

JULIANE BARBOSA PESSOA

**AÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DOS EXTRATOS HEXANO,  
ACETATO, ACETONA, DICLOROMETANO E ETANOL DA *MOMORDICA*  
*CHARANTIA* (MELÃO DE SÃO CAETANO)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, no curso de Biotecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados. Orientador; Prof. Dr. Leonardo Ribeiro Martins

Dourados, 03 de agosto de 2018.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Leonardo Ribeiro Martins**  
Orientador

---

**Prof. Dr. Nelson Luís de Campos Domingues**  
Membro da banca

---

**Prof. M.e Luiz Fernando Benitez Macorini**  
Membro da banca

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the antimicrobial activity and the minimum inhibitory concentration (MIC) of the ethanolic, acetone, dichloromethane, hexanic and ethyl acetate extracts of *Momordica charantia* (São Caetano Melon). The strains used in this study were *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305), *Escherichia coli* (ATCC 25922). Antimicrobial activity was performed by the agar diffusion method by the well technique. The MIC was evaluated in a 96 well microplate, extracting the microdilution and reading in a spectrophotometer at 610 nm. *Momordica charantia* ethyl acetate extract showed antimicrobial effectiveness against *Staphylococcus aureus* which indicates a potential therapeutic, thus being able to treat various diseases of microbial origin and with a low financial cost being an extract obtained from a very common plant in the Brazil and within easy reach.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólico, acetona, diclorometano, hexânico e acetato de etila da *Momordica charantia* (melão de São Caetano). As cepas utilizadas neste estudo foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305), *Escherichia coli* (ATCC 25922). A atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em ágar, por meio da técnica de poços. Já a CIM foi avaliada em microplaca de 96 poços, realizando a microdiluição do extrato e leitura em espectrofotômetro a 610 nm. O extrato acetato de etila da *Momordica charantia* apresentou efetividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* o que indica um possível potencial terapêutico, sendo assim capaz de tratar várias doenças de origem microbiana e com um baixo custo financeiro sendo esse um extrato obtido de uma planta muito comum no Brasil e de fácil acesso.

## 1. INTRODUÇÃO

A *Momordica charantia* (Figura 01), conhecida popularmente como melão de São Caetano, pertence á familia das cucurbitáceas, é uma planta tropical, de crescimento rápido, comum em terrenos abandonados e que apresenta efeito medicinal, comprovado para o tratamento de várias afecções de origem microbiana. É cultivada em várias partes do mundo, sendo

tradicionalmente utilizada de forma terapêutica e como alimento em países em desenvolvimento.<sup>1</sup>



**Figura 01.** *Momordica Charantia*

A família Cucurbitaceae apresenta grande número de espécies de uso medicinal e outras consideradas tóxicas. Trata-se de uma trepadeira originária da Ásia e África que se adaptou facilmente ao Brasil em razão do clima tropical. Caracteriza-se pela presença de gavinhas simples, longas e pubescentes, apresentando caule herbáceo fino, sulcado e de coloração esverdeada. Suas folhas são membranáceas, alternas, com cinco ou sete lobos sinuados, ovado-oblongos, mucronados, denteados e opacos. As flores monóicas são amarelo-pálidas ou brancas e os frutos são bagas consideradas comestíveis.<sup>2</sup>

Esta planta se desenvolve bem a uma temperatura mínima de 18° C, tem o crescimento máximo em temperaturas dia/noite 28-35/20-25° C e redução severa no crescimento em temperaturas da noite 16° C, requer mais calor do que as outras espécies de cucurbitáceas para atingir o máximo rendimento.<sup>3</sup>

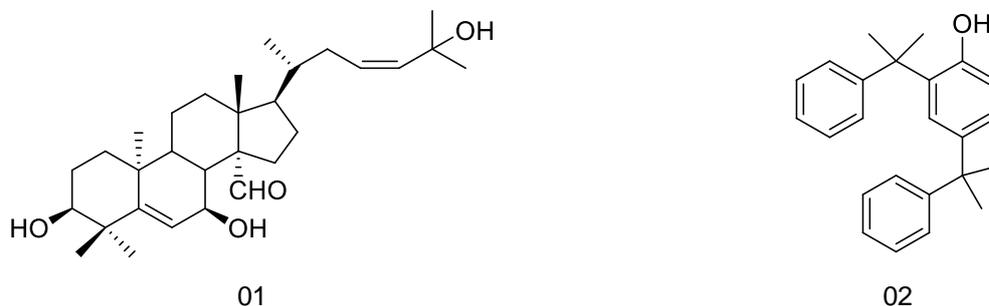
Os extratos dos vários componentes desta planta foram descritos por apresentarem atividades: hipoglicêmica, antimutagênica, antifertilidade, hepatoprotetiva e antiinflamatória.<sup>4</sup>

