



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

NATÁLIA LIRA MESSIAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO NEBULIZADO
DE FOLHAS DA *Momordica charantia* L. FRENTE A CEPAS BACTERIANAS E
FÚNGICA**

**CAMPINA- GRANDE, PB
2019**

NATÁLIA LIRA MESSIAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO NEBULIZADO
DE FOLHAS DA *Momordica charantia* L. FRENTE A CEPAS BACTERIANAS E
FÚNGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso, na forma de artigo, apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: **Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino**

CAMPINA- GRANDE, PB
2019

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

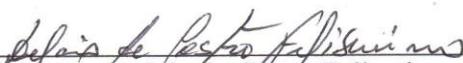
M585a Messias, Natália Lira.
Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato nebulizado de folhas da *Momordica charantia* L. frente a cepas bacterianas e fúngica [manuscrito] / Natalia Lira Messias. - 2019.
23 p.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino, Departamento de Biologia - CCBS."
1. Plantas medicinais. 2. Resistência microbiana. 3. Atividade antimicrobiana. I. Título
21. ed. CDD 615.321

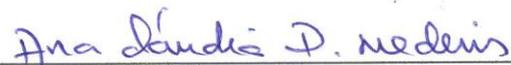
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO
NEBULIZADO DE FOLHAS DA *Momordica charantia* L. FRENTE A CEPAS
BACTERIANAS E FÚNGICAS**

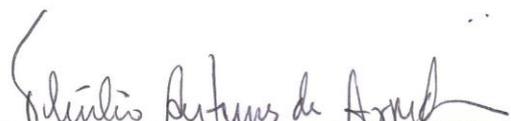
Trabalho de Conclusão de Curso, na forma de artigo, apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 28/05/2019.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino
Depto Biologia/Universidade Estadual da Paraíba


Prof.ª Dr.ª Ana Cláudia Dantas de Medeiros
Depto Farmácia/Universidade Estadual da Paraíba


Prof.º Dr. Thulio Antunes de Arruda
Depto Farmácia/Universidade Estadual da Paraíba

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, meu amor maior, por ter me direcionado sempre aos melhores caminhos, permitindo que eu chegasse até aqui. À Nossa Senhora, pela vossa intercessão, sendo meu amparo e proteção.

Aos meus familiares, por ter sido minha base sempre que precisei. À minha mãe, Magna Lira, por todos os ensinamentos e valores, e por cumprir tão bem a missão de ser mãe. Aos meus avós João Lira (*in memoriam*), e Maria Grangeiro (*in memoriam*), à eles minha eterna gratidão, me ensinaram o valor da minha educação e princípios, sendo estes responsáveis pela pessoa que me tornei, são meus anjos no céu. Às minhas irmãs, Marília e Priscilla, pelo companheirismo e por dividirem comigo o papel de ser filha. Aos meus sobrinhos João Bernardo e Victor Hugo, meus amores e presentes de Deus.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino, por ter sido sempre presente na minha vida acadêmica, responsável pela minha formação na pesquisa. Aos membros da banca Ana Cláudia Dantas de Medeiros e Thulio Antunes de Arruda, por contribuírem de forma significativa com este trabalho.

À professora Dra. Ana Cláudia pela oportunidade a mim concedida de fazer parte do LABDEM durante esses anos, além de contribuir diretamente ao meu crescimento como Iniciadora Científica.

Aos meus amigos e colegas da universidade, pela amizade construída nesses anos de graduação. Gratidão por sempre dividirem comigo os momentos tristes e felizes, amenizando o fardo e alimentando a conquista à nós compartilhada.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabela 1. | Valores da quantificação de Polifenóis Totais, Flavonoides e Taninos Condensados. | 16 |
| Tabela 2. | Dados sobre atividade microbiológica do extrato vegetal nebulizado de <i>Momordica charantia</i> frente às cepas bacterianas e fúngicas | 17 |
| Tabela 3. | Dados de TG referentes à decomposição do extrato vegetal nebulizado de <i>Momordica charantia</i> . | 17 |
| Tabela 4. | Dados de DTA referentes ao extrato vegetal nebulizado de <i>Momordica charantia</i> . | 19 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1. | Folha e fruto <i>Momordica charantia</i> | 10 |
| Figura 2. | Curva de Termogravimetria (TG) referente à decomposição do extrato de <i>Momordica charantia</i> | 18 |
| Figura 3. | Curva referente a análise térmica diferencial (DSC) do extrato de <i>Momordica charantia</i> | 18 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 7 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 8 |
| 2.1 | Resistência bacteriana | 8 |
| 2.2 | Plantas medicinais e Atividade antimicrobiana | 9 |
| 2.2.1 | <i>Momordica charantia</i> | 10 |
| 2.2.2 | <i>Screening</i> fitoquímico | 12 |
| 2.2.3 | Análise Térmica | 12 |
| 3 | METODOLOGIA | 12 |
| 3.1 | Local de estudos | 12 |
| 3.2 | Obtenção do material vegetal | 12 |
| 3.3 | Obtenção dos extratos vegetais | 13 |
| 3.4 | Análise antimicrobiana | 13 |
| 3.4.1 | <i>Screening</i> fitoquímico quantitativo | 13 |
| 3.4.1.1 | Determinação de polifenóis totais | 13 |
| 3.4.1.2 | Determinação de flavonóides totais | 13 |
| 3.4.1.3 | Determinação de taninos totais | 14 |
| 3.4.2 | Cepas microbianas | 14 |
| 3.4.3 | Atividade antimicrobiana | 14 |
| 3.4.3.1 | Teste de suscetibilidade microbiana | 15 |
| 3.4.3.2 | Determinação da concentração inibitória mínima | 15 |
| 3.5 | Análise Térmica | 16 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 4.1 | <i>Screening</i> Fitoquímico e Atividade antimicrobiana | 16 |
| 4.2 | Análise térmica | 17 |
| 5 | CONCLUSÃO | 19 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 20 |

