

## **AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DA *Momordica Charantia* E SUAS FRAÇÕES FRENTE À *Escherichia Coli***

Natália Lira Messias; Luís Augusto Pereira Silva; Jéssica Cabral de Andrade; Luana Silva Barbosa;  
Delcio de Castro Felismino.

LABDEM/ UEPB – Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos, Departamento de Farmácia-  
Universidade Estadual da Paraíba.

[natxi\\_lira\\_messias@hotmail.com](mailto:natxi_lira_messias@hotmail.com)

**Resumo:** O uso de antimicrobianos está cada vez mais disseminado, ocasionando o desenvolvimento de defesa dos microrganismos frente aos agentes antimicrobianos, dando origem ao fenômeno da resistência microbiana. Estudos científicos buscam estratégias que possam atuar como um produto inovador para combater a multirresistência. Atualmente, constata-se a possibilidade de utilização de espécies vegetais para síntese de novos medicamentos a resistência microbiana. Dentre as espécies vegetais, tem-se a *Momordica Charantia* L., originária da África, estando adaptadas as condições edafoclimáticas do Brasil, é utilizada na medicina popular para o tratamento de diversas patologias. Assim, objetiva-se avaliar a atividade antimicrobiana e moduladora de extratos etanólico e fracionados de folhas da *M. Charantia* frente a cepas *Escherichia Coli*. As folhas de *M. Charantia* foram submetidas à secagem e pulverização para obtenção do extrato etanólico, a 96%, através do método por maceração a frio. Do extrato etanólico foram suspensos e extraídos sucessivamente com solventes de polaridade crescente (Hexano, Diclorometano, e Álcool metílico), em ampola de separação, e roto evaporado. Para avaliação antimicrobiana foram utilizados isolados clínicos de *Escherichia coli* com perfil de resistência. A suscetibilidade microbiana foi determinada pelo método de microdiluição em caldo utilizando microplacas, com adição de resazurina. A CIM dos antibióticos foi determinada na presença e na ausência dos referidos extratos em concentrações subinibitórias (CIM/8). Os resultados obtidos com a pesquisa irão contribuir disponibilizando informações a respeito da planta estudada, podendo ser uma opção para o desenvolvimento de um fitoterápico com indicação para doenças infecciosas.

**Palavras-chaves:** Extrato etanólico, Plantas Medicinais, Resistência bacteriana.

**Introdução:** A utilização de antimicrobianos está se tornando cada vez mais comum, provocando o desenvolvimento de defesa de microrganismos frente aos agentes antimicrobianos, dando origem e evolução ao fenômeno da resistência microbiana. Este é um mecanismo biológico natural, e pode ser atribuída a diversos fatores, segundo Floréz (1997), Freitas (2003); Melo; Perussi (2012), inativação de antimicrobianos através de enzima que modificam ou hidrolisam estes agentes; por alteração dos receptores-alvo, em decorrência da aquisição de um alvo com reduzida afinidade ao antimicrobiano ou através de mutação de genes que codifiquem este alvo ou por um acesso limitado dos antimicrobianos (FREITAS, 2003). Isso impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública. Sendo esta uma razão para os investimentos em pesquisas que favoreçam a formulação de novos antimicrobianos (SILVEIRA et al., 2006). Com isso, os estudos científicos buscam estratégias para combater a multirresistência, vindo nos países tropicais e em desenvolvimento, como o Brasil, uma boa alternativa para a inovação com novos produtos com atividade antimicrobiana, oriundos de espécies vegetais (MARSH, 2010).

Frente a esta problemática, atualmente há um grande empenho por parte dos pesquisadores em descobrir alternativas eficazes de combate a microrganismos resistentes, além dos estudos para obtenção de novos medicamentos alopáticos, os produtos naturais são uma opção bastante viável no combate a essas resistências.

