

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DO MELÃO-DE-SÃO-CAETANO (*MOMORDICA CHARANTIA* L.) FRENTE A DIFERENTES ESPÉCIES DE CANDIDA

Evaluation of the antifungal activity of ethanolic extracts of the bitter melon (Momordica Charantia L.) Against different species of candida

Bruno Fernando da Silva¹

Thauana Sanches Paixão¹

Márcia Aparecida Nuevo Gatti²

Geisiany Maria de Queiroz-Fernandes³

Márcia Clélia Leite Marcelino⁴

Fernando Tozze Alves Neves⁵

¹Enfermeira graduada pela Universidade do Sagrado Coração. Bauru-SP, Brasil.

² Professora Doutora da Universidade do Sagrado Coração. Bauru-SP, Brasil.

³ Professora Doutora da Faculdade São Leopoldo Mandic. Araras-SP, Brasil.

⁴ Professora Doutora da Universidade Nove de Julho. Bauru-SP, Brasil.

⁵ Professor Mestre da Universidade do Sagrado Coração. Bauru-SP, Brasil.

Recebido em: 15/05/2019

Aceito em: 16/09/2019

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

RESUMO

Introdução: Leveduras do gênero *Candida* são reconhecidas por serem as espécies mais comuns envolvidas na etiologia das micoses.

Objetivo: avaliar a atividade antifúngica dos extratos etanólicos do

Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) frente a diferentes espécies de *Candida*. **Metodologia:** após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa, a coleta dos frutos e das folhas do Melão-de-São-Caetano foi realizada na região da zona rural de Bauru-SP. Os frutos *in natura* e as folhas foram levados à estufa com circulação forçada de ar por 96 horas a 45°C, sendo, após esse período, submetidos ao processo de moagem em turbólise. Os triturados foram pesados e a cada 10g foram acrescentados 85mL de álcool 70%. Os macerados foram armazenados em erlemeyer, ficaram em repouso por 21 dias, foram devidamente embalados para que a luz não penetrasse na solução. Na sequência, o líquido foi filtrado a vácuo e o solvente evaporado em capela para obtenção dos extratos etanólicos. Os testes foram realizados em triplicata. **Resultados:** o extrato do fruto não apresentou capacidade fungistática (CIM) nem fungicida (CFM) na máxima concentração avaliada (1250µg/mL) sob as espécies de *Candida* utilizadas. Já o extrato da folha demonstrou ação fungistática (CIM) frente a todas as espécies de *Candida*, mostrando padrões diferentes nas concentrações (312,5µg/mL para *C. albicans* e 625µg/mL para *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*). O mesmo extrato demonstrou capacidade fungicida (CFM) nas espécies *C. albicans* e na *C. tropicalis*, nas concentrações 625µg/mL e 1250µg/mL respectivamente. **Conclusão:** o extrato da folha do Melão-de-São-Caetano foi eficaz sobre todas as linhagens de *Candida* ensaiadas, sugerindo uma ótima alternativa terapêutica.

Palavras-chave: *Momordica Charantia* L. Fitoterapia. *Candida*.

ABSTRACT

Introduction: Yeast of the candida gender are mostly related to etiology of mycosis. **Objective:** evaluate the antifungal activity of ethanolic extracts of the Bitter melon (*Momordica charantia* L.) against different species of *Candida*. **Methodology:** after the approval by the Research Ethics Committee, fruits and leaves of the Bitter melon were collected in the rural area of Bauru-SP. The fruits and leaves were taken to a greenhouse and kept with forced air circulation for 96 hours at the temperature of 45 °C. After that period, the samples were submitted to a grinding process in turbolysis. The grindings were weighed and each 10g received 85mL of alcohol 70%. The macerates were stored in an Erlenmeyer flask and were kept at rest for 21 days; after that, they were appropriately packed so that no light would penetrate in the solution. In the

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches et al. Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

sequence, the liquid suffered a vacuum filtration and the solvent was evaporated in a hood to obtain the ethanolic extracts. The tests were performed in triplicate. **Results:** The extract of the fruit did not show fungistatic (CIM) nor fungicidal capacity (CFM) in the maximum concentration evaluated (1250µg/mL) against the species of *Candida* used. On the other hand, the extract of the leave showed fungistatic activity (CIM) against the other species of *Candida*, presenting different patterns in the concentrations (312.5µg/mL for *C. albicans* and 625µg/mL for *C. krusei*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*). The same extract showed fungicidal capacity (CFM) in the species *C. albicans* and *C. tropicalis*, in the concentrations 625µg/mL and 1250µg/mL, respectively. **Conclusion:** the extract of the leave of the Bitter melon was effective against all *Candida* strains studied, suggesting this is a great therapeutic alternative.

