacity of free radicals, the DPPH and ABTS method were chosen. Antimicrobial activity was evaluated by the well diffusion method against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 29665, *Enterococcus faecalis* ATCC 6057 and *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416. The ethanol extract showed little antimicrobial activity at the concentration of 100 mg/mL, showing a halo diameter formed of 7.3 mm compared to the *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* strains. At the concentration of 50mg/mL there was no inhibition of bacterial growth, possibly due to the resistance exhibited by these microorganisms, besides the formation of biofilm of them. The percentage of radical capture increased according to the increase of the final concentration of the sample, showing a certain similarity with other studies present in the scientific literature. In the toxicological assay, the cells remained viable at all concentrations of the extract. In the phytochemical evaluation it was possible to identify the presence of compounds such as flavonoids and saponins. However, there is a need for a thorough approach to the detection of compounds responsible for such activity.

Keywords: Antimicrobial. Antioxidant. St. Caetano's Melon. Medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ilustração dos frutos, folhas e flor de <i>Momordica charantia</i>	22
Figura 2- Rotoevaporação do extrato etanólico das folhas de <i>Momordica charantia</i>	28
Figura 3- Efeito do extrato MC-EtOH sobre a viabilidade celular de fibroblastos (3T3).....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Identificação botânica da espécie trabalhada e número de tombamento.....	28
Tabela 2- Resultado do antibiograma por difusão por poço expresso em média do diâmetro do halo formado em triplicata.....	35
Tabela 3- Leitura do inóculo em espectrofotômetro a 600 nm (tempo 0h e 24h).	37
Tabela 4- Leitura do biofilme bacteriano	37
Tabela 5- Resultados do DPPH e da CE50 DPPH do extrato etanólico das folhas de <i>M. charantia</i> e padrão ácido ascórbico	39
Tabela 6- Resultados da atividade antioxidante pelo método ABTS do extrato etanólico das folhas de <i>M. charantia</i> concentração inicial 1,0 mg/mL.....	40
Tabela 7- Quantificação de fenólicos totais das amostras	42
Tabela 8- Resultado qualitativo de identificação de compostos secundários.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS+	Radical ABTS
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
ANOVA	Análise de variância
ATCC	American type culture collection
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidade ótica
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EtOH	Etanol
FeCl ₃	Cloreto de ferro
K ₂ SO ₅	Persulfato de potássio
MC	Melão-de-são-caetano
MC-EtOH	Extrato etanólico de melão-de-são-caetano
mg EAG/mL	miligrama equivalente de ácido gálico por mililitro de extrato
NaOH	Hidróxido de sódio
RPM	Rotação por minuto
TSB	Tryptic Soy Broth
UFPEDA	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
μL	Microlitros
μg	Microgramas
mL	Mililitros
g	Gramas
mM	Milimolar
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Geral	17
1.1.2 Específicos	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 A EMPREGABILIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS AO LONGO DA HISTÓRIA	19
2.1.1 O uso de plantas medicinais por comunidades tradicionais	21
2.2 MELÃO-DE-SÃO-CAETANO PROPRIEDADES COMPROVADAS E UTILIZAÇÃO NA MEDICINA POPULAR	22
2.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA: ALTERNATIVAS PARA CONTORNAR ESSA PROBLEMÁTICA	24
2.4 RADICAIS LIVRES COMO PONTO CRUCIAL NO DESENVOLVIMENTO DE MALES À SAÚDE	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	28
3.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO	28
3.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	28
3.3.1 Antibiograma de difusão por poço.....	29
3.3.2 Avaliação da formação de biofilme bacteriano.....	29
3.3.2.1 Revelação do biofilme.....	30
3.4 ATIVIDADES ANTIOXIDANTES.....	30
3.4.1 Verificação da capacidade de sequestro de radicais livres dpph	30
3.4.2 Ensaio para avaliação do sequestro do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzenotiazolin) 6-ácido sulfônico (ABTS)	31
3.5 MÉTODO <i>IN VITRO</i> PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	32
3.6 ANÁLISE FITOQUÍMICA QUALITATIVA	32

3.6.1 Identificação de saponinas	32
3.6.2 Identificação qualitativa de antraquinona	32
3.6.3 Identificação qualitativa de taninos	33
3.6.4 Identificação qualitativa de flavonoides pela reação com cloreto de alumínio.....	33
3.7 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	33
3.7.1 Cultura de células	33
3.7.1.2 Ensaio de viabilidade celular	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 ATIVIDADES BIOLÓGICAS	35
4.1.2 Atividade antimicrobiana pelo método de difusão por poço do extrato etanólico de <i>Momordica charantia</i>	35
4.1.3 Atividade avaliadora de formação de biofilme	37
4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	38
4.2.1 Atividade antioxidante pelo método DPPH.....	38
4.2.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS	39
4.3 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS.....	40
4.4 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA QUALITATIVA.....	43
4.5 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>.....	44
5 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO A – COMPROVAÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DO ESPECÍME VEGETAL.....	59

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais exercem forte influência no que diz respeito a métodos curativos. Sendo objeto de estudo, devido à presença de inúmeros compostos secundários de interesse científico. Estas plantas sempre estiveram presentes na sociedade humana, sendo empregadas tanto para cura quanto para a prevenção de doenças em homens e animais (LOPES et al., 2016). Desde as antigas civilizações o homem já utilizava as plantas como um auxiliar para a manutenção da saúde ou inserindo-as em sua alimentação, fazendo-se a diferenciação das propriedades benéficas das que poderiam trazer algum risco, através da observação comportamental dos animais (TOMAZZONI et al., 2006).

Nota-se o crescente número de investigações relacionadas a efetividade em extratos produzidos a partir de organismos vegetais, isto em decorrência ao aumento da popularidade dos produtos naturais (MARTINS, CASALI, 2019). Os compostos secundários presentes em plantas, são empregados como modelo para a formulação de fármacos pela indústria farmacêutica (SILVA et al., 2020). Desse modo as plantas medicinais podem desempenhar inúmeras funções terapêuticas a exemplo de espécies com propriedades antimicrobianas e antioxidantes. “A pesquisa de antibióticos em plantas medicinais é uma alternativa para descoberta de novos agentes capazes de sensibilizar bactérias multirresistentes.” (MENDONÇA et al., 2016, p. 827).

Lima et al. (2019) definem os antibióticos como substâncias medicamentosas com capacidade de inibir o crescimento microbiano ou ocasionar morte em determinadas bactérias e fungos. O uso errôneo de antibióticos, atualmente tem tornado mais complexo o tratamento contra infecções de ordem bacteriana. Nathan e Cars (2014) atribuem a resistência a determinados antibióticos às alguns isolados clínicos dentre estes as espécies *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Estes micro-organismos resistentes tem se tornado um problema para a saúde em decorrência de sua resistência apresentada a antibióticos, o que diminui assiduamente a escolha de medicamentos para sanar estes casos (ARIAS; ANDRADE; GONZALES-ESCALANTE, 2019).

Relacionado à temática antioxidante, Shami e Moreira (2004) classificam os radicais livres como átomos ou moléculas que contém elétrons não pareados.

Produzindo ou sendo resultante de reações de óxido-redução (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Martelli e Nunes (2014) enfatizam que muitos radicais conhecidos como, por exemplo, a hidroxila $\text{OH}\cdot$ e o superóxido $\text{O}_2\cdot^-$, possuem a capacidade de doar ou receber elétrons (MARTELLI; NUNES, 2014). Para estabilizar os radicais, uma alternativa são os antioxidantes que podem apresentar atividade enzimática impedindo a oxidação; dependendo do modo de ação, os mesmos podem doar elétrons aos radicais livres tornando-os estáveis (ANGELO; JORGE, 2007). Dessa forma, metabólitos secundários como os fenólicos de origem vegetal, podem proporcionar melhor solução na contenção e eliminação destes radicais.

Porém torna-se necessário uma abordagem mais minuciosa, visto que a toxicidade apresentada pela planta poderá trazer riscos aos consumidores em sua forma natural. Pinheiro et al. (2020) esclarece que todas as plantas possuem toxicidade em maior ou menor grau, estando relacionada a produção de constituintes metabólitos. Os efeitos tóxicos podem surgir pela interação entre os produtos oriundos de plantas com outros medicamentos sintéticos, podendo promover efeitos indesejáveis (BALBINO; DIAS, 2010). Assim a toxicologia tem por finalidade analisar substâncias oriundas de plantas, para possível identificação dos danos que poderá causar ao organismo a nível bioquímico, celular e molecular (DIAS et al., 2017).

Isto se deve não somente a variedade de substâncias presentes nestes organismos vegetais, mas também está intimamente relacionado às concentrações apresentadas por estas substâncias que além de desempenhar atividades biológicas, poderão ser contribuintes do perfil toxicológico destas plantas (RIBEIRO et al., 2019). Entende-se então que testes laboratoriais são extremamente necessários para o conhecimento de quais plantas apresentam toxicidade, daquelas que são consideradas medicinais (FERNANDES; FÉLIX; NOBRE, 2016). Portanto, investigações farmacológicas podem trazer informações a respeito destas ervas, atuando não somente na descoberta de compostos ativos, mas também salientando sobre o uso correto, proporcionando maior segurança no que diz respeito à dose terapêutica (BRAGA et al., 2019).

Das plantas medicinais de uso popular destaca-se a espécie *Momordica charantia* L., uma erva daninha conhecida popularmente por melão-de-são-caetano, pertencente à família Cucurbitaceae. A mesma pode ser encontrada em áreas tropicais da Ásia, sendo também comum no Brasil onde é utilizada como cicatrizante,

antiparasitário e como hipoglicemiante (CORDEIRO et al., 2010). Outras funções atribuídas à planta, também já foram comprovadas tais como: atividade fungitóxica (FARIA et al., 2009) e anti-helmíntica (GOMES et al., 2010). Por se tratar de uma planta com grande potencial farmacológico, torna-se imprescindível um estudo aprofundado sobre o melão-de-são-caetano.

Na medicina alternativa encontram-se valiosas informações sobre a utilização de plantas medicinais a exemplo do melão-de-são-caetano. Portanto pesquisas que envolvam uma maior explanação sobre esta planta é de extrema importância, pois se torna necessário a comprovação de suas funções terapêuticas, validando ou não o seu uso popular. Uma vez que, plantas poderão apresentar diferentes níveis de toxicidade, exercendo assim um efeito adverso. E caso haja a comprovação de que tal erva não exerce a função terapêutica esperada a mesma poderá ser considerada apenas como um efeito placebo. Desse modo, investigações científicas são indispensáveis para a coleta de dados e comprovação dos seus efeitos medicinais em laboratório.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 GERAL

Tendo em vista o grande potencial na natureza envolvendo a busca de compostos secundários que exerçam funções terapêuticas como atividade antioxidante e antimicrobiana, este trabalho teve por objetivo avaliar diversas atividades biológicas em folhas de *Momordica charantia*, uma planta comumente utilizada na medicina alternativa para prevenção e tratamento de diversas doenças.

1.1.2 ESPECÍFICOS

- Destacar o uso de plantas medicinais em diferentes sociedades humanas;
- Explanar sobre os mais diversos usos da espécie *Momordica charantia* dentro da medicina alternativa.
- Analisar atividade antimicrobiana do extrato etanólico.
- Avaliar a formação de biofilme das cepas bacterianas selecionadas.
- Realizar testes fitoquímicos qualitativos para identificação de metabólitos.
- Determinar a quantificação do teor de fenólicos totais do extrato bruto.
- Analisar a atividade antioxidante pela a capacidade de sequestro de radicais livres pelo método DPPH e ABTS.
- Investigar a citotoxicidade do extrato bruto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A EMPREGABILIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS AO LONGO DA HISTÓRIA

Sabe-se que as plantas consideradas curativas já eram empregadas pelo homem a milhares de anos, tendo como ponto de partida o empirismo popular pelo processo de acertos e erros (GADELHA et al., 2013). Sendo datada desde eras como a pré-história (SILVA et al., 2017). Esta considerada uma das práticas mais antigas da humanidade (VEIGA JUNIOR et al., 2005), teve início pela observação de animais que acometidos por agravos, buscavam através da ingestão destes vegetais o alívio para tais doenças (SANTOS et al., 2011). Assim como cita Tomazzoni et al. (2006), alguns animais domésticos ingeriam cafeeiros selvagens (*Coffea arábica* L.) e eram observados por religiosos, que constataram que a ação da tal planta ocasionara um estado de excitação nestes animais, o que contribuiu para a inclusão do café no dia a dia do homem, visto que este lhes proporcionava um estado de vigília.

