

## Artigo

**Prospecção Fitoquímica e Avaliação Biológica das Folhas e Caule de *Melothria fluminensis* Gardner (Cucurbitaceae)**

Machado, R. V.; Costa, M. B.\*

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (3), 878-892. Data de publicação na Web: 13 de maio de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>**Prospecting Phytochemical and Biological Evaluation of Leaves and Stem of *Melothria fluminensis* Gardner (Cucurbitaceae)**

**Abstract:** Studies of species of the Cucurbitaceae family allowed the isolation of several compounds with potential therapeutic. *Melothria fluminensis* Gardner, belonging to this family is an herbaceous climbing vine popularly known in Brazil as pepininho-do-mato, a no endemic species distributed biomes: Brazilian Cerrado, Atlantic Forest and Amazon, but there are few studies with *Melothria fluminensis*. The present article intends to show the initial results obtained in relation to the phytochemical prospection and the biological potential against brine shrimp (Leach) and antioxidant activity by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) discoloration spectrometric method, extracts of the leaf and of the stem. Phytochemical screening on the leaves and stem of *M. fluminensis* indicated the presence of saponins, tannins, alkaloids and steroids and glycosylated triterpenes. The extracts and fractions that stood out for toxicity of brine shrimp (Leach) were the ethyl acetate fraction of the crude ethanolic extract of Folha (EBES / F-ACOET) and the crude ethanolic leaf extract with LC<sub>50</sub> of 423.05 and 442 mg / L respectively. The fraction that stood out for the antioxidant activity was the EBES-AcOET of the stem with IC<sub>50</sub> of 97.5 mg / L.

**Keywords:** *Melothria fluminensis*; phytochemical analysis; antioxidant activity; toxicity.

**Resumo**

Estudos com espécies da família Cucurbitaceae possibilitaram o isolamento de diversos compostos com potencial terapêutico. *Melothria fluminensis* Gardner, pertencente a esta família, é uma trepadeira herbácea conhecida popularmente no Brasil como pepino-do-mato, uma espécie não endêmica distribuída nos seguintes biomas: Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia. Porém são raros os estudos com esta espécie. O presente artigo pretende mostrar os resultados iniciais obtidos em relação à prospecção fitoquímica e o potencial biológico frente à *Artemia salina* (Leach) e atividade antioxidante pelo método espectrométrico de descoloração do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), dos extratos brutos da folha e do caule. A triagem fitoquímica realizada nas folhas e caule indicou a presença de saponinas, taninos, alcaloides e esteroides e triterpenos glicosilados. Os extratos e frações que se destacaram quanto a toxicidade frente *Artemia salina* (Leach) foram a fração acetato de etila do extrato bruto etanólico da Folha (EBES/F-ACOET) e o extrato bruto etanólico da folha com CL<sub>50</sub> de 423,05 e 442 mg/L respectivamente. A fração que se destacou quanto a atividade antioxidante foi a EBES-AcOET do caule com IC<sub>50</sub> de 97,5 mg/L.

**Palavras-chave:** *Melothria fluminensis*; prospecção fitoquímica; atividade antioxidante; toxicidade.

\* Universidade Estadual de Goiás, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo, Br 153, Km 98, número 3105, caixa postal 459, CEP 75132-903, Anápolis-GO, Brasil.

✉ [maisa.costa@ueg.br](mailto:maisa.costa@ueg.br); [maisabc@gmail.com](mailto:maisabc@gmail.com)

DOI: [10.21577/1984-6835.20190061](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190061)

## Prospecção Fitoquímica e Avaliação Biológica das Folhas e Caule de *Melothria fluminensis* Gardner (Cucurbitaceae)

Regina Veríssimo Machado, Maísa Borges Costa\*

Universidade Estadual de Goiás, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo, Br 153, Km 98, número 3105, caixa postal 459, CEP 75132-903, Anápolis-GO, Brasil.

\* [maisa.costa@ueg.br](mailto:maisa.costa@ueg.br); [maisabc@gmail.com](mailto:maisabc@gmail.com)

*Recebido em 9 de novembro de 2018. Aceito para publicação em 12 de abril de 2019*

### 1. Introdução

- 1.1. Cucurbitaceae
- 1.2. Gênero *Melothria*
- 1.3. *Melothria Fluminensis* Gardner

### 2. Materiais e Métodos

- 2.1. Material botânico e secagem
- 2.2. Prospecção fitoquímica
- 2.3. Preparo dos extratos por remaceração com aumento da polaridade dos solventes
- 2.4. Preparo dos extratos por remaceração com etanol 96°GL
- 2.5. Preparo dos extratos por extração contínua Soxhlett
- 2.6. Ensaio de letalidade de *Artemia salina* (Leach)
- 2.7. Avaliação da atividade antioxidante

### 3. Resultados e Discussão

- 3.1. Prospecção fitoquímica
- 3.2. Avaliação da toxicidade dos extratos frente à *Artemia salina* (Leach)
- 3.3. Avaliação da atividade antioxidante

### 4. Conclusão

#### 1. Introdução

Os produtos naturais podem ser utilizados no desenvolvimento de novos fármacos,<sup>1</sup> por constituírem uma importante fonte de moléculas bioativas,<sup>2</sup> estas representadas principalmente pelos metabólitos especiais,

no qual possuem uma enorme diversidade estrutural.<sup>3</sup>

Algumas famílias botânicas destacam-se por sua utilização na medicina popular. Consequentemente, pesquisas com espécies vegetais possibilitaram o isolamento de diversos compostos com significativos resultados no que se refere à identificação de

espécies com potencial atividade biológica e protótipos utilizados no desenvolvimento de novos fármacos.<sup>4,5</sup>

Dentre as muitas espécies botânicas com potencial farmacológico, destaca-se a família Cucurbitaceae. Vários representantes dessa família possuem indicações de uso pela medicina popular. A espécie *Momordica charantia* L., por exemplo, apresenta na literatura o maior número de estudos, em relação as demais espécies desta família, com o potencial biológico proveniente de seus extratos e compostos isolados.<sup>6</sup>

Dentre as diversas atividades farmacológicas da *Momordica charantia*, destaca-se as propriedades antitumorais, hepatoprotetora e anti-inflamatória apresentada por uma série de triterpenos cucurbitanos.<sup>7-9</sup>

