



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS CASCAVEL**

CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MARIANA BARIZON SARAIVA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE
melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) E AVALIAÇÃO DE SUA
ATIVIDADE INIBIDORA CONTRA *Sporothrix* spp.**

CASCAVEL – PR

2021

MARIANA BARIZON SARAIVA

ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE INIBIDORA CONTRA *Sporothrix spp.*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Prospecção de Microrganismos e Substâncias Bioativas com Aplicação em Saúde.

Orientador: Prof^a Dr^a Luciana Oliveira de Fariña.

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Fabiana André Falconi

CASCADEL – PR

2021

MARIANA BARIZON SARAIVA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE
melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) E AVALIAÇÃO DE SUA
ATIVIDADE INIBIDORA CONTRA *Sporothrix* spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Prospecção de Microrganismos e Substâncias Bioativas com Aplicação em Saúde.

Orientador: Prof^a Dr^a Luciana Oliveira de Fariña.

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Fabiana André Falconi.

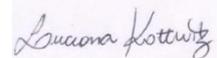
BANCA EXAMINADORA



Prof^a Dr^a Luciana Oliveira de Fariña –
UNIOESTE (Orientadora)



Prof^a Dr^a Silvia Cristina Osaki – UFPR
Campus Palotina



Prof^a Dr^a Luciana Bill Mikito Kottwitz –
UNIOESTE



Prof^a Dr^a Maria Tereza Rojo de Almeida –
UNIOESTE

BIOGRAFIA

Mariana Barizon Saraiva, nascida em Cascavel, Paraná, no dia 05 de março de 1993, possui graduação em Medicina Veterinária, pela Faculdade Assis Gurgacz (2017). Mestranda do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em Cascavel – PR entre 2019-2021.

ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE INIBIDORA CONTRA *Sporothrix* spp.

RESUMO

O melão amargo ou melão-de-são-caetano (MSC) (*Momordica charantia* L.), da família Curcubitaceae, é uma planta medicinal com extenso uso popular, abrangendo distintas finalidades devido ao seu amplo repertório de bioativos. Uma doença fúngica que vem recebendo atenção em diversas regiões do Brasil é a esporotricose felina. Uma das razões no interesse do controle e tratamento de tal enfermidade é o seu caráter antropozoonótico e o crescente número de casos em seres humanos, em especial no Brasil. O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, o possível efeito antifúngico do extrato hidroalcoólico das folhas *Momordica charantia* L. (O melão amargo ou melão-de-são-caetano (MSC) (*Momordica charantia* L.), da família Curcubitaceae, é uma planta medicinal com extenso uso popular, abrangendo distintas finalidades devido ao seu amplo repertório de bioativos) frente ao patógeno *Sporothrix* spp., juntamente ao estudo do perfil fitoquímico do extrato. Para isso, foi produzido um extrato hidroalcoólico das folhas da *M. charantia* o qual, posteriormente, foi liofilizado e cuja capacidade antifúngica foi avaliada a partir de microdiluição seriada em placa de 96 poços, sendo avaliadas as seguintes concentrações: 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,78125; 0,3906; 0,195; 0,0976 e 0,0488 mg/mL do extrato. Os efeitos no crescimento fúngico dessas diferentes concentrações foram avaliados, usando o inóculo do fungo ajustado para 1,0 da escala de McFarland, nos tempos 0, 24, 36 e 72h. A avaliação indicou que não houve atividade inibidora do extrato hidroalcoólico das folhas de MSC nas diluições testadas sobre o fungo. Paralelamente foi realizado o estudo fitoquímico do extrato por meio da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD), constando a existência dos metabólitos secundários como flavonoides, terpenos, taninos hidrolisáveis e ausência de taninos condensados.

Palavras-chave: inibição, planta medicinal, atividade.

PHYTOCHEMICAL STUDY OF HIDROALCOHOLIC EXTRACT OF melão-de-são-caetano LEAVES (*Momordica charantia*) AND EVALUATION OF ITS INHIBITORY ACTIVITY AGAINST *Sporothrix* spp.