É importante salientar que o conhecimento tradicional de plantas medicinais está interligado a cultura local, sendo possível observar sua trajetória ao longo da história em diferentes sociedades humanas. Parte destes registros foram escritos em diversas culturas como a babilônica, hebraica e assíria, além de outras civilizações como a grega e a egípcia (PIRES, 1984). Segundo Devienne, Raddi e Pozetti (2004), em 2.600 a. C. os babilônios e sumerianos já aplicavam partes como folhas, frutos, flores, cascas e raízes de plantas como oliveira, alho e lótus para a cura de doenças. Em algumas investigações de ordem etnobotânica foi possível identificar alguns medicamentos produzidos a partir de plantas, registrados em objetos como tabuinhas de argilas em escrita cuneiforme, pelos sumérios na região da Mesopotâmia a cerca de 3.000 a. C. (SILVA et al., s/d).

Desse modo é possível observar que o conhecimento a respeito desta temática encontra-se não somente na transmissão oral, mas em sua forma escrita assim como abordado pelos autores acima citados, sendo possível deparar-se com esses registros documentados em manuscritos. Todo conhecimento em torno de tais ervas, teve origem na China e no Egito, onde posteriormente houve a disseminação desta sabedoria para as demais sociedades (MARTINS; GARLET, 2016). Um registro de grande importância

também considerado um dos pioneiros em um texto chinês datado de 500 a. C, relata a indicação e a dose terapêutica destes vegetais (OLIVEIRA et al., 2018). Ainda na China há registros fitoterápicos do período de 2838 – 2698 a. C., onde constam cerca de 365 ervas e venenos que foram catalogadas pelo imperador chinês Shen Nung (FRANÇA et al., 2008). Neste mesmo registro outras plantas foram catalogadas e incluídas em dinastias como a dinastia Tang sendo inseridas 884 plantas e 1122 ervas na dinastia Song (CAVALLAZZI, 2006).

De acordo com Firmo et al. (2011), na sociedade egípcia foram documentadas a empregabilidade de ervas em um manuscrito denominado (Ebers Papyrus) no período de 1.500 a. C. contendo cerca de 811 prescrições e 700 drogas, ressaltando a utilização nos dias atuais de plantas como *Panax* spp. conhecida popularmente como Ginseng. No mesmo manuscrito havia a descrição de dose recomendada e indicação e para qual tratamento deveriam ser aplicadas (CAVALCANTE; REIS, 2018). No Egito além de fins medicinais estas plantas eram usadas no processo de mumificação (BRAGA, 2011).

Na Grécia Antiga a utilização de plantas já era muito comum, tendo como pai da medicina Hipócrates, que indicava aos demais a erva correta para cura daquela determinada patologia (CAMPELO; RAMALHO, 1989). Justamente nesta localidade a palavra fitoterapia teve sua origem, onde *therapia* (significa tratamento) e *pyton* (significa vegetal), tornando-se uma área onde seu objetivo é o estudo de plantas medicinais como tratamento para doenças (MOTTA; LIMA; VALE, 2016). No início da Era Cristã houve o surgimento de um catálogo contendo cerca de 600 espécies vegetais produzidas pelo grego Dioscórides, contendo algumas prescrições em uma obra intitulada (De Matéria Médica), causando impacto e sendo ainda utilizada na botânica até os dias atuais (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006).

No Brasil o uso de plantas medicinais no cotidiano é datado antes mesmo da chegada dos portugueses neste país, a cerca de 1.500 (ROCHA et al., 2015). Após a vinda de africanos para o Brasil, houve então uma troca de conhecimentos com os indígenas que aqui estavam, sobre as plantas medicinais e suas origens, sendo empregadas para fins curativos e ritualísticos (ALMEIDA; BARBOSA; SANTANA, 2012). A medicina indígena exerceu forte influência e foi incorporada a farmacopeia dos colonizadores, e no decorrer dos séculos XVI, XVII e XVIII inúmeros produtos

originados a partir da flora, foram levados e comercializados para vários países do continente europeu (ROCHA et al., 2015).

É visível a importância que o conhecimento tradicional sobre a medicina alternativa trouxe para as mais diferentes sociedades. Investigações sobre este conhecimento que está inserido em múltiplas comunidades proporcionam dados para a constituição de pesquisas em áreas farmacológicas, fitoquímicas entre outras (SOARES et al., 2015). Para Ribeiro et al. (2014) este conhecimento provavelmente originou-se a partir de princípios que foram fundamentais para o surgimento do empirismo, tendo seu embasamento conforme surgiam exigências primordiais rotineiras.

2.1.1 O uso de plantas medicinais por comunidades tradicionais

O conceito de planta medicinal está relacionado a organismos pertencentes ao reino vegetal que possuem um ou mais princípios ativos de ordem terapêutica (CAMPELO; RAMALHO, 1989). As medicações de origem natural, extraídas de plantas eram produzidas e administradas por mulheres em tribos primitivas, conforme a evolução chegara, esse papel importantíssimo tornou-se um cargo denominado curandeiro (FRANÇA et al., 2008). O conhecimento sobre a medicina alternativa é proveniente da comunicação oral que ocorre entre os integrantes mais velhos, conhecidos por diversas nomenclaturas tais como raizeiros, benzedeiros, sendo transmitido entre as gerações (GUARIM-NETO, 2006).

Referente a empregabilidade de plantas medicinais, os brasileiros possuem saberes relacionados a esta temática (FRANCO; BARROS, 2006). Destacando principalmente as comunidades tradicionais, como por exemplo, as comunidades indígenas e quilombolas. No Brasil o conhecimento tradicional está difundido, trazendo consigo uma riqueza de informações quanto à forma de cultivo e o uso principalmente da flora local. Isto devido a intensa variabilidade da flora presente neste país (COAN; MATIAS, 2014). Tal biodiversidade impactaram os primeiros europeus que chegaram a terras brasileiras, principalmente em relação aos costumes indígenas no que diz respeito à utilização de plantas medicinais, havendo posterior mescla no conhecimento tradicional de plantas com dos europeus e escravos, com plantas oriundas do continente Africano (GIRALDI; HANAZAKI, 2010).

2.2 MELÃO-DE-SÃO-CAETANO PROPRIEDADES COMPROVADAS E UTILIZAÇÃO NA MEDICINA POPULAR

Dentre as plantas consideradas medicinais destaca-se a espécie *Momordica Charantia*, conhecida popularmente no Brasil por melão-de-são-caetano. Nativa de regiões da Ásia tropical (JATAV; SINGH, 2016), pertence à família Cucurbitaceae sendo conhecida vulgarmente na Índia como cabaço amargo ou karela (CEBALLOS et al., 2017), chamada de Mara Kee Nok em tailandês (MANEENIN et al., 2018), possui um característico sabor amargo (ASSIS et al., 2015). Em geral as curcubitáceas podem ser encontradas como plantas arbustivas espinhosas ou até mesmo como árvores, podendo apresentar características morfológicas como folhas alternadamente simples, flores com coloração amarela ou branca, sendo unissexuais (WANG et al., 2017).

As hortaliças pertencentes a este grupo são amplamente encontradas em regiões subtropicais e tropicais, dentre as quais a espécie *Cucurbita maxima* destaca-se em decorrência do tamanho dos seus frutos, sendo por vezes alvo de concursos de abóboras (RAJASREE et al., 2016). No Brasil as espécies pertencentes a esta família estão presentes em diversos biomas como Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica entre outros (GOMES-KLEIN; FRANCENER, 2018). A família Cucurbitaceae pertencente a ordem Cucurbitales (MACHADO; COSTA, 2019), possui cerca de 130 gêneros e 800 espécies das quais evidenciam-se os gêneros *Trichosanthes*, *Lagenaria*, *Luffa*, *Benincasa*, *Momordica*, *Cucumis*, *Citrullus*, *Cucurbita*, *Bryonopsis* e *Corallocarpus*, devido às pesquisas científicas voltadas para vegetais incluídas nestes gêneros (RAJASREE et al., 2016).

O cultivo de *Momordica charantia* está presente em continentes como Ásia, África, América do Norte até localidades como a Amazônia e Caribe (CHUNG et al., 2016). O melão-de-são-caetano é uma videira com hastes alongadas, seu fruto se assemelha com um pepino que apresenta coloração esverdeada quando imaturo, e amarelo-alaranjado ao concluir seu processo de maturação (KOMOLAFE et al., 2013). Ao atingir seu estado de maturação, ocorre uma divisão em seus frutos o que lhe permite a liberação das sementes através do processo de enrolamento para trás (PATIL; PATIL, 2011) (figura 1).

Figura 1- Ilustração dos frutos, folhas e flor de *Momordica charantia*.



A) fruto maduro, B) abertura do fruto com enrolamento para trás e exposição das sementes. C) folha com hastes, D) flor de coloração amarela.

Fonte: própria autoria.

O nome dado ao gênero *Momordica* vem do latim que significa mordida, fazendo referência ao formato das bordas de suas folhas (ASSIS et al., 2015; ANILAKUMAR; KUMAR; ILAIYARAJA, 2015). *M. charantia* vem ganhando destaque ao longo dos anos devido a suas propriedades terapêuticas. Nascimento et al. (2019) relata que já foi demonstrado em estudos que esta planta é prescrita na medicina alternativa para o diabetes, como cicatrizantes de queimaduras além de agir como vermífugo e antimicrobiano.

Dentre as atividades biológicas estudadas e atribuídas a esta espécie pode-se citar sua capacidade fungitóxica apresentado em sua parte aérea em estudos realizados por Faria et al. (2009), ovicida e larvicida (CORDEIRO et al., 2010), hepatoprotetor por modelo de lesão investigada por Pereira et al. (2010), a amenização da aterosclerose em camundongo supostamente pela diminuição de triglicerídeos e pela sua capacidade anti-inflamatória descrita por Zeng et al. (2018), propriedades antioxidante e anti-apoptótica (KIM et al., 2018), além de atuar na inibição do crescimento de células cancerosas da mama assim afirmado por Ray et al. (2010), bem como seu potencial antimicrobiano (LUCENA FILHO et al., 2015).

2.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA: ALTERNATIVAS PARA CONTORNAR ESTA PROBLEMÁTICA

Atualmente a resistência bacteriana a antibióticos tornou-se um dos agravos persistentes, que tem despertado em áreas oriundas da ciência, meios para contornar essa realidade. A problemática está relacionada à escolha correta do antibiótico para o tratamento de infecções promovidas por cepas multirresistentes, o que pode comprometer o quadro do paciente podendo por vezes levá-lo a óbito, devido ao tratamento com antibióticos inapropriados (BORTOLOTTI et al., 2018). A caracterização de resistência dada a uma determinada espécie bacteriana é promovida pela virulência presente na mesma, o que lhe confere a capacidade de adaptação ao ambiente (ROCHA et al., 2018).

A resistência bacteriana ocorre em decorrência da evolução da espécie por meio de mecanismos, que surgem devido à exposição de cepas a antibióticos, mesmo aqueles prescritos corretamente (SAMPAIO et al., 2018). Entre os mecanismos pode-se citar a formação do biofilme, que caracteriza-se pela formação de um material envolto da colônia bacteriana que às aderem em superfície (FREIRE et al., 2018). Alves et al. (2016) afirmam que o biofilme bacteriano caracteriza-se como uma organização estruturalmente funcional em meio a matrizes poliméricas que são sintetizadas por estes micro-organismos.

Já para Vázquez et al. (2019) o biofilme forma-se a partir de células que se aderem em superfícies formando uma comunidade, a exemplo da espécie *S. aureus* citada pelos autores. Estas comunidades podem ser encontradas em ambientes com umidade ou até mesmo aquosos, em superfícies vivas ou inanimadas (VAN WOLFEREN et al., 2018). O biofilme pode ser um coadjuvante no desenvolvimento de certas patologias. O biofilme está associado a infecções crônicas e que mesmo após o término da administração de antibióticos, estas infecções perduram no organismo (SILVA, J. 2015). Para Jara et al. (2017) o biofilme pode comprometer a cicatrização de feridas crônicas, principalmente em úlceras neuropáticas, segundo os próprios autores.

Uma alternativa para combater a resistência bacteriana seria a busca por compostos na natureza. Uma vez que investigações com o intuito de encontrar compostos em plantas com ação antibiofilme tem se consagrado com o decorrer dos

anos (CENTROBI; ALIENDRO; MATTANA, 2019). Diante desta problemática, espécies como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae* tem se tornado um desafio quanto ao seu perfil de resistência. *P. aeruginosa* espécie amplamente relacionada a infecções hospitalares, possui um alto grau de resistência aos antimicrobianos (LACERDA et al., 2016), é uma bactéria Gram-negativa presente em diversos ambientes (LEE e ZHANG, 2015).