Outro exemplo de representante da família Cucurbitaceae, é a *Melothria fluminensis* Gardner, conhecida popularmente no Brasil como pepininho-do-mato, melão de beija-flor, melão-de-morcego e abóbora-do-mato. É uma trepadeira herbácea encontrada principalmente nas margens de rios e em áreas sombreadas<sup>10</sup> nos biomas Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia.<sup>11</sup>

### 1.1. Cucurbitaceae

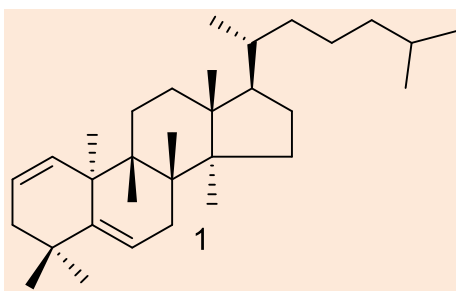
A família Cucurbitaceae, pertencente à ordem Cucurbitales, possui aproximadamente 97 gêneros e 950 espécies, amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, principalmente no Sudeste da

Ásia, África do Sul, Madagascar. Algumas de suas espécies constituem muitas das mais importantes hortaliças do mundo como o melão (*Cucumis melo* L.), pepino (*C. sativus* L.), melancia (*Citrullus lanatus* Thunb) e abóbora (*Cucurbita* L.).<sup>12</sup> No Brasil são conhecidas em torno de 180 espécies distribuídas em 30 gêneros.<sup>13</sup>

As espécies dessa família são economicamente importantes, por serem largamente cultivadas para produção de alimentos,<sup>14</sup> e outras tem despertado o interesse da indústria farmacêutica pela presença de compostos bioativos.<sup>12</sup> As Cucurbitáceas possuem diversos compostos tóxicos ou com potencial terapêutico, e apresentam atividades biológicas como anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral dentre outras.<sup>15</sup>

Estudos com a *Momordica charantia* L., conhecida popularmente no Brasil como melão-de-são-caetano, identificaram atividades biológicas como, leishmanicida,<sup>16</sup> antifúngica,<sup>17</sup> moluscicida,<sup>9</sup> antidiabética,<sup>18</sup> antioxidante<sup>19</sup> antitumoral.<sup>20</sup>

Dos frutos e folhas da *Momordica charantia* já foram isoladas uma série de cucurbitacinas, dentre elas, a cucurbitacina E (**1**) (Figura 1). As cucurbitacinas são definidas como triterpenos altamente oxidados, com esqueleto básico 19(10→9β)-abeo-10α-lanostano (cucurbitano) (**2**) (Figura 1).<sup>7</sup> As cucurbitacinas são tóxicas para a maioria dos organismos,<sup>4</sup> e apresentam atividades biológicas como, antitumoral, anti-inflamatório, antimicrobianas e hepatoprotetora.<sup>7,20-22</sup>



**Figura 1.** Representação Estrutural da Cucurbitacina E e do Esqueleto Cucurbitano. Fonte: Valente (2004)<sup>7</sup>

## 1.2. Gênero *Melothria*

A família Cucurbitaceae é dividida por alguns autores em quinze grupos, um deles é o grupo das Benincaseae com aproximadamente 210 espécies distribuídas em 24 gêneros. As plantas deste grupo possuem como características serem anuais ou perenes, herbácea ou trepadeira lenhosa, com flores pequenas ou médias e pétalas com coloração amarela, laranja, salmão ou brancas, seus frutos são geralmente carnosos de tamanho médio a grande porte.<sup>12</sup>

O gênero *Melothria* pertence ao grupo das Benincaseae.<sup>12</sup> Sendo constituído de aproximadamente 10 espécies, caracterizadas por serem plantas herbáceas, espécies anuais ou perenes.<sup>10</sup>

As espécies do gênero *Melothria* vêm sendo alvo de pesquisas que isolaram uma série de metabólitos especiais. Dentre as espécies estudadas temos a *Melothria maderaspatana* L., *Melothria heterophylla* Lour. Cogn. e *Melothria purpusila* Cong.

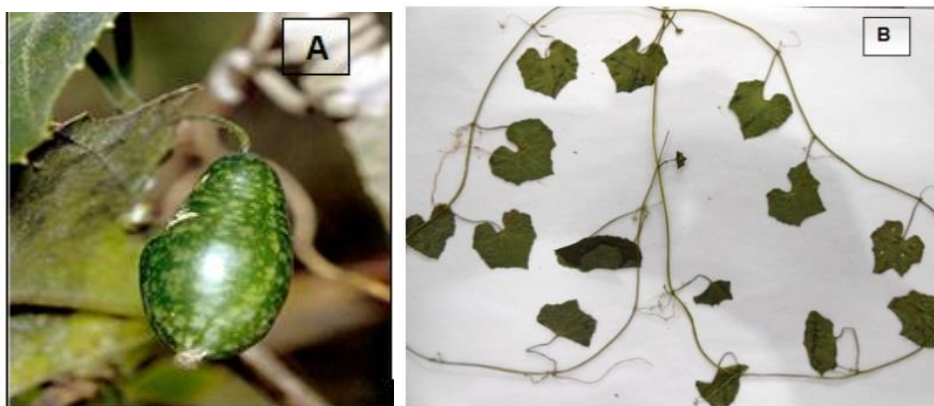
A *M. heterophylla* é encontrada em toda Índia. Em avaliações fitoquímicas preliminares foram identificados esteroides, glicosídeos, saponinas e flavonoides no extrato etanólico das folhas e estudos possibilitaram o isolamento do  $\beta$ -sitosterol sendo este o primeiro relato de isolamento em *M. heterophylla*.<sup>23</sup>

A *M. maderaspatana* é uma planta medicinal com atividades, tais como, hepatoprotetora, antirreumática, diurética, anti-inflamatória<sup>24</sup> e anti-hipertensiva.<sup>25</sup> Foram identificados no extrato alcoólico da folha alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos e glicosídeos cardioprotetores.<sup>26</sup> Petrus (2012)<sup>27</sup> isolou flavonoides, esteroides, terpenoides e cumarinas em *M. maderaspatana*.

