



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS - PICOS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ISABEL MARIANA FERREIRA DA SILVA

PERFIL TOXICOGENÉTICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Momordica charantia*
EM ESTUDOS NÃO CLÍNICOS

PICOS – PI

2019

ISABEL MARIANA FERREIRA DA SILVA

**PERFIL TOXICOGENÉTICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Momordica charantia*
EM ESTUDOS NÃO CLÍNICOS**

Monografia apresentada como pré-requisito para obtenção do grau de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros.

Orientador: Prof. Dr. João Marcelo de Castro e Sousa

ISABEL MARIANA FERREIRA DA SILVA

**PERFIL TOXICOGENÉTICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Momordica charantia*
EM ESTUDOS NÃO CLÍNICOS**

Monografia apresentada como pré-requisito para obtenção do grau de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, à Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros.

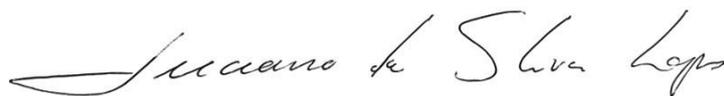
Orientador: Prof. Dr. João Marcelo de Castro e Sousa

Aprovado em: 28 / 06 / 2019

Banca Examinadora:



Presidente – Prof. Dr. João Marcelo de Castro e Sousa– UFPI/Picos



Examinador – Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes – UFPI/Teresina



Examinadora – Profa. Dra. Márcia Maria Mendes Marques- UFPI/Picos

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

S586p Silva, Isabel Mariana Ferreira da.
Perfil toxicogenético do extrato etanólico de *Momordica Charantia* em estudos não clínicos. / Isabel Mariana Ferreira da Silva. -- Picos, PI, 2019.
45 f.
CD-ROM: 4 ¾ pol.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2019.

Orientador(A): Prof. Dr. João Marcelo de Castro e Sousa.

1. Plantas Medicinais. 2. Melão de São Caetano. 3. *Allium Cepa*. 4. *Artemia Salina*. 5. Citotoxicidade. I. Título.

CDD 581.634

Elaborada por Rafael Gomes de Sousa CRB 3/1163

Dedico primeiramente aos meus pais e minha irmã, sem o apoio e confiança deles, não teria chegado até aqui. Dedico aos meus professores/as e aos meus amigos/as que sempre me apoiaram e estiveram presentes para me ajudar nessa caminhada. Ao meu companheiro Maurício, que foi porto seguro e grande incentivador das minhas empreitadas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, Ivanilda e Araújo, e minha irmã Marília, passamos longos 5 anos longe uns dos outros para que pudéssemos, juntos, alcançar a minha tão sonhada graduação. Nossos aniversários e datas comemorativas à distância resultam na professora que será a mudança que sempre discutimos ser necessária no mundo, sem o amor, carinho, confiança, incentivo e força deles, tudo teria sido muito mais difícil, não só a academia, mas a vida. A minha irmã de outra mãe, Jenifer Izidro, que esteja onde estiver, está no meu coração até o fim.

Ao meu orientador, Professor Dr. João Marcelo de Castro e Sousa, desde que iniciamos os trabalhos sempre esteve incentivando, apoiando e dando o suporte necessário para que juntos chegássemos até aqui, nossa amizade construída nesses anos de trabalho foi essencial para a conclusão deste ciclo. João, a academia não poderia ter me oferecido orientador melhor, grande apoiador de todas as minhas empreitadas, fossem elas acadêmicas ou não, levo para minha carreira o seu exemplo de profissional e para minha vida, o exemplo de pessoa que você me apresentou. Nenhuma dificuldade é tão grande que não possamos passar por ela para sermos melhores e darmos o nosso melhor.

Agradeço a Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvidio Nunes de Barros, aos administradores, funcionários e a todo corpo docente do curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, pelo conhecimento ofertado, pelas oportunidades oferecidas e pela formação com excelência que obtive. Aos professores e professoras dos demais cursos que contribuíram na minha formação, meu agradecimento mais que especial, vocês formaram uma professora “interdisciplinar”.

Aos meus amigos e amigas da UFPI, que dividiram sala, laboratório, gestões de Centro Acadêmico e Diretório Central de Estudantes, alegrias, tristezas e raivas nessa trajetória. A UFPI me deu a oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas e levarei nossos momentos e nossa amizade, esteja onde estiver. Seria injusto citar alguns e não citar outros, mas deixo meu agradecimento especial à Luiza Maira, Alana, Flávio Augusto, João Lucas, José Renan, Ana Régia, Andréa Walkiria, Ingrid, Flávio, Alexandre, Bernardo, Gabriel, Cristiano, Robson, Irla, Igo e Vinna.

Aos meus companheiros Erick e Eveline, por terem me apresentado ao Levante Popular da Juventude, entidade que me fez crescer política e pessoalmente. Construir o projeto popular no Piauí, com vocês me tornou uma pessoa muito melhor e despertou a lutadora que estava dentro de mim.

Aos companheiros e companheiras do Levante Popular da Juventude de todo o Brasil, que em momentos de dificuldade mostraram que a luta do povo e a construção de um país mais justo e igualitário, é essencial na formação de professores que serão a mudança que nosso país precisa.

Aos companheiros e companheiras do Movimento dos Pequenos Agricultores (MPA), pelas lutas e incentivo na formação acadêmica, para que hoje, eu pudesse ser uma professora popular. Aos companheiros e companheiras dos demais movimentos e entidades, pelas batalhas travadas, pela força e apoio nestes anos.

Aos meus companheiros e companheiras de laboratório (TOXGEN) e à família LAOH (Liga Acadêmica de Oncologia e Histologia) por todas as atividades desenvolvidas, momentos dentro e fora da UFPI. O “Padrão LAOH” será sempre uma meta a ser alcançada nas atividades que desempenharei futuramente. Todos e todas são importantes, mas deixo meu agradecimento especial à Marlene que desde o início da pesquisa esteve de prontidão para ajudar, ensinar e construir este trabalho. Não tivemos férias, feriados e finais de semana, fizemos e refizemos testes e análises, estivemos durante um bom tempo a base de café e sequilhos para que esse projeto tivesse êxito, e não poderia deixar de lhe agradecer em especial pela sua paciência e tranquilidade, elas foram essenciais e combinaram bem com a minha impaciência e agitação. Valeu Marlene!

Aos meus companheiros e companheiras do Direitos Humanos em Pauta, o conhecimento adquirido com vocês e nossos momentos juntos, estarão comigo nas lutas e na sala de aula.

As minhas irmãs de vida, Joyce, Fenícia, Rayra, Lilian, Yana, Enny, Natasha e Janaína que contribuíram na formação da mulher forte, empoderada e lutadora que me tornei, sem o feminismo e a sororidade muitos momentos seriam mais difíceis do que foram.

Ao meu companheiro de vida, Maurício Martins, deixo um agradecimento especial pelos anos compartilhados, lutas travadas, apoio, amor, incentivo e ensinamentos. Fostes meu maior incentivador em tudo e mesmo que outras pessoas não acreditassem no meu potencial, você esteve lá para dizer que eu era capaz. E eu fui capaz.

Ao Freddy e Raiz, meus filhos, que sempre tiveram “lambeijos” para acalmar e alegrar os dias difíceis. A vida é muito melhor com bichos de estimação, e os entraves da vida acadêmica foram superados com maior facilidade tendo eles comigo.

Meu agradecimento mais que especial ao presidente Luís Inácio Lula da Silva, pela criação do projeto de expansão universitária, fornecendo o acesso ao ensino superior a

peças que como eu não teriam a oportunidade de obter a formação acadêmica através de outros meios que não o ensino público.

Paulo Freire disse que a educação muda as pessoas e as pessoas mudam o mundo, ter a oportunidade de acesso à educação superior pública, gratuita e de qualidade me fez a professora que mudará o mundo. À todas e todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

“Não há ensino sem pesquisa e pesquisa sem ensino. Esses que-
fazeres se encontram um no corpo do outro. Enquanto ensino
continuo buscando, reprocuro. Ensino porque busco, porque
indaguei, porque indago e me indago. Pesquiso para constatar,
constatando, intervenho, intervindo educo e me educo. Pesquiso
para conhecer o que ainda não conheço e comunicar ou
anunciar a novidade”.

Paulo Freire

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Melão de São Caetano (<i>Momordica charantia</i> L.).....	19
FIGURA 2 – Distribuição geográfica do <i>Momordica charantia</i> no Brasil.....	20
FIGURA 3 – Fruto da espécie <i>Momordica charantia</i>	20
FIGURA 4 – Propriedades medicinais de <i>Momordica charantia</i> L.....	21
FIGURA 5 – Método esquemático utilizado para análise das células meristemáticas do <i>Allium cepa</i>	25
FIGURA 6 – Fases do ciclo com células sem alterações cromossômicas: A: Interfase; B: Prófase; C: Metáfase; D: Anáfase; E: Telófase.....	26
FIGURA 7 – Perfil fotomicrográfico das células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> em diferentes momentos do ciclo celular com alterações cromossômicas já observadas em avaliações de estudos científicos realizados no nosso laboratório. A1: telófase com perda cromossômica; A2: metáfase normal; A3: telófase normal; B1: anáfase multipolar; B2: prófase normal; B3: telófase normal; C: telófase com ponte nucleoplasmática; D: C-metáfase; E: cromossomos perdidos em intérfase; F: Anáfase com ponte nucleoplasmática; G1: anáfase com perda cromossômica; G2: intérfase; G3: prófase normal; H1: intérfase com micronúcleo; H2: intérfase normal; I anáfase com atraso cromossômico.....	26
FIGURA 8 – Cistos (A) e o processo de crescimento e diferenciação (B) do microcrustáceo <i>A. salina</i>	28
FIGURA 9 - Avaliação da toxicidade (A), citotoxicidade (B) e mutagenicidade (C) do extrato etanólico de <i>Momordica charantia</i> sobre as raízes e células meristemáticas de <i>Allium cepa</i>	33
FIGURA 10 - Perfil fotomicrográfico mostrando a diminuição de células vegetais em divisão celular quando tratadas com o extrato etanólico de <i>Momordica charantia</i> em diferentes concentrações. Coloração com orceína acética e aumento de 400X ao microscópio óptico...34	

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Espécies da família Cucurbitaceae.....	18
TABELA 2 – Estudos com <i>Momordica charantia</i>	22
TABELA 3 – Atividade tóxica do extrato etanólico de <i>Momordica charantia</i> em diferentes concentrações (µg/mL) por meio do Bioensaio de letalidade em <i>Artemia salina</i>	32

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 Plantas medicinais.....	17
3.2 Espécie <i>Momordica charantia</i>	18
3.3 A importância dos testes toxicológicos.....	24
3.4 Bioensaio de <i>Allium cepa</i>	25
3.5 Utilização do teste de letalidade em <i>Artemia salina</i>	27
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 Obtenção do extrato etanólico do <i>Momordica charantia</i>	29
4.2 Bioensaio de letalidade em <i>Artemia salina</i>	29
4.3 Obtenção das células meristemáticas das raízes de <i>Allium cepa</i>	30
4.4 Preparo, leitura das lâminas e análise citogenética para o teste de <i>A. cepa</i>	30
4.5 Análise estatística.....	31
5 RESULTADOS.....	32
6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	39

RESUMO

A espécie *Momordica charantia* L. conhecida popularmente como melão de São Caetano, pertencente à família Cucurbitaceae, é uma das plantas medicinais mais utilizadas no Brasil. Suas folhas e frutos apresentam atividades antibacteriana, antiulcerogênica, antiinflamatória, antilipidêmica, hipoglicemiante, antihipertensiva, anticancerígena, abortiva, larvicida, antilipidêmica e imunossupressora. Desse modo, o presente trabalho avaliou a atividade tóxica, citotóxica e mutagênica do extrato etanólico dessa espécie através dos bioensaios toxicogênicos de *Artemia salina* utilizando as concentrações de 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL e *Allium cepa* utilizando as concentrações de 500, 1000 e 2000 µg/mL, todas avaliadas em diferentes tempos de exposição. Os resultados do teste de letalidade *A. salina* mostraram toxicidade em todas as concentrações quando comparadas ao controle negativo e veículo, cuja concentração letal 50% (CL₅₀) foi de 71,72 µg/mL, caracterizando sua toxicidade como elevada. Ademais, para o teste de *Allium cepa*, o extrato etanólico apresentou efeitos tóxicos e citotóxicos nas três concentrações avaliadas devido os valores estatisticamente baixos de crescimento de raiz e índice mitótico, respectivamente. Além disso, apresentou efeitos mutagênicos na menor concentração de 500 µg/mL. Em conclusão, o extrato etanólico de *Momordica charantia* apresentou-se como tóxico, necessitando assim, de cuidados quando utilizados como medicinal pela população, entretanto, apresentou capacidade antiproliferativa o que proporciona perspectivas para estudos de avaliação da atividade antitumoral dessa planta.