E. faecalis são bactérias Gram-positivas que produzem ácido lático (ZANDONÁ e SOUZA, 2017), estão correlacionadas a infecções endodônticas (PARADELLA et al., 2007), são encontradas no trato gastrointestinal de animais além de ambientes como solo e a água (PORTO et al., 2016). *K. pneumoniae* uma bactéria Gram-negativa (MICHALOPOULOS et al., 2008), promove infecções nos tratos respiratório e urinário podendo estar associada a quadros de bacteremia (PONTES et al., 2018), além de estar associado por vezes a pneumonia aspirativa o que contribui para o aumento da morbidade e mortalidade (ROSSI et al., 2015).

2.4 RADICAIS LIVRES COMO PONTO CRUCIAL NO DESENVOLVIMENTO DE MALES À SAÚDE

Os radicais livres podem ser caracterizados como átomos, agrupamento ou íons que possuem elétrons desemparelhados e são responsáveis pelo aparecimento de doenças degenerativas e envelhecimento precoce (MIRANDA et al., 2014). Por possuírem elétrons desemparelhados em suas órbitas mais afastadas do núcleo, estes radicais adquirem instabilidade, necessitando doar ou capturar elétrons de outras moléculas (COTINGUIBA et al., 2013). Os radicais livres podem ser encontrados em localidades como citoplasma, mitocôndrias ou até em membranas celulares (COTINGUIBA et al., 2013).

Estes radicais são formados pela reação de oxi-redução, onde podem doar elétrons produzindo a reação de oxidação ou ao obter elétrons sofrendo consequentemente a redução (LIMA; BEZERRA, 2012). Dos quais destacam-se o oxigênio singlete, os radicais superóxido, hidroxila, óxido nítrico entre outros (MIRANDA et al., 2014). Nesta perspectiva o hidróxido é considerado mais reativo, em virtude da sua capacidade de provocar lesões celulares (BIANCHI; ANTUNES, 1999; VASCONCELOS et al., 2014). Nesse sentido Vale et al. (2019) elucidam que os

radicais que são produzidos em regiões como no tecido hepático após um pico metabólico, podem promover degeneração neste tecido provocando cirrose.

Diante do exposto Bortolatto et al. (2020) apontam que o estresse oxidativo baseia-se na alteração da homeostase, ocorrendo neste período a produção destes radicais e sua contenção através do processo natural de antioxidantes celulares. Porém em excesso desses radicais são responsáveis por ocasionar mudança na permeabilidade da membrana plasmática, estando envolvidos também na ocorrência de mutação nas bases do DNA, além de promoverem a desnaturação de enzimas (DIAS et al., 2010). Os radicais livres ainda estão envolvidos no surgimento de doenças como aterosclerose, Alzheimer, diabetes, no aparecimento de doenças autoimunes bem como inflamações crônicas, são algumas patologias associadas a estes íons instáveis (SHAMI; MOREIRA, 2004). Nesse sentido Lima Neto et al. (2015) apontam ainda outras patologias resultantes do acúmulo de radicais como câncer e isquemia cerebral.

Dantas, Frank e Soares (2008) relatam que o dano oxidativo pode ser um dos responsáveis pelo desencadeamento da doença de Parkinson, pois segundo os autores os radicais atuam nas células neuronais. Uma solução para a contenção destes radicais está justamente em compostos secundários com ação antioxidante em vegetais, que vem despertando interesse por parte da Ciência. Os antioxidantes podem ser designados como substância capazes de inibir a oxidação em substratos (MORAIS et al., 2013), impedindo reações em cadeias de processos oxidativos (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). A exemplo dos fenólicos, estes que são encontrados em larga escala em organismos vegetais (MALACRIDA; MOTTA, 2005), conferindo proteção às plantas contra invasores como micro-organismos (ROCHA et al., 2011), podendo agir na captura de radicais livres derivando de compostos como ácidos benzóicos e flavonoides (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

Os flavonoides estão entre os maiores compostos secundários em plantas (SILVA, L. et al., 2015), estando presentes em partes como frutas, flores e folhas (SILVA et al., 2002), quanto a sua capacidade antioxidante são estruturalmente melhores que as vitaminas C e E possuindo uma ótima capacidade de sequestro de radical (ALVES et al., 2007), bem como possuem a capacidade de evitar a formação de EROs (espécies reativas de oxigênio) pois o processo de oxidase é impedido (JIMÉNEZ; MARTÍNEZ; FONSECA, 2009). Silva et al. (2002) descrevem algumas

propriedades farmacológicas dos flavonoides como sua capacidade de evitar a peroxidação lipídica, além de impedir que as plaquetas se agreguem.

Lopes et al. (2000) afirmam que os flavonoides além de serem reconhecidos como antioxidantes e anti-inflamatórios, também possuem ação antialérgica, são vasodilatadores e auxiliam na prevenção de tumores. Se tratando de outros compostos secundários, Schenkel et al. (2010) relatam que as saponinas estão relacionadas a atividade anti-inflamatória já descrita em vegetais como *Aesculus hippocastanum* L. Se tratando de taninos, Santos e Melo (2010) reconhecem que além de possuírem ação anti-inflamatória também atuam na cicatrização, desempenhando ação em locais que sofreram algum trauma, promovendo a sua reconstituição através da formação de um complexo protetor constituído de tanino-proteína.

É evidente a riqueza de informações que pode ser encontrada na natureza, servindo como uma ferramenta na prevenção e curas de vários males. Através de seus compostos com as mais diversas propriedades farmacológicas, porém é necessário um estudo toxicológico sobre os compostos presentes nestas espécies vegetais. Visto que muitos adeptos da fitoterapia fazem seu uso de modo a não se preocupar com os efeitos que esta pode ocasionar, mesmo sendo totalmente natural (OLIVEIRA; LUCENA, 2015). Pois nesta perspectiva Araújo et al. (2014) ponderam sobre a toxicidade que estes compostos podem trazer, principalmente as pessoas que estão incluídas em grupos suscetíveis como idosos, crianças, gestantes e portadores de doenças crônicas, além dos autores salientarem para os riscos de interações medicamentosas.

Estas interações medicamentosas ocorrem quando há uma automedicação, resultando na associação de medicamentos sintéticos e plantas medicinais, por vezes sem o conhecimento do profissional da saúde (FARIAIS et al., 2016). Carneiro e Comarella (2016) confirmam que essas interações medicamentosas no que diz respeito a absorção, podem alterar a efetividade do fármaco, podendo também interferir na quantidade de medicamento a ser absorvido.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

A coleta do material vegetal ocorreu no município de Garanhuns – PE, onde foi processado no laboratório de Biotecnologia e Inovação Terapêutica da Universidade de Pernambuco – *campus* Garanhuns para a obtenção do extrato. Referente a identificação botânica, foi feita a exsicata da planta e depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), para obtenção do número de tomo e identificação da espécie descrita na tabela 1.

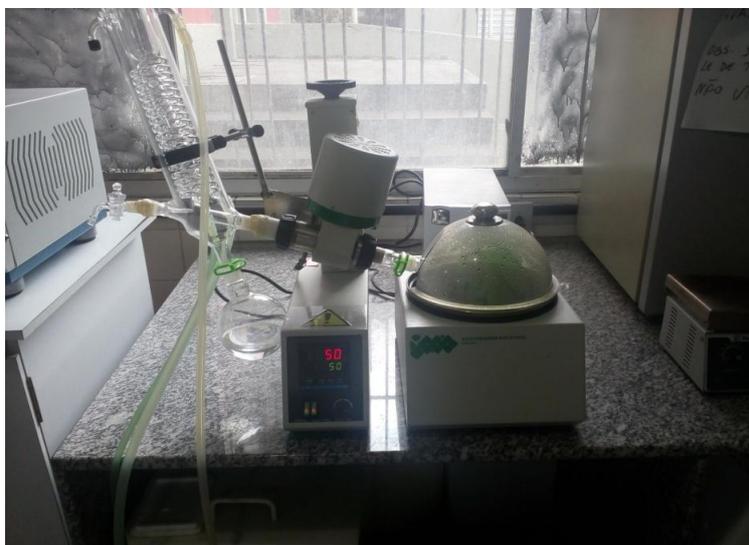
Tabela 1- Identificação botânica da espécie trabalhada e número de tombamento.

NOME CIENTÍFICO	FAMÍLIA	Nº DE TOMBAMENTO
<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae	92887

3.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

Para a preparação do extrato a 10%, foram utilizadas as folhas em etanol absoluto. Após um período de cinco dias a solução foi posta em evaporador rotativo em uma temperatura de 50°C (figura 2) até eliminação total do solvente.

Figura 2- Rotaevaporação do extrato etanólico das folhas de *Momordica charantia*.



Fonte: própria autoria.

3.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

3.3.1 Antibiograma de difusão por poço

Baseando-se na metodologia de Moody et al. (2004) com algumas modificações, o método de difusão por poço consiste em avaliar a suscetibilidade microbiana à presença de extratos vegetais. O meio sólido escolhido foi o Ágar Mueller-Hinton e para meio líquido caldo TSB (Tryptic Soy Broth). Os micro-organismos foram cedidos Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, sendo selecionadas as espécies: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 29665, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416 e *Enterococcus faecalis* ATCC 6057, padronizados pela escala de McFarland a 0,5.

Como controle positivo foi utilizado o antibiótico Cefalexina, como controle negativo foi utilizado DMSO e água deslitalada. O extrato foi previamente solubilizado em DMSO (Dimetilsulfóxido) e água destilada. Após o semeio em placa, foram perfurados poços medindo 5mm de diâmetro e depositado 20µL do extrato nas concentrações de 50mg/mL e 100 mg/mL em triplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período houve a medição do diâmetro do halo formado com auxílio de um paquímetro. Como parâmetro de medição de halos foi utilizado a classificação adotada por Matsuura (2004).

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Excel, onde foram realizados os cálculos das médias e desvio padrão das diferentes concentrações dos halos de inibição formados.

3.3.2 Avaliação da formação de biofilme bacteriano

Para o seguinte teste de aderência em placas foi utilizado a metodologia proposta por Guimarães et al. (2012) com adaptações, utilizando dados espectrofotométricos em células bacterianas que aderem a placa de microtitulação de 96 poços. Primeiramente as bactérias (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 29665, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416), foram inoculadas em caldo BHI (brain heart infusion) e incubadas por 24h a 37° C. Para a padronização, foi depositado em placa de 96 poços 200µL do inóculo, a leitura foi realizada utilizando a absorbância a 600nm, padronizando entre uma DO (Densidade ótica) de 0,145 - 0,155. Logo após foi depositado em placa de 96 poços 160µL de meio líquido e 40µL do inóculo padronizado em quadruplicata. Posteriormente foi realizada leitura (tempo 0h), a placa foi vedada e incubada por 24h. Após o período de incubação foi realizada nova leitura (tempo 24h).

Com análise dos dados obtidos (tempo 0h e 24h) na leitura da densidade ótica foi feita a média das quadruplicatas de cada espécie incluindo o branco como controle de esterilidade (somente meio líquido), para se ter o conhecimento do crescimento bacteriano.

3.3.2.1 Revelação do biofilme

Método baseado em XU et al. (2016) com adaptações, onde visa corar o biofilme formado pelas bactérias com cristal violeta. Após o crescimento bacteriano em placa de 96 poços, a mesma foi vertida em becker para a retirada do sobrenadante. Logo após houve a lavagem da placa com solução salina a 0,9%, sendo depositado 200 µL em cada poço, posteriormente foi retirado a solução, repetindo-se este processo por mais duas vezes. Para a fixação do biofilme, a placa foi incubada em estufa a 55° C por 1h. Para corar as bactérias que aderiram à placa, foi adicionado 200 µL de cristal de violeta a 0,4% em cada poço, deixando em repouso por 15 minutos. Logo após ocorreu a lavagem da placa seguida da aplicação de 200 µL de etanol absoluto, a placa foi deixada em repouso por 30 minutos seguida da realização da leitura da DO a 570 nm.