Em estudos fitoquímicos anteriores da *Momordica charantia* foram encontradas substâncias bioativas como polissacarídeos, peptídeos e proteínas, lipídeos, terpenóides, saponinas, compostos fenólicos e esteróides.<sup>5</sup>

Esta espécie vegetal está descrita na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS), uma lista com 71 espécies que apresentam potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e gerar produtos de interesse ao SUS e ao Ministério da Saúde.<sup>6</sup>

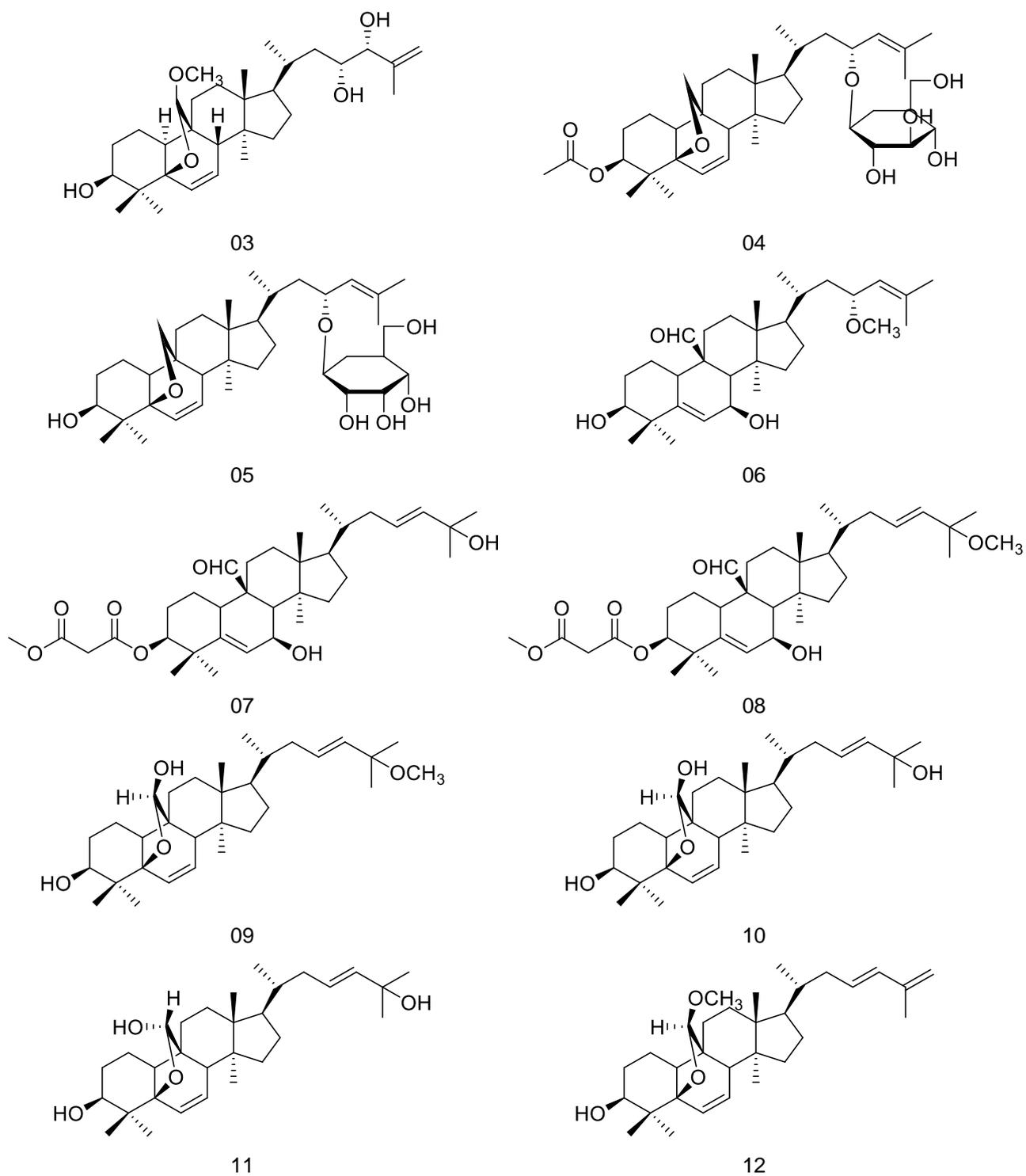
As técnicas mais comumente utilizadas para extração e/ou pré-concentração de compostos presentes em fluidos biológicos são: extração líquido-líquido, extração em fase sólida, extração com fluido supercrítico e extração com membranas sólidas (diálise e ultrafiltração) ou líquidas. Estas técnicas de preparação de amostras têm sido automatizadas para uso em análises de rotina, pois eliminam erros humanos de manipulação, diminuem o tempo de assistência do analista durante a análise, evitam o risco de contato com substâncias prejudiciais à saúde e aumentam, significativamente, o número de análises de amostras por tempo.<sup>7</sup> A extração de substâncias básicas é, normalmente, realizada a pH maiores que 7 e a extração de substâncias ácidas é feita em pH menores que 5. Vários tipos de solventes orgânicos têm sido empregados na extração de drogas ácidas e básicas presentes em amostras de fluidos biológicos, tais como, acetona, acetato de etila, hexano, diclorometano, etanol, etc. Quanto maior a afinidade do analito pelo solvente orgânico maior a recuperação.<sup>8</sup>