Keywords: *Momordica Charantia* L. Physiotherapy. *Candida*.

INTRODUÇÃO

Leveduras do gênero *Candida* são reconhecidas por serem as espécies mais comuns envolvidas na etiologia das micoses. Define-se candidíase como uma infecção micótica, sendo seu agente etiológico mais frequente a *C. albicans*. Entretanto, existem outras espécies do gênero *Candida* que também podem estar envolvidas na etiologia da candidíase, entre elas *C. tropicalis*, *C. glabrata* (LIMA et al. 2006).

A utilização de vegetais ou substâncias à base de vegetais como remédio acontece desde os tempos mais antigos. Desde a Declaração de Alma-Ata, em 1978, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a necessidade do uso de plantas medicinais com finalidade profilática, curativa, paliativa ou com fins de diagnóstico (BRASIL, 2009). Além disso, muitas pesquisas comprovam a eficácia de inúmeras plantas medicinais no combate a microrganismos como bactérias e fungos (CELOTO et al., 2008; JAGESSAR, R. C.; MOHAMEDA, A.; GOMES, G, 2008).

O Melão-De-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) é integrante da família das Cucurbitáceas, flores amarelo-pálidas ou brancas e fruto. (PEREIRA et al., 2006). Apresenta propriedades anti-inflamatória, antisséptica, antidiarreica e teratogênica. O extrato aquoso e etanólico apresenta também ação antibacteriana, antifúngica e antihelmíntica. Também é usado popularmente contra eczemas, ferimentos, furúnculos, tumores, incômodos das hemorroidas, como pesticidas e, recentemente, como agente inibidor da multiplicação do

vírus da imunodeficiência humana (HIV) (GRENAND et al., 1987; YANG, WALTERS, 1992; MATOS, 1997; ROBINSON, DECKER-WALTERS, 1997).

A presente pesquisa objetivou avaliar a atividade antifúngica dos extratos etanólicos do Melão-De-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) frente a diferentes espécies de *Candida*.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi encaminhado para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da Universidade do Sagrado Coração e aprovado com protocolo 1.031.257, atendendo as exigências éticas o trabalho foi submetido ao comitê com pedido de dispensa do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

COLETA DA ESPÉCIE DO VEGETAL

A planta Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) foi obtida na região rural de Bauru-SP e em seguida, enviada para o Herbário BAUR da Universidade do Sagrado Coração (USC), onde foi realizada sua exsicata e identificação botânica com número de registro 5586.

MÉTODO DE EXTRAÇÃO ETANÓLICA

Transformação da planta *in natura* em droga vegetal

Primeiramente foram retirados os frutos com presença de fungos ou que não estavam em bom estado. Em seguida, as folhas e os frutos foram colocados em bandejas específicas e encaminhados para a estufa de marca FANEM com circulação forçada de ar por 96 horas a 40°C. Após a secagem, foram retiradas as sementes dos frutos e os mesmos foram submetidos ao processo de moagem em moinho de facas. O triturado dos frutos e das folhas foi acondicionado em recipientes diferentes e revestido com papel alumínio, a fim de bloquear a entrada de luz.

Maceração da droga vegetal

Para a preparação do macerado, foram pesados 10g do triturado dos frutos em um erlemeyer e acrescentando 85mL de álcool 70%.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

O mesmo procedimento foi realizado com o triturado das folhas. Os macerados foram armazenados em erlemeyer diferentes e de forma que a luz não penetre na solução. Os mesmos ficaram em repouso por 21 dias, os quais foram homogeneizados todos os dias. Após o repouso das soluções, o líquido foi filtrado a vácuo com aparelho da marca TECNAL e o solvente evaporado em capela para obtenção dos extratos etanólicos.

Determinação dos compostos fenólicos totais da tintura do fruto e da folha da *Momordica charantia L.*

Os compostos fenólicos, considerados os antioxidantes de maior ingestão, são característicos em alimentos de origem vegetal. Podem ajudar a limitar os danos celulares, agindo diretamente sobre espécies reativas de oxigênio, estimulando sistemas endógenos de defesa. Os grupos fenólicos, ao aceitar elétrons, formam complexos relativamente estáveis, inibindo reações de oxidação em cadeia de componentes celulares (MOURE *et al.*, 2001; SCARLBERT *et al.*, 2005).