ABSTRACT

The bitter melon or Saint Caetano melon (MSC) (*Momordica charantia* L.) of the *Curcubitaceae* family is a medicinal plant with extensive popular use, covering different purposes due to its wide repertoire of pharmacogens. A fungal pathology that has been receiving attention in several regions of Brazil is feline sporotrichosis. One of the reasons for the interest in the control and treatment of this pathology is its anthroozoonotic character and the growing number of cases in human beings, especially in Brazil. The aim of this study was to evaluate in vitro the possible antifungal effect of the hydroalcoholic extract of *Momordica charantia* L. leaves in relation to the pathogen *Sporothrix* spp. together with a study of the phytochemical profile of the extract. For this, a hydroalcoholic MSC extract leaves was produced, subsequently lyophilized and the antifungal capacity was evaluated from serial microdilution in a 96-well plate, with concentrations of 200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125; 1.5625; 0.78125; 0.3906; 0.195; 0.0976 and 0.0488 mg/ml of the extracts. The effects of these different concentrations were evaluated using the inoculum of the fungus adjusted to 1.0 on the McFarland scale, and the growth of the fungus in question at times 0, 24, 36 and 72h was evaluated by inoculating the dilutions in petri dishes. The evaluation indicated that there was no inhibitory activity of the hydroalcoholic extract of MSC leaves in the tested dilutions on the fungus. At the same time, the phytochemical study of the extract was carried out using the Thin Layer Chromatography (TLC) technique, with the presence of secondary metabolites such as flavonoids, terpenes, hydrolyzable tannins and absence of condensed tannins.

Key-words: inhibition, medicinal plant, activity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. O melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i>)	2
2.2. Funções terapêuticas da <i>M. charantia</i>	3
2.2.1. Diabetes.....	3
2.2.2. Atividade Antioxidante	4
2.2.3. Atividade antimutagênica	5
2.2.4. Atividade Antiviral	5
2.2.5. Atividade Anti-inflamatória	6
2.2.6. Imunomodulação	6
2.2.7. Atividade Anti-helmíntica	7
2.2.8. Pró-Sistema Hepático e Biliar.....	7
2.2.9. Antiobesidade.....	8
2.2.10. Ação Cicatrizante.....	8
2.2.11. Atividade Antifúngica	9
2.3. Toxicidade e efeitos colaterais.....	10
2.4. Componentes Bioativos da <i>M. charantia</i> e composição química.....	11
3. Esporotricose	13
3.1. Complexo <i>Sporothrix schenckii</i>	14
3.1.1. <i>S. Schenckii</i>	14
3.1.2. <i>S. brasiliensis</i>	15
3.1.3. <i>S. globosa</i>	16
3.1.4. <i>S. mexicana</i>	17
3.1.5. <i>S. luriei</i>	17
3.1.6. <i>S. pallida</i>	18
3.2 Transmissão	19
3.3. Manifestação da doença	20
3.4. Tratamento.....	22
3.4.1. Tratamento de escolha.....	23
3.4.2. Tratamentos alternativos.....	24
4. OBJETIVOS	25
4.1. Objetivo Geral	25