Palavras-chave: Plantas medicinais; Melão de São Caetano; *Allium cepa*; *Artemia salina*; Citotoxicidade.

ABSTRACT

The species *Momordica charantia* L. popularly known as Melão de São Caetano, belonging the family Cucurbitaceae, is one of the most commonly used medicinal plants in Brazil. Its leaves and fruits present antibacterial, antiulcerogenic, anti-inflammatory, anti-lipidemic, hypoglycemic, antihypertensive, anticancer, abortive, larvicidal, antilipidemic and immunosuppressive activities. Thus, the present study evaluated the toxic, cytotoxic and mutagenic activity of the ethanolic extract of this species through the toxicogenic bioassays of *Artemia salina* using the concentrations of 62.5; 125; 250; 500 and 1000 µg/mL and *Allium cepa* using the concentrations of 500, 1000 and 2000 µg/mL, all evaluated at different exposure times. The results the *A. salina* lethality test showed toxicity at all concentrations when compared to the negative control and vehicle, whose 50% lethal concentration (LC50) was 71.72 µg/mL, characterizing its toxicity as high. In addition, for the *Allium cepa* test, the ethanolic extract presented toxic and cytotoxic effects in the three concentrations evaluated due to the statistically low values of root growth and mitotic index, respectively. In addition, it presented mutagenic effects at the lowest concentration of 500 µg/mL. In conclusion, the ethanolic extract of *Momordica charantia* presented as toxic, thus requiring care when used as medicinal by the population, however, presented antiproliferative capacity which provides perspectives for studies evaluating the antitumor activity of this plant.

Palavras-chave: Medicinal plants; Bitter melon; *Allium cepa*; *Artemia salina*; Cytotoxicity.

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais representam parte da biodiversidade e são amplamente utilizadas por vários povos desde os primórdios. Cerca de 80% da população mundial faz uso da medicina popular no tratamento de doenças (FIRMO, 2011; BESSA et al., 2013). Regularmente, as pessoas desconhecem o risco do uso indiscriminado de plantas medicinais, pois muitas destas plantas apresentam alta toxicidade e precisam de cuidados ao serem utilizadas, bem como do acompanhamento médico dependendo da patologia em questão (KOVALSKI, 2013). Entretanto, o conhecimento empírico existente associado ao estudo das plantas medicinais possibilita grande economia de tempo e dinheiro, viabilizando estudos farmacológicos, fitoquímicos e agrônômicos sobre estas plantas (BRASILEIRO, 2008).

Historicamente, a família Curcubitaceae é uma das plantas medicinais mais utilizadas na produção de alimentos, fibras e fitoterápicos (MONTES-HERNANDEZ; EGUIARTE, 2002). A família Cucurbitaceae, possui aproximadamente 95 gêneros e, estima-se, entre 950 e 980 espécies (SCHAEFER; RENNER, 2011). Dentre as espécies destaca-se a *Momordica charantia* L., popularmente conhecida por melão de São Caetano, é uma espécie ruderal, monoica e com flores unissexuais, utilizada na gastronomia e na medicina (LENZI, 2004). *Momordica* significa “morder”, devido à borda de suas folhas parecerem mordidas, quando jovem o fruto oblongo de gosto amargo é verde esmeralda assemelhando-se a um pepino pequeno e tornando-se amarelo-laranja quando maduro. Desenvolve-se em áreas tropicais da Ásia, Amazônia, África Oriental e Caribe, entretanto é cultivado no mundo todo inclusive em países da América do Sul e Latina onde é utilizado como medicamento (GROVER, 2004).

Os extratos de *Momordica charantia* têm sido largamente utilizados em pesquisas científicas devido seu potencial farmacológico. É uma das plantas mais estudadas para o tratamento de Diabetes Mellitus de acordo com Nepomoceno e Pietrobon, (2018). O extrato da folha de *M. charantia* pode oferecer efeitos benéficos no manejo de doenças inflamatórias (LIMA, 2018). Duas proteínas conhecidas como α e β momorcharinas presentes nas sementes, frutos e folhas, foram relatadas em pesquisas *in vitro* com atividade contra o vírus HIV (KUMAR et al., 2010). Além disso, outro grande potencial farmacológico dessa espécie vegetal está relacionado à sua capacidade antibacteriana e antifúngica (LIMA, 2018).

A maior parte de fitoterápicos e extratos de plantas medicinais que são utilizados pela população não tem os seus perfis toxicológicos e farmacodinâmicos bem conhecidos e

determinados (VEIGA JUNIOR, 2008), podendo causar desde intoxicações leves (alergias) até quadros irreversíveis (distúrbios neurológicos e óbito) (CAMPOS et al., 2016).

A realização do estudo fitoquímico preliminar fez-se necessário em função de se conhecer as possíveis classes de metabólicos de interesse farmacológico e/ou bioativos, que podem ou não estar presentes no extrato e assim auxiliar qual o melhor método para sua extração e avaliação da atividade biológica (MARQUES et al., 2016). Ademais, o estudo toxicogenético de fitoquímicos e extratos naturais se faz necessário devido as possíveis descobertas de suas toxicidades celular e sistêmica. Para isso, a utilização de bioensaios, como *Allium cepa* e *Artemia salina*, tornam-se cada vez mais frequentes devido ao baixo custo, rapidez e eficácia nos resultados de avaliação toxicológica utilizando diferentes organismos-testes.

O bioensaio de *Allium cepa* é baseado na avaliação do potencial tóxico, citotóxico e mutagênico de substâncias químicas naturais e sintéticas em espécies do gênero *Allium*, onde se registra as alterações na atividade mitótica (mudanças no índice mitótico); anormalidades mitóticas e aberrações cromossômicas em células meristemáticas das raízes dessa planta (VIDAKOVICIFREK et al., 2002; HOSHINA, 2002; MATSUMOTO, 2004; VENTURA, 2004; FERNANDES, 2005 apud FREITAS, 2016). Já o bioensaio de *Artemia salina*, por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório e de ampla distribuição, *Artemia sp.* tem sido largamente utilizada em testes de toxicidade aguda, o qual, demonstra um indicativo da potencialidade tóxica de compostos químicos (PIMENTEL et al., 2011).

Tendo em vista o consumo elevado e indiscriminado de plantas medicinais pela população brasileira, o presente trabalho buscou um resultado que garanta segurança toxicológica no seu uso, na forma de remédio e fitoterápico, através do aprofundamento no estudo toxicogenético sobre a utilização da *Momordica charantia* L., conhecida popularmente como Melão de São Caetano. Com isso, este trabalho terá importância através da contribuição no conhecimento científico do consumo dos extratos etanólicos desta espécie, possibilitando complementar, correlacionar e corroborar com alguns dados já existentes na literatura.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os efeitos toxicogênicos do extrato etanólico das folhas de *Mormodica charantia* por ensaios não clínicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o nível de toxicidade do extrato etanólico da folha de *Mormodica charantia* através do bioensaio com o microcrustáceo *Artemia salina* determinando a concentração letal 50% (CL₅₀);
- Avaliar a citotoxicidade do extrato etanólico de *Mormodica charantia* em diferentes concentrações e tempos de exposição em células meristemáticas em divisão celular.
- Avaliar a capacidade mutagênica do extrato etanólico de *Mormodica charantia* e determinar quais alterações cromossômicas induzidas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas medicinais e a importância dos produtos naturais

As plantas medicinais vêm desempenhando um papel importante e significativo dentro da história do sistema de saúde em todo mundo, ao longo de todos esses anos, estudos mostraram que as espécies vegetais ditas como medicinais são utilizadas para tratamento e cura de doenças. No entanto, os cientistas passaram a observar que havia a necessidade de saber qual constituinte presente naquela erva medicinal promovia aquela reação benéfica em nosso organismo como fonte terapêutica, e assim o foco nas pesquisas referentes às plantas medicinais tomaram um importante rumo em todo o mundo, pois esse estudo foi recolhido para demonstrar o imenso potencial de plantas utilizadas em vários sistemas tradicionais (SILVA, 2013). Existe, um grande interesse da medicina em relação aos medicamentos de origem vegetal, muitos acreditam que as drogas derivadas de plantas se devem principalmente a crença de que a “Medicina verde”, além de serem mais acessíveis para a população em países em desenvolvimento, os medicamentos de origem vegetal podem ser menos agressivos do que as drogas sintéticas caras, em que muitas das quais causam efeitos negativos (SINGH; RAGHAV, 2012).

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonoides, alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, dentre outros, tem sido objeto de estudos, onde já foram comprovadas as ações farmacológicas através de teste pré-clínicos com animais e muitas destas substâncias tem grandes possibilidades de futuramente virem a ser aproveitadas como agentes medicinais (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998). Fatores como a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares até a obtenção de exames e medicamentos que favorecem o uso de plantas medicinais por essa população (MOREIRA, 2009).

Entretanto, é notável o consumo de plantas medicinais, também, nos países mais ricos. Na Alemanha, onde se consome metade dos extratos vegetais comercializados em toda a Europa (cerca de US\$ 3,5 bilhões do total de US\$ 7 bilhões, ou US\$ 42,90 *per capita*, em valores de 2010), plantas medicinais são utilizadas pela população para tratar resfriados (66%), gripe (38%), doenças do trato digestivo ou intestinal (25%), dores de cabeça (25%),

insônia (25%), úlcera estomacal (36%), nercosismo (21%), bronquite (15%), doenças de pele (15%), fadiga e exaustão (12%) (VIEGAS JUNIOR et al., 2006). Neste contexto, as plantas são valiosas fontes de novos compostos ativos e com baixa toxicidade (NEWMAN et al., 2003).