Outra espécie do gênero *Melothria* encontrada na Índia é a *M. purpusila*, considerada endêmica da região norte do país. Por meio de extração com éter de petróleo isolou-se ácido esteárico, ácido oléico, stigmasterol e  $\beta$ -sitosterol, do extrato clorofórmio isolou-se dois esteróis e a partir do extrato metanólico isolou-se três flavonoides glicosilados.<sup>28</sup>

## 1.3. *Melothria Fluminensis* Gardner

*Melothria fluminensis*, uma trepadeira herbácea provida de gavinhas em forma de molas, caule cilíndrico, flores amareladas e solitárias, frutos ovoides lisos com aproximadamente 1-2 cm de comprimento (Figura 2). Em cultivo uma planta chega a produzir até 114 frutos em uma colheita, com ciclo produtivo de 40 dias. A floração e frutificação são registradas no decorrer de todos os meses do ano, principalmente nos meses de verão e início do outono.<sup>10</sup>



**Figura 2.** *Melothria fluminensis* Gardner. A-Detalhe do fruto, B-Folhas e Caule. Fonte: **A** (KINUPP, 2007)<sup>10</sup>, **B** (Arquivo próprio)

É uma espécie não endêmica distribuída no Brasil nos biomas Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia, é encontrada na Região Norte no estado do Pará (PA), na Região Nordeste nos estados do Maranhão (MA), Ceará (CE), Paraíba (PB), Pernambuco (PE) e Bahia (BA), na Região Centro-Oeste nos estados de Goiás (GO) e Mato Grosso (MT), em todos estados da Região Sudeste e Sul.<sup>11</sup> Apesar de encontrada em vários estados do Brasil,<sup>10</sup> considerada como uma espécie rara, quando comparada com outras esta desta família, que são de mais fácil acesso.<sup>10</sup>

Uma hortaliça-fruto produtora de minúsculos pepinos com grande potencial para o cultivo e comercialização. Os frutos podem ser consumidos tanto *in natura* ou em conserva com boa aceitação ao paladar. A espécie é de fácil propagação e cultivo possui teores consideráveis de fibras alimentares, magnésio e zinco, e baixo teor calórico.<sup>10</sup>

Pesquisas preliminares com esta espécie identificaram a presença marcante de esteroides e triterpenoides nos extratos hexânico, acetato de etila e extrato etanólico das folhas e caule, a partir da prospecção fitoquímica.<sup>29</sup>

Com base nas diversas atividades biológicas apresentadas por espécies da família Cucurbitaceae, em especial a *Momordica charantia* L. e na ausência de estudo químico e biológico com a *Melothria fluminensis* Gardner, percebe-se a necessidade de estudos que possibilitem a

avaliação do potencial biológico, isolamento e elucidação estrutural dos metabólitos especiais dessa espécie.

## 2. Materiais e Métodos

Os reagentes e solventes P. A. (E. Merck, Aldrich Chemical Co., Fluka, Grupo Química, Vetec, Ecibra e Quimex) foram utilizados sem purificação prévia. 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) Sigma-Aldrich, ovos de *Artemia salina* Maramar PET, rutina Merck.

Os extratos e frações foram concentrados em evaporador rotatório QUIMIS. Liofilizadas em liofilizador L101 LIOTOP.

### 2.1. Material botânico e secagem

O material botânico, folhas e caule foram coletados no dia 1 de maio de 2013 no município de Petrolina de Goiás, localizado a 77 quilômetros ao norte da capital do estado, Goiânia (Latitude: -16.20458861, Longitude: -49.29818764, altitude: 720 m). A espécie foi identificada e uma exsicata foi depositada no Herbário/HUEG do Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, sob número 731.

As folhas e caule da *Melothria fluminensis* Gardner foram secos em temperatura

ambiente ao abrigo da luz solar. Em seguida foram reduzidos a pó com o auxílio de um liquidificador.

## 2.2. Prospecção fitoquímica

Realizou-se a prospecção fitoquímica das folhas e caule da *M. fluminensis*, a partir da realização de reações colorimétricas e/ou de precipitação,<sup>30,31</sup> para a identificação das principais classes de metabólitos secundários. Neste contexto, as reações de Liebermann-Burchard e Pesez; Reação de Kedde; Reação de Keller-Kiliani; Reação de Liebermann-Burchard e a Reação de Pesez foram empregadas neste estudo de triagem fitoquímica.

## 2.3. Preparo dos extratos por remaceração com aumento da polaridade dos solventes

As folhas reduzidas a pó (140 g) foram submetidas à extração a frio por remaceração com aumento gradativo da polaridade do solvente, e com a troca do solvente extrator em um intervalo de três a quatro dias. Os solventes utilizados foram: hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol. Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo e secos até peso constante. Obteve-se os extratos brutos de hexano (EBH/F – 3,68 g), extrato bruto de

diclorometano (EBDCM/F – 2,34 g), extrato bruto de acetato de etila (EBAcOET/F – 3,88 g) e extrato bruto etanólico (EBE/F – 25,45 g).

## 2.4. Preparo dos extratos por remaceração com etanol 96°GL

Foram também submetidos à extração a frio por remaceração 35 g de folhas reduzidas a pó, em etanol 96°GL. O extrato bruto foi concentrado em evaporador rotativo e seco a peso constante. Obteve-se o extrato bruto etanólico (EBE/F).

## 2.5. Preparo dos extratos por extração contínua Soxhlett

As folhas (15 g) e o caule (25 g) em pó foram submetidos à extração contínua em Soxhlett com etanol P.A. por 28 horas. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo e secos até peso constante. O extrato bruto etanol da folha (EBES/F - 1,96 g) e do caule (EBES/C - 2,48 g) foram suspensos em 40 mL de metanol:água (7:3, v/v), e extraídos com *n*-hexano (H), diclorometano (DCM) e acetato de etila (AcOET) (Fluxograma 1).

As frações orgânicas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo e secas a peso constante. Após eliminação do etanol presente nas frações hidroalcoólicas (Hid), elas foram congeladas e liofilizadas.