4.2. Objetivos Específicos	25
5. MATERIAIS E MÉTODOS	25
5.1. Preparo do extrato hidroalcolico das folhas da <i>Momordica charantia</i>	26
5.1.1. Obtenção da droga vegetal seca	26
5.1.2. Processo de Extração	26
5.1.3. Processo de Secagem do Extrato	27
5.2. Perfil fitoquímico da <i>Momordica charantia spp.</i> utilizando Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	27
5.3. Preparo do extrato para diluição em microplaca	28
5.4. Obtenção da cultura de <i>Sporothrix spp.</i>	28
5.5. Teste de Avaliação da Atividade Antifúngica do Extrato de <i>Momordica charantia</i> pelo método de Microdiluição em placa e posterior incubação	29
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6.1. Obtenção da droga vegetal seca	32
6.2. Processo de secagem do extrato	34
6.3. Perfil fitoquímico da <i>Momordica charantia spp.</i> utilizando Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	35
6.3.1. Flavonoides	35
6.3.2. Terpenos	36
6.3.3. Alcaloides	37
6.3.4. Taninos	38
6.3.4.1. Sistema 01	38
6.3.4.2. Sistema 02	39
6.4. Obtenção de cultura de <i>Sporothrix spp.</i>	39
6.5. Teste de Avaliação da Atividade Antifúngica do Extrato de <i>Momordica charantia</i> pelo método de Microdiluição em placa e posterior incubação	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fitoquímicos presentes na <i>M. charantia</i>	3
Tabela 2. Principais componentes bioativos da <i>M. charantia</i> e suas funções relacionadas.....	11
Tabela 3. Principais constituintes, vitaminas e minerais da <i>M. charantia</i>	12
Tabela 4. Esquema de diluição do Extrato de <i>M. charantia</i> para teste.....	30
Tabela 5. Prospecção dos metabólitos secundários do extrato liofilizado das folhas de <i>M. charantia</i>	35
Tabela 6. Resultado da avaliação da atividade antifúngica do extrato de <i>M. charantia</i> nas diluições avaliadas, controle negativo, positivo e prova em branco.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de estruturas de compostos isolados na <i>M. charantia</i> . (A) momordicina e (B) charantina	3
Figura 2. Fungo <i>S. schenckii</i> na fase saprofítica	14
Figura 3: Fungo <i>S. schenckii</i> na forma filamentosa.....	15
Figura 4. Micromorfologia dos conídios simpodiais e sésseis de <i>S. brasiliensis</i> 10 dias de incubação a 25 °C	16
Figura 5. Morfologia dos conídios sésseis do <i>S. globosa</i>	16
Figura 6. Fotomicrografia de conídios simpodiais e sésseis de <i>S. mexicana</i>	17
Figura 7. Conídios simpodiais e sésseis, de colônia de <i>S. luriei</i> incubado 30°C após 14 dias.....	18
Figura 8. Conidióforos e conídios do <i>S. pallida</i>	19
Figura 9. Erupção cutânea anular de aumento progressivo na mão direita e antebraço de um fazendeiro de 65 anos na China, causada por <i>S. schenckii</i>	20
Figura 10. Síndrome oculoglandular de Parinaud. A) Nódulos na conjuntiva tarsal inferior; B) Linfadenomegalia submandibular; C) Erupções na pálpebra inferior.....	21
Figura 11. Cão acometido por esporotricose com secreção nasal indicando comprometimento respiratório.....	21
Figura 12. Felino acometido por esporotricose, apresentando lesão ulcerativa e crostosa, comprometendo o plano nasal juntamente com a ponte ao espelho nasal e na orelha esquerda.....	22
Figura 13. Isolado matriz de <i>Sporothrix spp.</i> cedido pela Uniersidade Federal do Paraná	28
Figura 14. Esquema de diluição dos extratos de <i>M. charantia</i> e do caldo Muller Hinton para obtenção das diluições a serem testadas.....	30
Figura 15. Esquema de distribuição dos extratos na microplaca.....	31
Figura 16. Modelo de Microplaca Marca Corning estéril, transparente de 96 poços com fundo chato onde o teste de microdiluição foi realizado.....	31
Figura 17. <i>M. charantia</i> após ter passado pelo processo de secagem, trituração e peneiramento	32

Figura 18. Extração por percolação, ao lado esquerdo funil de vidro de percolação e frasco para recepção e armazenamento do extrato, ao lado direito, béquer contendo material seco e solvente.....	33
Figura 19. Extrato vegetal hidroalcólico da <i>M. charantia</i>	33
Figura 20. A) Rotaevaporador da marca Quimis, modelo Q-355J, em processo de uso, para a primeira etapa de secagem do extrato. B) Extrato fluido rotaevaporado	34
Figura 21. A) Processo de liofilização do extrato fluido rotaevaporado. B) Extrato liofilizado, obtido após processo de liofilização do extrato fluido rotaevaporado da <i>M. charantia</i>	34
Figura 22. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita, placa não revelada exposta a luz visível, placa exposta a luz UV 254nm, placa exposta a luz UV 364nm e placa revelada com NH ₃	35
Figura 23. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita, placa não revelada exposta a luz visível, placa exposta a luz UV 254nm, placa exposta a luz UV 364nm e placa revelada com vanilina clorídrica.....	36
Figura 24. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita, placa não revelada exposta a luz visível, placa exposta a luz UV 254nm, placa exposta a luz UV 364nm e placa revelada com Dragendorff.....	37
Figura 25. As imagens estão organizadas da esquerda para direita, cromatograma representativo da Aroeira (<i>Farmacopeia Brasileira</i>); placa revelada com cloreto férrico.....	38
Figura 26. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita, cromatograma representativo da Aroeira (<i>Farmacopeia Brasileira</i>); placa revelada com vanilina exposta a luz visível, placa exposta a luz UV 364nm, placa revelada com vanilina clorídrica.....	39
Figura 27. A) Isolado de <i>Sporothrix</i> spp., semeada em meio sólido Ágar BBL Mycosel, após o período de cinco dias na estufa à 27°C. B) Inóculo de <i>Sporothrix</i> spp. em solução salina 3% estéril com turbidez de 1,0 na escala de McFarland	40