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO NEBULIZADO DE FOLHAS DA *Momordica charantia* L. FRENTE A CEPAS BACTERIANAS E FÚNGICA

RESUMO

A resistência de micro-organismos às drogas tornou-se um problema de saúde pública, e esse quadro aponta para necessidades de novas alternativas terapêuticas. Portanto, os estudos científicos buscam estratégias que possam atuar como um produto inovador para combater a multirresistência. Constatou-se a possibilidade de utilização de espécies vegetais para síntese de novos medicamentos antimicrobianos ou ainda como agentes capazes de modificar a resistência microbiana. Dentre as espécies vegetais, a *Momordica charantia* L. (melão-de-são-caetano), pertencente à família das Cucurbitaceae, é indicada popularmente para as mais variadas patologias, como o tratamento de gastrite, úlceras e infecções microbianas. Objetivou-se avaliar o potencial antimicrobiano e o perfil de estabilidade térmica do extrato etanólico nebulizado de *M. charantia* L. Foram utilizadas as partes aéreas da planta para preparação do extrato nebulizado, por maceração a frio. O *screening* fitoquímico de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados foi baseado em reações colorimétricas através da espectrofotometria. A atividade antimicrobiana do extrato etanólico nebulizado foi testada através do método de microdiluição em caldo frente às cepas *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Determinou-se os parâmetros térmicos e a estabilidade do extrato nebulizado. Constatou-se a presença dos metabólitos secundários, com destaque à uma maior concentração dos flavonoides. O extrato apresentou um potencial antimicrobiano frente às cepas bacterianas *E. coli* e *E. faecalis*. Os perfis termo analíticos apresentaram eventos de decomposição térmica, os quais estão provavelmente relacionados à presença dos mesmos metabólitos secundários da planta. Os resultados indicam que *M. charantia* L. possui propriedade antimicrobiana, portanto sugere-se a continuação do estudo com o objetivo de elucidar os mecanismos de ação, sendo fonte para o desenvolvimento de futuros medicamentos fitoterápicos.

Palavras-chave: Alternativa terapêutica. Resistência microbiana. Perfil termo-analítico

1 INTRODUÇÃO

O uso de antimicrobianos está cada vez mais disseminado, ocasionando o desenvolvimento de defesa dos micro-organismos frente aos agentes antimicrobianos, dando origem e evolução ao fenômeno da resistência microbiana. Desta forma, tornou-se um problema de saúde pública, impondo sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas. Sendo esta razão para os investimentos em pesquisas que favoreçam a formulação de novos antimicrobianos (BRASILEIRO, 2006). Os estudos científicos buscam estratégias para combater a multirresistência, vindo nos países tropicais e em

desenvolvimento, como o Brasil, uma boa alternativa para a inovação com novos produtos com potencial antimicrobiano, oriundos de espécies vegetais (MARSH, 2010).

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

Inúmeras espécies vegetais são utilizadas com fins antimicrobianos, dentre elas, de acordo com Dantas, Felismino e Dantas (2007), as plantas pertencentes ao nordeste brasileiro possuem diversos usos na medicina popular local. Esses usos baseiam-se no conhecimento de raizeiros ou mesmo no que passa de geração em geração (AGRA, 2007; DANTAS, 2007). De acordo com Cowan (1999) e Loguercio et al. (2005), as propriedades medicinais devem-se principalmente às substâncias bioativas sintetizadas pelo metabolismo secundário da planta, como é o caso dos polifenóis, flavonóides, entre outros. Muitas destas espécies foram avaliadas não só por sua atividade antimicrobiana direta, mas também como agentes modificadores de resistência, uma vez que seus metabólitos secundários podem aumentar a atividade de antibióticos específicos, inverter a resistência natural de bactérias específicas dadas aos antibióticos, promover a eliminação de bactérias e inibir as funções de transporte da membrana plasmática em relação a alguns antibióticos (COUTINHO, 2012).

A *Momordica charantia* L., conhecida popularmente por melão-de-são-caetano, melãozinho, erva de lavadeira, entre outros, pertencente à família das Cucurbitaceae, são utilizados de forma mais comum para diabetes, cicatrizante, contra parasitas internos e ectoparasitas e no tratamento de cólicas (DANTAS; FELISMINO; DANTAS, 2007).

Na produção de fitoterápicos, os extratos secos têm grande importância para a indústria farmacêutica. Esses apresentam diversas vantagens, como maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, padronização facilitada, maior concentração de compostos ativos, maior facilidade de manipulação, garantindo maior eficácia terapêutica e segurança de utilização (PETROVICK, 2009; VOIGT, 2000).

Baseando-se nas inúmeras indicações populares de uso terapêutico da *M. charantia*, avaliou-se a atividade antimicrobiana do extrato etanólico nebulizado das folhas frente à cepas bacterianas e fúngicas, como também a estabilidade térmica do referido extrato, visando ampliar os conhecimentos farmacoterapêuticos da referida planta.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Resistência bacteriana

A introdução de fármacos eficientes no combate às infecções resultou em melhoras significantes no tratamento clínico das doenças infecciosas, havendo uma redução considerável das taxas de morbidade e mortalidade, provocando inúmeros progressos na medicina (COSTA, 2012).

Entretanto, segundo Siqueira (2004), o mau uso desses fármacos ocasiona o aparecimento de micro-organismos resistentes, os quais se disseminam, de modo que seus mecanismos de resistência operem de forma progressiva, com múltiplas mutações que devem acumular-se para gerar estado de resistência de alto nível, representando um grande risco para a população. Isso se dá pelo fato de reduzirem as opções de fármacos efetivos para o tratamento de infecções, aumentarem as complicações clínicas de pacientes hospitalizados e prolongar o tempo de estadia hospitalar, elevando os custos direcionados à recuperação dos pacientes doentes e com saúde pública.