Em relação á política brasileira, a ANVISA regulamenta os fitoterápicos através da Resolução nº 17/2000, segundo este instrumento legal, os fitoterápicos são medicamentos que possuem como substâncias ativas apenas plantas. Além disso, existem dois tipos de fitoterápicos: o tradicional e outro, que não se enquadrando nesse tipo deverá apresentar testes clínicos e toxicológicos que atestem sua segurança e eficácia. Entre os tradicionais, com registros facilitados pela ANVISA, foram selecionados: alcachofra, alho, babosa, boldo-do-chile, calêndula, camomila, gengibre, hortelã-pimenta, melissa, maracujá e sene, entre outros (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010).

Em 2006, o Ministério da Saúde implementou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde SUS, com o objetivo de garantir a integralidade na atenção à saúde, a Política Nacional visa à inclusão de técnicas como a acupuntura, homeopatia, termalismo-crenoterapia, medicina antroposófica e fitoterapia nas práticas da rede pública de saúde (PEREIRA; ALBIERO, 2015).

3.2 Espécie *Momordica charantia* L.

Momordica charantia é uma planta da família Cucurbitaceae, que se desenvolve nas áreas tropicais da Ásia, Amazônia, Oeste Africano e no Caribe. É conhecida popularmente como melão de São Caetano e tem sido utilizada como planta medicinal em países como Brasil, China, Colômbia, Cuba, Gana, Haiti, Índia, México (CORDEIRO, 2010). Os espécimes são trepadeiras ramificadas, com caule delgado, possuem folhas ligeiramente denteadas, flores estaminadas solitárias ou pistiladas, axilares, fruto fusiforme, carnoso, deiscente e podem ser facilmente associadas a outros espécimes da mesma família. (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies da família Cucurbitaceae.

Nome científico	Nome popular
<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia
<i>Curcumis sativus</i>	Pepino
<i>Sechium edulis</i> (Jacq.) Sw.	Chuchu
<i>Momordica charantia</i>	Melão de São Caetano
<i>Curcubita pepo</i> , <i>C. máxima</i> e <i>C. foetidissima</i>	Abóbora
<i>Curcumis melo</i>	Melão

Fonte: FERNANDES COUTINHO et al., 2009.

Além do nome popular de melão de São Caetano, também é conhecida por erva-das-lavadeiras, erva-de-lavadeira, erva de-são-Caetano, erva-de-são-Vicente, fruto-de-cobra, fruto-de-negro, melão-de-são-Vicente, melãozinho e fruta-de-sabiá (LEAL, 2013). Possui como sinônimos botânicos: *Cucumis argyi* H. Lév; *Momordica chinensis* Spreng.; *Momordica elegans* Salisb.; *Momordica indica* L.; *Momordica operculata* Vell.; *Momordica sinensis* Spreng.; *Sicyos fauriei* H. Lév (LORENZI, 2008). (Figura 1).

Figura 1: Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.)



Fonte: Arquivo pessoal.

O melão de São Caetano é uma planta daninha bastante frequente em pomares, cafezais, sobre cercas, alambrados e terrenos baldios (ASSIS et al., 2015). De acordo com Gomes-Costa e Alves (2016), essa espécie é totalmente adaptada ao clima brasileiro ocorrendo em todas as regiões do país. (Figura 2).

Figura 2: Distribuição geográfica do *Momordica charantia* no Brasil.

Distribuição Geográfica



Ocorrência registrada: Norte (verde) nos estados do Acre, Amapá e Tocantins; Nordeste (laranja) nos estados do Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte; Centro-Oeste (amarelo) nos estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul; Sudeste (vermelho) nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo; Sul (roxo) nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

Fonte: Gomes-Klein et al, 2015.

O melão de São Caetano possui um fruto amarelo quando maduro que mede aproximadamente 15 cm de comprimento, parecido com um pequeno melão de textura espinhosa, seu fruto se abre em três válvulas e no seu interior existem sementes achatadas vermelhas envolvidas por uma polpa doce (comestível), as demais partes do fruto possuem sabor amargo (NEPOMOCENO; PIETROBON, 2018). (Figura 3).

Figura 3: Fruto da espécie *Momordica charantia*

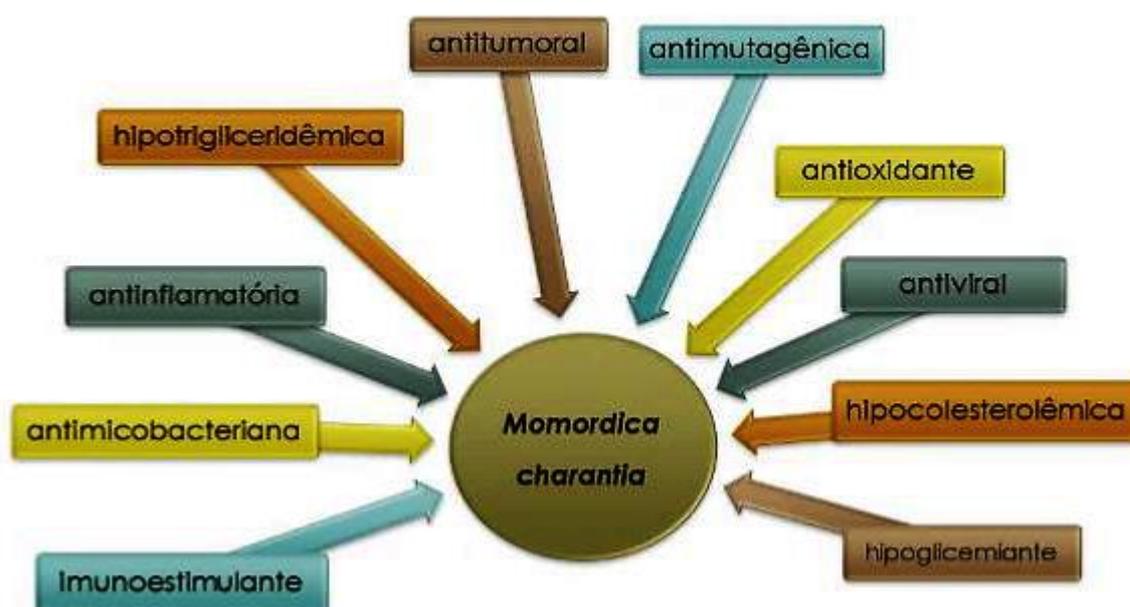


Fonte: Arquivo pessoal

Os extratos retirados de *Momordica charantia* L. tem sido amplamente utilizados em pesquisas científicas, alguns estudos já identificaram fitoquímicos com propriedades importantes no tratamento de inúmeras doenças e patologias (NEPOMOCENO; PIETROBON, 2018). Um exemplo disso, foi o estudo de Fang et al. (2012) o qual, os mesmos avaliaram a MAP30, componente natural de *M. charantia*, esse fitoquímico suprimiu a proliferação de células de hepatocarcinoma (HepG2) e também mostrou potencial antitumoral em ratos com tumor no fígado.

Mais de 200 publicações demonstram estudos farmacológicos realizados com *M. charantia*, tendo sido comprovadas importantes atividades como (Figura 4) (TAN et al., 2008, FERNANDES et al., 2007, NERURKAR et al., 2006, KONISHI et al., 2004, KOBORI et al., 2008, BRACA et al., 2008, apud FERNANDES COUTINHO et al., 2009). Alguns estudos para a planta em questão estão na tabela 2.

Figura 04: Propriedades medicinais da *Momordica charantia* L.



Fonte: ESPÓSITO, 2013.

Tabela 2: Estudos com *Momordica charantia*.

Título do Artigo	Atividade	Autor/Ano
Levantamento das espécies potencialmente fontes de produtos vegetais não-madeiráveis da RPPN SESC Pantanal: resultados preliminares.	Ação antidiabética, anticarcinogênica e utilizada no tratamento de úlceras.	NEGRELLE et al., 2002.
Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de <i>Momordica charantia</i> .	Extratos hexânico e etanólico das folhas de <i>M. charantia</i> desempenharam potencial hepatoprotetor e antioxidante em modelos de lesão hepática aguda induzida por etanol em camundongos.	PEREIRA et al., 2010.
A proteína MAP30 de sementes de melão amargo (<i>Momordica charantia</i>) promove a apoptose em células de câncer de fígado in vitro e in vivo.	MAP30, componente natural de <i>M. charantia</i> , suprimiu a proliferação de células de hepatocarcinoma (HepG2) e também mostrou potencial antitumoral em ratos com tumor no fígado.	FANG et al., 2012.
Suco de melão amargo ativa o sensor de energia celular A proteína quinase ativada por AMPK causa a morte apoptótica de células de carcinoma pancreático humano.	Suco de <i>M. charantia</i> apresentou forte eficácia contra as células do carcinoma pancreático humano, sem efeitos colaterais perceptíveis. Bem como indução de morte apoptótica através da ativação da AMPK em células de carcinoma pancreático <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	KAUR et al., 2013.
Atividade antioxidante, protetora celular e antimelanogênica de extratos de folhas de cultivares de melão amargo selvagem (<i>Momordica charantia</i> Linn. Var. <i>Abreviata</i> Ser.).	Extrato da folha de <i>M. charantia</i> apresentou atividades antioxidante, proteção celular e anti-melanogênica.	TSAI et al., 2014.

<p>Extrato padronizado da fruta de <i>Momordica charantia</i> L. protege contra a dor neuropática induzida pela vincristina em ratos através da modulação da ação GABAérgica, antimitotóxica, inibição da NOS, atividade antiinflamatória e antioxidante.</p>	<p>Extrato padronizado de <i>M. charantia</i> L., protege contra a dor neuropática induzida pela vincristina em ratos através da modulação da ação gabaérgica, antimitotóxica, inibição da NOS, atividade anti-inflamatória e antioxidante.</p>	<p>JAIN et al., 2015.</p>
<p>Extrato de Melão Amargo (<i>Momordica charantia</i>) inibe a tumorigenicidade e supera a resistência à cisplatina em células de câncer de ovário através do direcionamento da cascata de sinalização AMPK.</p>	<p>O extrato de <i>M. charantia</i> funciona como um ativador natural da AMPK na inibição do crescimento de células de câncer ovariano e pode ser útil como um suplemento para melhorar a eficácia da quimioterapia baseada em cisplatina no câncer de ovário.</p>	<p>YUNG et al., 2015.</p>
<p>O melão amargo previne o desenvolvimento de carcinoma de células escamosas oral induzido por 4-NQO em um modelo de camundongo imunocompetente através da modulação da sinalização imunológica.</p>	<p>O tamponamento oral do extrato de <i>M. charantia</i> previne a incidência de câncer de língua induzido por carcinógeno ao modular diferentes processos biológicos, incluindo os do sistema imunológico.</p>	<p>SUR et al., 2017.</p>
<p>Melão Amargo Melhora a Toxicidade Mediada por Assassinos Naturais contra Células Cânceres de Cabeça e Pescoço.</p>	<p>Extrato de <i>M. charantia</i> apresentou ação antitumoral direta e aumento das funções efetoras do sistema imune também pode contribuir para os efeitos terapêutico contra células de cânceres de cabeça e pescoço.</p>	<p>BHATTACHARYA et al., 2017.</p>
<p>Novo método de purificação e atividade antibiótica de <i>M. charantia</i> recombinante MAP30.</p>	<p>MAP30 recombinante reduziu significativamente a dosagem necessária e os efeitos colaterais de antibióticos.</p>	<p>CHANG et al., 2017.</p>

3.3 A importância dos Testes Toxicogenéticos

Um dos principais problemas relacionados a utilização de plantas medicinais, é o conceito de que por ser uma planta não causará efeito reverso ou tóxico (CUNNINGHAM, 2000). Dessa maneira, afim de descobrir os efeitos adversos de infusões e chás medicinais, é importante a realização de testes toxicológicos que assegurem que as plantas medicinais tenham fins terapêuticos para o organismo humano sem causar danos celulares e sistêmicos. Os testes toxicogenéticos possuem papéis importantes e fundamentais nas fases precoces do desenvolvimento de novos fármacos, adiantando possíveis os riscos e, portanto, reduzindo as possibilidades de que um novo fármaco promissor falhe em etapas mais avançadas. Assim, proporciona a segurança de que a saúde humana não seja colocada em risco (PEREIRA et al., 2010; YUNG et al., 2015).