1. INTRODUÇÃO

O uso de produtos contendo compostos naturais, alinhados à ética animal e à sustentabilidade, vem compondo um nicho crescente de mercado. Demonstrando uma preocupação cada vez maior com a procedência e o descarte do produto, o consumidor está se tornando mais seletivo e crítico, levando o seu olhar não somente ao objeto do seu consumo, mas também ao que compõe o seu entorno.

Outra tendência de comportamento que já há alguns anos vem se expandindo de forma consolidada é o aumento do número de animais de companhia e o papel cada vez mais próximo deles junto ao ser humano. Por essa razão, todos os serviços e produtos estão crescendo em número e em diversidade, tornando assim o mercado cada vez mais amplo e complexo.

Levando em consideração tais óticas, realizou-se uma pesquisa empírica a fim de se encontrar uma enfermidade que acometesse animais domésticos para a qual já existisse uma demanda de fármacos para efetivo tratamento e cuja solução poderia se encaixar no uso de substâncias naturais. Dessa forma, a esporotricose felina foi escolhida, pois, além de acometer felinos domésticos, entre outros animais, também tem a característica de ser uma antropozoonose.

Por ser esta uma doença fúngica e visando ao desenvolvimento de um novo produto fitoterápico, optou-se por utilizar o extrato da planta *M. charantia*, que conta com inúmeros estudos em diferentes áreas de aplicação, inclusive para tratamentos fúngicos, mas não com este fim específico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*)

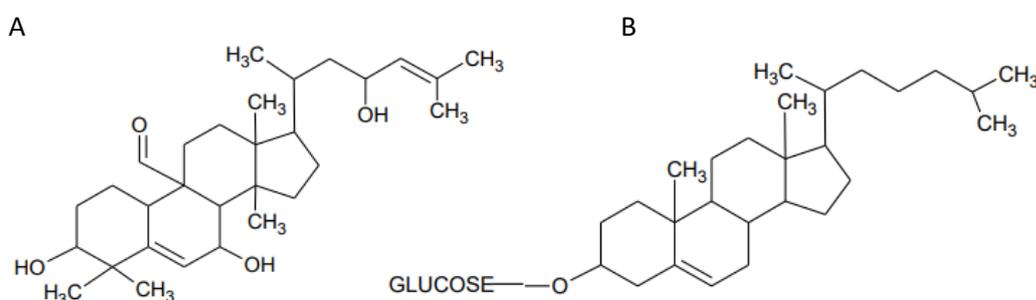
Desde a antiguidade, as plantas e suas preparações têm sido usadas com finalidade medicamentosa para prevenção, tratamento e cura das mais diversas doenças, pelas distintas civilizações ao redor do mundo. As referências históricas mais remotas da aplicação de plantas com finalidade terapêutica datam de mais de sessenta mil anos e, no Brasil, ocorreu a união de distintos conhecimentos de povos africanos, diversos tipos de plantas que tinham funções ritualísticas e também continham inúmeras atividades farmacológicas, unindo-se assim à cultura indígena nativa, já com vasto conhecimento fitoterápico. Muitas plantas já eram aplicadas de forma corriqueira no dia-a-dia das aldeias e com fins religiosos (MONTES et al., 2017). Com a vinda dos europeus, ocorreu a difusão e a miscigenação de conhecimentos, tornando assim extenso e rico o campo da fitoterapia, sendo este passado através das gerações (FARIA et al., 2018 , VALERIANO et al., 2017).

O melão amargo ou melão-de-são-caetano (MSC) (*Momordica charantia*), da família *Cucurbitaceae*, é uma das plantas medicinais de uso popular cujo conhecimento e cuja utilização estão associados a esse fenômeno de miscigenação de conhecimentos. Ele é encontrado comumente em inúmeras regiões da Ásia e em distintos países tropicais e subtropicais, incluindo Índia, Paquistão, Sri Lanka e China (BASIT et al., 2018). O MSC, como outras curcubitáceas, foi trazido ao Brasil após sua colonização e possui grande relevância nutricional e medicinal devido ao amplo repertório de compostos fitoquímicos bioativos, os quais são apresentados na Tabela 1:

Tabela 1. Fitoquímicos presentes na *M. charantia*.