A resistência bacteriana é um mecanismo biológico natural, e pode ser atribuída a diversos fatores, segundo Floréz (1997), Freitas (2003) e Melo (2012) a inativação de antimicrobianos através de enzimas que modificam ou hidrolisam estes agentes, como também por alteração dos receptores-alvo, em decorrência da aquisição de um alvo com reduzida afinidade ao antimicrobiano ou através de mutação de genes que codifiquem este alvo ou por um acesso limitado dos antimicrobianos.

Algumas iniciativas com a finalidade de solucionar esse problema têm sido tomadas, como o controle do uso dos antimicrobianos, a contenção da disseminação de cepas resistentes e a pesquisa de novas formas de combater estes microrganismos (MORAES, 2013; LOPATA, 2011). Um exemplo são as bactérias *MRSA* (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) que são amplamente estudadas quanto ao seu crescimento, virulência e seus mecanismos de resistência, entretanto muitos pontos ainda não foram totalmente esclarecidos. Entende-se que essas bactérias têm se expandido devido a sua grande capacidade de propagar suas características genéticas de resistência aos antibióticos (PURRELLO, 2014). De forma semelhante, as cepas de *E. coli* também têm demonstrado um perfil de resistência a antimicrobianos, onde existem ainda informações desconhecidas e preocupantes (MOURA, 2013).

A associação entre o uso de antimicrobianos e o desenvolvimento de resistência bacteriana é conhecida desde a introdução da penicilina, tendo sido, a partir disso, sistematicamente confirmada após o lançamento de diversos representantes de cada uma das diferentes classes farmacológicas (GOTTESMAN, 2009). O período necessário para a ocorrência desse fenômeno mostrou-se relativamente curto para muitos fármacos, enfatizando

uma maior capacidade de adaptação dos micro-organismos a ambientes hostis, artificialmente criados pelo homem (PATERSON, 2005).

2.2 Plantas medicinais e atividade antimicrobiana

As plantas medicinais podem ser definidas como aquelas produtoras de princípios ativos que possam alterar o funcionamento de órgãos e sistemas readaptando o equilíbrio orgânico ou homeostasia nos casos de enfermidades as quais podem servir como precursores de fármacos semi-sintéticos (WHO, 1998; FERRO, 2006).

Durante muito tempo as plantas medicinais foram a principal alternativa para o tratamento de doenças. Porém, com os avanços no meio da ciência, sobretudo no âmbito das ciências da saúde, novas formas de tratar e curar as doenças foram surgindo, como o uso de medicamentos sintéticos que gradativamente foram introduzidos no cotidiano das pessoas e substituindo o uso das plantas medicinais (BADKE, 2011).

De acordo com Diaz et al. (2010), inúmeras podem ser as funções terapêuticas apresentadas por determinados extratos vegetais, como por exemplo ação anti-inflamatória, antimicrobiana e hipoglicemiantes, destacando-se a atividade antimicrobiana contra uma série de agentes patogênicos. Muitas plantas tem apresentado uma interessante atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*, por isso há intensa busca na medicina tradicional direcionada a caracterização antimicrobiana das plantas (DIAZ, 2010).

Devido à necessidade de se buscar novas alternativas terapêuticas, os pesquisadores utilizam a medicina popular como fonte para o desenvolvimento de diversos estudos farmacológicos a fim de descobrir substâncias as quais simbolizam futuros medicamentos que possam combater patologias, como por exemplo, infecções bacterianas. O uso das plantas medicinais para fins antimicrobianos justifica-se pela presença de combinações complexas de metabólitos secundários que desempenham papel importante na adaptação das espécies em ambientes vulneráveis à presença de bactérias e fungos, aumentando assim a probabilidade de sobrevivência, devido seus mecanismos de defesa desenvolvidos, e, como exemplo de tal mecanismo, destaca-se a atividade antimicrobiana (FUMAGALI, 2008).

2.2.1 *Momordica charantia*

Conhecida popularmente por melão-de-são-caetano, melãozinho, erva de lavadeira, entre outros. Espécie pantropical, trepadeira, originária provavelmente do leste indiano e sul da China, crescendo em áreas tropicais na Ásia, África e Caribe (AHMED, 1998; YADAV, 2004). Adaptada as condições edafo-climáticas do Brasil, se propaga espontaneamente através

de sementes (DANTAS; FELISMINO; DANTAS, 2007), de crescimento rápido, comum em terrenos abandonados, pomares, hortas, cafezais, sobre cercas, alambrados (MATOS, 2000; DANTAS, FELISMINOS; DANTAS, 2007). Planta revolucionária pela sua versatilidade como alimento e em aplicações terapêuticas (ASSUBAIE, 2004), (Figura 1).

Apresenta cheiro desagradável; possui folhas palmatífidas flores amarelas ou esbranquiçadas, monóica, dificilmente hermafrodita, solitárias nas axilas das folhas (DECKER-WALTERS, 1997). Fruto carnosos, que se torna amarelo-avermelhado quando maduro (VINNING, 1995; DANTAS; FELISMINO; DANTAS, 2007). As folhas são alternas, membranáceas, com cinco a sete lobos ovado-oblongos, estreitos na base, denteadas, com a face superior levemente pubescente e a inferior mais densamente pilosa ao longo das nervuras. Suas gavinhas são simples, delicadas e longas. Apresenta flores axilares, solitárias, longo-pedunculadas, unissexuais, de coloração amarela (BARROSO, 1999).

Figura 1. Folhas e Fruto da *Momordica charantia* L.