No decorrer dos anos é notório o crescimento de ensaios toxicológicos, tornando menos dispendiosos e mais eficazes na previsão dos efeitos adversos a saúde humana. De fato, há cada vez mais o crescimento na área de interesses em estudar e evidenciar a importância dos ensaios toxicológicos durante as pesquisas e desenvolvimento de novos fármacos. (DORATO; BUCKLEY, 2006; SUR et al., 2017).

Os ensaios toxicológicos pré-clínicos contêm estudos para avaliação de toxicidade geral (por dose única e repetida), genotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade e toxicidade sobre a função reprodutora. Além destes, podem ser efetuados ensaios toxicológicos complementares, como os ensaios de tolerância local, sempre que a via de administração e/ou efeito produzido pelo novo fármaco o exija. O objetivo deste conjunto de ensaios é avaliar a segurança através da caracterização dos efeitos tóxicos nos órgãos-alvo, da relação dose-resposta e, quando adequado, da reversibilidade de determinado efeito. A informação adquirida durante a realização destes ensaios serve para conferir a dose inicial a ser administrada, o intervalo terapêutico a utilizar durante os ensaios clínicos e os efeitos adversos que poderão surgir, visto que cada ensaio apesar de estar confinado a determinados parâmetros encontra-se rigorosamente delineado para caracterizar os potenciais efeitos adversos que possam surgir nos ensaios clínicos (NUGENT; DUNCAN; COLAGIOVANNI, 2013).

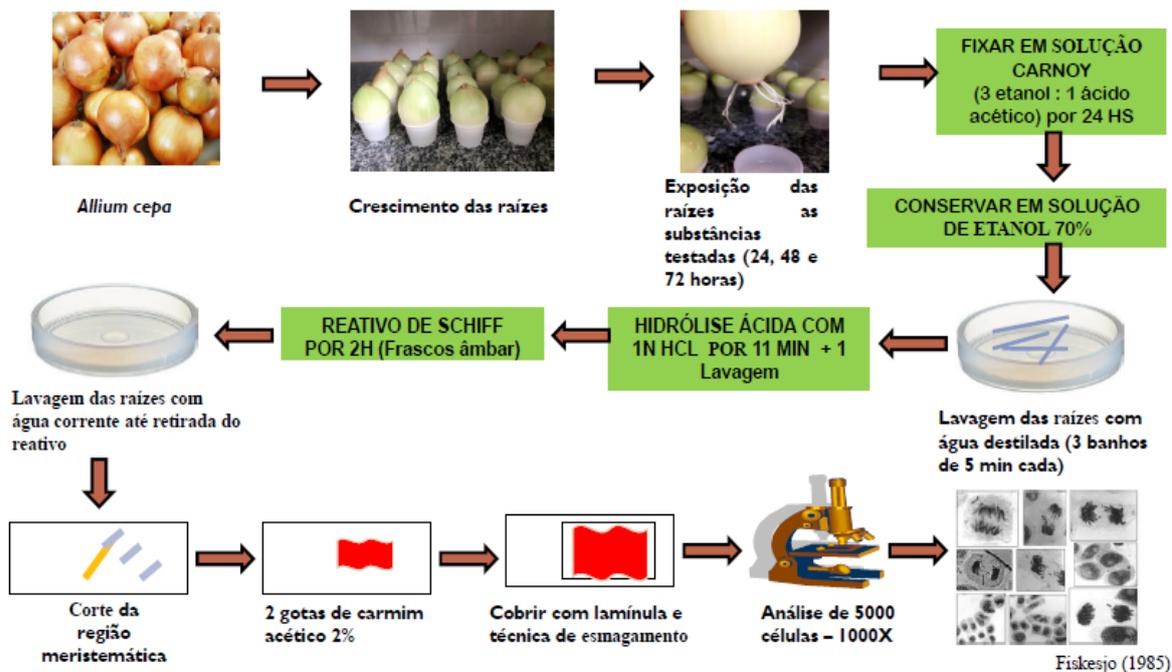
Portanto, é notável a importância e necessidade de ensaios toxicológicos na avaliação de substâncias, a fim de garantir a segurança e eficácia de novos fármacos (FERRÃO, 2017).

3.4 Bioensaio de *Allium cepa*

Os estudos citogenéticos de espécies vegetais informam a respeito de possíveis alterações cromossômicas nas plantas devido à presença de agentes mutagênicos na sua composição ou decorrentes do seu metabolismo. O estudo dos mutagênicos em núcleos eucarióticos vem sendo observado através de métodos citológicos. A mutação pode resultar da ação de compostos químicos, ambientais e radioativos e da estabilidade intrínseca dos ácidos nucleicos (BAGATINI et al., 2007; LEME E MARIN-MORALES, 2009).

O bioensaio de *Allium cepa* (Figura 5), tem tido boa aceitação em estudos que buscam efeitos citotóxicos de plantas medicinais, pois suas raízes têm contato direto com a substância testada, possibilitando a avaliação de concentrações diferentes. Todas as alterações cromossômicas e as divisões das células meristemáticas da raiz da cebola são constantemente utilizadas para alertar a população sobre o consumo do produto (VICENTINI et al., 2001; SIDDIQUI et al. 2011) (Figura 6 e 7).

Figura 5: Método esquemático utilizado para análise das células meristemáticas do *Allium cepa*.



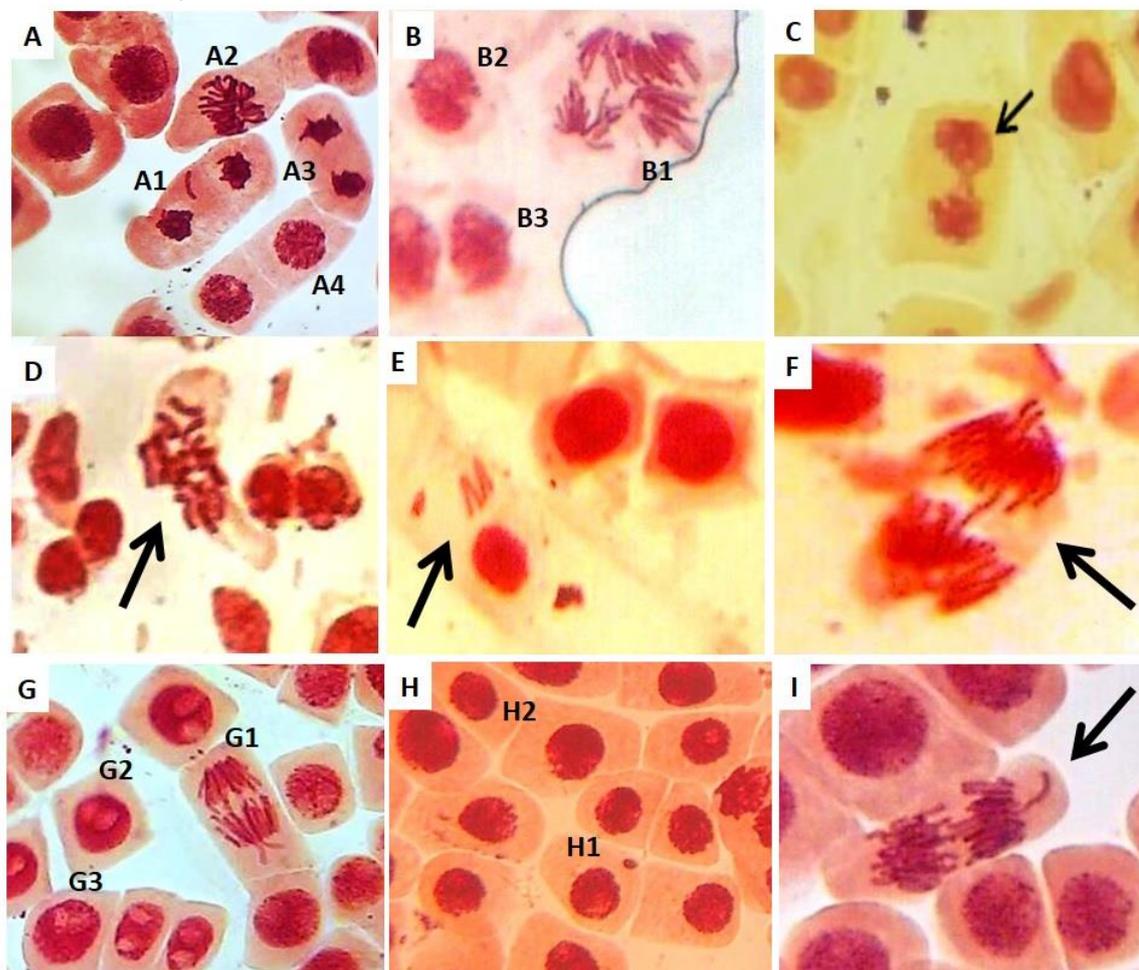
Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 6: Fases do ciclo com células sem alterações cromossômicas: A: Intérfase; B: Prófase; C: Metáfase; D: Anáfase; E: Telófase



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 7: Perfil fotomicrográfico das células meristemáticas de *Allium cepa* em diferentes momentos do ciclo celular com alterações cromossômicas já observadas em avaliações de estudos científicos realizados no nosso laboratório. A1: telófase com perda cromossômica; A2: metáfase normal; A3: telófase normal; B1: anáfase multipolar; B2: prófase normal; B3: telófase normal; C: telófase com ponte nucleoplasmática; D: C-metáfase; E: cromossomos perdidos em intérfase; F: Anáfase com ponte nucleoplasmática; G1: anáfase com perda cromossômica; G2: intérfase; G3: prófase normal; H1: intérfase com micronúcleo; H2: intérfase normal; I anáfase com atraso cromossômico.



Fonte: Arquivo pessoal

Esse método vem sendo relatado por diversos autores, mostrando que os principais efeitos que ocorrem são mutagênicos e anti-mutagênicos, sendo demonstrado pela proliferação ou diminuição das pontas de raízes tratadas com diferentes espécies de plantas medicinais. É necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, para possibilitar a avaliação dos efeitos que agentes mutagênicos podem causar, tornando possível a análise de danos que essas células vieram a sofrer durante o teste, e só assim ter a certificação de toxicidade ou não (VICENTINI et al., 2001).

Bioensaios com *A. cepa* se mostram bastante econômicos, além de bem sensíveis, e os resultados apresentam uma boa correlação com sistemas de testes de mamíferos (HEMACHANDRA; PATHIRATNE, 2016).

2.5 Utilização do teste de letalidade de *Artemia salina*

O uso de extratos de plantas medicinais para alívio de dores e cura de algumas doenças, cresce mundialmente. Esses estudos realizam-se com o intuito de assegurar a população de que o consumo não seja prejudicial aos órgãos do indivíduo a partir do consumo em dosagens erradas e, assim, estabelecer a toxicidade de novos produtos naturais (FERRÃO, 2017).