Fonte	Fitoquímico
Corpo da planta	Momorcarinas, momordenol, momordicilina, momordicinas, momordicinina, momordina, momordolol, charantina, charina, criptoxantina, cucurbitinas, cucurbitacinas, cucurbitanas, cicloartenóis, diosgenina, ácidos elaeosteáricos, eritrodíol, ácido galacturônico, ácido gentísico, goiaglicosídeos, goiasaponinas, multiflorenol, glicosídeos, saponinas, alcalóides, óleos fixos, triterpenos tipo cucurbitanas, proteínas e esteroides.
Fruta	Momordicina, charantina, polipeptídeos- p insulina, ascorbigeno, Aminoácidos: ácido aspártico, serina, ácido glutâmico, treonina, alanina, ácido gama-amino butírico, ácido pipercolico, luteolina. Ácidos graxos: láurico, mirístico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico, linolenico.
Sementes	Enzima urease Aminoácidos: valina, treonina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina e ácido glutâmico.

Fonte: ANILAKUMAR, KUMAR e ILAIYARAJA (2015)

**Figura 1** – Exemplos de estruturas de compostos isolados na *M. charantia*.

(A) momordicina e (B) charantina

Fonte adaptada: LIMA, 2018,

Sua ampla aplicação é citada por diversos autores, sendo que os seus efeitos gerais observados foram anti-helmíntico, antimalárico, amenização de eczemas, na icterícia, em dores abdominais, cálculos renais, infecções do trato respiratório, diabetes e suas complicações crônicas e também antimicrobiano (BASIT et al., 2018; GROVER e YADAV, 2004).

2.2. Funções terapêuticas da *M. charantia*.

2.2.1. Diabetes

Seu emprego como método auxiliar terapêutico em casos de diabetes é amplamente difundido no sudeste do continente asiático, sendo consumido *in*

natura e vastamente aplicado dentro do sistema de medicina ayurvédica . A atividade eficaz contra o diabetes é justificada pela sua ação hipoglicêmica e pela promoção de síntese proteica, tendo entre os principais compostos identificados com efeito hipoglicêmicos em ratos, a charantina, a vicina, o polipeptídeo-p ou p-insulina e kakra, compostos hipoglicêmicos não esteróides isolados da fruta (MAHMOUD et al., 2017). Ensaio farmacológico preliminar utilizando o fruto do MSC apresentaram resultados sugestivos de redução no nível de glicose no sangue em jejum (BGL) em ratos com diabetes induzida, enquanto a tolerância à glicose teve marcada melhoria (XU, 2015)

Estudo realizado por Mahmoud et al. (2017) indicou que a quantidade de 10mL/kg de peso corporal de suco puro da fruta de MSC, diluído em 50% de água, administrado diariamente a ratos machos albinos adultos, apresentou efeito significativo no controle de hiperglicemia, hiperlipidemia e estresse oxidativo, principalmente como profilático.

2.2.2. Atividade Antioxidante

O MSC muitas vezes é tido pela sua capacidade antioxidante, tendo assim importância, pois o estresse oxidativo ocorre no momento em que a formação de radicais livres aumenta. O efeito antioxidante do MSC em inúmeras doenças crônicas foi observado, por exemplo, em alguns tipos de câncer, em doenças cardíacas e em diabetes. Estudos mostraram que o MSC pode agir pela via da eliminação de radicais livres para prevenir a peroxidação de lipídios (REZAEIZADEH et al, 2011).

Entre os componentes ativos observados, encontram-se cucurbitano amargo e não amargo, flavonoides, triterpeno-agliconas e / ou glicosídeos, apresentando propriedades antioxidantes. Estudos constaram a presença de polifenóis marcadores como catequina, transcalona, quercetina, e cafeína, juntamente com ácido cafeico, ácido gálico e flavonas, porém em proporções mais baixas (NERURKAR, 2011).

Segundo pesquisa realizada por RAISH (2017) e por RAISH et al. (2018), a administração de polissacarídeos do MSC, na quantidade de 150 e 300 mg/kg

dia como profilático, apresentou uma significativa melhora em relação ao estresse oxidativo, à hiperlipidemia, à inflamação e à apoptose em ratos com infarto de miocárdio. Acredita-se que o seu efeito protetor deveu-se à regulação negativa de citocinas pró-inflamatórias e a genes inflamatórios através da Vias NF-k,B e que seus efeitos antiapoptóticos podem ser regulados por Bax, Caspase-3 e Bcl-2.