Além da atividade antioxidante que essa classe de compostos apresenta, outros autores têm relatado uma vasta gama de atividades biológicas atribuída a eles, incluindo efeito antibacteriano, antitrombótico, vasodilatador, anti-inflamatório e anticarcinogênico mediados por diferentes mecanismos de ação, associados com os compostos fenólicos (KNEK *et al.*, 2002; GIBELLINI *et al.*, 2011).

Vários métodos espectrofotométricos para quantificação de compostos fenólicos em alimentos têm sido desenvolvidos. O método de Folin-Ciocalteu é um dos mais utilizados para a determinação de fenólicos totais em vegetais e bebidas. Este método descrito por Swain e Hills baseia-se na redução do ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, originando óxidos azuis. Absorve entre 620 e 770nm com um comprimento de onda máximo em 750nm. A reação ocorre em meio alcalino e a solução saturada de carbono de sódio é a base mais indicada (ANGELO, JORGE, 2007; GEÔCZE, 2007). A metodologia empregada para determinação dos fenólicos totais foi adotada segundo Geôcze (2007), e realizadas algumas adaptações em relação às amostras avaliadas neste trabalho. Foi empregado o reagente Folin Ciocalteu e o padrão foi o ácido gálico. Também foi utilizada solução saturada de carbonato de sódio. O resultado foi expresso em MG de ácido gálico/100mL do extrato.

Curva padrão

A solução padrão utilizada na construção da curva padrão foi obtida com 15mg de ácido gálico solubilizados em 50mL de metanol.

Foram adicionadas em cada tubo primeiramente as frações de água destilada e solução mãe (extrato do fruto e da folha), e em seguida os 700µL do reagente Folin Ciocalteu. Cada tubo foi agitado uma única vez, para homogeneizar o conteúdo. Os mesmos foram colocados em banho-maria a 37°C, por 20 minutos, e, em seguida, foi adicionado em cada tubo 1,0 mL da solução de carbonato de sódio (NaCO³), a 10% em água destilada, e foi agitado cada tubo mais uma única vez para homogeneização. Aguardou-se 15 minutos para a leitura da absorvância a 765nm. Com os dados obtidos das absorvâncias, foi construída a curva padrão, apresentada na Figura 1, a qual apresentou um coeficiente de correlação positivo e foi então empregada no cálculo do teor de fenólicos totais dos extratos.

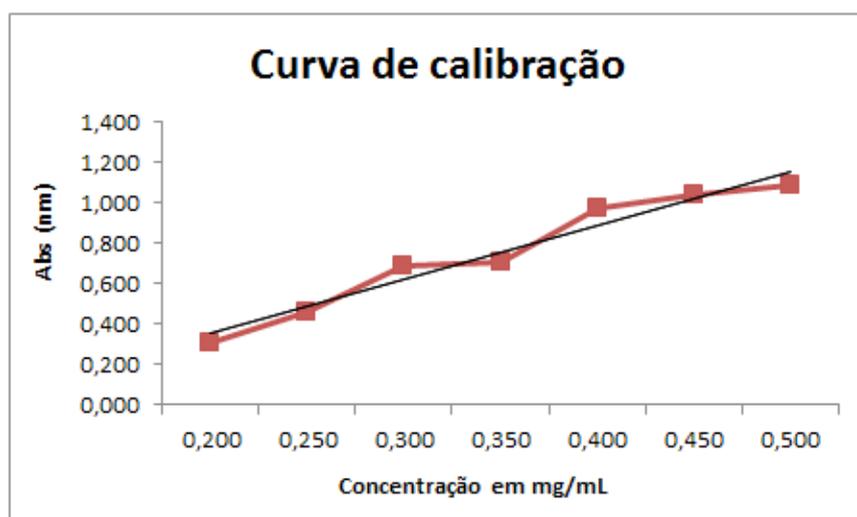


Figura 1 - Construção da curva padrão.

Fonte: elaborado pelos autores.