A avaliação de citotoxicidade é indispensável para considerar uma substância ou tratamento seguro. Compostos bioativos são quase sempre tóxicos em altas doses. Portanto, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido durante o fracionamento de extratos. O ensaio de letalidade para larvas de *Artemia salina* tem sido introduzido na rotina de muitos grupos de pesquisa envolvidos com isolamento, purificação e elucidação estrutural (RUIZ et al., 2005), se popularizando como bioensaio principalmente a partir da década de 90 (LHLLIER et al., 2006).

O teste de citotoxicidade com *Artemia salina* é um método simples na pesquisa toxicológica (MEYER et al., 1982) onde os cistos dos microcrustáceos (Figura 2) são de baixo custo e facilmente encontradas no comércio, além de permanecerem viáveis por anos no estado seco, possuindo uma boa correlação com testes de toxicidade aguda oral *in vivo* (PARRA et al., 2001), quanto em linhagem de células humanas (CARVALHO et al., 2002). O ensaio determina valores de concentração letal média (CL₅₀), em µg/mL, de compostos e extratos, sendo que inúmeras substâncias ativas conhecidas apresentam citotoxicidade por este teste (MEYER et al., 1982). (Figura 8).

Figura 8: Cistos (A) e o processo de crescimento e diferenciação (B) do microcrustáceo *A. salina*



Fonte: <<https://br.pinterest.com/pin/551479916862349905>> acessado em 07/05/2018.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia* L.

As folhas foram limpas e submetidas à secagem em estufa de circulação de ar a 40° C até a manutenção do peso constante. Posteriormente, foram trituradas em moinho de facas com tamanho de partícula de 10 mesh, o pó resultante foi mantido a temperatura ambiente em recipiente de plástico hermeticamente fechado e protegido da luz.

A extração etanólica foi feita com metanol e água. O pó seco foi primeiro desengordurado por hexano e depois extraído em 100% de metanol (MeOH), 75% de MeOH, 50% de MeOH, 25% de MeOH e 100% de água (aquosa). Para tanto recolhidos 10 gramas de pó seco em 100 ml de hexano num balão cônico, tapados com algodão e depois mantidos num agitador rotativo a 120 rpm durante 24h. Após esse período, o extrato foi filtrado com oito camadas de tecido de musselina e centrifugado a 5000 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi recolhido e o solvente foi evaporado. O resíduo foi então adicionado a 100 ml de cada solvente, isto é 100% de MeOH, 75% de MeOH, 50% de MeOH, 25% de MeOH e água num balão cônico, tapado com algodão e depois mantido num agitador rotativo a 120 rpm por 24h. Após 24h, o extrato foi filtrado com oito camadas de tecido de musselina; centrifugou-se a 5000 rpm durante 10 min, recolheu-se o sobrenadante e evaporou-se parcialmente os solventes utilizando um evaporador rotativo de vácuo (Equitron, Índia), depois manteve-se em placas de petri para secar. O extrato foi armazenado a 4 ° em garrafas estanques ao ar. Os resíduos foram pesados para se obter o rendimento extrativo (RAKHOLIYA, 2014).

3.2 Bioensaio de letalidade em *Artemia salina*

Para a preparação da *A. salina*, os cistos do microcrustáceo foram adquiridos no mercado central de Teresina-PI, Brasil. Esta foi uma rápida modificação do método descrito por Meyer et. al. (1982). Foram incubados cistos do microcrustáceo (*Artemia salina*) em becker contendo uma mistura 50:50 de solução salina (água do mar artificial: 23,0 g de NaCl, 11,0 g de MgCl₂.6H₂O, 4 g de Na₂SO₄, 1,3 g de CaCl₂.2H₂O, 0,7 g de KCl em 1 L de água destilada e ajustado para pH 8,5 utilizando Na₂CO₃, 1N) e água mineral sob arejamento constante durante 48 h a 27 ± 3° C. Após incubação, os náuplios ativos livres de conchas do microcrustáceo foram recolhidos a partir da porção mais iluminada da câmara de incubação e utilizados para o ensaio. Dez náuplios foram retirados por meio de uma pipeta de Pasteur e inseridos em cada tubo de ensaio contendo 4,5 mL da solução salina. O experimento foi realizado por diluições seriadas, onde a concentração inicial do extrato

etanólico de *Momordica charantia* foi de 1000 µg/ml. Em cada experimento, adicionou-se 0,5 mL da amostra teste a 4,5 mL de solução de salina, mantendo a mesma temperatura de eclosão, sob a luz, os náuplios sobreviventes foram contados. Foram utilizados três tubos para cada tratamento. A mortalidade de *A. salina* foi contada após 24 horas de exposição aos tratamentos com extrato etanólico de *Momordica charantia*. A definição da toxicidade do extrato foi baseado nas escalas de toxicidade de Meyer et al., (1982), de acordo com a escala, os valores de concentração letal $(CL)_{50} < 500$ µg/ml indicam toxicidade, os valores de $(CL)_{50} < 1000$ µg/ml indicam toxicidade moderada enquanto os valores de $(CL)_{50} < 500$ µg/ml sugerem uma falta de toxicidade.

3.3 Obtenção das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*

Para o teste de ponta de raiz de *Allium cepa*, foram utilizados bulbos de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinadas e saudáveis. Os bulbos de cebola foram colocados em frascos com água, a temperatura ambiente, para enraizar. Quando as raízes atingiram 0,5 cm foram colocadas nas soluções de tratamento. Para verificar a atividade citotóxica e mutagênica dos compostos estudados, foram realizados cinco tratamentos com cinco repetições cada: T1 – controle negativo (CN), onde as raízes dos bulbos foram tratadas com água destilada; T2 – 0,05 g/ml do extrato etanólico de *Momordica charantia* diluído em água destilada e DMSO (1%), concentração de 500 µg/ml; T3 - 0,1 g/ml do extrato etanólico de *Momordica charantia* diluído em água destilada e DMSO (1%), concentração de 1000 µg/ml; T4 - 0,2 g/ml do extrato etanólico de *Momordica charantia* diluído em água destilada e DMSO (1%), concentração de 2000 µg/ml; e T5 – Controle positivo (CP) tratados com sulfato de cobre (0,6 µg/ml). Os bulbos ficaram submersos nos tratamentos durante os tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. Foram observados em cada um desses tempos de exposição (TE) o crescimento de três raízes selecionadas em cada um dos bulbos, através da medição com o auxílio de uma régua como medida de toxicidade.

3.4 Preparo, leitura e análise citogenética das lâminas para o teste *A. cepa*

As lâminas, em média 02 por bulbo, foram preparadas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x, para cada bulbo, analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada tratamento. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Calculou-se o número de células em intérfase e em divisão de cada controle e tempo de exposição, e em seguida foi determinado o índice de divisão celular ou índice mitótico (IM) para avaliação do efeito

citotóxico, através do cálculo: $IM = N^{\circ} \text{ de células em divisão} / N^{\circ} \text{ total de células} \times 100$. Avaliou-se também a ação mutagênica dos extratos por meio do número de células com alterações cromossômicas (AC): micronúcleos, metáfases colchícinicas, pontes nucleoplasmáticas, quebras, perdas e atrasos cromossômicos.

3.5 Análise estatística

Os valores de CL_{50} e seu respectivo intervalo de confiança (IC 95%) para o teste de letalidade de *Artemia salina* foi calculado a partir de regressão não – linear. Além disso, os dados obtidos por meio do ensaio em *A. salina* foram avaliados pelo método estatístico ANOVA seguido do Pós-teste de Tukey, através do programa computacional Graph Prism 7.0 (GraphPad, Intuitive Software for Science, San Diego, CA), e o $p < 0,05$ foi utilizado como valores de significância.

4 RESULTADOS

4.1 Toxicidade em *Artemia salina*

O extrato etanólico de *Momordica charantia* apresentou toxicidade em todas as concentrações quando comparadas ao controle negativo (CN) e o veículo (DMSO 1%). Nas concentrações de 62,5 e 125 µg/mL apresentaram valores estatisticamente menores em relação ao controle positivo (CP) e as maiores concentrações (250, 500 e 1000 µg/mL) apresentaram toxicidade estatisticamente igual ao controle positivo (CP) para o TE analisado. Com as concentrações utilizadas na diluição seriada, o valor de CL₅₀ foi determinado: 71,72 µg/mL para 24h. Utilizando a classificação de toxicidade de Meyer et al., (1982), o extrato etanólico de *M. charantia* apresentou elevada toxicidade (abaixo de 100 µg/mL). Não foi observada mortalidade significativa para o veículo utilizado quando comparado ao CN. (Tabela 3).

Tabela 3: Atividade tóxica do extrato etanólico de *Momordica charantia* em diferentes concentrações (µg/mL) por meio do Bioensaio de letalidade em *Artemia salina*.

Concentrações	Tempo 24 h
CN (solução salina)	0,00 ± 0,00
DMSO 1%	0,00 ± 0,00
CP (KDCr, 16 µM)	80,00 ± 10,00 ^{ab}
1000 µg/ml	96,60 ± 5,77 ^{ab}
500 µg/ml	93,30 ± 5,77 ^{ab}
250 µg/ml	93,30 ± 5,77 ^{ab}
125 µg/ml	60,00 ± 10,00 ^{abc}
62,5 µg/ml	53,30 ± 15,27 ^{abc}
CL ₅₀ (µg/ml)	71,72
IC	50,80 – 101,2
r ²	0,766