2.2.3. Atividade antimutagênica

Outra característica terapêutica importante referente ao melão-de-são-caetano é a sua relação com efeitos de antimutagenicidade, destacando-se na medicina oncológica. O estudo de bioativos para a prevenção e o tratamento de câncer pode resultar em descobertas de comportos eficazes e com menores efeitos adversos. Entre os flavonoides mais abundantes no MSC, encontra-se a quercetina, que apresentou atividade antitumoral em diferentes modelos de estudo. Outro composto estudado foi referente ao Triidroxicucurbita-5,23(E)-dien-19-al, apresentando apoptose induzida (DOS SANTOS COELHO, 2020; SHOBHA , 2015)

O MSC, com seu potencial de antimutagenicidade, foi capaz de abreviar ou até mesmo evitar a incidência de câncer, sendo considerado muitas vezes um aliado quimiopreventivo, não apenas terapêutico, contra alguns tipo de carcinomas. Devido a essas ações, já foi indicado e citado seu uso em estudos envolvendo linfomas, leucemias, melanomas, neoplasias de pele e carcinomas vesicais (GROVER e YADAV, 2004; SHAHIDUL e JALALUDDIN, 2019).

Segundo experimento realizado por SUR *et al.* (2018), a utilização do extrato da fruta do MSC a 30% em extrato aquoso, administrado na quantidade de 600 mg/dia, em camundongos que apresentavam a média de peso corporal de 18g, apresentou efeito significativo e preventivo em relação ao desenvolvimento de carcinoma epidermóide oral, o sexto câncer mais comum em todo o mundo.

2.2.4. Atividade Antiviral

É associada ao MSC também uma ação antiviral observada principalmente em suas sementes, que possui o efeito de inibição da replicação do herpes-vírus simples 1 (HSV-1) e sindbis vírus (SINV) associadas a compostos que possuem ação antiviral seletiva, impedindo a biossíntese de proteínas por meio da inativação do ribossomo, expressão da proteína p-24 do núcleo viral e atividade da transcriptase reversa associada ao vírus em células infectadas com HSV-1. Estes efeitos estão associados às proteínas, sendo as principais alfa-momorarina (α -MMC) e a proteína momordica anti-HSV (MAP30), com ação antineoplásica relatada e comprovada *in vitro* (MENG, YAO; 2012; LEE-HUANG, S; 1995)

Além disso, tais proteínas que apresentaram eficácia em relação a vários tipos de células infectadas por vírus e células tumorais, não são tóxicas a células normais não infectadas, abrangendo linfócitos T, macrófagos e monócitos, gerando um interesse crescente para novos estudos e possíveis aplicações (BOURINBAIAR, 1996)

2.2.5. Atividade Anti-inflamatória

O MSC apresenta atividade anti-inflamatória e, por meio de seu emprego, ocorre a redução considerável da presença de macrófagos em supressão nos tecidos adiposos e a redução da expressão da proteína quimiotática-1 do monócito da citocina pró-inflamatória. A utilização MSC liofilizado por via oral inibiu as citocinas pró-inflamatórias e a citocina anti-inflamatória, suprimindo por sua vez a ativação das vias de sinalização (BAO, 2013). Triterpenóides de cucurbitana, como taikugausina C e taikuguasina D, que apresentam atividade anti-inflamatória foram isolados a partir do fruto fresco de MSC (LIAW, 2015).

Experimento idealizado por Raish et al. (2018) sugeriu que a utilização de 300mg/kg de polissacarídeos do MSC, distribuído por sete dias, em ratos que apresentavam inflamação gástrica e estresse oxidativo induzida por etanol, apresentou efeito profilático próximo ao omeprazol.