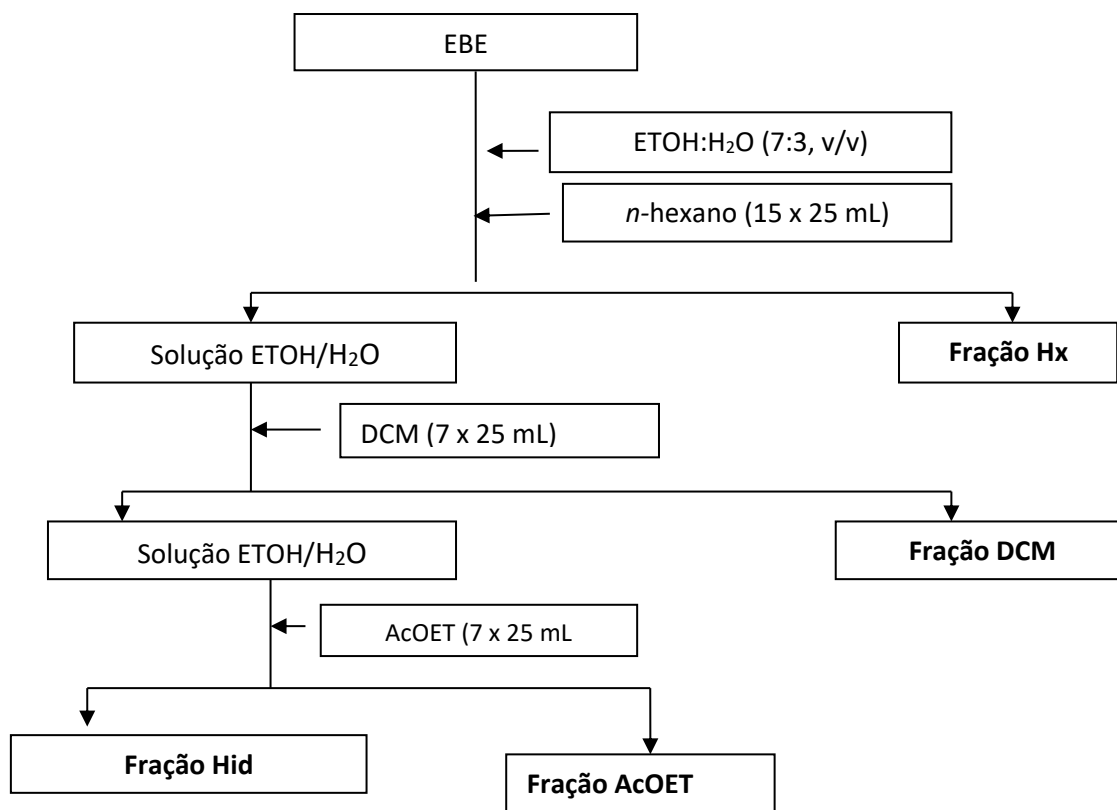


Figura 3. Fracionamento do EBES das Folhas e do Caule

### 2.6. Ensaio de letalidade de *Artemia salina* (Leach)

Realizou-se o ensaio de letalidade conforme métodos propostos por Meyer e colaboradores (1982),<sup>32</sup> e Molina-Salinas e colaboradores (2006),<sup>33</sup> com algumas modificações. 158 mg de cistos de *Artemia salina* foram colocados para eclosão em água marinha sintética, que foi preparada com sal marinho em água destilada (36,5 g.L<sup>-1</sup>) e teve o seu pH ajustado a 8.4 com a adição de uma solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,1 mol.L<sup>-1</sup>). Os cistos foram incubados por 36 horas no meio salino, com aeração constante e próximo a uma lâmpada de 5 watts para simular a iluminação solar.

Posterior à eclosão, os náuplios foram atraídos por fonte de luz, pipetados e transferidos para uma placa de Petri com 5 mL com meio fresco, com um padrão total de 10±1 indivíduos em cada poço. O ensaio foi realizado em microplaca de poliestireno estéril de 96 poços<sup>33</sup>, na qual se adicionou

diferentes concentrações dos extratos e frações: 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg.mL<sup>-1</sup>, no qual foram incluídos os controles negativos, de viabilidade e de letalidade de dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), e controle branco que constituiu em solução marinha com 2 mL de DMSO e 3 gotas de Tween 80. Após 24 horas realizou-se contagem dos náuplios vivos e mortos (permaneciam imóveis por 10 segundos). Os resultados permitiram o cálculo da Concentração Letal Média (CL<sub>50</sub>) pelo método gráfico para dose-resposta – Próbito, no programa *Statistica10* criado pela *Statsoft*. Todos os ensaios realizados foram feitos em triplicata e de maneira independente.

Os extratos (EBDCM/F, EBEAcOET/F, EBE/F, EBES/F, EBES/C) e frações (Hx, DCM, AcOET e Hid dos extratos EBES/F e EBES/C) foram dissolvidas em solução salina e, quando necessário, 2 mL de DMSO e três gotas de Tween 80 foram adicionados para facilitar a solubilização da amostra.

A toxicidade foi determinada segundo metodologia proposta por Dolabela (1997),<sup>34</sup>

considerando-se que compostos de baixa toxicidade apresentam  $CL_{50}$  entre 250 e 1000  $mg L^{-1}$ , já quando apresenta valores de  $CL_{50}$  entre 250 e 80  $mg L^{-1}$  são considerados moderadamente tóxicos, e abaixo de 80  $mg L^{-1}$  como sendo altamente tóxicos. Logo, compostos que apresentam  $CL_{50}$  maiores que 1000  $mg L^{-1}$  são considerados não tóxicos.<sup>32</sup>

## 2.7. Avaliação da Atividade Antioxidante

Preparou-se uma solução estoque em metanol P.A. do EBES/F, EBES/C e das frações Hx, DCM, AcOET e Hid do caule e da folha. As amostras para avaliação da atividade antioxidante foram preparadas com variação do volume da solução estoque, de 300  $\mu L$  – 10  $\mu L$ . As amostras em que o volume de solução estoque foi inferior a 300  $\mu L$  tiveram seus volumes ajustados para 300  $\mu L$  com a adição de metanol.