Amostras

Para análise das amostras foram colocados primeiramente em tubos de ensaio 500µL de amostra de cada tratamento (triplicata), adicionado em seguida 10mL de água destilada e 700µL do reativo de Folin Ciocalteu. Foi agitado uma vez cada tubo e logo após, foram colocados por 20 minutos em banho-maria. Na sequência, foram adicionados 1,0mL da solução carbonato de sódio. Cada tubo foi agitado mais uma única vez e após 15 minutos foram realizadas

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

as leituras. As avaliações espectrofotométricas foram realizadas em aparelho espectrofotômetro da marca FEMTO modelo 800 XI. O delineamento experimental ocorreu em blocos inteiramente casualizados (DIC) em que os resultados foram determinados em MG de ácido gálico/100 mL de extrato, em triplicata.

Identificação qualitativa de Tanino

Tanino é denominado um grande grupo de substâncias complexas que podem estar presentes em determinadas partes das plantas, como fruto, folha ou caules. Esses compostos são solúveis em água e possuem propriedades especiais, tais como capacidade para precipitar alcaloides, gelatina e outras proteínas (MARCHINI, 2015). Os taninos são classificados em hidrolisáveis e condensados. Os hidrolisáveis são constituídos por diversas moléculas de ácidos fenólicos. Possuem esse nome devido a suas ligações ésteres serem passíveis de sofrer hidrólise por ácidos ou enzimas. Em solução com cloreto férrico, os taninos hidrolisáveis desenvolvem a coloração azul. Os taninos condensados são moléculas bem mais resistentes à fragmentação e possuem ação antioxidante. Em solução de cloreto férrico apresentam coloração verde (SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, 2009).

A identificação qualitativa do tanino foi realizada segundo Mouco, Bernardino, Cornélico (2003), com algumas modificações que serão citadas a seguir.

Extração dos taninos

Foi pesado um grama do fruto e da folha pulverizados. Posteriormente, foram adicionados 50ml de água destilada em proveta e vertido no béquer. Com um bastão de plástico, foi misturado o solvente (água) com a planta (fruto e folha), em seguida, foram fervidos durante 5 minutos e observado a liberação do odor adstringente (característica organoléptica de plantas que apresentam taninos). Filtrou-se em papel de filtro e utilizado o filtrado para a reação de identificação dos taninos.

Reações de Identificação de Taninos

a) Reação com Cloreto Férrico 2%

Em um tubo de ensaio colocou-se 1ml da solução extrativa (fruto e folha), 5ml de água destilada e 0,5ml da solução de cloreto

férrico a 2%. Em seguida, foi observada a formação de precipitado e alterações na coloração azul ou verde.

b) Reação Acetato de Chumbo 10%

Em um tubo de ensaio, colocou-se 2ml da solução extrativa (fruto e folha) e com o auxílio de uma pipeta adicionado 1ml de acetato de chumbo a 10%, observou-se a formação de precipitado.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

As técnicas para a determinação da atividade antifúngica foram realizadas segundo QUEIROZ et al. (2015), com adaptações, conforme descrições:

Diluição do extrato etanólico de *Momordica charantia* L.

Após os extratos etanólicos obtidos da folha e fruto serem pesados com o auxílio de uma balança analítica digital, foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 50mg/mL. Em seguida, foram diluídos 1:10 em caldo RPMI. O DMSO foi utilizado para as diluições por ser considerado o melhor solvente, pois não permite a precipitação do extrato. As faixas de concentrações avaliadas para ambos os extratos foram de 1250 a 1,2 µg/mL.

Linhagens de Micro-organismos

Os micro-organismos foram doados pelo Instituto Oswaldo Cruz: *Candida albicans* (INCQS 40260), *Candida krusei* (INCQS 40095), *Candida tropicalis* (INCQS 40042), *Candida glabrata* (INCQS 40136). Estes foram mantidos em freezer, na coleção do Laboratório de Biociências da Universidade do Sagrado Coração.

Preparo do inóculo

Como a densidade do inóculo influencia no resultado dos experimentos, foi padronizada a quantidade de inóculo a ser utilizada, a fim de assegurar a reprodutibilidade dos ensaios. As suspensões de *Candida* foram obtidas a partir de culturas de 48h incubadas a 35°C (±2 °C) e padronizadas aproximadamente na

PAIXÃO, Thauana Sanches et al. Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

concentração de 10^6 leveduras/mL, de acordo com a turbidez do tubo 0,5 de McFarland. A escala 0,5 de McFarland da marca PROBAC foi adquirida comercialmente (LIMA et al., 2006).

Preparo dos controles

Anfotericina B foi o antifúngico usado como controle para as cepas de *Candida* na faixa de concentração 32 a $0,01\mu\text{g/mL}$. Também foram realizados os controles de esterilidade do meio de cultura, dos extratos etanólico de *Momordica charantia L.* (Melão-de-São-Caetano) obtidos da folha e do fruto e do solvente (DMSO).