2.2.6. Imunomodulação

A imunomodulação também foi estudada a partir do uso do MSC, o qual promoveu a secreção de compostos do sistema imune e potencializou a atividade fagocítica. Realizando a ativação de macrófagos e esplenócitos, apresentou efeito máximo na resposta imunológica, também alterando os parâmetros cinéticos das respostas imunes, inibindo significativamente as respostas mitogênicas presentes nas células. O MSC apresentou conteúdo de polissacarídeo péctico solúvel em água, pois, em sua composição, possui D-galactose e D-metil galacturonato, tendo o efeito de ativação de timócitos, macrófagos e esplenócitos (JIA, 2017)

Segundo estudo *in vivo* realizado em ratos por Bhattacharya (2016), a administração de MSC demonstrou efeito modulador sobre as vias de sinalização imunológica, sendo observado o aumento dos níveis de linfócito T nos animais. Experimento com o enfoque na inibição do crescimento de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço utilizou o extrato do MSC (fruta crua e verde), diluído na proporção de 0,15g/mL de água, aplicado na quantidade de 100mL/rato/dia para gavagem oral.

2.2.7. Atividade Anti-helmíntica

A ação anti-helmíntica do MSC deve-se principalmente ao extrato etanólico das suas folhas, sendo capaz de provocar morte larval e retardo do desenvolvimento dos ovos. A morte larval dá-se por ação que impede a motilidade e alimentação das larvas, levando-as à morte por inanição (CORDEIRO, 2008).

Segundo experimento realizado por Fonseca (2016), o extrato hidroalcoólico de MSC, na concentração de 1,5 mg.ml⁻¹, apresentou eficácia anti-helmíntica, inibindo 99,61% das larvas de *H. contortus*, sendo este estudo desenvolvido em ovelhas naturalmente infectadas.

2.2.8. Pró-Sistema Hepático e Biliar

O sistema hepático e biliar também é beneficiado pelo MSC e, em casos de disfunção subaguda, ambos os órgãos se beneficiaram pelo consumo de seus extratos em experimentos envolvendo ratos. O extrato do fruto ativa as enzimas

hepáticas glutathiona S-transferase, glutathiona peroxidase e catalase, que podem ter suas atividades afetadas por inúmeros fatores, sendo um deles o envolvimento com neoplasias (SHUO et al., 2017; KUMAR et al., 2010).

A atividade metabólica e enzimática do fígado se beneficia diretamente devido ao consumo do MSC, sendo esta atividade elevada, assim como o potencial mitocondrial das células hepáticas (KUMAR et al., 2010).

2.2.9. Antiobesidade

O MSC também apresenta ação antiobesidade, sendo que alguns compostos bioativos potencializam a atividade da adenosina 5-monofosfato cinase, a qual se refere a uma enzima que facilita a captação celular de glicose e a oxidação de ácidos graxos. Essa ação se potencializa com os agentes hipoglicêmicos do respectivo fruto, entre os quais estão esteróides saponinas (charantinas), peptídeo semelhante à insulina (polipeptídeo-P) e alcalóides, os quais promovem oxidação eficaz da glicose em ATP (YADAV , 2005).

Segundo trabalho idealizado por Gong (2017), quando o MSC foi administrado a camundongos em condições estatisticamente idênticas, na dosagem de 1g/kg/dia de extrato aquoso obtido a partir do fruto seco, houve significativo controle de peso corporal dentro dos grupos que foram alimentados com dieta rica em gordura. Após oito semanas, o grupo controle apresentou a média de 46,4g comparado ao grupo suplementado com o extrato de MSC, média de 40,7g. Porém não se observou diferença significativa em relação ao colesterol total, sendo somente observada uma singela elevação do HDL.

2.2.10. Ação Cicatrizante

O tratamento de escoriações, lesões e úlceras superficiais também foi realizado a partir do emprego do MSC, devido ao efeito de aceleração da cicatrização tecidual de feridas, otimizando a cicatrização epitelial interna, no caso de tratamento de úlceras, com extratos utilizando o fruto e, como solventes, o

hexano e o etanol, ambos com efeitos similares. Também foram empregados como medida preventiva à ulcerogênese, possuindo como alvo das extrações, os carotenóides presentes no fruto (GURBUZ et al, 2000).

2.2.11. Atividade Antifúngica

A capacidade antifúngica do MSC foi amplamente relatada, existindo registro do seu uso contra doenças fúngicas em plantas, evitando seu desenvolvimento e auxiliando na conservação de plantas e frutas alimentícias (BOMFIM, 2005). Em um estudo observado, a atividade antifúngica do extrato da semente, realizada com tampão de extração de proteína, contendo (WANG, 2012; WANG, 2016) alpha-momorcharin (α -MC)(YEUNG, 1987), mostrou-se eficaz em relação ao *Fusarium solani*. Análises posteriores *in vitro* de fluorescência apontaram que o extrato resultou na deformação das células com brotamento irregular, na perda da integridade da parede celular, bem como no rompimento da membrana celular do fungo. Além desses efeitos, o DNA genômico foi perceptivelmente afetado (WANG, 2012; WANG, 2016).