Para a análise de dados foi utilizados critérios adotados por Lima et al. (2017), onde após a obtenção das médias dos isolados (DO_i), houve a comparação com a média do controle de esterilidade (DO_c). Ocorrendo a classificação de acordo com o autor acima citado:

- Não produtores de biofilme: $DO_i \leq DO_c$;
- Fracos produtores de biofilme: $DO_c < DO_i \leq 2x DO_c$;
- Moderados produtores de biofilme: $2x DO_c < DO_i \leq 4x DO_c$;
- Fortes produtores de biofilme: $4x DO_c < DO_i$;

3.4 ATIVIDADES ANTIOXIDANTES

3.4.1 Verificação da capacidade de sequestro de radicais livres DPPH

O procedimento foi baseado na metodologia empregada por Brand-Williams et al. (1995) e Rufino et al. (2007a) com algumas modificações. Este processo consiste em verificar a capacidade de sequestro do radical livre DPPH. Para a curva padrão foi utilizado o ácido ascórbico a 0,1mg/mL como padrão positivo, nesta etapa foi utilizado o DPPH em uma concentração de 0,5 a 6,0 µg/mL. À amostra foi adicionada etanol e

DPPH em uma concentração final de 5,0 µg/mL a 200 µg/mL. Tanto o padrão positivo quanto a amostra foram distribuídas em placa de 96 poços em triplicata, sendo agitados à abrigo da luz e levado para UV-vísivel para realização da leitura a 517nm. A atividade sequestradora foi definida através da fórmula:

$$AS (\%) = 100 \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}}$$

O resultado da atividade antioxidante foi expresso em CE₅₀. De acordo com Ribeiro et al. (2007) a CE₅₀ está relacionada a concentração necessária para conter 50% do radical DPPH.

3.4.2 Ensaio para avaliação do sequestro do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzenotiazolin) 6-ácido sulfônico (ABTS)

As metodologias de Re et al. (1999), Rufino et al. (2007b), Han et al. (2011) e Zhu et al. (2011) com adaptações foram usadas para avaliar a atividade antioxidante pelo sequestro do radical ABTS. Com este método consegue-se identificar se a amostra possui a capacidade de captura do radical ABTS estabilizando-o. Para o ensaio foi preparado uma solução estoque de ABTS a 7,0mM. Para a preparação da solução estoque de persulfato de potássio a 140 mM foi dissolvido 37,84 mg de K₂SO₅ em 1,0 mL de água destilada. A partir da solução estoque de ABTS foi preparado a solução do radical cátion ABTS⁺, onde foi adicionado 2,5 mL da solução estoque de ABTS em 44,0 µL da solução estoque de persulfato de potássio (140,0mM). A mistura foi homogeneizada e deixada em repouso a abrigo da luz e em temperatura ambiente por 16h.

Para a preparação da solução de ABTS para análise, houve a diluição do radical ABTS⁺ em etanol e realizado a leitura para que atingisse a DO de 0,7 ± 0,05 em espectrofotômetro no comprimento de onda de 734 nm. Como controle positivo foi utilizado TROLOX a 0,1 mg/mL onde foi dissolvido 1,0 mg em 10 mL de etanol homogeneizando. Para a curva foram utilizadas concentrações de 0,5 a 5,0 µg/mL. Para a amostra foi utilizado a concentração inicial de 1,0 mg/mL. A concentração final da amostra variou entre 40,0 µg/mL a 500,0 µg/mL utilizando a formula C₁xV₁=C₂xV₂. Para o cálculo da atividade sequestradora foi empregada a fórmula abaixo:

$$AS (\%) = 100 \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}}$$

3.5 MÉTODO *IN VITRO* PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

Baseado na metodologia de Souza et al. (2007), Gulcin et al. (2004) com adaptações, onde este método consiste em quantificar o teor de compostos fenólicos em extratos vegetais. Como controle positivo foi utilizado o ácido gálico a 0,5 mg/mL. Para a formulação da curva padrão além do ácido gálico foi utilizado uma solução de carbonato de sódio a 15% e uma solução de Folin Ciocalteu a 3%. Para o preparo da solução da amostra, o extrato bruto foi dissolvido em etanol na concentração de 1,0 mg/mL.

Após a preparação das soluções acima citadas, estas foram deixadas para reagir em repouso durante duas horas. Após este período ambas as soluções foram depositadas em 300 µL em uma placa de microtitulação de 96 poços e realizada a leitura em UV-vísivel em absorbância de 760 nm. Para o branco foi utilizado água destilada. Para calcular a quantidade em mg de fenólicos totais por g de extrato foi utilizado a equação abaixo:

$$X (mg) = \frac{\text{Conc. Eq em Ác. gálico (mg/mL)}}{\text{Concentração da amostra (g/mL)}}$$

3.6 ANÁLISE FITOQUÍMICA QUALITATIVA

3.6.1 Identificação qualitativa de saponinas

Metodologia adaptada da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009a), 2g da droga em pó foi submetido a fervura em 10 mL de água destilada durante 3 minutos. Logo após houve agitação verticalmente do tubo de ensaio por 15 segundos. Após a formação da espuma na solução, houve a demarcação da mesma e a contabilização de 15 minutos em repouso. Após este período houve a observação da reação apresentada pela solução.

3.6.2 Identificação qualitativa de antraquinona

Baseado em Soares et al. (2009), em 0,2g da folha de *M. charantia* foi adicionado 1 mL de NaOH a 10%, agitando-se durante 2 minutos. Logo após foi adicionado mais 1 mL de NaOH a 10% observando-se a mudança de coloração. Tendo como positivo a coloração rósea.

3.6.3 Identificação qualitativa de taninos

Teste executado segundo a metodologia da Farmacopeia Brasileira (2010) e Matos (1997) com adaptações. Em 2g da folha de melão-de-são-caetano foi adicionado 50 mL de água destilada e submetido a fervura durante 15 minutos. Logo após foi acrescentando uma solução de FeCl₃ a 1% em metanol observando a mudança na coloração. Positivo quando apresentar coloração azul.

3.6.4 Identificação qualitativa de flavonoides pela reação com cloreto de alumínio

Metodologia adaptada da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009b) e Costa (2015). Para a extração, 1g da folha em 10 mL de solução de EtOH a 70% foi submetido a fervura por 2 minutos, logo após foi filtrado. Tiras de papel filtro foram umedecidos com o extrato alcoólico obtido. Em uma das regiões foi depositado solução de AlCl₃ a 5%, comparando a fluorescência sob luz ultravioleta (ondas longas), para observar mudança na coloração. Positivo havendo intensificação da fluorescência apresentando coloração verde amarelado.

3.7 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE *IN VITRO*

3.7.1 Cultura de células

A linhagem de fibroblastos dérmicos murino (3T3) foi cultivada em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de glutamina e 100 U de penicilina 10 µg de estreptomicina/mL a 37 °C com 5% de CO₂. As células foram manuseadas em ambiente estéril de câmara de fluxo laminar vertical e cultivadas em frascos plásticos para cultura (25 cm², volume de 50 mL ou 75 cm², volume de 250 mL, Corning).

3.7.1.2 Ensaio de viabilidade celular

O efeito citotóxico do extrato MC-EtOH foi avaliado pelo ensaio de MTT (MOSMAM, 1983). As células (7 x 10³ células/poço) foram plaqueadas em microplacas

de 96 poços e mantidas em estufa de CO₂ por 16 horas para adesão das células. Após esse período, o meio de cultura de cada poço foi desprezado, em seguida foi adicionado o uma solução do extrato MC-EtOH diluídas em meio de cultura DMEM, em diferentes concentrações (3,91; 15,625; 62,5; 125; 250 ou 500 µg/mL), Tween 20 (3%) (controle positivo) ou DMSO (0,005%) (agente solubilizante do extrato).

Após a incubação por 24 h, a 37 °C em estufa de CO₂, foi adicionado 22,5 µL de MTT ([brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio)] (Sigma-Aldrich EUA) na concentração de 5 mg/mL e mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂ por 4 horas. Após o período de incubação, o sobrenadante foi desprezado e resuspenso em 100 µL de dimetilsufóxido (DMSO), para solubilizar o formazan produzido. A viabilidade celular foi quantificada através da habilidade das mesmas em reduzir o corante amarelo MTT em azul de formazan, através da atividade da enzima succinil desidrogenase presente nas mitocôndrias de células viáveis. A densidade óptica (OD) da solução em cada poço foi registrada a 540 nm. O percentual de viabilidade celular foi determinado em relação à amostra de controle: (absorbância de células tratadas/absorbância de células não tratadas) x 100%.

3.7.1.3 Análises estatísticas

Os resultados da análise de viabilidade celular foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), realizados em triplicata e analisados estatisticamente empregando-se o test *t* ou a análise de variância (ANOVA), seguida do pós-teste de Dunnett. Os resultados foram considerados significantes quando $p < 0,05$. Todos os dados foram analisados pelo programa GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.1.2 Atividade antimicrobiana pelo método de difusão por poço do extrato etanólico de *Momordica charantia*

Para o antibiograma foi calculado a média da triplicata dos halos formados e expressa na tabela 2.

Tabela 2- Resultado do antibiograma por difusão por poço expresso em média do diâmetro do halo formado em triplicata.

Espécies	CONCENTRAÇÃO DAS AMOSTRAS (mm)			Antibiótico (Cefalexina 100 mg/mL)
	100 mg/mL	50 mg/mL	CN	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,3 ± 0,5	-	-	23 ± 0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,3 ± 0,5	-	-	22,6 ± 0,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	7,3 ± 0,5	-	-	24 ± 2,6

Legenda: (-) sem atividade, (CN) controle negativo DMSO + água destilada.

Observa-se que diante dos resultados contidos na tabela 2, o extrato não obteve êxito na inibição do crescimento bacteriano na concentração de 50 mg/mL. Na concentração de 100 mg/mL as médias obtidas dos halos formados ainda foram menores se comparado com os halos formados do controle positivo. De acordo com Matsuura (2004), halos com diâmetro de 7 a 10 mm são considerados com baixa atividade antimicrobiana, halos de 11 a 14 mm possuem atividade moderada, halos com diâmetro acima de 14 mm podem ser considerados com uma alta atividade e aqueles que estão abaixo desta classificação são considerados com ausência de atividade. No teste apresentado na tabela 2, o extrato de *M. charantia* frente à *K. pneumoniae* de acordo com o autor citado, pode ser classificado com ausência de atividade, *E. faecalis* e *P. aeruginosa* a atividade antimicrobiana pode ser classificada como baixa.

Saeed e Tariq (2005) verificaram a atividade antimicrobiana de algumas plantas dentre estas o melão-de-são-caetano, através da difusão por poço, utilizando o suco da polpa e pele do fruto, obtendo resultados positivos na inibição do crescimento de cepas como *P.aeruginosa* e *K. pneumoniae* para ambos os sucos testados. Utilizando o mesmo método e comparando-o com difusão por disco Leelaprakash et al. (2011), constaram que as folhas de *M. charantia* apresentou tal atividade em extrato metanólico quando comparado com o aquoso frente a quatro cepas, dentre estas as duas espécies bacterianas acima citadas. Sen et al. (2012), isolaram o β -sitosterol das folhas de *M. charantia*, submetendo a teste fitoquímico e atividade antimicrobiana pela difusão por disco frente às espécies *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, onde concluíram que os halos formados pelo isolado possuía certa equivalência com o padrão (Gentamicina) testado.

Além da atividade antibacteriana Rakholiya et al. (2014) também analisaram a capacidade antifúngica em extratos hidroalcoólicos (metanol + água) das folhas, pecíolo, casca, polpa e fruto de *M. charantia* observando sua efetividade, principalmente se tratando das espécies do gênero *Pseudomonas*. Mada et al. (2013) em atividade antimicrobiana pela difusão por poço obtiveram halos para *P. aeruginosa* com extrato etanólico da folhas de *M. charantia* de 14mm. Quando comparado os resultados obtidos neste trabalho dos autores acima citados, observa-se que há uma grande diferença no diâmetro dos halos formados, pois ainda que se trate de uma mesma espécie, provavelmente ambas as cepas possuem um perfil de resistência diferente.

Olufunke (2011) analisou extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de três espécies vegetais, dentre estas a espécie *M. charantia* utilizando suas folhas, submetendo a testes frente às espécies bacterianas, obtendo resultados para *K. pneumoniae* de 8 mm de diâmetro com o extrato etanólico na concentração de 50 mg/mL. Diferenciando dos resultados obtidos neste estudo proposto que não obteve inibição do crescimento nesta mesma concentração. Saengsai et al. (2015) isolaram uma lactona de *M. charantia* designada de plumericina, onde à submeteram a teste antimicrobiano CIM (concentração inibitória mínima) frente três espécies Gram-negativas e cinco Gram-positivas, onde duas espécies *E. faecalis* e *B. subtilis* se mostraram mais suscetíveis à presença do isolado, apresentado valores melhores que o antibiótico (Cloxacilina) utilizado segundo os autores.

4.1.3 Atividade avaliadora de formação de biofilme

Abaixo encontra-se na tabela 3 as dez leituras realizadas dos inóculos no tempo 0h e 24h.

Tabela 3- Leitura do inóculo em espectrofotômetro a 600 nm (tempo 0h e 24h).