Método da microdiluição em caldo e determinação da Concentração InibitóriaMínima (CIM) (CLSI, 2008)

O método de determinação da CIM foi realizado por microdiluição em microplaca. Foram utilizadas microplacas de 96 orifícios e depositado um total de $100\mu\text{L}$ do caldo RPMI, das soluções dos compostos a serem avaliados: extrato etanólico (folha e fruto), anfotericina B e DMSO, que foram diluídos seriadamente. Em seguida, as suspensões de *Candidas* foram adicionadas aos poços. As microplacas foram incubadas a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 48h. Seguindo este período de incubação, foram adicionados em cada orifício, $30\mu\text{L}$ de solução de resazurina a 0,01% em solução aquosa estéril para análise dos resultados do crescimento fúngico.

Método de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para a determinação desta concentração, foram empregadas as séries utilizadas para a determinação de CIM. Após o período de incubação e antes de realizar a revelação, com o auxílio de uma pipeta multicanal, cada poço da microplaca foi subcultivado e meio ágar Sabouraud com cloranfenicol em placa de Petri de 150mm de diâmetro, determinando assim o valor da concentração fungicida mínima. As placas de Petri foram incubadas a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 48h e em seguida avaliados os pontos de crescimento (QUEIROZ et al., 2015).

RESULTADOS

No teste avaliou-se a ação antifúngica dos extratos etanólicos da

folha e do fruto do Melão-de-São-Caetano, os resultados obtidos estão representados na Tabela 1.

O extrato do fruto não apresentou capacidade de inibir o crescimento (ou seja, ação fungistática (CIM)) e capacidade de fungicida (CFM) na máxima concentração avaliada (1250 µg/mL) frente a todas as espécies de *Candida* utilizadas neste estudo. Enquanto o extrato da folha demonstrou ação fungistática frente a todas as espécies de *Candida* analisadas, mostrando padrões diferentes apenas quanto às concentrações. Frente à *C. albicans*, observou-se CIM igual a 312,5µg/mL e frente às outras espécies (*C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*), CIM igual a 625µg/mL. Em relação à CFM, o extrato da folha foi eficaz somente frente às espécies *C. albicans* e *C. tropicalis*, no entanto, em concentrações superiores às encontradas no método de CIM. Frente à *C. albicans*, o extrato mostrou CFM igual a 625µg/mL e a *C. tropicalis* CFM igual a 1250µg/mL. A resazurina é um revelador que permite verificar a presença ou não de crescimento microbiano. A coloração azul indica ausência de crescimento, enquanto a cor vermelha ou rosa indica presença de células viáveis em crescimento (ALVES, et al. 2008).

A Anfotericina B foi o antifúngico sintético utilizado como controle. A CIM e CFM da mesma estão representadas na Tabela 1. Nota-se que o crescimento de *C. albicans* foi inibido na concentração de 4µg/mL. Na *C. krusei*, a concentração foi de 1µg/mL, enquanto nas espécies de *C. tropicalis* e *C. glabrata* o crescimento foi inibido a 0,5µg/mL. No que se refere à CFM, a Anfotericina B mostrou ação fungicida somente frente a duas espécies de *Candidas* e em concentrações iguais ou maiores do que as observadas na ação inibitória, CFM igual a 4µg/mL frente a *C. glabrata* e 8µg/mL frente a *C. albicans*, conforme demonstrado na Figura 8.

Observou-se ainda que não houve crescimento de micro-organismos nos controles de esterilidade dos extratos e do meio de cultura e que o DMSO não influenciou no crescimento das espécies de *Candida*.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. SALUSVITA, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

Tabela 1. Ação antifúngica dos extratos etanólicos do Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.) e da Anfotericina B frente a diferentes espécies de *Candida*

Micro-organismos	Folha µg/mL		Fruto µg/mL		Anfotericina B µg/mL	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
<i>C. albicans</i> (INCQS 40260)	312,5	625	> 1250	> 1250	4	8
<i>C. krusei</i> (INCQS 40095)	625	> 1250	> 1250	> 1250	1	> 16
<i>C. tropicalis</i> (INCQS 40042)	625	1250	> 1250	> 1250	0,5	> 16
<i>C. glabrata</i> (INCQS 40136)	625	> 1250	> 1250	> 1250	0,5	4

CIM - concentração inibitória mínima; CFM - concentração fungicida mínima

Fonte: elaborada pelos autores.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

Além dos extratos do Melão-de-São-Caetano, foram utilizados outros componentes no teste, entre eles estão o DMSO (solvente) e o RPMI (meio de cultura). E para que se tenha certeza de que esses componentes não estão agindo sobre as espécies de *Candida*, foram realizados testes de esterilidades sobre os mesmos.

DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Quanto à determinação dos compostos fenólicos, os resultados obtidos se encontram na Tabela 2. Na amostra de 150µl do macerado do fruto, a concentração média de compostos fenólicos é de 21,28mg/100ml. Já na amostra de 150µl do macerado da folha a concentração média foi de 26,43mg/100ml.

Tabela 2 - Fenólicos totais encontrados no macerado das folhas e dos frutos do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia L.*)

Amostra	Tubos	Abs	Conc (mg/mL)	Conc Média	Conc (mg/100 ml)
Macerado Fruto - 150 ul	1	0,327	0,203	0,2128	21,28
	2	0,386	0,223		
	3	0,364	0,215		
Macerado Folha - 150 ul	1	0,506	0,262	0,2643	26,43
	2	0,520	0,267		
	3		0,096		

Fonte: elaborada pelos autores.

IDENTIFICAÇÃO QUALITATIVA DE TANINO

Os resultados obtidos através da identificação qualitativa de tanino nos extratos do fruto e da folha do Melão-de-São-Caetano se encontram na Tabela 3.

Tabela 3 - Identificação Qualitativa de Tanino nos extratos de folha e fruto do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia L.*)

Reagente	Folha	Fruto
Cloreto Férrico 2%	tanino condensado (verde)	não identificado
Acetato de Chumbo 10%	precipitação	precipitação

Fonte: elaborada pelos autores.

A reação do extrato da folha com o Cloreto Férrico 2% resultou no surgimento da coloração verde, o que indica a presença de tanino

condensado. Na reação do mesmo extrato com o Acetato de Chumbo 10%, houve formação de precipitado bastante evidente, o qual determina a presença de tanino.

Já na reação do extrato do fruto com o Cloreto Férrico 2% não foi possível a identificação do tipo de tanino. E na reação do extrato com o Acetato de Chumbo 10% também houve precipitação indicando também a presença de tanino.

DISCUSSÃO

A utilização de plantas com finalidade terapêutica denomina-se fitoterapia. A Medicina Complementar e Alternativa tem como principal recurso o uso de plantas medicinais e fitoterápicos. Essa prática vem sofrendo grandes avanços científicos, principalmente relacionados ao combate de doenças bacterianas, parasitárias e virais (JÚNIOR et al, 2016).

Neste sentido, os resultados do presente estudo foram positivos quanto à ação antifúngica do extrato da folha de *Momordica charantia* L. O extrato etanólico do fruto de *Momordica charantia* não apresentou ação contra nenhuma das espécies de *Candida* estudadas. Já o extrato da folha demonstrou ser antifúngico e fungicida em todas as espécies de *Candida* estudadas. No estudo de Mwambete (2009), foi verificado que o extrato da folha obteve ação contra *C. albicans* e Celoto (2011) relata que há ação antifúngica também do extrato da folha, porém em outra espécie de fungo.

Em contrapartida, Silva (2012) em seu estudo verificou que o extrato da folha não apresentou ação contra nenhuma das espécies de *Candida* estudadas, visto que fatores importantes como técnica de extração, meio de crescimento, data da colheita podem influenciar na extração do princípio ativo da planta.

Os resultados mostraram que as atividades de potenciais dependem do método de extração e dos solventes utilizados (ILAGAN, Y; ILAGAN, F; RAMOS, 2015).

Segundo Gomes et al. (2011), os taninos são considerados compostos secundários responsáveis pela defesa da planta contra fungos patogênicos, bactérias e vírus. As atividades bactericidas e fungicidas ocorrem devido a três características gerais dos taninos: complexação com íons metálicos; atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres; habilidade de complexar com outras moléculas, principalmente proteínas e polissacarídeos. Alguns autores afirmam que os taninos hidrolisáveis e condensados não apresentam diferenças significantes frente a fungos e bactérias.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

Apenas alguns trabalhos realizam a diferenciação do tipo de tanino presente no extrato, o que ajudaria esclarecer as dúvidas quanto aos efeitos observados (CASTEJON, 2011).