Fonte: MESSIAS, N. L. (2019).

O fruto é cápsula loculicida, carnosos, de coloração amarelo-alaranjado quando maduro, apresentando sementes envolvidas por apêndice carnosos de cor vermelha, apresentando sementes envolvidas por falso arilo vermelho de origem placentar (BARROSO, 1999).

Os frutos, folhas e raízes são utilizados de forma mais comum para diabetes, cicatrizante, contra parasitas internos e ectoparasitas e no tratamento de cólicas. Os estudos fitoquímicos de componentes botânicos do melão-de-são-caetano têm demonstrado o conteúdo de compostos biologicamente ativos como glicosídeos cucurbitins e cucurbitane (CHEN, 2008).

Jiang et al. (2000) relataram em um de seus estudos que a *Momordica charantia* apresentou atividade antibacteriana. A família *Cucurbitaceae* apresenta grande número de espécies de uso medicinal e outras consideradas tóxicas. *Charantia*, é uma das espécies integrantes dessa

família que possui grande interesse popular e científico pelas propriedades curativas que demonstra (XIONG et al., 2009), é uma espécie vegetal silvestre frequentemente localizada em espaço urbano e rural, sendo conhecida e utilizada por seus atributos medicinais (RIBEIRO, 2004).

O uso empírico dessa espécie como erva medicinal demonstra que é usada topicamente para o tratamento de feridas, e internamente, assim como externamente para a eliminação de parasitas. É usado também como o emenagogo, antiviral para o sarampo e a hepatite. Na medicina popular turca, os frutos maduros são usados externamente para cicatrização rápida das feridas e internamente para o tratamento de úlceras pépticas (GROVER, 2004).

Povoados locais e a população indígena da Amazônia cultivam esta planta medicinal para fins terapêuticos e alimentícios. No uso medicinal é feito o chá da folha e utilizado para o controle de diabetes, expelir gases intestinais, promover a menstruação, também utilizado com antiviral para o sarampo, hepatite, e para febre. Usado topicamente em lesões, feridas e infecções, e no uso interno no tratamento de vermes e parasitas (BASHC, 2003)

2.2.2 *Screening* fitoquímico

As propriedades biológicas associadas às espécies vegetais geralmente são resultados da presença de metabólitos secundários produzidos, estes representam uma relação química entre as plantas e o ambiente, portanto, sua síntese é constantemente interrompida por condições ambientais (LOPES, 2007).

A triagem fitoquímica é uma etapa importante para bioprospecção das espécies vegetais de interesse farmacológico e/ou toxicológico, dessa forma a composição química de um extrato pode ser conhecida através de testes químicos qualitativos rápidos e de baixo custo, determinando assim as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse (MATTOS, 1997).

Os metabólitos secundários são quimicamente e taxonomicamente compostos por diversos constituintes com funções desconhecidas. Segundo Cowan (1999), um grande número de fitoquímicos pertencentes a várias classes químicas têm apresentado efeitos inibitórios frente a diversos microrganismos *in vitro*.

Para Bobbio, (2003) a degradação de alguns compostos pode ocorrer durante a extração do vegetal, processamento e estocagem do alimento, sendo influenciada por fatores extrínsecos e intrínsecos. Isso explica, certamente, a redução das concentrações dos mesmos, após a obtenção do extrato etanólico nebulizado.

Os taninos compõem o grupo dos fenólicos e apresentam atividade antimicrobiana comprovada devido à sua capacidade de precipitar proteínas (MONTEIRO, 2005), sendo

assim, a presença de tal metabólito secundário corrobora à atividade animicrobiana do extrato vegetal das folhas de melão - de- são -caetano.

2.2.3 Análise térmica

Segundo Souza (2011), a análise térmica serve como uma ferramenta altamente aplicada para avaliar as propriedades físicas e químicas dos fármacos, a qual foi definida por Mendonça et al. (2013) como um conjunto de técnicas que permite avaliar tais propriedades dos fármacos quando o mesmo é submetido à uma programação controlada de temperatura. A termogravimetria e a análise térmica diferencial são utilizadas em estudos farmacêuticos a fim de caracterizar fármacos, determinar o grau de pureza, identificar polimorfismos, avaliar a estabilidade e a decomposição térmica dos fármacos.

Segundo Dweck e Sampaio (2004), Garcia et al. (2004), Santos et al. (2004) e Garcia et al. (2007), os métodos termo analíticos apresentam vantagens pois são rápidos, precisos e sensíveis, e necessitam de uma pequena quantidade de amostra.

A termogravimetria é uma técnica que se acompanha a perda e/ou ganho de massa da amostra em função do tempo ou temperatura. Enquanto que a análise térmica diferencial significa um arranjo metálico, no qual a derivada de variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo (GIOLITO, 1980).

3 METODOLOGIA

3.1 Local de estudos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (LABDEM), no Centro de Ciências e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba.

3.2 Obtenção do material vegetal

As folhas de *M. charantia* foram coletadas, a partir de plantas adultas selecionadas, respeitando-se suas características fitossanitárias, no município de Lagoa Seca, na região Semi-Árida do estado da Paraíba, no sítio Manguape, a área foi selecionada após estudo prévio. A exsicata foi depositada no Herbário Manoel Arruda Câmara (ACAM), Universidade Estadual da Paraíba, sob nº 1935. A planta foi registrada no SisGen, sob cadastro A59405E.

3.3 Obtenção do extrato vegetal

As folhas foram embaladas em sacos de papel tipo Kraft, sendo, posteriormente, submetidas ao processo de secagem, em estufa de ventilação forçada, à 40 ± 1 °C, até

estabilização da umidade. Após a secagem, o material seco foi triturado em um moinho do tipo Willey®, no qual foi obtido um pó fino, o qual, posteriormente foi peneirado em tamis de numeração 10 mesh. A partir do material moído e peneirado (pó) foi obtido o extrato etanólico a 96%, através do método por maceração a frio (PRISTA, 1990). Posteriormente, o extrato etanólico foi submetido ao processo de secagem no aparelho *Spray dring*.