	0h	0h - branco	24h	24h - branco	UFC (unidades formadoras de colônia)
BRANCO	0,07	-	0,072	-	DO 600= 1= 8×10^8 UFC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,101	0,031	0,569	0,497	0,466
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,103	0,033	0,62	0,548	0,515
<i>Enterococcus faecalis</i>	NT	NT	NT	NT	NT

Legenda: (NT) não testado.

Abaixo na tabela 4 pelos critérios adotados por Lima et al. (2017), houve a classificação do biofilme formado pelas respectivas cepas: *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*.

Tabela 4- Leitura do biofilme bacteriano.

	MÉDIA	RESULTADO
BRANCO	0,144 ± 0,18	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,627 ± 0,13	Forte produtor
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,479 ± 0,06	Moderado produtor

Se tratando de biofilme bacteriano pode-se observar na tabela 4 que a espécie *P. aeruginosa* foi classificada como uma forte produtora de biofilme, já a espécie *K. pneumoniae* foi classificada como produtora de biofilme moderado, o que demonstra seu perfil de resistência ao extrato etanólico de *M. charantia*. Freitas, Sand e Simonetti (2010) detectaram a capacidade de formação de biofilme em duas espécies bacterianas em canetas odontológicas, entre estas *P. aeruginosa*. Os autores acima citados realizaram este experimento por meio do teste de cristal violeta, obtendo resultado

positivo através da absorvância. Corroborando com o resultado obtido da formação de biofilme com esta mesma espécie neste estudo.

Ferreira et al. (2013) analisaram ao longo de três anos amostras de Unidades de Terapia Renal Substitutiva (UTRS) do Estado do Rio de Janeiro, onde constataram que das bactérias isoladas, *P. aeruginosa* era forte produtora de biofilme. Costa et al. (2016) verificaram a capacidade de formação de biofilme de quatro espécies bacterianas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 e *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, dentre estas, as espécies *P. aeruginosa* e *S. Typhimurium* foram as maiores formadoras de biofilme. Assim como constatado neste trabalho onde *P. aeruginosa* foi classificada como forte produtora de biofilme.

Lima et al. (2017) a partir de *P. aeruginosa* isoladas de pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica, e realizaram testes qualitativos e quantitativos, sendo possível identificar no teste quantitativo que cerca de 75% dos isolados eram formadores de biofilme e no perfil de suscetibilidade cerca de 53,3% eram consideradas multirresistentes. Referente a espécie *Klebsiella pneumoniae*, Seifi et al. (2016) verificaram sua capacidade de formação de biofilme além de conseguir determinar o genótipo produtor do biofilme, destes isolados cerca de 52,1% foram considerados produtores de biofilme moderados, porém em relação a genotipagem os autores não encontraram correlação com a formação de biofilme. Ao observarmos o resultado obtido no teste deste trabalho com os resultados dos autores acima citados, a espécie *K. pneumoniae* é uma produtora moderada de biofilme.

4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.2.1 Atividade antioxidante pelo método DPPH

Os resultados referentes a este teste estão expressos na tabela 5. A curva padrão (ácido ascórbico) exibiu o seguinte valor:

$$y = 0,453x + 79,577$$

$$R^2 = 0,9356$$

Tabela 5- Resultados do DPPH e da CE50 DPPH do extrato etanólico das folhas de *M. charantia* e padrão ácido ascórbico.

CONCENTRAÇÃO	ATIVIDADE SEQUESTRADORA (AS) %
10,0 µg/mL	1,485884 ± 0,01
20,0 µg/mL	8,915305 ± 0,02
30,0 µg/mL	19,46508 ± 0,02
50,0 µg/mL	32,33405 ± 0,01
60,0 µg/mL	36,88437 ± 0,01
70,0 µg/mL	42,23769 ± 0,00
80,0 µg/mL	47,64454 ± 0,01
90,0 µg/mL	56,37045 ± 0,03
150,0 µg/mL	67,23769 ± 0,00
200,0 µg/mL	73,07281 ± 0,01
AMOSTRAS	DPPH* CE ₅₀ ± D.P (µg/mL)
<i>M. charantia</i>	6,96±0.02
Ácido ascórbico	29,58±0,01

Referentes a estudos com atividade antioxidante, Yoshime et al. (2019) realizaram testes com óleo essencial de *Punica granatum* e *M. charantia*, obtendo resultado para o melão-de-são-caetano na CE₅₀ do DPPH de 11,8. Valor este que se aproxima do resultado obtido neste estudo. A CE₅₀ apresentada pelo extrato etanólico de *M. charantia* neste estudo foi de 6,96, sendo assim, esta é a quantidade necessária para eliminação de 50% do radical DPPH.

De acordo com Chung et al. (2016), a capacidade de estabilizar radicais livres a exemplo do radical peroxila, ocorre devido a presença de compostos fenólicos na planta que permitem a doação de elétrons ou hidrogênio. Patel et al. (2011) realizaram ensaios antioxidantes com o extrato dos frutos, obtendo resultado para o etanólico na concentração de 60 µg/mL um valor da AS(%) de 31.675 ± 1.0, e na concentração de 200 µg/mL um valor de 69.729 ± 0.76. Resultado este que se aproxima dos valores obtidos nestas mesmas concentrações neste presente trabalho.

Rezaeizadeh et al. (2011), analisaram e compararam a atividade antioxidante de extratos metanólico e clorofórmico dos frutos de *M. charantia*, obtendo resultado no

DPPH nas concentrações de 35 $\mu\text{g/mL}$ e 62,5 $\mu\text{g/mL}$ os respectivos percentuais de captura para o extrato metanólico 5.57 \pm 0.420 e 13.10 \pm 0.468, para o extrato clorofórmico 3.70 \pm 0.478 e 6.62 \pm 0.457. Valores estes que estão abaixo dos resultados obtidos do extrato etanólico das folhas nas concentrações de 30 $\mu\text{g/mL}$ e 60 $\mu\text{g/mL}$ neste estudo. Isto deve-se possivelmente a diferença de ambiente, pois fatores como o solo e clima poderão interferir na concentração de compostos. Segundo Yadav et al. (2016), a atividade antioxidante de vegetais como o melão-de-são-caetano deve-se ao alto teor de compostos fenóis e flavonoides presentes nestas plantas. Para verificar a capacidade de contenção de radicais livres e melhoramento do estresse oxidativo Kim et al. (2013), submeteram frações do fruto seco em teste *in vitro* utilizando células epiteliais renais LLC-PK, onde a fração BuOH obteve melhor desempenho na captura de radical livre (DPPH), além de promover a diminuição do estresse oxidativo nestas células.

4.2.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS

Abaixo consta a tabela 6 com o resultado da atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS, com as respectivas concentrações finais da amostra e o percentual de captura do radical.

Tabela 6- Resultados da atividade antioxidante pelo método ABTS do extrato etanólico das folhas de *M. charantia* concentração inicial 1,0 mg/mL.

Concentração final da amostra	AS (%)
50 $\mu\text{g/mL}$	87,34 \pm 0,0
60 $\mu\text{g/mL}$	88,25 \pm 0,0
90 $\mu\text{g/mL}$	91,86 \pm 0,0
100 $\mu\text{g/mL}$	96,38 \pm 0,0
ABTS* CE ₅₀ \pm D.P ($\mu\text{g/mL}$)	
Amostra	90,06 \pm 4,1
Trolox	0,010 \pm 0,01

Leelaprakash et al. (2011) investigou em extrato aquoso e metanólico das folhas de *M. charantia* atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, onde obteve em ABTS no extrato aquoso na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ a AS (%) de 28 \pm 0.18, no extrato metanólico nesta mesma concentração obteve o mesmo valor de AS (%). Já na

concentração de 100 µg/mL o autor acima citado obteve no extrato aquoso a AS (%) de 59 ± 0.30 e no extrato metanólico a AS (%) de 63 ± 0.26 . Ao compararmos os resultados obtidos neste trabalho com o dos autores, podemos observar que o extrato etanólico foi superior na captura do radical ABTS em ambas as concentrações, na concentração de 50 µg/mL o valor da AS (%) foi de $87,34 \pm 0,0$ e na concentração de 100 µg/mL a AS(%) de $96,38 \pm 0,0$.

Yoshime et al. (2019) pesquisaram em óleos essenciais das sementes de romã e melão-de-são-caetano atividades antioxidantes dentre estas DPPH e ABTS, onde obtiveram resultados positivos para ambas as plantas, concluindo que esta propriedade deve-se a presença de compostos como fitoesteróis (principalmente β -sitosterol) entre outros. Hobanthad e Maneetong (2019) desenvolveram um estudo com 20 plantas da Tailândia dentre estas, *M. charantia* sendo utilizadas as folhas, realizando testes antioxidantes como DPPH, ABTS e FRAP, obtendo a CE_{50} para ABTS da planta acima citada de 72.70 ± 2.42 . Neste trabalho a CE_{50} do extrato etanólico foi de $90,06 \pm 4,1$ sendo esta a concentração necessária para eliminação de 50% do radical ABTS. Há esta divergência se comparado com o resultado dos autores acima citados, possivelmente em virtude da localização da coleta da planta, visto que o ambiente é um fator relevante na produção e concentração de compostos.

Hwang (2018) realizou um estudo comparativo entre as folhas e frutos de *M. charantia*, através de atividades antioxidantes como DPPH e ABTS, ambas as estruturas foram extraídas em etanol, relacionado ao ABTS o extrato das folhas na concentração de 50 µg/mL a AS(%) foi de 1.58 ± 0.05 , já na concentração de 100 µg/mL a AS(%) foi de 3.45 ± 0.34 . Ao comparar os resultados acima com os resultados obtidos neste trabalho, há uma clara diferença entre o percentual de captura de radicais livres, isto deve-se provavelmente pelo método adotado de extração e exposição à temperatura durante este processo.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

Abaixo na tabela 7 estão expressos os resultados obtidos na quantificação do teor fenólicos totais. É possível observar que na concentração de 400 µg/mL, o valor obtido de fenólicos foi de 14,4 mg EAG/g. E que em 1g de extrato etanólico há 9,6 mg de fenólicos. A curva de ácido gálico exibiu o seguinte resultado:

$$y = 0,0006x + 0,0497$$

$$R^2 = 0,9911$$

Tabela 7- Quantificação de fenólicos totais das amostras.

Concentrações do extrato bruto de melão-de-são- caetano	mg EAG/g	Valor total de fenólicos em 1g de extrato
100 µg/mL	4,2 ± 0,0	
200µg/mL	10,1 ± 0,08	9,6
400µg/mL	14,4 ± 0,01	

Relacionado a quantificação do teor de fenólicos totais, Hamissou et al. (2013) obtiveram em extrato aquoso dos frutos de *M. charantia* um valor de 13.28 ± 1.71 mg EAG/g. Valor este que se aproxima do obtido na maior concentração final de 400µg/mL do extrato bruto do melão-de-são-caetano com $14,4 \pm 0,01$ mg EAG/g. Ozusaglam e Karakoca (2013) constataram que em extrato etanólico do fruto maduro, o valor de fenólicos foi de 23.45 ± 2.25 mg EAG/g enquanto que no extrato etanólico das sementes maduras valor de fenólicos foi de 9.36 ± 0.32 mg EAG/g, sendo possível observar que nos frutos maduros há maior concentração de fenólicos quando comparado com as sementes maduras. O valor obtido das sementes maduras pelos autores acima citados se aproxima do valor obtido no extrato etanólico das folhas na concentração final de 200µg/mL com $10,1 \pm 0,08$ mg EAG/g.

Shodehinde et al. (2016) produziram extrato aquoso e metanólico das folhas de *M. charantia*, afim de comprovar se os compostos da planta produzia algum efeito sobre a enzima ligada a hipertensão, bem como a inibição da peroxidação lipídica *in vivo*, dentre os extratos, o metanólico foi o que conseguiu inibir a peroxidação lipídica e a enzima ligada a hipertensão. Segundos os mesmos autores estas propriedades poderiam estar ligadas a composição fenólica presente na planta. Aljohi, Matou-Nasri e Ahmed (2016) realizaram estudo antioxidante pela captura de radical livre (DPPH) e teor de fenólicos em extrato aquoso da polpa e da carne do fruto de melão-de-são-caetano, onde os mesmos obtiveram o resultado positivo para atividade antioxidante, sendo o extrato

da carne do furto se sobressaiu em relação ao teor de fenólicos e atividade antioxidante. Os autores afirmaram que esta propriedade foi exercida por dose dependente.