Panlilio e colaboradores em 2012<sup>9</sup> isolaram do extrato etanólico das folhas de *Momordica charantia* o charantal (01) um aldeido lanostano e o 2,4-bis(2-fenilpropan-2-il)fenol (02) (figura 02), ambas substâncias foram ativas contra o *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.



**Figura 02** - Estruturas das substâncias extraídas do extrato etonólico das folhas da *Momordica charantia*.

Zhao e colaboradores em 2014<sup>xx</sup> isolaram do extrato metanólico de folhas e caule da *Momordica charantia* 06 novos triterpenoides do tipo cucurbitano, karavilagenina (**03**), karavilosideo XII (**04**) karavilosideo XIII (**05**), momordicina VI (**06**), momordicina VII (**07**), momordicina VIII (**08**), 5 $\beta$ ,19-metoxicucurbita-6,23-dieno-3 $\beta$ ,19-diol (**09**), 5 $\beta$ ,19-epoxicucurbita-6,23-dieno-3 $\beta$ ,19,25-triol (**10**), kuguacina R (**11**) e (19*R*,23*E*)-5 $\beta$ ,19-epoxi-19-metoxicucurbita-6,23,25-trieno-3 $\beta$ -ol (**12**) (Figura 03), sendo que as substâncias **05**, **06** e **08** foram ativas frente a 05 linhas de células cancerígenas humanas: HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 e SW480.



**Figura 03.** Estruturas das substâncias extraídas do extrao metonólico de folhas e caule da *Momordica charantia*.<sup>10</sup>

Palavras-chave: *Momordica charantia*; atividade biológica; extratos.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Preparo dos extratos de folhas e caule da *Momordica charantia*

As folhas e caules de *Momordica charantia* foram coletas e secas. Após o procedimento foram separados 05 erlenmeyer de 250 mL onde foram colocados 10 gramas de folhas e caules em cada erlenmeyer. Utilizou-se cinco solventes orgânicos: acetona, acetato de etila, hexano, diclorometano e etanol, adicionou-se 200 mL de cada um dos solventes em cada um dos erlenmeyer (Figura 04). O material permaneceu em repouso por 03 (três) dias e em seguida foi filtrado (Figura 05), rotaevaporado e pesado (Figura 06), este procedimento foi repetido por 04 (quatro) vezes.



Figura 04. Preparo dos extratos



Figura 05: Extratos antes de serem rotaevaporados.



**Figura 6:** Extratos secos e pesados

Logo em seguida, foi utilizado uma solução de água e tween 60 (10% v/v) para prepara os as soluções para os testes de atividade antimicrobiana, foi usado um banho ultrassônico digital da marca sani clean 2PS para ajudar na solubilização dos extratos brutos.

## 2.2. Teste da atividade antimicrobiana

Os microrganismos testados foram incubados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubados a 37°C por 48h para reativação das cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Após este periodo os microrganismos foram semeados em placa contendo ágar Mueller Hinton e incubados novamente a 37°C por 24h em estufa bacteriológica.<sup>11</sup>

Após o crescimento, o inóculo microbiano foi padronizado em salina em uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland, equivalente a  $1 \times 10^8$  UFC/mL, e semeado na superfície das placas de ágar Mueller Hinton com o auxílio de swabs estéreis de forma homogênea. Em seguida, foram realizadas perfurações de 6mm de diametro (FIGURA 06) com tubos de alumínio estéreis e adicionados em cada cavidade o equivalente a 100µL dos extratos obtidos nas seguintes concentrações (TABELA 01):

	Extratos	Concentração (mg/mL)
01	acetona	22,86
02	diclorometano	10,00
03	acetato de etila	19,76
04	hexano	15,40
05	etanol	12,27

**Tabela 1:** Concentração dos extratos

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada observando a formação de halos de inibição ao redor das cavidades padronizadas após 24 horas.<sup>10</sup> Os testes para cada microrganismos foram realizadas em triplicata.

### 2..3. Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Foram adicionadas 100µL do extrato acetato de etila realizando a microdiluição. Os cultivos bacterianos para a reativação de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) foram reativadas em placas de petri com ágar Mueller Hinton, e colocadas em estufa para crescimento durante a 24h a 37°C.