Adicionou-se 2,7 mL de solução de DPPH 40  $mg/L$  em metanol, agitou-se e incubou-se a mistura reacional por 30 minutos em temperatura ambiente sobre abrigo da luz. Em seguida realizou-se leitura das misturas reacionais em espectrofotômetro UV/V em 517 nm, contra um branco específico constituído pela amostra mais 2,7 mL de metanol. As análises foram realizadas em triplicata para cada teste. E para a determinação da porcentagem de inibição e do  $IC_{50}$  foram utilizados os valores das médias obtidas das triplicatas de cada teste. Utilizou-se como padrão a rutina.

A concentração da amostra na mistura reacional foi determinada pela seguinte equação:

*Concentração da amostra:*  $[(\text{concentração da solução estoque}) \cdot (\text{Volume utilizado da solução estoque})] / (3 \text{ mL})$

A porcentagem de inibição da concentração inicial do radical DPPH foi determinada pela seguinte equação:

*% de inibição =*  $[(\text{absorvância do controle} - \text{absorvância da amostra}) / \text{absorvância do controle}] \times 100$

No qual a absorvância do controle é dada pela absorvância de 2,7 mL de DPPH 40  $mg/L$  mais 300  $\mu L$  de metanol. O  $IC_{50}$  foi determinado pela regressão linear dos pontos, constituídos pela concentração final de cada amostra e a porcentagem de inibição, plotados graficamente com auxílio do programa Origin<sup>®</sup> Pro 8.<sup>35</sup>

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Prospecção fitoquímica

A triagem fitoquímica realizada com folhas e caule da *M. fluminensis* apresentou algumas das principais classes dos metabólitos especiais. Durante o desenvolvimento deste trabalho foram identificadas a presença de saponinas, taninos, alcaloides, flavonoides, esteroides e triterpenos glicosilados nas folhas e caule de *M. fluminensis*, no qual a observação descrições específicas (Tabela 1) auxiliaram na identificação de cada grupo de metabólitos.



**Tabela 1.** Especificações observadas

Metabólitos	Especificações
Saponinas espumílicas	Camada de espuma abundante e estável por meia hora
Taninos	Aparecimento de precipitado escuro de tonalidade azul (taninos hidrolisáveis) e verde (taninos catéquicos)
Flavonoides	Surgimento de coloração rósea
Alcaloides	Formação de precipitados laranja avermelhado, vermelho tijolo e branco
Esteroides e triterpenoides	Rápido desenvolvimento cores que vão do azul evanescente ao verde persistente

### 3.2. Avaliação da toxicidade dos extratos frente à *Artemia salina* (Leach)

Apresentam toxicidade frente a *Artemia salina* extratos com  $CL_{50} < 1000$  mg/L,<sup>32</sup> sendo considerados com baixas toxicidades os que apresentam  $CL_{50}$  entre 250 e 1000 mg/L, já extratos com  $CL_{50}$  entre 250 e 80 mg/L são considerados moderadamente tóxicos, e com  $CL_{50}$  abaixo de 80 mg/L altamente tóxicos.<sup>34</sup>

Conforme esses critérios de classificação verificou-se que os extratos obtidos por remaceração, com etanol (EBE/F) e com o aumento da polaridade do solvente extrator (EBDCM/F, EBACOET/F, EBE/F) (Tabela 2), possuem características diferenciadas com relação a toxicidade frente *Artemia salina*. O EBE/F apresentou baixa toxicidade,  $CL_{50}$  918,97 mg/L. Já os extratos EBDCM/F e EBACOET/F apresentaram toxicidade com  $CL_{50}$  de 213,82 e 377,36 mg/L, respectivamente.

**Tabela 2.** Valores de  $CL_{50}$  dos extratos obtidos por maceração das folhas de *M. fluminensis* frente à *Artemia salina*

Amostra	$CL_{50}$ (mg/L)	Intervalo de Confiança de 95 % (mg/L)
EBDCM/F	213,82	32,21-395,42
EBACOET/F	377,36	285,03-469,7
EBE/F	918,97	836,15-1001,79

Os extratos apresentaram baixa toxicidade, quando comparados com a toxicidade do extrato etanólico das folhas da *Momordica charantia*, que foram considerados altamente tóxicos, com  $CL_{50}$  41,33 mg/L.<sup>37</sup>

Os extratos etanólicos das folhas e caule da *M. fluminensis*, obtidos por extração á quente por Soxhlett, e suas respectivas frações

também apresentaram baixa toxicidade frente *Artemia salina* (Tabela 3). As frações EBES/F-Hid e EBES/C-AcOET não apresentaram toxicidade, com  $CL_{50}$  de 7167,74 e 2325,4 mg/L respectivamente. Dentre essas frações a EBES/F-ACOET ( $CL_{50}$  423,05 mg/L) e EBES/F ( $CL_{50}$  442 mg/L) foram as que apresentaram toxicidade acentuada.

**Tabela 3.** Valores de CL<sub>50</sub> dos extratos obtidos por extração com Soxhlett das folhas e caule de *M. fluminensis* frente à *Artemia salina*

Amostra	CL <sub>50</sub> (mg/L)	Intervalo de Confiança de 95 % (mg/L)
EBES/F	442	407,08-476,93
EBES/F-H	-	-
EBES/F-DCM	684,8	582,77-786,82
EBES/F-ACOET	423,05	352,06-494,04
EBES/F-Hid	7167,74	6202,86-8132,62
EBES/C	566,87	532,31-601,44
EBES/C-H	563,67	507,75-619,59
EBES/C-DCM	605,75	522,55-688,94
EBES/C-AcOET	2325,4	1979,94-2670,86
EBES/C-Hid	573,37	529,5-617,23