O teor de compostos secundários como, por exemplo, os fenólicos contidos em plantas, pode haver alterações em seu teor, de região para região, pois o ambiente (clima e solo) são fatores determinantes para esta característica. Em investigações farmacológicas produzidas por Singh et al. (2011) foi possível observar esta diferença entre compostos fenólicos de uma mesma espécie de diferentes regiões. Neste caso os autores acima citados fizeram este comparativo da espécie *M. charantia* de três regiões (Pusa Vishesh, Kalyanpur Barasati e Priya), a análise por HPLC (cromatografia líquida de alta resolução) mostrou que a planta coletada de Kalyanpur Barasati continha o maior teor de ácido fenólico quando comparada com as demais regiões.

4.4 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA QUALITATIVA

Na tabela 8 encontram-se os resultados referentes a avaliação fitoquímica qualitativa de alguns compostos secundários como antraquinonas, saponinas, taninos e flavonoides das folhas de *M. charantia*. Na atividade fitoquímica houve a identificação de saponinas pelo método de agitação e suspensão de espuma.

Tabela 8- Resultado qualitativo de identificação de compostos secundários.

TESTE QUALITATIVO DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS		
	Positivo	Negativo
Saponinas	*	
Antraquinonas		*
Taninos		*
Flavonoides	*	

Mada et al. (2013) realizaram teste fitoquímico em extrato etanólico e aquoso das folhas, apresentando como compostos secundários saponinas, taninos flavonoides entre outros. Em teste fitoquímico realizado por Rodrigues et al. (2010) com extratos hidrofílico e lipofílico das folhas de *M. charantia*, os autores confirmaram a ausência de taninos pela reação com cloreto férrico e antraquinonas em ambos os extratos e presença de saponinas pelo teste de espuma e teste de precipitação no extrato hidrofílico. De acordo com Schenkel et al. (2010) as saponinas produzem esta espuma

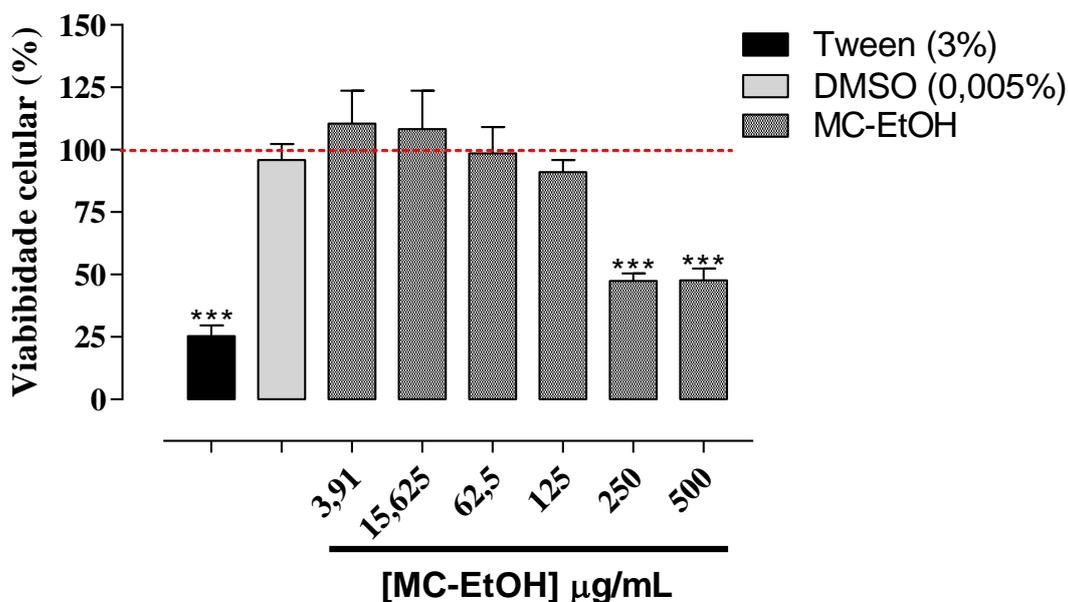
em solução aquosa devido a presença de sapogenina (porção lipofílica) e sua porção hidrofílica que é constituída por açúcares.

Leelaprakash et al. (2011) em teste fitoquímico qualitativo classificaram o extrato aquoso das folhas em taninos pelo teste com FeCl_3 como negativo, flavonoides com solução aquosa de NaOH como moderado, saponinas como concentração normal. Já com o extrato metanólico os mesmos autores classificaram taninos pelo teste com FeCl_3 como concentração normal, flavonoides com solução aquosa de NaOH como moderado, saponinas como concentração normal. Ao compararmos os resultados dos autores acima com os resultados obtidos neste trabalho com o extrato etanólico, há uma equivalência.

4.5 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

Na figura 3 encontra-se o resultado do extrato etanólico sobre a viabilidade celular em fibroblastos. Como controle positivo foi utilizado o Tween a 3%. Para amostra foram utilizadas seis concentrações. Onde na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ as células ainda estavam viáveis em cerca de 50%.

Figura 3- Efeito do extrato [MC-EtOH] $\mu\text{g/mL}$ sobre a viabilidade celular de fibroblastos (3T3)



As colunas e as barras verticais representam a média \pm EPM, respectivamente. A linha tracejada representa o grupo controle (apenas o meio DMEM). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Dunnett, *** $p < 0,001$ (Controle vs. MC-EtOH ou Tween (3%)).

Kim et al. (2015) formularam extrato aquoso e etanólico do fruto e sementes de *M. charantia*, a fim de obter uma conclusão se a planta em questão poderia ser utilizada na indústria cosmética, ao submeter a ensaio de viabilidade celular (MTT) os autores obtiveram resultado negativo para toxicidade até a concentração de 1.000 µg / mL. Santos et al. (2012) investigaram algumas atividades biológicas no extrato etanólico das folhas de *M. charantia*, dentre estas a avaliação de citotoxicidade a partir de células macrófagos onde na concentração de 100µg/mL de 25% de citotoxicidade e na concentração de 10µg/mL esta porcentagem reduziu para 16%. Chippsa et al. (2012) submeteram extratos aquoso, etanólico das sementes à dois tipos de linhagem celular (célula de rim embrionário humano 293T (HEK293T) e tumor de cólon humano 116 (HCT116), onde concluíram que o extrato aquoso apresentou citotoxicidade acentuada.

Fongmoon et al. (2013) realizaram estudo antioxidante e citotóxico com o extrato etanólico da planta inteira (folha, caule e raiz) coletado na Tailândia, com células Hela e Siha, onde os autores concluíram que o extrato possuía citotoxicidade moderada. De acordo com os resultados na literatura científica e neste trabalho, esta *M. charantia* possui citotoxicidade moderada, uma vez que a mesma além de ser utilizada na medicina alternativa, também é empregada na gastronomia. Santos et al. (2013) em teste citotóxico utilizou o extrato etanólico das folhas de *M. charantia* frente à Fibroblastos NCTC929, onde concluíram que o mesmo exibiu nível elevado de citotoxicidade. Na literatura não foram encontrados trabalhos avaliando a citotoxicidade do melão-de-são-caetano com fibroblastos desta linhagem utilizada neste trabalho, foi encontrado apenas uma pesquisa envolvendo fibroblastos de outra linhagem específica, e demais estudos com células tumorais.

5 CONCLUSÃO

O extrato etanólico das folhas de *M. charantia* apresentou pouca atividade antimicrobiana. Em relação a atividade antioxidante DPPH e ABTS testada, o extrato se mostrou eficaz, porém conseguiu capturar um percentual maior de radicais ABTS. Tal propriedade antioxidante pode está correlacionada aos compostos fenólicos presentes na planta, visto que nesta atividade o extrato exibiu um alto teor de fenólicos. O que corrobora com os resultados obtidos na avaliação fitoquímica, pois flavonoides e saponinas estão incluídos no grupo dos fenólicos. Em relação ao nível de toxicidade, as células fibroblásticas se mantiveram viáveis em todas as concentrações do extrato.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia brasileira**. Brasília, 2010. 545 p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o+-+Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc>. Acesso em: 13 fev. 2020.
- ALJOHI, Ali; MATOU-NASRI, Sabine; AHMED, Nessar. Antglycation and antioxidant properties of *Momordica charantia*. **PLOS ONE**, v. 11, n. 18, p. 1-14, 2016.
- ALMEIDA, Graciela Souza; BARBOSA, Adriana Silva; SANTANA, Marise de. Conhecimento e uso de plantas medicinais da cultura Afro-brasileira pelos moradores da comunidade da Fazenda Velha no município de Jequié-BA. **Veredas da História**, v.5, n. 2, p. 27-39, 2012.
- ALVES, Clayton Queiroz; BRANDÃO, Hugo Neves; DAVID, Jorge Maurício; DAVID, Juceni Pereira; LIMA, Luciano da S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Diálogos & Ciência**, n. 12, p. 1-8, 2007.
- ALVES, Maria José; REBELO, Mara; GONÇALVES, Vânia; PIEDADE, Jussara; ROCHA, Rosiane; BARREIRA, João C.M.; FERREIRA, Isabel. Biofilme bacteriano e infecção hospitalar. In Saúde. **Conexões e Sustentabilidade para o Entendimento Global**, v. ,n. p. 110-122, 2016.
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. v. 66, n.1, p. 1-9, 2007.
- ANILAKUMAR, Kandangath Raghavan; KUMAR, Garlapati Phani; ILAIYARAJA, Nallamuthu. Nutritional, Pharmacological and Medicinal Properties of *Momordica Charantia*. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**. v. 4, n. 1, p. 75-83, 2015.
- ARAÚJO, Éverton José Ferreira de et al. Aspectos toxicológicos da planta medicinal *Casearia sylvestris* Swartz: revisão de literatura. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 35, n. 3, p. 355-361, jun. 2014.
- ARIAS, Lesdyth Jessica Toribio; ANDRADE, Carlos Raúl Sevilla; GONZALES-ESCALANTE, Edgar. Marcadores de resistencia plasmídica a quinolonas qnr en aislamientos clínicos de enterobacterias productoras de betalactamasas CTX-M en Lima, Perú. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**.v. 36, n. 2, p. 265 – 269, 2019.
- ASSIS, J. P et al. Avaliação biométrica de caracteres do melão de São Caetano (*Momordica charantia* L). **Rev. bras. plantas med.**, v. 17, n. 4, p. 505-514, 2015.
- BALBINO, Evelin E.; DIAS, Murilo F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 992-1000, 2010.
- BIANCHI, Maria de Lourdes Pires; ANTUNES, Lusânia Maria Gregg. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BORTOLATTO, Guilherme Pedrini et al. Carnosine avoids the oxidative damage caused by intense exercise on rat soleus muscle. **Rev Bras Med Esporte**, v. 26, n. 1, p. 11-15, 2020.

BORTOLOTTI, Karina da Costa Sassi et al. Qualidade microbiológica de águas naturais quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos. **Eng. Sanit. Ambient.**, vol.23, n.4, p.717-725, 2018.

BRAGA, Carla de Moraes. **Histórico da utilização de plantas medicinais**. 2011. Monografia (Curso de Licenciatura em Biologia a Distância) – Consórcio Setentrional de Educação a Distância, Universidade de Brasília e Universidade Estadual de Goiás, Brasília, 2011.

BRAGA, Pâmela Milene dos Santos et al. Análise fitoquímica, toxicidade, potencial antioxidante e atividade antibacteriana da *Ceiba speciosa* (A.St.-Hil.) Ravenna. **Revista Fitos**, v. 13, n. 1, p. 9-21, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss u-Technol**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CAMPELO, Cornélio Ramalho; RAMALHO, Rita de Cássia. Contribuição ao estudo de plantas medicinais no estado de Alagoas – VII. **Acta Bot Bras**, v. 2, n. 1, p. 67 – 72, 1989.

CARNEIRO, Ana Luiza Chrominski; COMARELLA, Larissa. Principais interações entre plantas medicinais e medicamentos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, vol. 9, n.5, p. 4-19, 2016.

CAVALCANTE, Danielle Urbieta de Lima; REIS, Michelle Cristina Guerreiro dos. Fitoterapia: regulamentação e utilização pela Enfermagem. *Revista de Enfermagem da FACIPLAC*, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2018.

CAVALLAZZI, Mariângela Lunardelli. **Plantas medicinais na atenção primária à saúde**. 2006. Dissertação (Mestrado) Centro de Ciências Médicas – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

CEBALLOS, Leonor Cervantes; HOYOS, Fredy Sánchez; ESTRADA, Harold Gómez. Antibacterial activity of *Cordia dentata* Poir, *Heliotropium indicum* Linn and *Momordica charantia* Linn from the Northern Colombian Coast. **Rev. Colomb. Cienc Quím Farm**, v. 46, n. 2, p. 143-159, 2017.

CENTROBI, Hugo José; ALIENDRO, Olga Elida; MATTANA, Claudia Marciel. Effect of thymol and environmental factors on growth and biofilm formation by *Listeria monocytogenes*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.18, n. 4, p. 411 – 424, 2019.