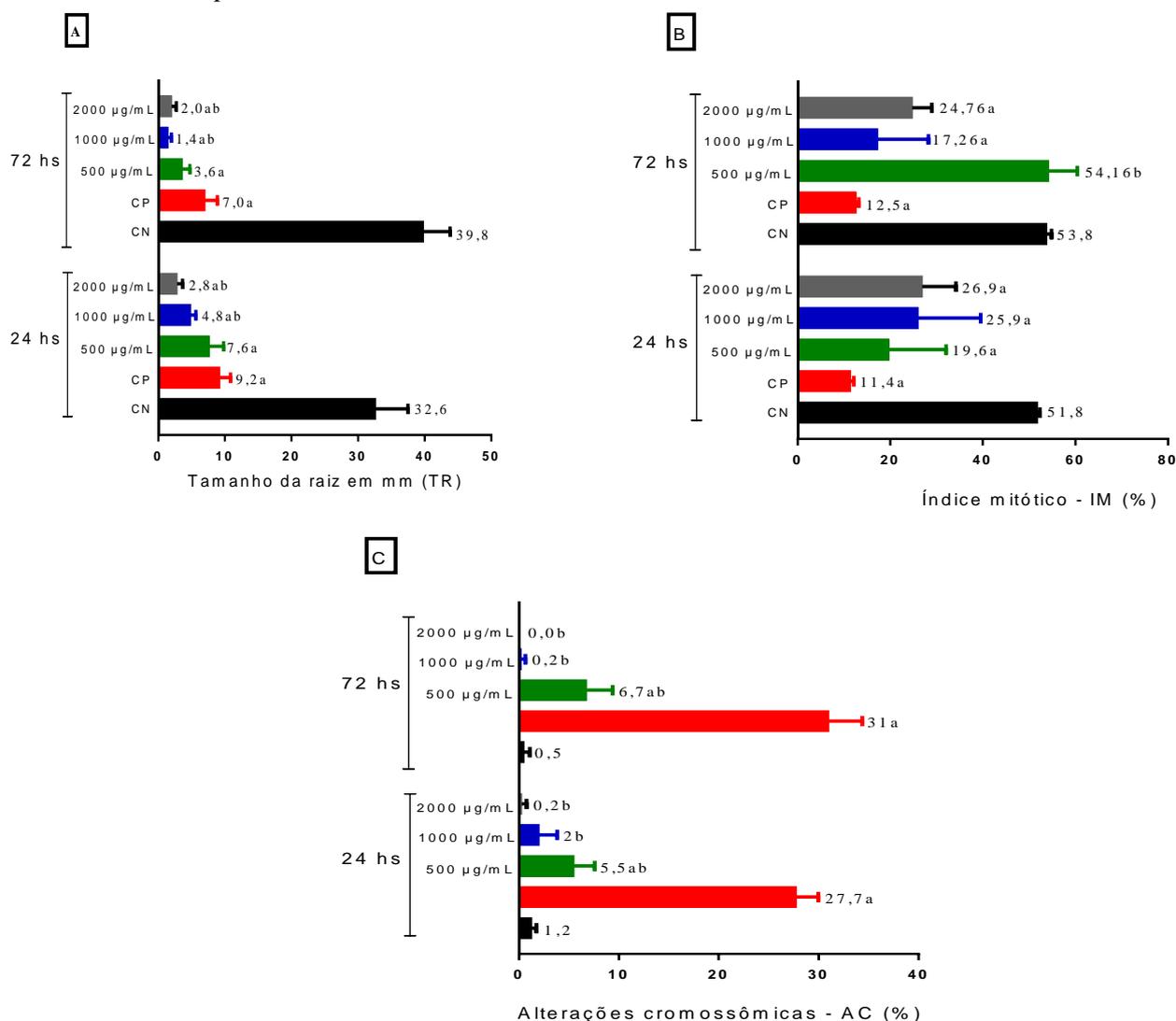
Valores são as médias e desvio padrão, ^a p<0,05 comparado com o controle negativo (CN), ^b p<0,05 comparado com o DMSO 1%; ^c p<0,05 comparado com o controle positivo (CP). Anova one-way, com pós teste de Tukey. Cada concentração foi executada com três tubos (10 náuplios vivos / tubo); CL₅₀: Concentração letal em µg/ml. IC: Intervalo de confiança; r²: Determinação de coeficiente.

4.2 Toxicogenética do extrato etanólico de *Momordica charantia* em células meristemáticas vegetais

Os efeitos tóxicos, citotóxicos e mutagênicos do extrato etanólico de *M. charantia*, foram avaliados através da análise de tamanho de raiz (TR), índice mitótico (IM) e alterações cromossômicas (AC), respectivamente. Em relação aos valores de TR, as três concentrações e o controle positivo (CP) foram estatisticamente inferiores ao

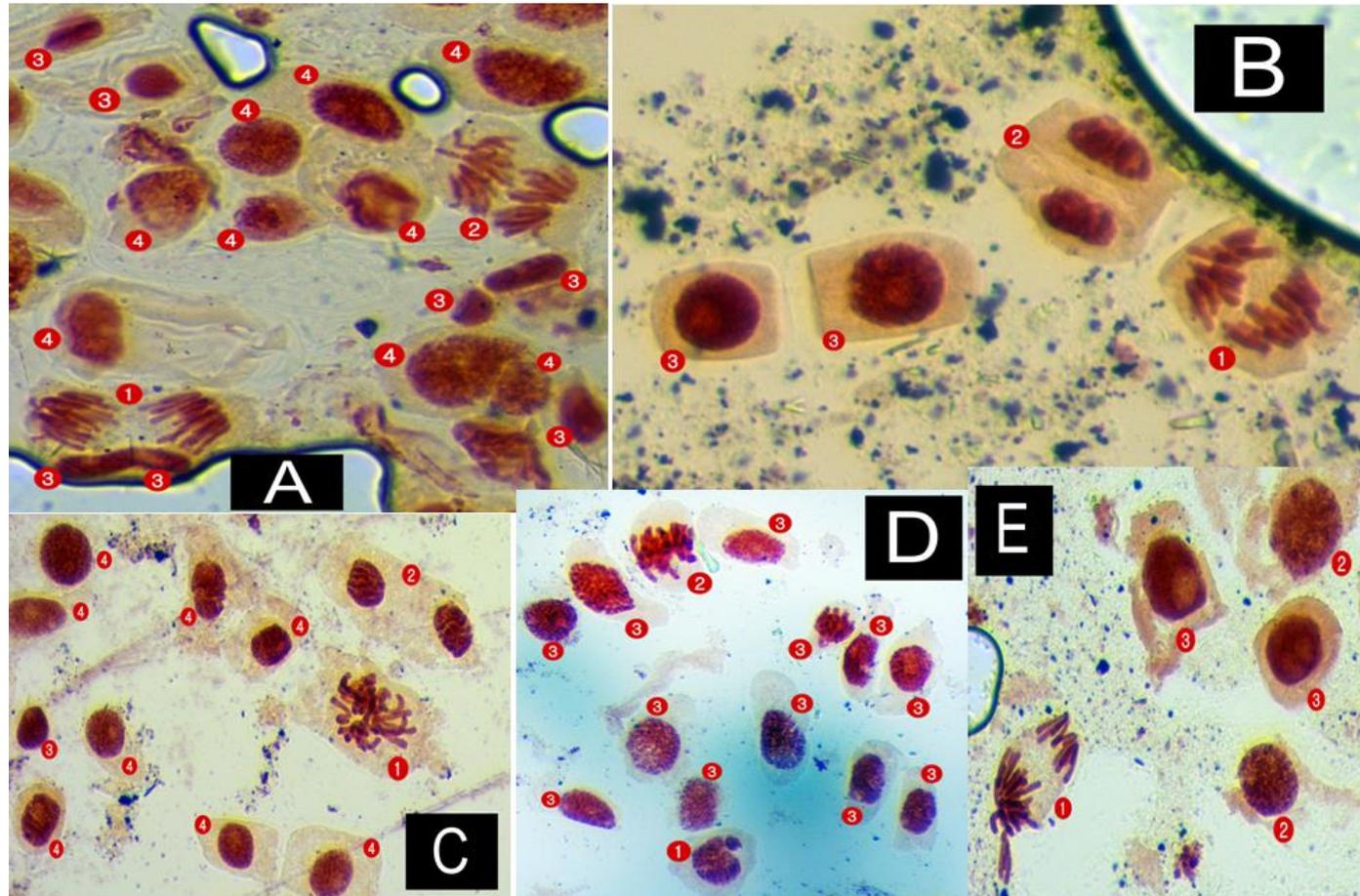
controle negativo (CN) nos dois tempos de exposição analisados, apresentando toxicidade no organismo-teste. Os valores obtidos de IM corroboram os dados de TR nos tempos de exposição analisados em relação ao CN, indicando citotoxicidade, exceto na menor concentração (500 µg/mL) no tempo de 72h. Para a avaliação mutagênica do extrato, apenas a menor concentração avaliada (500 µg/mL) causou alterações cromossômicas estatisticamente superiores ao CN. As concentrações de 100 e 2000 µg/mL, não foram mutagênicas provavelmente pelos valores de IM bastante baixos, o que dificulta a avaliação de mutações já que as mesmas são observadas apenas em células em divisão celular. (Figura 9 e 10).

Figura 9. Avaliação da toxicidade (A), citotoxicidade (B) e mutagenicidade (C) do extrato etanólico de *Momordica charantia* sobre as raízes e células meristemáticas de *Allium cepa*.



ANOVA One-way e pós-teste de Tukey. Valores significantes (média) de $p < 0,05^*$, para ^a comparado ao grupo controle negativo (CN), ^b ao grupo controle positivo (CP).

Figura 10 - Perfil fotomicrográfico mostrando a diminuição de células vegetais em divisão celular quando tratadas com o extrato etanólico de *Momordica charantia* em diferentes concentrações. Coloração com orceína acética e aumento de 400X ao microscópio óptico.



A-Tratamento 500 µg/mL: (1) Anáfase normal; (2) Anáfase com atraso cromossômico; (3) Interfase normal; (4) Prófase normal; **B-Tratamento 1000 µg/mL:** (1) Anáfase normal; (2) Telófase normal; (3) Prófase normal; **C-Tratamento 500 µg/mL:** (1) C-metáfase; (2) Telófase normal; (3) Interfase normal; (4) Prófase normal; **D-Tratamento 500 µg/mL:** (1) Prófase com micronúcleo; (2) Metáfase normal; (3) Prófase normal; **E-Tratamento 2000 µg/mL:** (1) Anáfase com perda cromossômica; (2) Prófase normal; (3) Interfase normal.

5 DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, o consumo de produtos naturais tem crescido constantemente, incluindo o consumo de extratos de plantas medicinais (HOSSAIN et al., 2014). Apesar do grande uso desses medicamentos naturais, ainda se tem pouca informação quanto aos riscos que podem vir a oferecer à saúde humana (TUTTOLOMONDO et al., 2014). Portanto, é essencial a avaliação contínua dos efeitos tóxicos dessas espécies vegetais para que seja alcançado o processo de produção de um fitoterápico, de maneira segura e com seus efeitos farmacológicos bem definidos.

Nesse sentido, no presente estudo, buscou-se a avaliação toxicológica e mutagênica da planta *Mormodica charantia*, conhecida popularmente como melão de São Caetano. Na medicina popular, a mesma é empregada no tratamento do diabetes, regularização do fluxo menstrual, combate a leucorreia, alívio das cólicas abdominais, lesões cutâneas, apresenta também propriedades febrífugas, cicatrizante e anti-reumática, sendo utilizada pela população principalmente como antidiabética (CAMPOS et al., 2016). Além das diversas atividades farmacológicas, em 2009, a *M. charantia* L. passou a integrar a RENISUS que é constituída por 71 espécies de plantas medicinais que interessam ao Sistema único de Saúde Brasileiro (SUS) por tratar-se de nativas ou exóticas adaptadas, amplamente utilizadas pela população brasileira (SAMPAIO, 2014). Com isso, suas diversas atividades farmacológicas e sua versatilidade como alimento justificam a necessidades de estudos toxicológicos constantes dessa planta utilizando diferentes bioensaios toxicogênicos (ASSUBAIE; EL-GARAWANY, 2004).

A utilização de bioensaios tais como o de letalidade de *Artemia salina* proporciona a avaliação do possível efeito tóxico de diferentes extratos vegetais. A utilização da *A. Salina* em estudos toxicológicos deve-se a simplicidade com que pode ser manuseado. A rapidez e o baixo custo favorecem a utilização em diversos estudos (LUNA, et al., 2005; BEDNARCZUK, 2010). No presente estudo, o extrato etanólico de *Mormodica charantia* L apresentou valor de CL_{50} de 71,72 $\mu\text{g/ml}$ caracterizando-o com toxicidade elevada (Tabela 03). Outros estudos sobre a toxicidade de diferentes partes da planta foram conduzidos. Maracajá et al., (2011) constataram que houve uma redução significativa na sobrevivência de abelhas quando utilizados na dieta extratos de flores de *Momordica charantia* L. Os índices mais elevados de mortalidade foram obtidos nas concentrações 0,50% e 1,00% do pó das flores desta planta.