No presente estudo, observou-se no extrato da folha a presença de tanino condensado e no extrato do fruto de tanino hidrolisável. Porém, apenas o extrato da folha obteve ação fungicida e fungistática, a qual pode estar relacionada com a presença de taninos condensados em sua propriedade. Em seu trabalho, Gomes (2011) também constata a presença de taninos no Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.).

Auricchio *et al.* (2007) realizaram um experimento para verificação de possíveis ações antimicrobianas, antioxidantes e tóxicas do extrato hidroalcoólico de *Eugenia uniflora* L, composto por flavonoides e taninos. O extrato demonstrou atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. O efeito foi atribuído aos compostos fenólicos, principalmente os taninos, o que corrobora os resultados obtidos nesse estudo.

Além dos taninos, outros compostos importantes (os quais estão relacionados com as propriedades das plantas) são os fenólicos. Neste estudo, o valor médio de compostos fenólicos em uma amostra de 150µl do macerado do fruto foi de 21,28mg/100ml, o qual difere do resultado encontrado por Silva, Gatti e Marcellino (2015b), que encontraram um valor médio de 30,3 e o de Fassina e Tombini (2012), que detectaram 0,37mg/100mL.

No macerado das folhas, o valor médio obtido em uma amostra de 150µl foi de 26,43mg/100ml, menor do que o encontrado em Silva, Gatti e Marcellino (2015a) que obteve 53,43mg/100ml. É importante ressaltar que as variações de compostos químicos das plantas determinados por fatores extrínsecos e intrínsecos, podem apresentar diferenças nas ações farmacológicas das espécies vegetais, daí a importância de estudos quanto às diferenças químicas das plantas obtidas em variadas localidades (RODRIGUES, *et al* 2010).

A Anfotericina B é um fármaco que foi descoberto em 1953. É considerado um dos principais fungicidas, sendo muito utilizado no tratamento de micoses e também como profilaxia fúngica em pacientes neutropênicos (FILIPPIN; SOUZA, 2006). No presente estudo, a Anfotericina B se mostrou bastante eficaz contra todas as espécies de *Candida* e, o mais importante, em baixas concentrações. Em seu estudo, Crocco e colaboradores (2004) relatam que as *C. albicans* e *C. krusei* mostraram susceptibilidade a Anfotericina B. Em outro estudo, realizado por Ferrazza e colaboradores (2005) constatou-se que a CIM da Anfotericina B contra *C. albicans*, *C.*

glabrata e *C. tropicalis* variaram de 0,25 a 1,0µg/mL. Os estudos citados anteriormente corroboram os resultados adquiridos no presente estudo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos extratos avaliados, o extrato da folha do Melão-de-São-Caetano foi eficaz sobre todas as linhagens de *Candida* ensaiadas, sugerindo uma ótima alternativa terapêutica. Entretanto, observa-se a necessidade de aprofundar esse estudo no que se refere à utilização de plantas medicinais, obtendo maiores resultados quanto à sua toxicidade, podendo resultar no desenvolvimento de novos antifúngicos como meios alternativos, de baixo custo, com menos efeitos adversos ao organismo e mais acessíveis à população.

Além disso, estudos como esse permitem ao profissional da saúde obter maiores conhecimentos sobre a utilização de fitoterápicos, para que, como educadores em saúde, possam ensinar e conservar o saber tradicional.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo fomento à pesquisa.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de *Candida*. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

REFERÊNCIAS

ALVES, E. G. et al. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

AURICCHIO, M.T.; BUGNO, A.; BARROS, S.B.M.; BACCHI, E.M. Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v.26, n.1, p. 76-81, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **O SUS de A a Z: garantindo saúde nos municípios**. 3. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009.

CASTEJON, F. V. **Taninos e saponinas**. 2011. 29f. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-graduação em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2011.

CELOTO, M. I. B. et al. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Actasciagron**, Maringá, v.30, n.1, 2008.

CELOTO, M. I. B. et al. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia L.* sobre *Colletotrichum musae*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.3, p.337-341, 2011.

CROCCO, E. I. et al. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica in vitro: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.79 n.6, p.689-697, nov/dez. 2004.

FASSINA, M. S.; TOMBINI, S. **Avaliação do efeito cicatrizante do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia L.*)**. 2012. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Sagrado Coração, Bauru, 2012.

FERRAZZA, M. H. S. H. et al. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.27, n.2, p.58-63, 2005.