CHIPPSA, Elizabeth S. *et al.* Cytotoxicity Analysis of Active Components in Bitter Melon (*Momordica charantia*) Seed Extracts Using Human Embryonic Kidney and Colon Tumor Cells. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 9, p. 1203-1208, 2012.

CHUNG, Ill-Min et al. Elicitation Enhanced the Production of Phenolic Compounds and Biological Activities in Hairy Root Cultures of Bitter melon (*Momordica charantia* L.). **Braz Arch Biol Technol**, v. 59, p. 1-10, 2016.

COAN, Cherlei Marcia; MATIAS, Terezinha. A utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena de Ventarra Alta- RS. **SaBios: Rev. Saúde e Biol**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2014.

CORDEIRO, L.N. et al. Efeito *in vitro* do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.12, n.4, p.421-426, 2010.

COSTA, Brenda de Lucena. Avaliação da composição química e das atividades antimicrobiana e antioxidante dos extratos de *Eugenia uniflora*. 2015. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

COSTA, Karine Angélica Dalla et al. Formação de biofilmes bacterianos em diferentes superfícies de indústrias de alimentos. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, p. 75-82, 2016.

COTINGUIBA, George Gomes et al. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2013.

DANTAS, Anny Motta Coutinho; FRANK, Andréa Abdala; SOARES, Eliane Abreu. Vitaminas antioxidantes na Doença de Parkinson. **Rev. bras. geriatr. gerontol.**, v. 11, n. 1, p. 105-116, 2008.

DEGÁSPARI, Cláudia Helena; WASZCZYNSKYJ, Nina. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEVIENNE, K.F.; RADDI, M.S.G.; POZETTI, G.L. Das plantas aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, n. 3, p. 11-14, 2004.

DIAS, Caroline Aparecida Rodrigues; MOURA, Paula Maria Silveira Soares; D'ANGELIS, Carlos Eduardo Mendes. A Complexa Interação entre Radicais Livres, Suplementação e Doenças. **Revista Multidisciplinar**, p. 34-43, 2010.

DIAS, Gabriela Tafacla et al. Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 1, p. 8-12, 2017.

FARIA, Flaviana Andrade; BUENO, César Júnior; PAPA, Marli de Fátima Stradioto. Atividade fungitóxicas de *Momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Acta Sci., Agron.** v. 31, n. 3, p. 383-389, 2009.

FARIAIS, Daíse Simões de et al. Uso de plantas medicinais e fitoterápicos como formacomplementar no controle da hipertensão arterial. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 12, n. 3, 2016.

FERNANDES, Ciciane Pereira Marten; FÉLIX, Samuel Rodrigues; NOBRE, Márcia de Oliveira. Toxicidade dos fitoterápicos de interesse do SUS: uma revisão. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 37, n. 1, p. 83-96, 2016.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**; v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, Joana Angelica Barbosa et al. Diversidade genética e produção de biofilme de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas da água utilizada em Unidades de Terapia Renal Substitutiva. **Analytica**, v. 11, n. 65, p. 56-70, 2013.

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq.**, v. 18, n. especial, p. 90-95, 2011.

FONGMOON, Duriya et al. Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Extract Cultured in Lampang Thailand. **NU Science Journal**, v. 10, n. 2, p. 18 – 25, 2013.

FRANÇA, Inácia Sátiro Xavier de et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Rev Bras Enferm**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.

FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.8, n.3, p.78-88, 2006.

FREIRE, Naiana B. et al. Atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de prata sobre isolados de *Aeromonas* spp. obtidos de organismos aquáticos. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 38, n. 2, p. 244-249, 2018.

FREITAS, Valdionir da Rosa; SAND, Sueli Terezinha van der; SIMONETTI, Amauri Braga. Formação *in vitro* de biofilme por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* na superfície de canetas odontológicas de alta rotação. **Rev Odontol UNESP**, v. 39, n. 4, p. 193-200, 2010.

GADELHA, Claudia Sarmiento et al. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 208 - 212, 2013.

GIRALDI, Mariana; HANAZAKI, Natalia. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v. 24, n. 2, p. 395-406, 2010.

GOMES, Renata Valéria Regis Sousa et al. Ação antiparasitária *in vitro* dos extratos etanólicos de *Operculina hAMILTONII* (batata de purga) e *Momordica charantia* (melão de são caetano) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos do semi-árido paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.2, p. 92-99, 2010.

GOMES-KLEIN, Vera Lúcia; FRANCENER, Augusto. Check-list de Cucurbitaceae do Estado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, p.185-189, 2018.

GUARIM NETO, Germano. O saber tradicional pantaneiro: as plantas medicinais e a educação ambiental. **Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**. v. 17, p. 71 – 89, 2006.

GUIMARÃES, G. et al. Caracterização fenotípica, produção de biofilme e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de casos de mastite em bovino e bubalinos. **Pesq. Vet. Bras.** v. 32, n. 12, p. 1219 – 1224, 2012.

GULCIN, I. et al. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds lavender (*Lavandula stoechas* L.). **Food Chemistry**, v. 87, n. 3, p. 393 – 400, 2004.

HAMISSOU, M.; SMITH, A.; JR, R.; II, J. Antioxidative properties of bitter gourd (*Momordica charantia*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 9, p. 641-647, 2013.

HAN, L.; ZHANG, H.; LUO, S.; LUO, K. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenol from betel nut seed and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 9289-9296, 2011.

HOBANTHAD, Thanyapan; MANEETONG, Sarunya. Simple extraction for the scanning of antioxidant activity of vegetables and fruits in Buriram, Thailand by DPPH, ABTS and FRAP assays. **SNRU Journal of Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 114-121, 2019.

HWANG, Eun-Sun. Comparison of antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity between bitter melon (*Momordica charantia*) fruit and leaf extract. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 8, n. 4, p. 189-193, 2018.

JARA, Carlos Poblete et al. Biofilme e feridas crônicas: reflexões para o cuidado de enfermagem. **Revista Enfermagem Atual**, v. 81, p. 76-80, 2017.

JATAV, Vinod; SINGH, D. K. Genetic variability, heritability and genetic advance for yield and related traits in bitter gourd (*Momordica charantia* L.) **J. Env. Bio-Sci.**, v. 30, n.2, p.421-426, 2016.

JIMÉNEZ, Christopher Isaac Escamilla; MARTÍNEZ, Elvis Yane Cuevas; FONSECA, Jorge Guevara. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. **Rev Fac Med**, v. 52, n. 2, 2009.

KIM, Hyun Young et al. The butanol fraction of bitter melon (*Momordica charantia*) scavenges free radicals and attenuates oxidative stress. **Prev. Nutr. Food Sci.**, v. 18, n. 1, p. 18-22, 2013.

KIM, Hyun-woo et al. Functional Cosmetic Characteristics of *Momordica charantia* Fruit Extract. **Korean Chem. Eng. Res.**, v. 53, n. 3, p. 289-294, 2015.

KIM, Kkot Byeol et al. *Momordica charantia* Ethanol Extract Attenuates H₂O₂-Induced Cell Death by Its Antioxidant and Anti-Apoptotic Properties in Human Neuroblastoma SK-N-MC Cells. **Nutrients**, v.10, n. 10, p. 1-17, 2018.

KOMOLAFE, O. A. et al. Histological and histochemical studies of the aorta and pulmonary trunk in STZ-induced diabetic wistar rats treated with *Momordica charantia*. **Int. J. Morphol.**, v.31, n. 2, p. 716-723, 2013.

- LACERDA, Giovana Mendes de et al. Atividade moduladora sobre antibióticos pelo extrato aquoso das folhas de *Bauhinia unguolata* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.21, n. 3, p. 309-317, 2016.
- LEE, Jasmine; ZHANG, Lianhui. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. **Protein Cell**, v. 6, n. 1, p. 26–41, 2015.
- LEELAPRAKASH, G. et al. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of *Momordica charantia* leaves. **Pharmacophore**, v. 2, n. 4, p. 244-252, 2011.
- LIMA, André Luis de Lima et al. Análise da dispensação de antibióticos beta-lactâmicos após a RDC nº 20/2011 em uma rede de farmácias do município de Ponta Grossa – Paraná. **Visão Acadêmica**, v.20, n.1, p. 68-82, 2019.
- LIMA NETO, G.A. et al. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Rev. bras. plantas med.**, v. 17, n. 4, p. 1069-1077, 2015.
- LIMA, Fernanda Oliveira; BEZERRA, Aline Sobreira. Flavonoides e radicais livres. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências Naturais e Tecnológicas**, v. 13, n. 1, p. 111-124, 2012.
- LIMA, Jailton Lobo da Costa et al. Analysis of biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with ventilator-associated pneumonia. **Rev. bras. ter. intensiva**, v. 29, n. 3, p. 310-316, 2017.
- LOPES, Clarrisa Gomes Reis et al. Conhecimento tradicional de plantas medicinais na comunidade tabuleiro do Mato de Floriano, Piauí, Brasil. **Espacios**, v. 37, n. 15, 2016.
- LOPES, R. M. et al. Flavonoides: farmacologia de flavonoides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Cien Desenvol.** v. 3, n. 17, p.18-22, 2000.
- LUCENA FILHO, José Hardman Sátiro et al. Antimicrobial Potential of *Momordica charantia* L. against Multiresistant Standard Species and Clinical Isolates. **J Contemp Dent Pract**, v.16, n. 11, p. 854-858, 2015.
- MACHADO, R. V.; COSTA, M. B. Prospecção fitoquímica e avaliação biológica das folhas e caule de *Melothria fluminensis* Gardner (Cucurbitaceae). **Rev. Virtual Quim.** v. 11, n. 3, 2019.
- MADA, S. B.; GARBA, A. et al. Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. leaves. **J Med Plants Res**, v. 7, n. 10, p. 579-586, 2013.
- MALACRIDA, Cassia R.; MOTTA, Silvana da. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.
- MANEENIN, Chanwit et al. Antioxidant Capacity of *Momordica charantia* Extract and its Protective Effect on Testicular Damage in Valproic Acid-Induced Rats. **Int. J. Morphol.**, v. 36, n. 2, p. 447-453, 2018.

MARTELLI, Felipe; NUNES, Francis Morais Franco. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Cienc. Cult.** v.66, n. 3, p. 54-57, 2014.

MARTINS, Fabrício Wallace Pereira; CASALI, Agnes Kiesling. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos etanólicos de Romã (*Punica granatum*,L.) sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Braz. J. of Develop.**, v. 5, n. 11, p. 22970-22980, 2019.

MARTINS, Monik Compagnoni; GARLET, Tânea Maria Bisognin. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 438–448, 2016.

Matos, F. J. de A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: EUFC, 1997.

MATSUURA, Takeshi. **Caracterização taxonômica de actinomicetos endofíticos produtores de antibióticos isolados de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.)**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

MENDONÇA, Alexandre Tourino et al. A utilização dos extratos hidroalcoólico e alcoólico de *Eugenia uniflora* L. como agente antibacteriano. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 1, p. 826-833, 2016.

MICHALOPOULOS, Argyris et al. Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a prospective study. **Respiratory Medicine**, v. 102, p. 407–412, 2008.

MIRANDA, A. R.; CASTRO, C. F. S.; SILVERIO, M. D. O. Avaliação da atividade antioxidante e inibição da tirosinase do extrato das folhas do jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne). **Rev. bras. plantas med.**, v. 16, n. 3, supl. 1, p. 693-699, 2014.

MOODY, J. O.; ADEBIYI, O. A.; ADENIYI, B. A.; Do Aloe vera and *Ageratum conyzoides* enhance the anti-microbial activity of traditional medicinal soft soaps (Osedudu)? **Journal Ethnopharmacology**, v. 92, p. 57-60, 2004.

MORAIS, Mônica Lopes et al. Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do cerrado brasileiro. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013.

MOREIRA, Ana Vlândia Bandeira; MANCINI-FILHO, Jorge. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

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

MOTTA, Agnes de Oliveira; LIMA, Débora Cristina da Silva; VALE, Camila Regina do. Levantamento do uso de plantas medicinais em um centro de educação infantil em Goiânia – GO. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 1, p. 629-646, 2016.