3.4 **Análise antimicrobiana**

3.4.1 *Screening* fitoquímico quantitativo

3.4.1.1 **Determinação de polifenóis totais**

Para a determinação do teor de polifenóis totais, foi utilizado o método de Chandra e Meja (2004), seguido de algumas modificações. Utilizando uma microplaca de 96 poços, adicionou-se 50 µl da solução do extrato e 50 µL do reagente Folin- Ciocalteu 1 N permanecendo em repouso por 1 minuto. Em seguida, adicionou-se 100 µl de uma solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 20%. A solução foi incubada por 10 minutos, e posteriormente as absorbâncias foram medidas através de um leitor de placas (ELISA), no comprimento de onda de 757 nm.

A curva de calibração foi obtida a partir da solução de ácido gálico na concentração de 10 mg do padrão em 100 ml de água destilada. As soluções de compensação (brancos) foram obtidas substituindo-se o volume de amostra por água, mantendo-se as mesmas quantidades de reagente de Folin-Ciocalteu e solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3). Os resultados foram expressos por miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato.

3.4.1.2 **Determinação de flavonóides totais**

O conteúdo de flavonoides foi determinado conforme o método colorimétrico apresentado por Meda et al (2005). A amostra foi diluída numa proporção de 1mg. mL⁻¹ em metanol. Foi adicionado 100 µl de uma solução de metanol e AlCl_3 a 2% (p/v) em uma microplaca de 96 poços. A composição permaneceu em repouso por 10 minutos, em seguida foi realizada a leitura da absorbância utilizando comprimento de onda a 415 nm. O branco do teste foi obtido por 100 µL de metanol juntamente com 100 µl AlCl_3 a 2% de metanol.

A análise foi realizada em triplicata, e para a determinação do cálculo do doseamento foi utilizada a curva padrão de quercetina utilizada numa proporção de 10 mg de quercetina em 100 ml de metanol. O teor de flavonoides foi expresso em miligramas equivalentes de quercetina.

3.4.1.3 Determinação de taninos totais

O teor de taninos foi determinado pelo método de Makkar e Becker (1993), seguido por modificações. Utilizando-se uma microplaca de 96 poços adicionou-se 50 µl da solução de extrato e 50 µL de metanol, onde foi realizada a diluição seriada, em seguida foi adicionado 150 µL do reagente vanilina. Posteriormente, adicionou-se 75 µL de ácido clorídrico (puro 37%) e, deixado em repouso por 20 minutos, a mesma foi incubada por 10 minutos e as absorvâncias foram medidas em um comprimento de onda a 500 nm.

A análise foi realizada em triplicata, para a determinação do cálculo do doseamento foi utilizada a curva de catequina e como reagente uma solução de vanilina a 4% em metanol e ácido clorídrico. O teor de taninos foi expresso em miligramas equivalentes de catequina.

3.4.2 Cepas microbianas

Na primeira fase, foram obtidos os isolados clínicos de *Escherichia Coli*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* com o objetivo de conhecer o perfil de resistência, os mesmos foram analisados através de antibiograma (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI, 2005). As cepas ATCC utilizadas foram obtidas da Fundação Oswaldo Cruz. Com base nos resultados os antibióticos selecionados para serem utilizados como padrão foram Gentamicina e Nistatina, respectivamente, pelos quais os micro-organismos mostraram sensibilidade.

3.4.3 Atividade antimicrobiana

A suspensão de cada micro-organismo foi obtida a partir da transferência de culturas crescidas sobre o meio de cultura Agar Nutrient, com alça estéril, para um tubo de ensaio contendo solução salina 0,9 % estéril. O inóculo microbiano foi padronizado de acordo com CLSI (2005), em espectrofotômetro com absorvância entre 0,08 a 0,1 no comprimento de onda de 625 nm para leitura do inóculo bacteriano e 530 nm para o inóculo fúngico, de modo a obter-se uma preparação microbiana com concentração final próxima a 10^6 UFC.m.L⁻¹.

3.4.3.1 Teste de suscetibilidade microbiana

A suscetibilidade microbiana ao extrato nebulizado foi determinada através do método de microdiluição em caldo utilizando microplacas estéreis como descrito pelo CLSI (2003), com adaptações. Para os micro-organismos *E. coli* e *E. faecalis*. foi utilizado caldo Mueller Hinton, e para *C. albicans* o caldo Saboraud dextrose.

Na segunda fase, a propensão microbiana foi determinada pelo método de microdiluição em caldo utilizando microplacas estéreis como descrito por CLSI (2005), com adaptações. A

técnica de diluição em caldo é relacionada entre a proporção de crescimento dos micro-organismos testados no meio líquido e a concentração de substância ensaiada, neste caso o extrato. Foram realizadas diluições seriadas do extrato, logo após a diluição, as placas foram incubadas a 37 °C/24h, sendo os ensaios realizados em triplicata.