FILIPPIN, F. B.; SOUZA, L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, vol. 42, n.2, abr./jun., 2006.

GEÔCZE, A.C. **Influência da preparação do licor de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba Vell Berg*) no teor de compostos fenólicos**. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GIBELLINI, L. et al. Quercetin and Cancer Chemoprevention, **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 2011, p. 1 - 5, 2011.

GOMES, R. S. et al. Análise fitoquímica de extratos botânicos utilizados no tratamento de helmintoses gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Revista Caatinga**, Mossoró, vol. 24, n. 4, p.172-177, out-dez, 2011.

GRENAND, et al. **Pharmacopées traditionnelles en Guyane-créoles, paçikur, wayãpi**. Paris: Éditions de IÓRSTOM/Institut Francais de Recherche Scientifique pour le Développement em Coopération, 1987.

ILAGAN, Y. A.; ILAGAN, F. M. A.; RAMOS, A. P. Antifungal Activity of Some Medicinal Plants and Their Interactive Effects with Antibiotic on Some Species of *Candida* Causing Candidiasis. In: Daniel, E. G. S. (Ed.). **Biology Education and Research in a Changing Planet**. New York: Springer, 2015. pp 173-180.

JAGESSAR, R. C.; MOHAMEDA, A.; GOMES, G. et al. An evaluation of the Antibacterial and Antifungal activity of leaf extracts of *Momordica Charantia* against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Nature and Science**. New York, v.6, n.1, 2008.

JÚNIOR, N. B. J. et al. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.57-66, 2016.

LIMA, et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v.16, n.2, p. 197-201, 2006.

MARCHINI, H. R. **Extração dos taninos da espécie *Pinus taeda* no município de Curitibaanos – SC e sua avaliação para aplicação industrial como adesivo modificado**. 2015. 117 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos

PAIXÃO, Thauana Sanches et al. Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. **SALUSVITA**, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.

e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, PR, 2015.

MATOS, F. J. A. O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha: informações sobre o emprego na medicina caseira de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 2.ed. Fortaleza: EUFC, 1997.

MOUCO, G.; BERNARDINO, M. J.; CORNÉLICO, M. L. Controle de qualidade de ervas medicinais. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Natal, n.31, 2003.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources, **Food Chemistry**, Reino Unido, v.72, p.145 - 171, 2001.

MWAMBETE, K. D. The *in vitro* antimicrobial activity of fruit and leaf crude extracts of *Momordica charantia*: a Tanzania medicinal plant. **African Health Sciences**, African, vol.9, n1, p. 34-39, março 2009.

PEREIRA, L. F. et al. Efeito antimicrobiano dos extratos de momordica charanha linn. e psidium Gecajava Linn. isolados e em associação sobre linhagens de staphylococcus aureus. In: **Anais do XIV encontro de iniciação científica da UFPB**, 2006.

QUEIROZ, G. M. et al. Phytochemical characterization, antimicrobial activity and antioxidant potential of *Equisetum hyemale* L. (Equisetaceae) extracts. **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle v. 1, p. 1-5, 2015.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. **Cucurbits**. New York: Cab International, 1997.

RODRIGUES, K. A. F., et al. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 17, n. 2, maio/ago. 2010.

SILVA, B. F.; GATTI, M. A. N.; MARCELLINO, M. C. L. **Avaliação da atividade antimicrobiana do melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) frente a diferentes espécies de bactérias**. 2015a. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem) – Universidade do Sagrado Coração, Bauru, 2015.

SILVA, B. F.; GATTI, M. A. N.; MARCELLINO, M. C. L. **Efeito cicatrizante do melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) em úlceras venosas**. 2015b. 36 f. Monografia (Iniciação Científica – Enfermagem) – Universidade do Sagrado Coração, Bauru, 2015.

SILVA, G. de S. **Estudo da ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies de Candida de interesse médico**. 2012. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Taninos**. Curitiba, c2009.

USA. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **M27-A3 Reference Method for broth dilution antifungal susceptibility testing as yeasts**. v.28, n.14, 2008.

YANG, S. L.; WALTERS, T. W. Ethnobotny and the economic role of the Cucurbitaceae of China. **Economic Botany**, New York, v.46, n.4, p.349-367, 1992.

PAIXÃO, Thauana Sanches *et al.* Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos do melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia L.*) Frente a diferentes espécies de candida. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 4, p. 959-976, 2019.