- NASCIMENTO, Thiago Henrique Daniel do et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Momordica charantia* L, contra *Staphylococcus aureus*. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 34, n. 67, p. 31-42, 2019.
- NATHAN, Carl; CARS, Otto. Antibiotic Resistance - Problems, Progress, and Prospects. **N Engl J Med**, v. 371, p. 1761-1763, 2014.
- OLIVEIRA, D.M.S; LUCENA, E.M.P.. O uso de plantas medicinais por moradores de Quixadá–Ceará. **Rev. bras. plantas med.**, v. 17, n. 3, p. 407-412, 2015.
- OLIVEIRA, Thaís Lima et al. Utilização de plantas medicinais por idosos em três bairros do município de Conceição do Almeida – BA. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 2, p. 138-151, 2018.
- OLUFUNKE, Oluduro Anthonia. Antibacterial activities of *Allium sativum*, *Momordica Charantia* and *Zingiber officinale* on food- and water-borne pathogens. **The African Journal of Plant Science Biotechnology**, v. 5, n. 1 p. 15-19, 2011.
- OZUSAGLAM, M. Asan; KARAKOCA K. Antimicrobial and antioxidant activities of *Momordica charantia* from Turkey. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 13, p. 1548-1558, 2013.
- PARADELLA, Thaís Cachuté; KOGA-ITO, Cristiane Yumi; JORGE, Antonio Olavo Cardoso. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. **Rev. odontol. UNESP**, v.36, n. 2, p.163-168, 2007.
- PATEL, S. et al. Evaluation of antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of *Momordica charantia* Linn. fruit. **ARPB**, v. 1, n. 2, p. 120-129, 2011.
- PATIL, Sharanabasappa A.; PATIL, Saraswati B. Toxicological studies of *Momordica charantia* Linn. Seed extracts in male mice. **Int. J. Morphol.**, v. 29, n. 4, p. 1212-1218, 2011.
- PEREIRA, B. S. et al. Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de *Momordica charantia* L. **Rev. bras. plantas med.**, v. 12, n. 3, p. 311-316, 2010.
- PINHEIRO, Jossana Alves dos Santos et al. Hepatotoxicidade de plantas medicinais e produtos herbais. **Rev. Ref. Saúde- FESGO**, v.03, n.1, p. 132-137, 2020.
- PIRES, Maria Joaquina Pinheiro. Aspectos históricos dos recursos genéticos de plantas medicinais. **Rodriguésia**, v. 36, n. 59, p. 61-66, 1984.
- PONTES, M. A. N. DE et al. Efeito inibitório de monoterpenos frente a *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 1, p. 51-56, 2018.
- PORTO, Bruna Castro et al. Determinantes de virulência em *Enterococcus* endógenos de queijo artesanal. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 47, n. 1, p. 69-76, 2016.

- RAJASREE, R. S. et al. Phytochemicals of Cucurbitaceae Family – A Review . **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 8, n. 1, p. 113-123, 2016.
- RAKHOLIYA, K. et al. Comparative Study of Hydroalcoholic Extracts of *Momordica charantia* L. against Foodborne Pathogens. **Indian J Pharm Sci**, v. 76, n. 2, p. 148–156, 2014.
- RAY, Ratna B. et al. Bitter Melon (*Momordica charantia*) Extract Inhibits Breast Cancer Cell Proliferation by Modulating Cell Cycle Regulatory Genes and Promotes Apoptosis. **Cancer Res**, v. 70, n. 5, p. 1925-1931, 2010.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.
- REZAEIZADEH, A. et al. Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 24, 4932-4940, 2011.
- RIBEIRO, E. et al. Aveloz (*Euphorbia tirucalli*) : Toxicidade da planta. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-9. 2019.
- RIBEIRO, Reginaldo Vicente et al. Estudo etnobotânico de plantas medicinais comercializadas em feiras livres de Cuiabá. **Caderno de Publicações Univag**, v. 7, 2014.
- RIBEIRO, Sarila Resende et al. Avaliação da atividade antioxidante de *Solanum paniculatum* (solanaceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 11, n. 3, p. 179-183, 2007.
- ROCHA, F. A. G et al. O uso terapêutico da flora na história mundial. **HOLOS**, v. 1, p. 49 – 61, 2015.
- ROCHA, Thais Aparecida de França; CERQUEIRA, Joana Dourado Martins; CARVALHO, Érica dos Santos. Infecções endodônticas persistentes: causas, diagnóstico e tratamento. **Rev Ciênc Méd Biol**, v. 17, n. 1, p. 78-83, 2018.
- ROCHA, Wesley Silveira et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.
- RODRIGUES, Klinger Antonio da Franca et al. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Cad. Pesq.**, v. 17, n. 2, 2010.
- ROSSI, Diogo Jorge et al. Evolução da resistência de *Klebsiella pneumoniae* no Hospital Universitário de Londrina no período de 2000 a 2011. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 36, n. 1, p. 267-274, 2015.
- RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007a. p.4 (Comunicado Técnico, 127).

- RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007b. p.4 (Comunicado Técnico, 128).
- SAEED, Sabahat; TARIQ, Perween. Antibacterial activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum* and *Momordica charantia*. **Pak J Bot**, v. 37, n. 4, p. 997-1001, 2005.
- SAENGSAI, Jutamas et al. Antibacterial and antiproliferative activities of plumericin, an iridoid isolated from *Momordica charantia* vine. **Evid-Based Compl Alt**, v. 2015, p. 1-10, 2015.
- SAMPAIO, Pamela da Silva; SANCHO, Leyla Gomes; LAGO, Regina Ferro do. Implementação da nova regulamentação para prescrição e dispensação de antimicrobianos: possibilidades e desafios. **Cad. saúde colet.**, v. 26, n. 1, p. 15-22, 2018.
- SANTOS, Karla K. A.; MATIAS, Edinardo F. F.; SOBRAL-SOUZA, Celestina E.; TINTINO, Saulo R. et al. Trypanocide, cytotoxic, and antifungal activities of *Momordica charantia*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 2, p. 162-166, 2012.
- SANTOS, Karla Katiúcia Alves et al. Atividade leishmanicida *in vitro* de Eugenia uniflora e *Momordica charantia*. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 34, n. 1, p. 47-50, 2013.
- SANTOS, Mateus Casanova et al. Resgate histórico de um grupo rural de estudos das plantas medicinais: educação em saúde. **Cadernos de Educação**, n.39, p. 285 - 299, 2011.
- SANTOS, Suzana da Costa; MELLO, João Carlos Palazzo. Taninos. In: SIMÕES, Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6º ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010.
- SCHENKEL, Eloir José; GOSMANN, Grace; ATHAYDE, Margareth Linde. Saponinas. In: SIMÕES, Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6º ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010.
- SEIFI, Kimia et al. Evaluation of Biofilm Formation Among *Klebsiella pneumoniae* Isolates and Molecular Characterization by ERIC-PCR. **Jundishapur J Microbiol.**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2016.
- SEN, Amit et al. Analysis of IR, NMR and antimicrobial activity of β -Sitosterol isolated from *Momordica charantia*. **Science Secure Journals**, v. 1, p. 9-13, 2012.
- SHAMI, Najua Juma Ismail Esh; MOREIRA, Emília Addison Machado. Licopeno como agente antioxidante. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.
- SHODEHINDE, Sidiqat A. et al. Phenolic Composition and Evaluation of Methanol and Aqueous Extracts of Bitter Gourd (*Momordica charantia* L) Leaves on Angiotensin-I-Converting Enzyme and Some Pro-oxidant-Induced Lipid Peroxidation *In Vitro*. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 21, p. 67-73, 2016.

- SILVA, Francisca C. O. et al. Bioatividades de triterpenos isolados de plantas: uma breve revisão. **Rev. Virtual Quim.**, v. 12, n. 1, p. 234-247, 2020.
- SILVA, Joana Raquel Ferraz da. **Importância da formação de biofilmes nas infecções associadas a biomateriais**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa – Faculdade Ciências da Saúde. Porto, 2015.
- SILVA, Laís Rodrigues da et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicol. Argent.**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.
- SILVA, Natália Cristina de et al. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em prol da saúde. **Capas**, v. 3, n. 3, s/d.
- SILVA, P. et al. Determinação da atividade antimicrobiana e avaliação da toxicidade do *Cereus jamacaru* DC (MANDACARU) e da *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. (PALMA FORRAGEIRA). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 14, n. 3, p. 5-15, 2017.
- SILVA, R. et al. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 35, n. 2, p. 127-133, 30 jun. 2002.
- SINGH, Udai Pratap et al. Phenolic acids in some Indian cultivars of *Momordica charantia* and their therapeutic properties. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 15, p. 3558-3560, 2011.
- Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Saponinas. 2009a. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/saponinas.html>. Acesso em: 13 de fev. de 2020.
- Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Flavonoides e Antocianos. 2009b. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/flavonoides_e_antocianinos.html. Acesso em: 14 de fev. de 2020.
- SOARES, D.X. et al. Testes qualitativos para identificação de metabólitos secundários. In: Congresso Brasileiro de Química, 49. 2009, Porto Alegre. Resumos. Porto Alegre: Congresso Brasileiro de Química, 2009, s/p.
- SOARES, F.P. et al. Estudo etnofarmacológico e etnobotânico de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba). **Rev. bras. plantas med.**, v. 17, n. 4, p. 900-908, 2015.
- SOUZA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante em cinco plantas medicinais. **Quím. Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- TOMAZZONI, Maria Ines; NEGRELLE, Raquel Rejane Bonato; CENTA, Maria de Lourdes. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.
- VALE, A. F. et al. Antioxidant effect of the pequi oil (*Caryocar brasiliense*) on the hepatic tissue of rats trained by exhaustive swimming exercises. **Braz. J. Biol.**, v. 79, n. 2, p. 257-262, 2019.
- VAN WOLFEREN Marleen; Orell Aalvaro; Albers Sonja-Verena. Archaeal biofilm formation. **Nat Rev Microbiol**, v. 16, p. 699 – 713, 2018.

VASCONCELOS, Thiago Brasileiro de et al. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v.16, n. 3, p.213-219, 2014.

VÁZQUEZ, Nicolás M. et al. Resistencia emergente a la mupirocina en aislados de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital pediátrico terciario en la Argentina. **Arch. argent. pediatr**, v. 117, n. 1, p. 48-51, 2019.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura?. **Quím. Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WANG, Jinpeg et al. An Overlooked Paleotetraploidization in Cucurbitaceae. **Mol. Biol. Evol.** v. 35, n. 1, p.16–26, 2017.

XU, Z. et al. Crystal violet and XTT assays on *Staphylococcus aureus* biofilm quantification. **Current of Microbiology**. v. 73, n. 4, p. 474 – 482, 2016.

YADAV, Baljeet S. et al. Antioxidant activity of various extracts of selected gourd vegetables. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p.1823–1833, 2016.

YOSHIME, Luciana Tedesco et al. Bioactive compounds and the antioxidant capacities of seed oils from pomegranate (*Punica granatum* L.) and bitter melon (*Momordica charantia* L.). **Food Sci. Technol**, v. 39, p. 571-580, 2019.

ZANDONÁ, Julia; SOUZA, Matheus Albino. Características microbiológicas, patogenicidade e viabilidade do *Enterococcus faecalis* e seu cultivo *in vitro* em pesquisas microbiológicas na área da Endodontia. **RFO**, v. 22, n. 2, p. 255-260, 2017.

ZENG, Yanmei et al. Bitter melon (*Momordica charantia*) attenuates atherosclerosis in apo-E knockout mice possibly through reducing triglyceride and anti-inflammation. **Lipids in Health and Disease**, v.17, n. 1, p. 1-7, 2018.

ZHU, K.; et al. Influence of ultrasound during wheat gluten hydrolysis on the antioxidant activities of the resulting hydrolysate. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1053-1059, 2011.

ANEXOS

ANEXO A – COMPROVAÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DO
ESPECÍME VEGETAL

Secretaria de
Agricultura e
Reforma Agrária

PERNAMBUCO
ESTADO DO ESTADO

HERBÁRIO IPA – DÁRDANO DE ANDRADE LIMA
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

FIB Nº 45/2018

	Nº de Tombo	Nome popular	Família	Nome Científico	Identificada por
1	92887	Melão de São Caetano	Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L.	O. Cano

Dr^a Rita de Cássia Pereira
Curadora do Herbário IPA

Consulta: Gisele Nayara Bezerra da Silva

Procedência: PE - Garanhuns – Cohab II – próximo à Parmalat. Ruderal.

Data da coleta: 09/11/2018

Coletor: a mesma

Determinada em: 05/12/2018

Obs.: Material botânico em estudo na UFPE – Deptº de Antibióticos para fim de pesquisa e Dissertação de Mestrado sob a orientação da Profª Ivone Antonia de Souza.

Resultado em viado por e mail: gisele_nayara@hotmail.com em 07/12/2018.

Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA
Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
Av. Gal. San Martin, 1371 – Bongí – 50761-000 – Recife – PE – C.P. 1022
CNPJ 10.912.293/0001-37 – PABX: (81) 3184-7200 – Fax: (81) 3184-7211
Home Page: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

IPA – 77 anos semeando conhecimento