Sharma, (1960) relatou que estudos clínicos têm demonstrado existir uma relativa baixa toxicidade de todas as partes do Melão de São Caetano quando ingeridos oralmente. Todavia, a toxicidade e morte de animais têm sido evidenciadas em laboratórios quando os extratos são injetados de forma endovenosa, como o fruto e a semente demonstrando grande toxicidade comparado com as folhas e as partes aéreas da planta. Além disso, Ritter et al., (2002) avaliando o uso de plantas medicinais, relatou que o Melão de São Caetano tem toxicidade reconhecida e deve ter o uso seu desaconselhado.

Fernandes et al., (2016) realizaram uma revisão sistemática sobre as atividades toxicológicas e efeitos comprovados de *Momordica charantia*. Nesse estudo, não encontraram resultados de toxicidade aguda e subaguda. Porém, encontraram estudos de toxicidade crônica, reprodutiva e Dose letal 50% (DL₅₀). Batran; El-Gengaihi; Shabrawya (2006) definiram a DL₅₀ de 9,2 mg/100g e 36,2 mg/100g para os extratos aquoso e etanólico, respectivamente. No mesmo estudo, a toxicidade crônica foi de 13,4, 24,8 e 36,2 mg/100g de extrato etanólico de *M. charantia* durante 3 meses, além de observarem óbitos.

Estudo de toxicidade reprodutiva também foram conduzidos por Tumkiratiwong et al. (2014). Em estudo realizado com ratos Wistar, machos, com a administração diária, por via oral, de 400 e 800 mg/kg de extrato etanólico de *M.charantia*, por durante 42 dias, mostraram alterações tóxicas no túbulos seminíferos, epidídimos e diminuição do baixo nível de testosterona. Esses estudos corroboram com nossos achados de toxicidade da planta (Tabela 3).

A toxicidade dos extratos de *M. charantia* pode está relacionada com seus componentes fitoquímicos já bem caracterizados na literatura, tais como, alcaloides, charantina, charina, criptoxantina, cucurbitina, cucurbitacina, cucurbitanos, ciclosartenóis, diosgenina, ácidos esteáricos, eritrodiol, rutina, ácidos galacturônicos, ácido gentísico, goyasaponins, lanosterol, ácido láurico, ácido linoleico, ácido linolênico, momorcharinas, momordenol, momordicilina, momordicinas, momordolo, multiflorenol, ácido mirístico, nerolidol, pentadecanos, peptídeos, ácido petroselínico, proteínas, proteínas inativadoras de ribossomos, ácido rosmarínico (KUMAR et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010; GOMES et al., 2011). Alguns desses compostos fitoquímicos foram avaliados em relação aos seus efeitos citotóxicos e potencial antitumoral.

No teste de *Allium cepa*, o extrato etanólico apresentou efeitos tóxicos e citotóxicos nas três concentrações avaliadas devido os valores estatisticamente baixos de crescimento de raiz e índice mitótico, respectivamente. Além disso, apresentou efeitos mutagênicos na menor concentração de 500 µg/mL (Figura 9). Esses resultados antiproliferativos e citostáticos dá aos extratos e fitoquímicos dessa planta perspectivas para atividade antitumoral.

O papel da *M. charantia* na atividade antitumoral foi estudado nos trabalhos de Fang et al. (2012) que demonstraram que a proteína lectina *Momordica charantia* (MCL) tem capacidade de desativar o ribossomo tipo II, em carcinoma nasofaríngeo (NPC), induzindo apoptose das células de NPC. Nerurkar e Ray (2010) citam que foi isolada uma proteína de inativação de ribossomos (MCP30) do extrato de *M. charantia*, responsável pela atividade antitumoral testada nas células de câncer de mama e de câncer de próstata humano implantados em ratos, em ambas levando a redução da expressão de importantes proteínas reguladoras do ciclo celular. Já nos estudos de Meng et al. (2014), foi mostrado que a Alfa-momorcharina (α -MMC), isolada da *M. charantia* é responsável pela atividade citotóxica devido a sua capacidade de inibir a proliferação das células de adenocarcinoma pulmonar.

Além disso, Rutina, um flavonoide presente nas folhas de *Momordica charantia*, demonstrou inibição do crescimento de células de leucemia e carcinoma de próstata e ovário (LIN et al., 2009). Takemoto et al. (1982) mostraram que o extrato da planta de *M. charantia* inibiram a enzima guanilato ciclase envolvida na proliferação de linfócitos leucêmicos, que está inibição se correlaciona com seus efeitos citotóxicos preferenciais para essa mesma célula.

Há uma diversidade de pesquisas na área de produtos naturais e existe uma dificuldade para comparações dos estudos, devido às divergências de metodologias, parte da planta estudada, composto químico majoritário dentre outros. Porém as pesquisas em buscas de possíveis efeitos toxicológicos e farmacológicos de plantas medicinais e seus compostos químicos devem ser constantes. Os resultados aqui encontrados servem como banco de dados para a espécie em questão em relação ao seu efeito tóxico para o organismo. Ademais, estudos adicionais com essa espécie devem ser encorajados para descobertas de novas ações farmacológicas, isolamento de novos fitoquímicos da planta e confirmações da sua atividade antineoplásica.

6 CONCLUSÃO

O extrato etanólico das folhas de *Mormodica charantia* apresenta efeito tóxico, citotóxico mutagênico em células eucarióticas o que sugere estudos toxicológicos adicionais já que a mesma é utilizada como planta medicinal. Ademais, estudos sobre a investigação do seu possível potencial antitumoral devem ser encorajados e realizados considerando que o extrato apresentou efeito citotóxico nas células analisadas.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, J. P.; SOUSA, R. P.; LINHARES, P. C. F.; PEREIRA, M. F. S.; MOREIRA, J. C. Avaliação biométrica de caracteres do melão de São Caetano (*Momordica charantia* L). **Rev. bras. plantas med.** Botucatu/SP. v. 17, n. 4, p. 505-514. 2015.
- ASSUBAIE, N. F.; E EL-GARAWANY, M. M. Evaluation of Some Important Chemical Constituents of *Momordica charantia* Cultivated in Hofuf. **Saudi Arabia Journal of Biological Sciences**. V. 4. P. 628-630. 2004.
- BAGATINI, M. D. et al. Uso do sistema teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 17(3): 444-447, 2007.
- BATRAN, S. A. S.; EL-GENGAIHI, S. E.; SHABRAWYA, O. A. Some toxicological studies of *Momordica charantia* L. on albino rats in normal and alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**. Holanda. v. 108, n. 2. p. 236-242. 2006.
- BHATTACHARYA, S.; MUHAMMAD, N.; STEELE, R.; KORNBLUTH, J.; RAY R. B. Bitter Melon Enhances Natural Killer-Mediated Toxicity against Head and Neck Cancer Cells. **Cancer Prev Res (Phila)**. 10(6):337-344. 2017.
- BRASILEIRO, B. G.; PIZZIOLLO, V. R.; MATOS, D. S.; GERMANO, A. M.; JAMAL, C. M. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”. Governador Valadares/MG. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. vol. 44, n. 4. 2008.
- BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**. Curitiba, v. 11, n. 2. 2010.
- CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; ALMEIDA, V. L. Toxicidade de espécies vegetais. **Rev. Bras. Pl. Med.** Campinas/SP. v. 18, n. 1, supl. I, p. 373-382. 2016.
- CARVALLO, J. L.; HERNÁNDEZ-INDA, Z. L.; PÉREZ, P.; GARCÍA-GRÁVALOS, M. D. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. **BMC biotechnology**, 2002, n. 1, p. 17, set. 2002.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. **Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade**. **Química Nova**. v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
- CHANG, C. D.; LIN, P. Y.; CHEN, Y. C.; HUANG, H. H.; SHIH, W. L. Novel purification method and antibiotic activity of recombinant *Momordica charantia* MAP30. 7(1):3. **3 Biotech**. 2017.
- CORDEIRO, L. N.; ATHAYDE, A. C. R.; VILELA, V. L. R.; COSTA, J. G. M.; SILVA, W. A.; ARAUJO, M. M.; RODRIGUES, O. G. 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. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s. vol. 12, n. 4. Botucatu/SP. 2010.

CUNNIHGAM, M. J. Genomics and protomics – the new millenium 07 drug disdrery and develo priment. **Journal of pharmacological and toxicological methods**. 44, pp, 291-300. 2000.

DORATO, M. A; BUCKLEY, L. A. **Toxicology in the drug discovery and develo pment process cursent protocols in pharmacology**. 32. 10, 3.1 – 10. 3. 35. 2006.

ESPÓSITO, R. C. Avaliação in vitro da Eficácia de Produtos Homeopáticos contendo *Momordica charantia* através de Bioensaios. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal/RN. p. 102. 2013.

FANG, E. F.; ZHANG, C. Z.; WONG, J. H.; SHEN, J. Y.; LI CH, NG. T. B. The MAP30 protein from bitter gourd (*Momordica charantia*) seeds promotes apoptosis in liver cancer cells in vitro and in vivo. **Cancer Lett**. 2012.

FERNANDES COUTINHO, D.; CATUNDA FLORÊNCIO, J.; REIS AGUIAR, L.; FRANCA RODRIGUES, K. A.; MACHADO VILANOVA, C.; CASTRO BORBA, E. R. Estudo farmacobotânico das folhas de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). **Visão Acadêmica**. Curitiba/PR. v. 10, n. 1. 2009.

FERNANDES, C. P. M.; FÉLIX, S. R.; NOBRE, M. O. Toxicidade dos fitoterápicos de interesse do SUS: uma revisão. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. Londrina/PR. v. 37, n. 1, p. 83-96. 2016.

FERRÃO, A. S. Citotoxicidade E Mutagenicidade do Extrato Hidroalcoolico de *Poincianella Pyramidalis* em Sistema Teste Animal e Vegetal. **Trabalho de conclusão de curso**. 2017.

FIRMO, W. C. A.; MENEZES, V. J. M.; PASSOS, C. E. C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq**. São Luís/MA. v. 18, n. especial. 2011.

FREITAS, P. M. Estudo do teste *Allium cepa* como atividade experimental no ensino de química orgânica. **Trabalho de conclusão de curso**. UNIPAMPA. 2016.

GOMES, R.V.R. S.; VILELA, V. L. R.; GOMES, E. N.; MAIA, A. J.; ATHAYDE, A. C. R. Análise fitoquímica de extratos botânicos utilizados no tratamento de helmintoses gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Revista Caatinga**. v. 24, n. 4, p. 172-177. 2011.

GOMES-COSTA, G. A.; ALVES, M. *Cucurbitaceae* Juss. na floresta atlântica de terras baixas ao norte do Rio São Francisco, Brasil. **Iheringia**, Série Botânica. Porto Alegre/RS. 71(1):62-71. 2016.

GOMES-KLEIN, V. L.; LIMA, L. F. P.; GOMES-COSTA, G. A.; MEDEIROS, E. S. Cucurbitaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n. 4, p. 1085-1113. 2015.

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**. Índia. 2004.

HEMACHANDRA, C. K.; PATHIRATNE, A. Combination of physico-chemical analysis, *Allium cepa* test system and *Oreochromis niloticus* erythrocyte-based comet assay/nuclear abnormalities tests for cyto-genotoxicity assessments of treated effluents discharged from textile industries. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 131, p. 54-64, 2016.

HOSSAIN, M. A.; MOSTOFA, M.; AWAL, M. A.; CHOWDHURY, E. H. H.; SIKDER, M. H. Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cells of diabetic rats treated with aqueous extracts of *Momordica charantia* (karela) fruits. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. Hong Kong. v. 4, n. 2, p. 698-704, 2014.