O crescimento microbiano foi indicado através da utilização de resazurina, a qual é um corante azul não-fluorescente e não-tóxico que se torna rosa e fluorescente quando reduzido a resorufina por oxidoredutases dentro das células microbianas viáveis (PALOMINO et al., 2002; SARKER et al., 2007; ANG et al., 2010). Foram adicionados 20 µL da solução aquosa de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01% em cada poço, e incubação a temperatura ambiente/2h.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada com leitura visual observando-se a mudança de coloração da resazurina, a mudança da coloração de azul para rosa, caracterizada pela redução do corante, indicou a presença de células microbianas viáveis. Dessa forma, foi possível determinar a CIM sendo a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.4.3.2 Determinação da concentração inibitória mínima

Foi empregada a técnica de micro diluição em caldo utilizando microplacas de 96 poços, nas quais foram depositados 100 µL do meio de cultura, 100 µL das substâncias testes na concentração de 4 mg.mL⁻¹, e em seguida, serão realizadas diluições sucessivas, de modo que 100 µL do conteúdo do primeiro poço foram homogeneizados e transferidos para o seguinte, obtendo-se concentrações decrescentes do extrato. Posteriormente, foram adicionados 20 µL das suspensões microbianas fúngica e bacteriana, sendo elas de crescimento recente (24 horas). As placas foram incubadas a 37 °C/24 horas. A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração do extrato capaz de impedir o aparecimento de micro-organismos. Foram utilizados como controle a Nistatina a 2% para *C. albicans* e, Gentamicina para *Escherichia coli* e *E. faecalis*.

3.5 Análise térmica

As curvas de análise térmica diferencial foram obtidas num calorímetro, Shimatzu, no qual foi utilizado um fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, como gás de purga da amostra. A programação utilizada foi de 25 até 500 °C, com razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. A massa utilizada foi de 2,0 ± 0,2 mg, a qual foi acondicionada num porta amostra de alumínio.

As curvas termogravimétricas foram obtidas, utilizando-se uma termobalança, marca Shimatzu, com razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. até temperatura de $900\text{ }^{\circ}\text{C}$. Numa atmosfera de ar com fluxo constante de $10\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A massa utilizada foi de $8,0\pm 2,0\text{ mg}$, a qual foi acondicionada num porta amostra de alumina. Os dados foram analisados usando o *software* da Tazys.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 *Screening* fitoquímico e atividade antimicrobiana

Ao analisar a prospecção fitoquímica, Tabela 1, verifica-se a presença dos três metabólitos secundários, destacando-se os flavonoides na concentração de 0,315%. Diversas atividades biológicas são relacionadas a esses compostos, e a atividade antimicrobiana é exemplo disso. Sartori, (2003) reforça que alguns constituintes químicos presentes nos extratos de plantas medicinais podem responder majoritariamente pela atividade biológica. Os flavonoides em maior concentração podem ser os maiores responsáveis pelo potencial antimicrobiano da *Momordica charantia*, (OKEKE, 2001).

Tabela 1. Valores da quantificação de Polifenóis totais, Flavonóides e Taninos Condensados. Campina Grande, PB, 2019.

| Polifenóis totais (equivalentes de ácido gálico/%) | Flavonóides (equivalentes de quercetina/%) | Taninos Condensados (equivalentes de catequina/%) |
|--|--|---|
| 0,201 | 0,315 | 0,290 |

Na tabela 2, observa-se os resultados da atividade antimicrobiana de *Momordica charantia*. Constata-se resultados positivos na ação antimicrobiana nas concentrações de $0,250\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ frente à cepa bacteriana *E. coli*, e $1,0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ frente à cepa *E. faecalis*, esses valores corroboram aos autores que já defendiam o potencial farmacológico ativo das plantas medicinais (BASCH et al., 2003).

Verifica-se que a menor concentração inibitória mínima apresentada foi $0,250\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. O antibiótico utilizado como controle positivo, foi testado anteriormente em antibiograma e apresentou sensibilidade ao micro-organismo em teste, apresentando ação antibiótica em todas as concentrações diluídas na placa. Portanto, a avaliação antimicrobiana foi eficaz para identificar a concentração inibitória mínima da referida espécie vegetal frente às cepas *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* (Tabela 2). As atividades evidenciadas pelo extrato

na concentração de 4 mg.mL^{-1} é uma colaboração para a defesa do potencial farmacológico ativo das plantas medicinais.

Tabela 2. Atividade microbiológica do extrato nebulizado de *Momordica charantia* frente às cepas bacterianas e fúngicas. Campina Grande, PB, 2019.

| Micro-organismo | CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) |
|------------------------------|-------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 250,00 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1000,00 |
| <i>Candida albicans</i> | S/I |

1. S/I: sem inibição

4.2 Análise Térmica

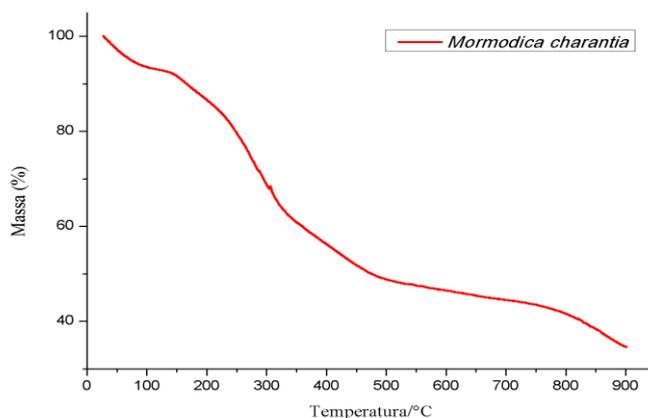
Ao serem analisados os resultados da Termogravimetria, Tabela 3, referentes à decomposição do extrato de *Momordica charantia*, constata-se que o extrato etanólico apresentou uma perda de massa, em três eventos, variando entre 6,773% a 20,508 %, ao se elevar a temperatura inicial de $35,64 \text{ }^\circ\text{C}$ a uma temperatura final de $340,14 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente, a perda de massa está provavelmente relacionada à perda de constituintes da amostra, como o etanol.