As plantas pertencentes ao nordeste brasileiro possuem múltiplos usos na medicina popular local. Esse uso baseia-se no conhecimento de raizeiros ou mesmo no

que passa de geração em geração (AGRA, 2007). Atualmente, de acordo com Cowan (1999) e Loguercio et al. (2005), inúmeras espécies vegetais são utilizadas com fins antimicrobianos, esta propriedade deve-se principalmente as substâncias bioativas sintetizadas pelo metabolismo secundário da planta, como é o caso dos polifenóis, alcaloides, entre outros. Muitas destas espécies foram avaliadas não só por sua atividade antimicrobiana direta, mas também como agentes modificadores de resistência, uma vez que seus metabólitos secundários podem aumentar a atividade de antibióticos específicos, inverter a resistência natural de bactérias específicas dadas aos antibióticos, promover a eliminação de bactérias e inibir as funções de transporte da membrana plasmática em relação a alguns antibióticos (COUTINHO et al., 2012).

A *Momordica charantia* L., conhecida popularmente por melão-de-São Caetano, melãozinho, erva de lavadeira, entre outros, pertencente à família das *Cucurbitáceas*. Planta de clima tropical, originária da África, estando adaptadas as condições edafo-climáticas do Brasil, se propaga espontaneamente através de sementes (DANTAS; FELISMINO; DANTAS, 2007), de crescimento rápido, comum em terrenos abandonados. Apresenta cheiro desagradável, possui folhas palmatífidas (ROBINSON; WALTERS, 1997), flores amareladas ou esbranquiçadas, e fruto carnoso, que se torna amarelo avermelhada quando madura (VINNING, 1995), Sendo indicada pela população para o tratamento de diversas patologias de origem microbiana (GÜRBÜZ et al., 2000; LORENZI;

É uma espécie vegetal silvestre comumente encontrada em áreas urbanas e rurais,

sendo conhecida por suas propriedades medicinais (Ribeiro, 2003). As folhas masculinas são solitárias, em pedúnculo com bráctea reniforme, glabros ou ligeiramente pubescentes, apresenta corola irregular, de coloração amarelo limão, flores fêmeas nos pedúnculos delgados longos de 5-10 cm, brácteas geralmente perto da base. As folhas são membranosas, lisas, pilosas e lobadas com cinco a sete lóbulos, gavinhas simples, longa, delicada, pubescente. As flores amarelas saem das axilas da folha, tem cinco pétalas, são amarelas arredondadas ou recortadas nas pontas e até um centímetro de comprimento, as sépalas são ovais com cerca de 4,5 milímetros de comprimento.

Para a sua frutificação, as plantas da espécie das cucurbitáceas necessitam da atuação de insetos para o sucesso da polinização, em especial de abelhas (Amaral 1979, Winsor *et al.* 2000, Montes-Hernandez & Eguarte 2002, Rustet *al.* 2003), exemplo disso é o melão (*Cucumis melo* L.). A planta do melão de São Caetano cresce em áreas tropicais na Ásia, na Região Amazônica, no leste da África e nas Ilhas do Caribe. Como também, é cultivada em todo o mundo para o uso como planta medicinal (Ahmed, 1998). É utilizada corriqueiramente na medicina tradicional em países como Brasil, China, Colômbia, Cuba, Gana, Haiti, Índia, México, Malásia, Nova Zelândia, Nicarágua, Panamá e Peru (Grover, 2004). Este vegetal é cultivado também no sul de Kyushu, Japão, devido ao clima subtropical (Senanayake, 2004).

Baseando-se nas inúmeras indicações populares de uso terapêutico desta espécie, fazem-se necessários maiores estudos que demonstrem outras propriedades biológicas, como a atividade antimicrobiana e, indo mais além, avalie

sua capacidade de modular a atividade de antibióticos específicos, possibilitando assim um uso seguro e eficaz da *M. charantia*.

O conhecimento sobre plantas medicinais representa diversas vezes a principal alternativa terapêutica de muitas sociedades e grupos étnicos. A utilização de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão clássica quanto a espécie humana. Ainda hoje nas regiões mais carentes do país e até mesmo nos grandes centros urbanos brasileiros, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais como forma tradicional do seu uso. O uso de plantas medicinais tem base na tradição familiar e social e tornou-se prática generalizada na medicina popular. Por causa de tal tradição mostrou-se necessidade de um maior entendimento das mesmas.