JAIN, V.; ASHUTOSH, P.; YASHUMATI, R.; NIRMAL, S. Standardized fruit extract of *Momordica charantia* L protect against vincristine induced neuropathic pain in rats by modulating GABAergic action, antimitotoxic, NOS inhibition, anti-inflammatory and antioxidative activity. **South African Journal of Botany**. Vol. 97. 123-132. 2015.

KAUR, M.; DEEP G.; JAIN, A. K.; RAINA K.; AGARWAL C.; WEMPE M. F.; AGARWAL, R. Suco de melão amargo ativa o sensor de energia celular ativada por AMP, proteína quinase causando morte apoptótica de células de carcinoma pancreático humano. **Carcinogênese**. 2013.

KOVALSKI, M. L.; OBARA, A. T. O estudo da etnobotânica das plantas medicinais na escola. **Ciência e Educação**. vol. 19. n. 4. Bauru/SP. 2013.

KUMAR, D. S.; SHARATHNATH, K. V.; YOGESWARAN, P.; HARANI, A.; SUDHAKAR, K.; SUDHA, P.; BANJI, D. **A medicinal potency of *Momordica charantia***. **International Journal of Pharmaceutica Sciences Review and Research**. v. 1, n.2, p. 95-100. 2010.

LEAL, I. A. B. Estudo taxonômico das espécies da família Cucurbitaceae Juss. ocorrentes no Distrito Federal, Brasil. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Goiás. 2013.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**. V. 682. P. 71-81. 2009.

LENZI, M.; ORTH, A. I.; GUERRA, T. M. Ecologia da polinização de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), em Florianópolis, SC, Brasil. **Rev. bras. Bot.** vol.28 no.3 São Paulo. 2005.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Rev Bras Farmacogn**, 2006, n. 1, p. 158-163, jun. 2006.

LIMA, M. N. B. Extração de compostos fenólicos das folhas de *Momordica charantia* L. e avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica dos extratos orgânicos. **Trabalho de conclusão de curso**. Universidade Federal de Sergipe. 2018.

LIN, J. P.; YANG, J. S.; LU, C. C. Rutin inhibits the proliferation of murine leukemia WEHI-3 cells in vivo and promotes immune response in vivo. **Leukemia Research**. v. 33, n. 6, p. 823–828. 2009.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 4.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

LUNA J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.A.C.; BIEBER, L.W.; SANT'ANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 97: 199- 206. 2005.

MARACAJÁ, P. B.; LEITE, D. T.; ALBUQUERQUE NETO, F. A.; COELHO, D. C.; FORMIGA, K. R. E.; CAVALCANTI, M. T.; SILVEIRA, D. C. Toxicidade de flores de melão São Caetano a abelhas africanizadas em condições controladas. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**. v. 07, n 01. p. 11 – 15. 2011.

MARQUES, T. S.; PEREIRA, D. T. M.; ABREU, A. S.; SOUZA, M. A. S. Determinação do perfil fitoquímico e avaliação das atividades biológicas de extrato da espécie *Scleronema micranthum* da família Bombacaceae. **Revista Fitos**. Rio de Janeiro/RJ. V. 10(4), 375-547. 2016.

MENG, Y. Um novo método para a produção simultânea de duas proteínas de inativação de ribossomos, α -MMC e MAP30, de *Momordica charantia* L. **PLoS One**, 2014.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

MONTES-HERNANDEZ, S.; EGUIARTE, L. E. Genetic structure and indirect estimates of gene flow in three taxa of Cucurbita (Cucurbitaceae) in western Mexico. **American Journal of Botany**. 2002.

MOREIRA, O. B. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante dos extratos hexânico e diclorometânico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* ENGL (Anacardiaceae)**. TESE. Salvador/BA. 2009.

NEGRELLE, R. R. B.; SOUZA, M. C.; SARRAGIOTO, M. H.; ZANIOLO, S. R.; LORENZI, G.; CORRÊA, L.; PINTO, G. B. S.; BRUEL, B.; PINTO, E.; SECORUM, A.; MIOLA, D. Levantamento das espécies potencialmente fonte de produtos vegetais não-maderáveis da RPPN SESC Pantanal: Resultados Preliminares. **Conhecendo o Pantanal**. N. 1. 2002.

NEPOMOCENO, T. A. R.; PIETROBON, A. J. ASPECTOS GERAIS DO MELÃO DE SÃO CAETANO (*Momordica charantia* L.). **Anais da 12ª Semana Acadêmica de Agronomia**. Fundação Assis Gurgacz. Cascavel/PR. 2018.

NERURKAR, P.; RAY, R. B. Bitter melon: antagonist to cancer. **Pharmaceutical Research**. v. 27. n. 6. p. 1049-1053. 2010.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural Products As Sources Of New Drugs Over The Period 1981– 2002. **Journal of natural products**, v. 66, n. 7, p. 1022-1037, 2003.

NUGENT, P.; DUNCAN, J. N.; COLAGIOVANNI, D. B. **The Preparation of a Preclinical Dossier to Support an Investigational New Drug (IND) Application and First-in-Human**. 2013.

PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, 2001, n. 5, p. 395-400, set. 2001.

PEREIRA B. S.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; VASCONCELOS, A. K. P.; PINHEIRO A. D. N.; RODRIGUES, P. A. Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de *Momordica charantia*. **Rev Bras Plantas Med**. 2010.

PEREIRA, A. V. G.; ALBIERO, A. L. M. A valorização da utilização de plantas medicinais na atenção básica: Oficinas de aprendizagem. **Arquivos do MUDI**. V. 19, n. 2-3, p. 23-42. 2015.

PIMENTEL, M. F.; SILVA JÚNIOR, F. C. G.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O uso de *Artemia sp.* como organismo-teste para avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**. v. 6, n. 1, 2011.

RAKHOLIYA, K.; VAGHELA, P.; RATHOD, T.; CHANDA, S. Comparative Study of Hydroalcoholic Extracts of *Momordica charantia* L. against Foodborne Pathogens. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 2014.

RITTER, M. R.; SOBIERAJSKI, G. R.; SCHENKEL, E. P.; MENTZ, L. A. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê/RS, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 12. n 2. p-51-62. 2002.

RODRIGUES, K. A. F.; DIAS, C. N.; FLORÊNCIO, J. C.; VILANOVA, C. M.; GONÇALVES, J. R. S.; COUTINHO-MORAES, D. F. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Cadernos de Pesquisa**, v. 17, n. 2, p. 467-471. 2010.

RUIZ, A. L. T.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. E.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, L. A. Avaliação da atividade toxica em *Artemia salina* e biomplalaria glabrata de extratos de quatro

espécies do gênero *Elocharis* (*Cyperaceae*). **Revista brasileira de farmacognosia**. Campinas Grande. p. 99, 2005.

SAMPAIO, D.M.; ULBRICH, R.J. Associação Brasileira de Biologia, Ervas Mediciniais na Escola. **Revista SBenBIO**. v. 2. n. 7. p.6652. 2014.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. **Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae)**. 2011.

SHARMA, V.N.; SOGANI, R.K.; ARORA R.B. Some observations on hypoglycemic activity of *Momordica charantia*. **Indian J Med Res**. V. 48. P. 471-477. 1960.

SIDDIQUI, A. H.; TABREZ, S.; AHMAD, M. Validation of plant based bioassays for the toxicity testing of Indian waters. **Environmental Monitoring and Assessment**, 179(1-4): 241-253. 2011.

SILVA, B. M. **Avaliação in vivo do potencial mutagênico e anti-mutagênico do extrato obtido das folhas de *Schinopsis brasiliensis* ENGL através do teste de micronúcleo em camundongos**, Campinha Grande, 2013.

SILVA, A. S. S. Avaliação tóxica, citotóxica e mutagênica do extrato etanólico *Schinopsis brasiliensis* em ensaios pré-clínicos. **Trabalho de conclusão de curso**. 2017.

SILVA, F. A. C. V. Avaliação tóxica, citotóxica, mutagênica e oxidante do extrato etanólico de *Eucalyptus grandis*. **Trabalho de conclusão de curso**. 2017.

SINGH; RAGHAV. et al. **Biodiversidade, aspectos biológicos, geograficos, legais e eticos. in: simões, c. m. o. et al. farmacognosia da planta ao medicamento**. 2. Ed. Florianópolis /Porto Alegre: UFSC/ UFRS, p. 13-26, 2012.

SUR, S.; STEELE, R.; AURORA, R.; VARVARES, M.; SCHWETYE, K. E.; RAY, R. B. Bitter Melon Prevents the Development of 4-NQO-Induced Oral Squamous Cell Carcinoma in an Immunocompetent Mouse Model by Modulating Immune Signaling. **Cancer Prev Res (Phila)**. 11(4):191-202. 2017.

TAKEMOTO, D.J., DUNFORD, C., VAUGHN, D., et al. Guanylate cyclase activity in human leukemic and normal lymphocytes. Enzyme inhibition and cytotoxicity of plant extracts [J]. **Enzyme**. v. 27. n. 3. p. 179–188. 1982.

TSAI, T. H.; HUANG, C. J.; WU, W. H.; HUANG, W. C.; CHYUAN, J. H.; TSAI, P. J. Antioxidant, cell-protective, and anti-melanogenic activities of leaf extracts from wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) cultivars. **Bot Stud**. 55(1):78. 2014.

TUMKIRATIWONG, P.; PLOYPATTARAPINYO, R.; PONGCHAIRERK, U.; THONG-ASA, W. Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. **Iranian Journal of Reproductive Medicine**. Irã. v. 12. n. 10. p. 695-704. 2014.

TUTTOLOMONDO, T.; LICATA, M.; LETO, C.; LEONE, R. Effects of plant species on water balance in a pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetland planted with *Arundo donax* L. and *Cyperus alternifolius* L.- Two-years tests in a Mediterranean environment in the West of Sicily (Italy). **Ecological Engineering**. v. 74, p. 79-92, 2014.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev. bras. farmacogn.** João Pessoa/PB. v. 18, n. 2, p. 308-313. 2008.

VICENTINI, V. E. P.; CAMPAROTO, M. L.; TEIXEIRA, R. O.; MANTOVANI, M. S. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissampelos grandis* L.: medicinal herbal tea effect on vegetal and test systems. *Acta Scientiarum* 23: 593-598, 2001.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova.** v. 29, n. 2, p. 326-337. 2006.

YUNG, M. M.; ROSS, F. A.; HARDIE, D. G.; LEUNG, T. H.; ZHAN, J.; NGAN, H. Y.; CHAN, D. W. Bitter Melon (*Momordica charantia*) Extract Inhibits Tumorigenicity and Overcomes Cisplatin-Resistance in Ovarian Cancer Cells Through Targeting AMPK Signaling Cascade. **Integr Cancer Ther.** 15(3):376-89. 2015.

ZUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Quim. Nova,** São Paulo/SP. v. 33, n. 6, p. 1421-1428, 2010.



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
"JOSÉ ALBANO DE MACEDO"

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
(X) Monografia
() Artigo

Eu, Isabel Mariana Ferreira do Silva,
autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Perfil toxicogenético de metrato etanólico de Homondico
charentis em estudos não clínicos
de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 07 de novembro de 20 19.

Isabel MF do Silva
Assinatura

Isabel MF do Silva
Assinatura