### 3.3. Avaliação da atividade antioxidante

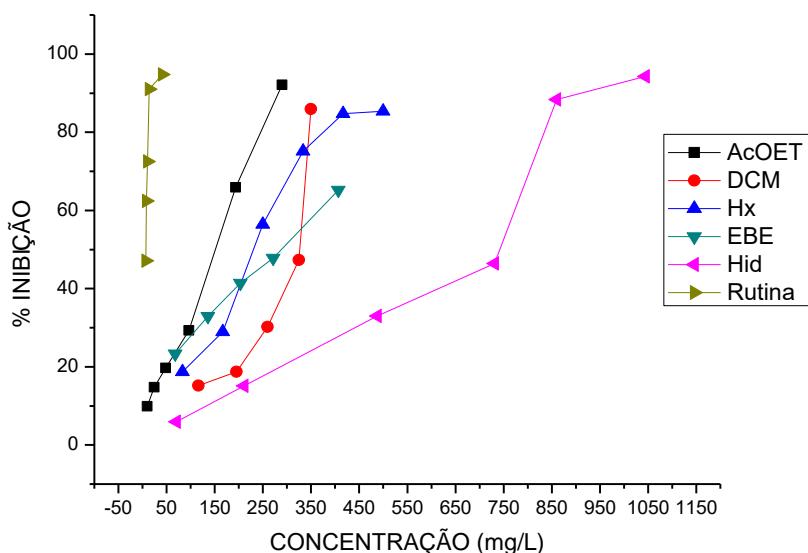
Diversos métodos são utilizados para avaliar a atividade antioxidante de produtos naturais, dentre eles o método de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) é um dos mais utilizados,<sup>38</sup> por ser considerado um método rápido e de fácil execução.<sup>39</sup>

Algumas espécies da família cucurbitaceae, como a *Momordica charantia* e a *Melothria maderaspatana* apresentaram potencial antioxidante satisfatório pelo método espectrométrico de descoloração do radical DPPH. A atividade antioxidante apresentada por essas espécies pode estar relacionada

com a presença de metabólitos como os flavonoides.<sup>39,40</sup>

Já para a espécie em estudo, a *M. fluminensis*, não há registros literários sobre a composição fitoquímica,<sup>41</sup> nem em relação ao seu potencial biológico e antioxidante, somente a aplicação do fruto para efeito purgativo.<sup>41</sup>

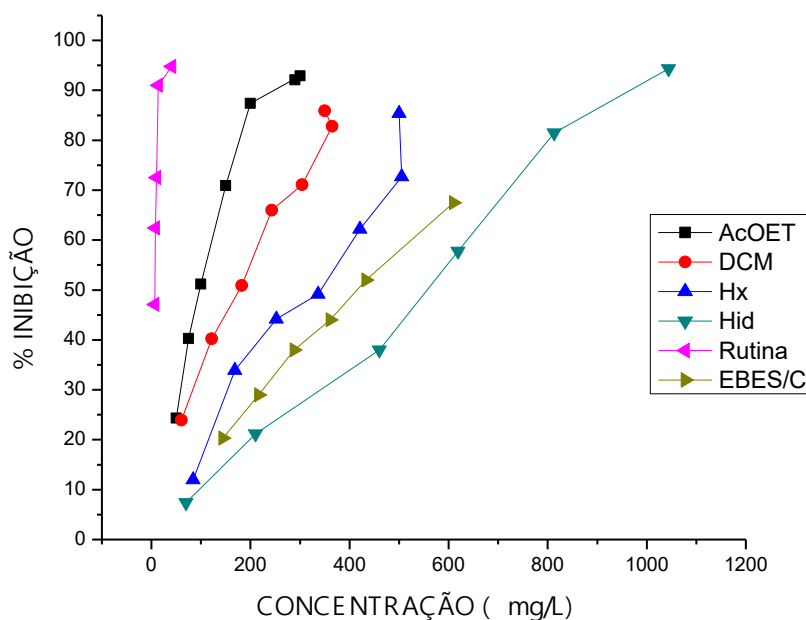
Em nossos estudos, para a avaliação do potencial antioxidante, com as folhas da *M. fluminensis*, as porcentagens de redução inicial do radical livre DPPH pela amostra do EBES/F e suas frações Hx, DCM, AcOET e Hid (Figura 3) evidenciaram que a fração AcOET se destacou com porcentagens de inibição superiores às demais frações.



**Figura 4.** Porcentagem de inibição do radical DPPH apresentada pelo EBES/F e frações

Já nos estudos com o caule da *M. fluminensis*, as porcentagens de redução inicial do radical livre DPPH pela amostra do EBES/C e suas frações Hx, DCM, AcOET e Hid (Figura 4) demonstraram consideráveis índices de inibição frente ao radical DPPH,

com o seu extrato bruto e frações orgânicas. Uma resposta semelhante ao que foi observado para o extrato e frações orgânicas da folha, com destaque para as frações AcOET tanto da folha quanto do caule.



**Figura 5.** Porcentagem de inibição do radical DPPH apresentada pelo EBES/C e frações

A tabela 4 mostra uma comparação dos valores de  $IC_{50}$  dos extratos brutos e das frações, da folha e caule da *M. fluminensis*, no qual pode-se observar os melhores índices de

inibição para as frações AcOET e DCM, com destaque para fração AcOET do caule com  $IC_{50}$  de 97,5 mg/L.

**Tabela 4.** IC<sub>50</sub> do EBES e frações das folhas e caule da *M. fluminensis*

Amostras	IC <sub>50</sub> (mg/L)	
	Folha	Caule
EBE	281,89	421,05
Hx	236,88	337
DCM	340,7	182,2
AcOET	148,5	97,5
Hid	775,2	596,6

IC<sub>50</sub> do padrão rutina, 6,7 mg/L

Estes resultados quando comparados com os estudos de atividade antioxidante da *Melothria maderaspatana*,<sup>42</sup> também com DPPH, mostra que a fração AcOET do EBE/C (IC<sub>50</sub> de 97,5 mg/L) da *M. fluminensis* apresentou melhor índice de inibição do radical DPPH do que a *M. maderaspatana*. No caso da *M. maderaspatana*, o extrato metanólico do caule apresentou IC<sub>50</sub> de 123,8 mg/L.<sup>42</sup>

Outra comparação que pode ser feita é com espécie da família cucurbitaceae. Quando comparados os resultados de IC<sub>50</sub> frente à inibição do DPPH com extratos e frações das folhas e caule da *M. fluminensis*, com os resultados de IC<sub>50</sub> apresentado pelo extrato hexânico das folhas da *Momordica charantia*, os valores de inibição para a *M. fluminensis* são mais satisfatórios (Tabela 4), uma vez que o extrato hexânico da *M. charantia* só evidenciou inibição com concentrações maiores (2000, 5000 e 10000 mg/L).<sup>40</sup>

A resposta para o potencial antioxidante apresentado pelas espécies em questão é a presença de compostos fenólicos em sua composição química. No caso da *M. maderaspatana*<sup>42</sup> e da *M. fluminensis*, a triagem fitoquímica evidenciou a presença de flavonoides, que são compostos fenólicos que possuem grande potencial antioxidante.<sup>42</sup>

A inibição do radical por flavonoides e outros derivados fenólicos está diretamente relacionada com o número e posição das

hidroxilas fenólicas,<sup>43,44</sup> bem como a sua origem natural ou sintética, quanto à inibição do radical DPPH.