Diante disso, nos países em desenvolvimento 80% da população permanece usando a medicina tradicional na saída dos problemas básicos de saúde, nos quais se acredita que os hábitos de consumo destas plantas favorecem inúmeros efeitos benéficos à saúde humana (Dubick, 1986). Na década passada, conseqüentemente, várias pesquisas têm focado na pesquisa científica de drogas tradicionais de plantas (Grover, 2004). Assim, o modo de pesquisa do meio botânico vêm favorecendo cada vez mais o conhecimento de diversas plantas medicinais, esclarecendo muitas dúvidas seja no fornecimento de informações morfológicas e ambientais, tipos de compostos fito químicos da planta, hábitos, características morfológicas e identificação precisa das espécies levantadas (Carlini, 1983; Elizabetsky, 1987).

Devido à facilidade do acesso as plantas medicinais e ao menor custo, a fitoterapia abre um amplo leque para melhorar a qualidade de vida da população carente, no que diz respeito à cura de doenças. Segundo a Organização Mundial da Saúde (2002) houve um aumento marcante nestas últimas décadas do uso de plantas medicinais voltada para a atenção básica de saúde, e isto reflete diretamente na melhoria da qualidade de vida de populações, principalmente com baixo poder aquisitivo.

Mesmo com o maior uso de plantas medicinais, muitos grupos sociais continuam utilizando-as de forma equívoca, com relação a sua finalidade terapêutica. Pois, apesar dessa abrangência de informações populares sobre efeitos terapêuticos, é indispensável o conhecimento científico inovador para determinação de sua eficácia antimicrobiana. Assim, em meio ao desenvolvimento contínuo de pesquisas científicas como base plantas medicinais, fez-se necessário o aprofundamento do conhecimento científico sobre a *Momordica Charantia* a fim de esclarecer diversas dúvidas sobre seu efeito antimicrobiano.

Propondo aprofundar o estudo da referida espécie vegetal acerca da propriedade antimicrobiana, bem como da sua atividade moduladora e testes de toxicidade, esses resultados poderão contribuir para o arsenal terapêutico das doenças relacionadas a infecções causadas por microrganismos, disponibilizando a comunidade informações a cerca dessa espécie vegetal em compêndios, farmacopeias fitoterápicas, periódicos de alto impacto, entre outros, possibilitando o desenvolvimento de um fitoterápico contendo essa planta.

**Metodologia:** As folhas de *M. charantia* foram coletadas, no município de Lagoa de Roça, na região Semiárida do estado da Paraíba a área foi selecionada após estudo prévio, a partir de plantas adultas selecionadas, respeitando-se suas características fitossanitárias. A exsicata foi depositada no Herbário Arruda Câmara/Universidade Estadual da Paraíba.

As folhas foram embaladas em sacos de papel tipo Kraft, sendo, posteriormente, submetidas ao processo de secagem, em estufa de ventilação forçada, a uma temperatura de  $40 \pm 1$  °C, até estabilização da umidade. Após a secagem, o material seco foi triturado em um moinho do tipo Willey®, no qual foi obtido um pó fino, o qual, posteriormente foi peneirado em tamis de numeração 10 mesh.

A partir da droga vegetal, na forma de pó, foi obtido o extrato etanólico a 96%, através do método por maceração a frio (PRISTA et al., 1990). Em seguida, o extrato etanólico foi submetido à evaporação do solvente, utilizando-se evaporador rotativo a  $40 \pm 1$  °C acoplado a bomba de vácuo, obtendo-se o extrato seco (forma concentrada). Posteriormente, o extrato etanólico seco foi suspenso em uma solução de metílico (MeOH/H<sub>2</sub>O, 7:1) e extraído exaustiva e sucessivamente com os solventes de polaridade crescente: Hexano, Diclorometano, e Álcool metílico, em uma ampola de separação, e submetidos a roto evaporação a  $40 \pm 1$  °C, e foram obtidas tais frações.

A ordem de fracionamento foi a seguinte Hexano > Metanol > Diclorometano. No princípio do fracionamento não foi possível visualizar as duas fase porque pelo princípio de solubilidade o caráter de polaridade influi na dissolução dos líquidos. Assim, o Hexano é um solvente de caráter polar sendo que o extrato bruto apresentou substâncias de caráter polar e

apolar, então quando foi colocado o Hexano houve uma grande difusão de suas substâncias apolares às substâncias em comum do extrato. Sendo elas da mesma cor, resultou em uma partição líquido-líquido de uma mesma fase. Por causa disso, a fração hexânica foi a que mais resultou em quantidade, pois o grau de polaridade em relação aos outros solventes é maior e por ser apolar fez com que o extrato se difundisse em maior quantidade do que os demais.