Tabela 3. Dados de termogravimetria referentes a decomposição do extrato vegetal de *Momordica charantia*. Campina Grande, PB, 2019.

| Amostra | Temperatura inicial ($^\circ\text{C}$) | Temperatura final ($^\circ\text{C}$) | Perda de massa (%) |
|-----------------|--|--|--------------------|
| Primeiro Evento | 35,64 | 65,13 | 6,773 |
| Segundo Evento | 231,61 | 285,67 | 20,494 |
| Terceiro Evento | 306,49 | 340,14 | 20,508 |

Ao observar a figura 1, verifica-se que a perda de massa do extrato é diretamente proporcional ao aumento de temperatura, o que se confirma pela representação de uma curva decrescente, e que durante 10 minutos de aquecimento, a uma temperatura de 900°C foi suficiente para uma decomposição do extrato, havendo um resíduo mineral de 20,508%. Segundo Silva (2005), ao estudar a espécie *Chenopodium ambrosoides* (erva de santa maria), afirmou que as transferências internas de massa são influenciadas por dois fenômenos particularmente importantes nos produtos biológicos: a migração dos solutos e a deformação do produto, demonstrando tais transferências em curvas também decrescentes.

Figura 1 - Curva de termogravimetria referente à decomposição do extrato de *Momordica charantia*. Campina Grande, PB, 2019.



As curvas de calorimetria exploratória diferencial para o extrato nebulizado de *M. Charantia* mostraram que os processos térmicos ocorreram entre 78,14 e 350,31 °C. A curva de análise térmica diferencial, figura 2 e Tabela 4, expressa os eventos decorrentes dos processos de transições de fases do extrato em função da temperatura.

Figura 2 - Curva referente a análise térmica diferencial do extrato de *Momordica charantia*. Campina Grande, PB, 2019.

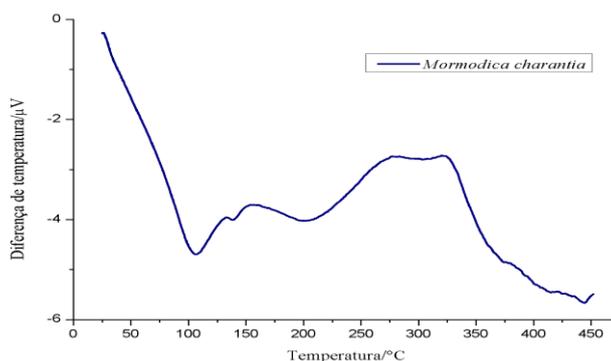


Tabela 4 - Dados de calorimetria exploratória diferencial referentes ao extrato nebulizado de *Momordica charantia*. Campina Grande, PB, 2019.

| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Temperatura Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|-----------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|------------------|
| Primeiro Evento | 78,14 | 129,46 | 106,61 | -221,00 |
| Segundo Evento | 133,27 | 147,68 | 137,90 | -5,16 |
| Terceiro Evento | 226,17 | 350,31 | 320,13 | 739,64 |

A decomposição térmica ocorreu e expressou-se através da formação de vários picos endotérmicos e exotérmicos. O primeiro pico endotérmico ocorreu em 106,61 °C (ΔH -221 J.g⁻¹), sendo possivelmente decorrente da perda de constituintes voláteis presentes na amostra, tendo em vista que o extrato foi obtido a partir de uma solução etanólica (96%).

O processo de decomposição do extrato é bem visualizado nos eventos seguintes. No intervalo entre 133,27°C e 147,68°C ocorre um segundo pico 137,90°C endotérmico (ΔH - 5,16 J/g), o qual está relacionado com o início da decomposição térmica representado na curva TG. O terceiro evento ocorreu entre 226,17°C e 350,31°C, em um pico exotérmico (ΔH 739,64 J/g). Os eventos de decomposição térmica estão provavelmente relacionados à presença de metabólitos secundários, presentes no extrato vegetal. Resultados confirmados no estudo realizado por Barbosa (2016) sobre a planta *Schinopsis brasiliensis*, pertencente à família botânica Anacardiaceae, também sugere a presença de metabólitos secundários para a explicação dos resultados obtidos.

5 CONCLUSÃO

O extrato etanólico da folha da *Momordica charantia* L. apresentou um perfil de inibição frente às cepas bacterianas estudadas, podendo estar relacionado à presença dos metabólitos secundários presentes na planta, exibindo alto teor de flavonoides e boa estabilidade térmica.

Sugere-se a continuidade do estudo com a espécie de *Momordica charantia*, com o objetivo de aprimorar os conhecimentos sobre a planta com vista à uma alternativa para fins terapêuticos.

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACT NEBULIZED OF LEAVES OF *Momordica charantia* L. FRONT TO BACTERIAL AND FUNGIC STRAINS

ABSTRACT

Microbial resistance to drugs has become a public health problem. The current situation requires new therapeutic alternatives. Therefore, scientific studies are seeking new strategies that can act as an innovative product to combat multiresistance. It is possible to use plant species for the development of new antimicrobials capable of modifying microbial resistance. Among the plant species, *Momordica charantia* L. (melon-de-são-caetano), belonging to the family of Cucurbitaceae, is popularly indicated for the most

varied pathologies, such as the treatment of gastritis, ulcers and microbial infections. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial potential and the thermal stability profile of the nebulized ethanolic extract of *M. charantia* L. The aerial parts of the plant were used to prepare the nebulized extract by cold maceration. The phytochemical screening of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins was based on colorimetric reactions through spectrophotometry. The antimicrobial activity of the nebulized ethanolic extract was tested by the broth microdilution method against strains *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. The thermal parameters and the stability of the nebulized extract were determined. The presence of secondary metabolites was observed, with a higher concentration of flavonoids. The extract presented an antimicrobial potential against bacterial strains *E. coli* and *E. faecalis*. The thermally analytical profiles presented thermal decomposition events, which are probably related to the presence of the same plant secondary metabolites. The results indicate that *M. charantia* L. has antimicrobial properties, therefore it is suggested to continue the study in order to elucidate the mechanisms of action, being a source for the development of future herbal medicines.