Após o crescimento, os inóculos microbiano foram padronizados em solução salina com uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland e diluídos 1:10 também em salina. Após a diluição, o volume de 10µL foram transferidos para as cavidades de microplaca esterelizada, contendo volume final de 100µL de caldo Mueller Hinton acrescido de diferentes concentrações finais do extrato resultando em um inóculo final de aproximadamente  $10 \times 10^5$  UFC/mL, e posteriormente levada a estufa a 37°C por 24h. O teste foi realizado em triplicata. As CIMs (Concentrações Inibitorias Mínimas) foram determinadas por meio de leitura de espectrofotometro a 610nm em microplaca observando a menor concentração na qual o extrato inibiu completamente o crescimento microbiano.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de atividade antimicrobiana por difusão em ágar, dos extratos das folhas e caule de *Momordica charantia* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Escherichia coli* (Figura 07), observou-se os seguintes resultados (TABELA 02):

	Extratos	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Escherichia coli</i>
01	acetona	-	-	-
02	diclorometano	-	-	-
03	acetato de etila	+	-	-
04	hexano	-	-	-
05	etanol	-	-	-

(-) resultado negativo (+) resultado positivo

**Tabela 02:** Resultados do teste por difusão em ágar

O halo de inibição formado pelo extrato acetato de etila frente ao *Staphylococcus aureus* foi de  $15,0 \pm 0,5$  mm e da tetraciclina foi de  $31 \pm 0,2$  mm .

A concentração inibitória mínima (CIM) necessária para inibir o crescimento bacteriano obtido para a cepa *Staphylococcus aureus* foi de 2,46mg/mL para o extrato acetato de etila, sendo o único que deu resultado.

Os microrganismos testados obtiveram resultados bastante diferentes. Podemos destacar a estirpe de *Staphylococcus aureus*, por ter demonstrado um valor significativo nos testes de difusão em ágar e concentração inibitória de crescimento microbiano em 19,76mg/mL de extrato e halo de inibição de 15mm.

As bactérias testadas são pertencentes a microbiota normal do corpo humano. Porém todas são causadoras de infecções, podendo ser considerados leves como espinhas, furúnculos, celulites ou mais graves como meningite, septicemia, peritonite entre outras.<sup>11</sup>

#### 4. CONCLUSÃO

Com este trabalho, conclui-se que o extrato acetato de etila das folhas e caules da *Momordica charantia* apresenta atividade antimicrobiana frente às cepas de *Staphylococcus aureus* sendo ela uma bactéria gram-positiva.

Contudo, pode-se realizar novos ensaios a fim de certificar que a atividade antimicrobiana do extrato seja eficaz e segura no seu uso como fitoterápico, além de corroborar e assegurar os resultados obtidos neste trabalho.

## 5. REFERÊNCIAS

1. Ponzi, E.A.C. *Atividade antibacteriana do extrato de Mmormordica Charantia. Pernambuco, 2010.*
2. Alzugaray, D.; Alzugaray, C. *Plantas que curam.* São Paulo: Ed. Três, **1983.**
3. LARKCOM, J. 1991. *Oriental vegetables: the complete guide for garden and kitchen.* London, John Murray 232 p.
4. Ahmed, I.; Adeghate, E.; Sharma, A.K.; Pallot, D.J; Singh, J. **1998.** *Effects of Momordica charantia fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat.* Diabetes Research and Clinical Practice, 40, 145–151.
5. Jia, S.; Shen, M.; Zhang, F.; Xie, J.; International Journal of Molecular Sciences. **2017**, 18, 2555;
6. Berrueta, L. A.; Gallo, B.; Vicente, F.; *Chromatographia* **1995**, 40, 474.
7. Notermans, S.& Hoogenboom-Verdegaal, A. H. **1992.** *Existing and emerging foodborne disease. International Journal of Food Microbiology*, 15(3-4): 197-205.
8. Badcock, N. R. e Zoanetti, G. D.; *Ann. Clin. Biochem.* **1996**, 33, 75.
9. Panlilio, B.G.; Macabeo, A. P. G.; Knorn M.; Richomme, P.; Kouam, S. F.; Gehle, D.; Krohn, K.; Franzblau, S, G.; Zhang, Q.; Aguinaldo, A, M.; *Phytochemistry Letters*, **2012**, 5, 682;
10. Zhao, G,-T.; Liu, J.-Q.; Deng, Y-Y.; Li, H-Z.; Chen, J-C.; Zhang, Z-R.; Zhou, L.; Qiu, M-H.; *Fitoterapia*, 2014, 95,75;.
11. Leitão, M. M.; Souza, R. P. S.; Lima, C. C. F.; Macorini, L. F. B.; *Perspetivas Experimentais e Clínicas, Inovações Biomédicas e Educação em Saúde*, **2016**, 2, 58.