Como a seletividade depende da polaridade, foi necessário o conhecimento do grau de polaridade do extrato e os solventes para iniciar o método da extração de frações. Antes dos ensaios microbiológicos, o extrato etanólico e fracionados foram diluídos em água, com exceção do extrato bruto e a fração hexânica, pois são compostos com características apolares, quando foram misturados na água não houve dissolução pois a água é polar. Quando o solvente e o soluto não apresentam o mesmo tipo de ligação a dissolução ocorre mais dificilmente resultando á diluição em solução de DMSO a 10%.

Para a determinação da atividade antimicrobiana foram utilizados isolados clínicos de *Escherichia coli* com perfil de resistência, e através do antibiograma foram selecionados os antibióticos Gentamicina e Cefalotina os quais os micro-organismos mostraram sensibilidade. A suspensão de cada micro-organismo foi obtida a partir da transferência de culturas crescidas sobre o meio de cultura Agar Muller Hinton, para um tubo de ensaio contendo solução salina 0,9 % estéril. O inóculo microbiano será padronizado de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005), em espectrofotômetro com absorvância entre 0,08 a 0,1 no comprimento de onda de 625 nm, de modo a obter-se uma

preparação microbiana com concentração final próxima a 10 (elevado a 6) Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC m. L<sup>-1</sup>).

A propensão microbiana foi determinada pelo método de micro diluição em caldo utilizando microplacas estéreis como descrito CLS I (2005), com adaptações. A técnica de diluição em caldo é relacionada entre a proporção de crescimento dos micro-organismos testados no meio líquido e a concentração de substância ensaiada, neste caso o extrato e suas respectivas frações.

Foram realizadas diluições seriadas do extrato e frações, sendo incluído o DMSO 10 % como controle negativo. Após a diluição, as placas foram incubadas a 37 °C/ 24 h, sendo os ensaios realizados em duplicata.

O crescimento microbiano foi indicado pela adição de resazurina (SIGMA-Aldrich) a 0,01% em cada poço, e incubação de 37 °C. A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada visualmente com a adição de 20 µ da solução aquosa de resazurina á 0,01%, com incubação a 37 °C.

As bactérias viáveis apresentaram alternância da coloração azul para coloração rosa, resultando que o seu crescimento foi inibido pela ação do extrato e suas frações. Assim foi possível determinar a CIM frente ao extrato etanólico, pois houve inibição do crescimento bacteriano visualizado através da mudança de coloração produzida pela resazurina.

## Resultados:

Tabela 01: Atividade microbiológica do extrato e suas frações frente à *Escherichia Coli*.

Amostras	CIM (g/mL)
E.E	0,0625
F.M	0,125
F.H	0,125
F.D	N.H

E.E: extrato etanólico; F.M: fração metanólica; F.H: fração hexânica; F.D: fração diclorometano; N.H: não houve inibição.

**Discussões:** A utilização dos solventes álcool metílico, diclorometano e hexano permitiram a extração e separação de componentes fito químicos do *Momordica Charantia* de acordo com os seus respectivos graus de polaridade. Dessa forma, favoreceu a avaliação a partir dessas frações frente à cepa de *Escherichia Coli* na qual foi resultado de inibição frente às frações metanólica e hexânica. Entretanto, foi visto que a fração diclorometano não foi capaz de inibir o crescimento da cepa em questão, uma vez que foi visualizado o corante utilizado na coloração rosa, significando assim um crescimento bacteriano.

Portanto, como mostrado na tabela, o extrato etanólico da referida planta foi o mais eficaz para inibição da cepa *Escherichia coli*, uma vez que o valor de sua Concentração Inibitória Mínima foi a menor quando comparada com os valores das frações.

Com relação ao controle positivo foi escolhida a Gentamicina e Cefalotina. São antibióticos de uso convencional, utilizados no tratamento de diversas doenças infecciosas causadas pela referida bactéria. Dessa forma, tais antibióticos mostraram eficácia inibitória frente à cepa,

resultando a conclusão de que as mesmas não mostravam perfil de resistência.