Key – words : Therapeutic alternative. Microbial resistance. Thermo-analytical profile.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. F. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- AHMED, I. Effects of *Momordica charantia* fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 40, p. 145–151, 1998.
- ANG, C. F. Evaluation of the resazurin microtiter assay for drug susceptibility testing of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Philippine Journal of Microbiology and Infectious Diseases**. v. 39, n. 1, p. 136-142, 2010.
- ASSUBAIE, N. F. E EL-GARAWANY, M. M. 2004. Evaluation of some important chemical constituents of *Momordica charantia* cultivated in hofuf, **Saudi Arabia Journal of Biological Sciences**, 4, 628-630.
- BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L. B. Plantas Mediciniais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Revista de Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.
- BARROSO, G.M., M.P. MORIM, A.L. PEIXOTO & C.L.F. ICHASO. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV. 1999, p. 441.
- BASCH E., GABARDI S., ULBRICHT C. Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety. **American Journal of Health- System Pharmacy**. v. 60, p. 356-359, 2003.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química dos alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela. 2003.
- BRASILEIRO, B. G. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 2, p. 195-202, 2006.

CHEN, J. Trinorcucurbitane and cucurbitane triterpenoids from the roots of *Momordica charantia*. **Phytochemistry**, v.69, p.1043-1048, 2008.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Sixth Edition. USA. 2003.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana**. 15º Suplemento Informativo, v. 25 n. 1, 2005.

COSTA, A.L.P. **Resistência bacteriana aos antibióticos**: uma perspectiva do fenômeno biológico, suas consequências e estratégias de contenção. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, UNIFAP, Macapá, 2016.

COUTINHO, H. D. M. Fruits to potentiate the antibiotic activity: the effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. against MRSA. **Acta Alimentaria**, v. 41, n. 1, p. 67–72, 2012.

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

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

DE SOUZA, K. C. B.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L.; GONZALEZ ORTEGA G. The adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the technological characteristics of Spraydried powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 26, p. 331-336, 2000.

DIAZ, M. A. N. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 724-728, 2010.

FERRO, D. **Fitorerapia**: conceitos clínicos. São Paulo: Atheneu. 2006. p. 502.

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

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

GARCIA, C. C. Thermal stability studies of some Cerrado plants oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, p.645-648, 2007.

GOTTESMAN, B. S. Impact of quinolone restriction on resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from urine by culture in a community setting. **Clinical Infection Disease**, Chicago, v. 49, p. 869-875, 2009.

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 123–132, 2004.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmicas**, v. 121, n. 26, p. 17-24, 1980.

J DWECK, P FERREIRA DA SILVA, R. SILVA A., P BUCHLER , FK Cartledge **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** 71 (3), 821-827, 2004.

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

LOPATA, V. J. Triagem fitoquímica e atividade antimicrobiana da *Stachytar phetacayennensis* – Gervão (L.C. Ich) Vahl. **Revista Eletrônica de Biociências, Biotecnologia e Saúde**, n. 2, p. 67- 78, 2011.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vanilin – HCL method for condensed tannis: effect of organic solvents used for extraction of tannis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n.4, p. 613-621, 1993.

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

MATOS, F.J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2000, p.141.

MEDA, A. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in *Burkina fasan* honey, as well as their radical scavenging activity. **Journal Food Chemistry**. v. 91, p. 571-577, 2005.

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

MENDONÇA, C. M. S. Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1-9, 2013.

MORAES, G. M. Infecção ou colonização por micro-organismos resistentes: identificação de preditores. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.26, n.2, p.185-191, 2013.

MONTEIRO JM., LINS NETO EMF et al. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpáticas da caatinga. **Revista árvore**. v. 29, p. 999-1005, 2005.

OKEKE, M.I. Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity. **Journal Ethnopharmacology**, v.78, p.119–127, 2001.

ONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, Padrões e Apresentação dos resultados em Análise Térmica. **Cerâmicas**, 26 (121). Janeiro, 1980

PALOMINO, J. C. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, p. 2720–2722, 2002.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended-spectrum b-lactamases: a clinical update. **Clinical Microbiology Review**, Washington, v. 18, p. 657-686, 2005.

PRISTA, L. N. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, vol. 1, 1990.

PURRELO, S. M. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) update: New insights into bacterial adaptation and therapeutic targets. **Journal of Global of Antimicrobial Resistance**, v. 70, n. 9, p. 1- 9, 2014.

SARTORI, M.R.K. Antifungal Activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (ASTERACEAE), **Pharmazie**, v. 58, n. 8, p. 567-9, 2003.

SILVA, F.; PARK, K.J., MAGALHÃES, P.M; MARTINS, G.N. Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de plantas medicinais submetidas a processos de secagem e armazenamento. **SciELO**, p.37, 2005.

TOLEDO, C. E. M. Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaça as extractor liquid. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 420-425, 2011.

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

VOIGT, R. Uberarb. Auflage Stuttgart: Wissenschaftliche, **Pharmazeutisch Technology**, 2000.

XIONG, S. D. Ribosome inactivating proteins isolated from dietary bitter melon induce apoptosis and inhibit histone deacetylase-1 selectively in premalignant and malignant prostate cancer cells. **International Journal of Cancer**, v. 125, n. 4, p. 774-782, 2009.

YADAV, R. K.; YADAV, H. L.; SAHANI, R.; SAXENA, M.; KIRTI, R. Investigation of antifungal activity in higher plants for in vitro control of *Cercosporidium personatum*, the casual organism of tikka disease of ground nut. **Neo Botanica**, v. 10, n. 1-2, p. 21-30, 2002.