Uma série de chalconas, que tem sido relatada a atividade antioxidante são as retrochalconas e algumas licochalconas<sup>45</sup>, que juntamente com as hidroxichalconas, metilchalconas e derivados de chalconas sintéticas, em testes de inibição do radical DPPH apresentaram resultados satisfatórios.<sup>43-46</sup>

Neste estudo a inibição do radical DPPH apresentada pelo extrato acetato de etila da folha e caule foi superior ao observado para uma série de chalconas sintetizadas a partir da 2-hidroxiacetofenona com inibição de 8,7-17,39 % do radical DPPH (600 mg/L).<sup>46</sup>

#### 4. Conclusão

A triagem fitoquímica das folhas e caule da *M. fluminensis* identificou a presença de importantes classes de metabólitos especiais: saponinas, taninos, alcaloides, esteroides e triterpenos glicosilados.

Os extratos e frações de *M. fluminensis*, em geral apresentaram baixa toxicidade nos ensaios frente *Artemia salina*. Com exceção dos extratos da folha (o EBDCM/F e EBACoET/F) que mostraram-se com maior toxicidade, com CL<sub>50</sub> de 213,82 e 377,36 mg/L, respectivamente. De modo semelhante a

fração acetato de etila do extrato etanólico da folha e caule da *M. fluminensis* foram as frações que inibiram o radical DPPH com melhor eficiência, com IC<sub>50</sub> de 148,5 e 97,5 mg/L, respectivamente.

Com este enfoque, o presente trabalho vem, inicialmente, contribuir para os estudos fitoquímico e biológico desta espécie. Apresentando assim dados que ainda não haviam sido relatados na literatura. As etapas para o isolamento e caracterização dos metabólitos presentes nas folhas e caule desta espécie, estão sendo realizadas, com o emprego de técnicas cromatográficas e espectrométricas. Com destaque para a identificação do provável composto presente na fração acetato de etila da folha, que apresentou potencial antioxidante.

## Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Universidade Estadual de Goiás pela concessão de bolsas de Mestrado para o primeiro e ao Programa de Bolsa de Incentivo à Pesquisa e Produção Científica para docentes (UEG-PROBIP/2016).

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Guerra, M. P.; Nodari, R. O. Em: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6a ed., Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; UFRGS: Porto Alegre; UFSC: Florianópolis, 2010, Cap. 1.
- <sup>2</sup> Barreiro, E. J.; Bolzani, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Química Nova* **2009**, *32*, 679. [[Link](#)]
- <sup>3</sup> Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Petrovick, P. Em: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6a ed, Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; UFRGS: Porto Alegre; UFSC: Florianópolis, 2010, Cap. 15.
- <sup>4</sup> Bruneton, J.; *Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales*, 2a ed, ACRIBA: Zaragoza, 2001.
- <sup>5</sup> Leite, J. P. V.; *Fitoterapia: Bases científicas e tecnológicas*, Atheneu: São Paulo, 2009.
- <sup>6</sup> Marques, M. C. S.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Brasil, 2011. [[Link](#)]
- <sup>7</sup> Valente, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. *Química Nova* **2004**, *27*, 944. [[CrossRef](#)]
- <sup>8</sup> Nakamura, S.; Murakami, T.; Nakamura, J.; Kobayashi, H.; Matsuda, H. Yoshikawa, M. Structures of new cucurbitane – type triterpenes and glycosides, karavilagenins and karavilosides, from the dried fruit of *Momordica charantia* L. in Sri Lanka. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **2006**, *54*, 1545. [[PubMed](#)]
- <sup>9</sup> Rogrigues, 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. *Caderno de Pesquisa* **2010**, *17*, 69. [[Link](#)]
- <sup>10</sup> Kinupp, V. F.; *Tese de doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2007. [[Link](#)]
- <sup>11</sup> Forzza, R. C.; *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*, Vol 2, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio De Janeiro: Rio de Janeiro, 2010. [[Link](#)]
- <sup>12</sup> Schaefer, H.; Renner, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). *Taxon* **2011**, *60*, 122. [[CrossRef](#)]
- <sup>13</sup> Lima, L. F. P.; *Tese de doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2010. [[Link](#)]
- <sup>14</sup> Lima, J. F.; Silva, M. P. L.; Teles, S.; Silva, F.; Martins, G. N. Avaliação de diferentes substratos na qualidade fisiológica de sementes de melão de caroá [*Sicana odorifera*