**Conclusões:** O extrato etanólico e suas respectivas frações (metanólica e hexânica) mostraram atividade antimicrobiana contra a cepa padrão de *Echerichia coli*. Dessa forma vale salientar, que esse estudo resultou em uma significativa colaboração para o desenvolvimento de novas pesquisas as quais buscam também novas perspectivas para obtenção de novas estratégias para o tratamento infeccioso.

Diante dessa carência e fundamentado no grande interesse da utilização da *Momordica Chalantia*, o presente trabalho está buscando contribuir ao estudo etnobotânico dessa espécie vegetal, almejando a comprovação da sua atividade antimicrobiana, como também investigar seus compostos fitoquímicos, os quais são importantes para garantia da sua eficácia e segurança.

Além disso, o desenvolvimento de pesquisas com plantas medicinais é de suma importância para o momento atual, pois o fenômeno de resistência microbiana vem sendo um problema para a saúde humana, e por causa disso é visto a necessidade de terapias alternativas, como as terapias utilizando plantas medicinais.

## Referencias bibliográficas

AGRA, M. F. et al. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ANG, C. F. et al. Evaluation of the resazurinmicrotiter assay for drug susceptibility testing of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Philippine Journal of Microbiology and Infectious Diseases**. v. 39, n. 1, p. 136-142, 2010.

CARLINI, E. A. Pesquisas com plantas medicinais usadas em medicina popular. *Rev. Ass. Med. Bras.*, v.29, p.109-110, 1983. COSTA J. S. D.; FACCHINI L. A. Utilização de serviços

CHANDRA, S., MEJIA, E. G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisiacompressain* comparison to mate (*Ilexparaguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 11, p. 3583–3589, 2004.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo**, v. 25 n. 1, 2005. COUTINHO, H. D. M. et al. Fruits to potentiate the antibiotic activity: the effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. against MRSA. **Acta Alimentaria**, v. 41, n. 1, p. 67–72, 2012.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**. v.12, n. 4, p. 564-583, 1999.

DANTAS, I. C.; FELISMINO, D. C.; DANTAS, G. D. S. Plantas Mediciniais. In: DANTAS, C. (Org). **O raizeiro**. Campina Grande: EDUEP, 2007. p. 57-404

FLÓREZ, J. **Farmacologia Humana**. 3. Barcelona: MASSON, S.A., 1997.

FREITAS, D. B. **Atividade antimicrobiana de fluorquinolonas e ação sobre plasmídios em amostras de *Staphylococcus aureus* humanas e bovina**. [dissertação]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2003.

GÜRBÜZ, I. et al. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of Ethno pharmacology**, v. 71, n. 1-2, p. 77–82, 2000.

GROVER, J.K., Yadav, S.P. 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethno pharmacology*, 93, 123–132.

LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3 ed. São Paulo: Nova Odesa, Instituto Plantarum, 2000.

MARSH, P. D. Controlling the Oral Biofilm with Antimicrobials. **Journal of Dentistry**, v. 38, n. 1, p. 11- 15, 2010.

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in

*Burkina fasan* honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chem.** v. 91, p. 571– 577, 2005.

MELO, W. C. M. A.; PERUSSI, J. R. Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p.331- 340, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2002 – 2005**. Genebra: OMS, 2002.

PALOMINO, J. C. et al. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720– 2722, 2002.

PEYRET, M. Etude mathematique de la curve de mortalite d'escherichia coli expose aux polymixines. **PatholBiol**, v. 38, n. 1, p. 441- 445, 1990.

PRISTA, L. N. et al. **Técnica farmacêutica e farmácia galénica**. 3ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1990.

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

SARKER, S. D. et al. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, pp. 321– 324, 2007.

SILVEIRA, G. P. et al. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana, **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SENANAYKE, G. V. K.; et al 2004. The effects of bitter melon (*Momordica charantia*) on serum and liver triglyceride levels in rats. **Journal of Ethno pharmacology**, 91, 257–262.

VINNING, G. **Market compendium of asian vegetables**. Canberra: Rural Industries Research and Development Corporation. 1995.