- (Vell.) Naudim]. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2010**, *12*, 163 [CrossRef]
- <sup>15</sup> Coutinho, D. F.; Florêncio, J. C.; Aguiar, L. R.; Rodrigues, K. A. F.; Vilanova, C. M.; Barbosa, E. R. C. Estudo farmacobotânico das folhas de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Visão Acadêmica* **2009**, *10*, 7. [Link]
- <sup>16</sup> Santos, R. I. Em: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6a ed., Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., UFRGS: Porto Alegre; UFSC: Florianópolis, 2010, Cap. 12.
- <sup>17</sup> Celoto, M. I. B.; Papa, M. F. S.; Sacramento, L. V. S.; Celoto, F. J. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2011**, *13*, 337. [CrossRef]
- <sup>18</sup> Tanaka, M.; Harinantenaina, L.; Takaoka, S.; Oda, M.; Mogami, O.; Uchida, M.; Asakawa, Y. *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **2006**, *54*, 1017. [CrossRef]
- <sup>19</sup> Wu, S.; Ng, L. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT* **2008**, *41*, 323. [CrossRef]
- <sup>20</sup> Akahisa, T.; Higo, N.; Tokuda, H.; Ukiya, M.; Akazawa, H.; Tochigi, Y.; Kimura, Y.; Suzuki, T.; Nishino, H. Cucurbitane-type triterpenoids from the fruits of *Momordica charantia* and their cancer chemopreventive effects. *Journal of Natural Products* **2007**, *70*, 1233. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>21</sup> Hsu, C.; Hsieh, C.; Kuo, Y.; Huang, C. Isolation and Identification of Cucurbitane-Type Triterpenoids with Partial Agonist/Antagonist Potential for Estrogen Receptors from *Momordica charantia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59*, 4553. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>22</sup> Zhang, J.; Huang, Y.; Kikuchi, T.; Tokuda, H.; Suzuki, N.; Inafuku, K.; Miura, M.; Motohashi, S.; Suzuki, T.; Akihisa, T. Cucurbitane Triterpenoids from the Leaves of *Momordica charantia*, and Their Cancer Chemopreventive Effects and Cytotoxicities. *Chemistry and Biodiversity* **2012**, *9*, 428. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>23</sup> Mondal, A.; Maity, T. K.; Pal, D.; Sannigrahi, S.; Singh, J. Isolation and in vivo hepatoprotective activity of *Melothria heterophylla* (Lour.) Cogn. against chemically induced liver injuries in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **2011**, *4*, 619. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>24</sup> Iman, R. A.; Parya, B. L.; Chithira, R.; Shalini, K.; Shalon, V.; Chamundeeswari, D.; Vasantha, J. *In vitro* antiplatelet activity-guided fractionation of aerial parts of *Melothria maderaspatana*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2006**, *68*, 668. [Link]
- <sup>25</sup> Veeramani, C.; Al-Numair, K.; Chandramohan, G.; Alsaif, M. A.; Pugalendi, K. V. Antihyperlipidemic effect of *Melothria maderaspatana* leaf extracts on DOCA-salt induced hypertensive rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **2012**, *5*, 434. [CrossRef]
- <sup>26</sup> Gomathy, G.; Vijav, T.; Sarumathy, K.; Gunasekaran, S.; Palani, S. Phytochemical screening and GC-MS analysis of *Mukia maderaspatana* (L.) leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2012**, *2*, 104. [CrossRef]
- <sup>27</sup> Petrus, A. J. A. *Mukia maderaspatana* (Linn.) M. Roemer: A potentially antidiabetic and vasoprotective functional leafy-vegetable. *Pharmacognosy Journal* **2012**, *4*, 1. [CrossRef]
- <sup>28</sup> Langoljam, R. D.; Kongbrailatpam, B. D.; Laitonjam, W. S. Sterols and flavonol glycosides from *Melothria purpusila*. *Indian Journal of Chemistry* **2005**, *44B*, 1291. [Link]
- <sup>29</sup> Machado, R. V.; Costa, M. B.; Ramos, L. M.; *X Seminário de Iniciação Científica, VII Jornada de Pesquisa*, Anápolis, Brasil, 2012. [Link]
- <sup>30</sup> Fonte, N. N.; Duarte, M. R.; Santos, C. A.; *Manual de aulas práticas: Farmacognosia I*, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2007. [Link]
- <sup>31</sup> Barbosa, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. *Revista Científica da UFPA* **2004**, *4*.

- <sup>32</sup> Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research* **1982**, *45*, 31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>33</sup> Molina-Salinas, G.M., Said-Fernandez, S.; A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). *Pharmacologyonline* **2006**, *3*, 633. [[CrossRef](#)]
- <sup>34</sup> Dolabela, M. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 1997.
- <sup>35</sup> Andrade, C. A.; Costa, C. K.; Bora, K.; Miguel, M. D.; Miguel, O. G.; Kerber, V. A. Determinação do Conteúdo Fenólico e Avaliação da Atividade Antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2007**, *17*, 231. [[CrossRef](#)]
- <sup>36</sup> Rates, S. M. K.; Bridi, R. Heterosídeos Cardioativos. Em: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6a ed., Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. UFRGS: Porto Alegre; UFSC: Florianópolis, 2010, Cap. 13.
- <sup>37</sup> Brasileiro, B. G.; Pizzolo, V. R.; Raslan, D. S.; Jamal, C. M.; Silveira, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2006**, *42*, 195. [[CrossRef](#)]
- <sup>38</sup> 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* L. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2010**, *12*, 311. [[CrossRef](#)]
- <sup>39</sup> Choudhary, S.; Tanwer, B. S.; Singh, T.; Vijayvergia, R. Total Phenolic, Total flavonoid content and the DPPH free Radical Scavenging Activity of *Melothria maderaspatana* (Linn.) Cogn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2013**, *5*, 296. [[Link](#)]
- <sup>40</sup> 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* L. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2010**, *12*, 311. [[CrossRef](#)]
- <sup>41</sup> Brandão, M. G. L.; Breitbach, U. B.; Niehues, M.; Lopes, N. P.; Faria, J. E. Q. Amazonian Brazilian medicinal plants described by C.F.P. von Martius in the 19th century. *Journal of Ethnopharmacology* **2013**, *147*, 180. [[CrossRef](#)]
- <sup>42</sup> Sowndhararajan, H.; Joseph, J. M.; Rajendrakumaran, D.; Manian, S. *In vitro* antioxidant characteristics of different parts of *Melothria maderaspatana* (L.) Congn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2010**, *2*, 117. [[Link](#)]
- <sup>43</sup> Nishida, J.; Kawabata, J. DPPH Radical Scavenging Reaction of Hydroxy-and Methoxychalcones. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* **2006**, *70*, 193. [[Link](#)]
- <sup>44</sup> Todorova, I. T.; Batovska, D. I.; Stamboliyska, B. A.; Parushev, S. Evaluation of the radical scavenging activity of a series of synthetic hydroxychalcones towards the DPPH radical. *Journal of the Serbian Chemical Society* **2011**, *76*, 491. [[Link](#)]
- <sup>45</sup> Zuanazzi, J. A. S.; Montanha, J. A.; Zucolotto, S. M. Em: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*, 1a ed. ARTMED: Porto Alegre, 2017, cap. 15
- <sup>46</sup> Singh, S.; Sharma, P. K.; Kumar, N.; Dudhe, R. Anti-oxidant activity of 2-hydroxyacetophenone Chalcone. *Journal of Advanced Scientific Research* **2011**, *2*, 37. [[Link](#)]