Diferentes extratos das folhas do MSC foram testados em relação ao fitopatógeno causador da antracnose, *Colletotrichum musae*. Extratos aquoso e hidroetanólico inseridos ao meio de sólido, na concentração 50%, resultaram respectivamente 71% e 64% de inibição do crescimento micelial (ICM) do fungo, enquanto que, em meio líquido, a ICM foi maior (86% e 81% respectivamente), possivelmente devido ao maior contato do meio com o fungo. Somente o extrato aquoso e o tiofanato metílico, nas concentrações de 50% e 1000 μ g.mL⁻¹, respectivamente, inibiram por completo a germinação de esporos do fungo (CELOTO, 2005)

A proteína antifúngica, designada MCha-Pr, foi isolada do fluido intercelular de folhas do MSC e foi testado seu efeito antifúngico em relação a *A. brassicae*, *C. personata*, *R. solani*, *Mucor sp.*, *F. oxysporum* e *V. dahliae*, apresentando ação inibitória contra todos os fungos, exceto o último patógeno citado (Zhang, 2015).

Extrato aquoso do MSC foi avaliado em oposição aos fungos *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* e *Cryptococcus neoformans*, apresentando

atividade inibitória em relação ao *C. albicans* e ao *C. neoformans*. Já os sobrenadantes, precipitados (obtidos por precipitação com etanol), não tiveram a mesma atividade inibitória. Tal fato pode ser explicado por uma possível mudança na conformação molecular da macromolécula após a exposição à precipitação de etanol e após a secagem por liofilização, concentração de amostra de difusão em ágar ou ensaio antifúngico inadequado para macro moléculas (SCHMOURLO, 2005).

2.3. Toxicidade e efeitos colaterais

O conhecimento e a investigação em relação à toxicidade das mais distintas plantas que abrangem a fitoterapia é de extrema importância, visando ao uso seguro dessas pela população, servindo juntamente de base para futuros estudos dentro da farmacologia. Os extratos hidroalcolico e aquoso do MSC, sem distinção das partes da planta, foram testados dentro do método da classe de toxicidade aguda, na escala de 1 a 5 e aplicado em ratas Wistar, com dose máxima de 2.000mg/kg. Ambos foram classificados na categoria 5 para se enquadrarem na faixa de toxicidade de $DL_{50} > 2.000 \text{ mg / kg}$. O grau de irritação dérmica e ocular foi também testado em coelhos albinos da raça Nova Zelândia, sendo ambos os extratos classificados como não irritantes (LAGARTO, 2008).

Porém existem relatos de efeitos tóxicos desde 1960, sendo observado principalmente toxicidade reprodutiva, aguda e crônica. Em relação à toxicidade reprodutiva, os extratos de éter de petróleo, clorofórmio e etanólico das sementes do MSC - testados em ratos machos, na dose de 25mg / 100gm de peso corporal por 48 dias - apresentaram efeito antiespermatogênico, com número de espermátócitos, espermatogônias, espermátides e espermatozoides diminuídos, além de apresentarem aumento do peso do epidídimo, da vesícula seminal, do ducto deferente e da próstata, indicando claramente a propriedade androgênica de camundongos albinos.

A β -momocarina, glicoproteína básica encontrada nas sementes do MSC, quando administrada intraperitonealmente em camundongos nos dias 4 e 6 de gestação, leva ao bloqueio da gravidez. Tal estudo, quando realizado *in vitro*,

apontou que a proteína alterou o desenvolvimento peri-implantação, bloqueando a eclosão de embriões da zona pelúcida, reduziu o índice de fixação bem-sucedida do blastocisto, diminuiu o crescimento do trofoblasto e interrompeu o desenvolvimento da massa celular interna. Acredita-se que a (CHAN, 1984) β -momorcharin (YEUNG, 1987) impediu a implantação embrionária por uma ação correlata anteriormente apontada para α -momorcharin (CHAN, 1984).

Outro apontamento, porém este de cunho empírico, é a utilização das folhas de *M. charantia*, de forma oral e mensalmente, para a prevenção da natalidade na Índia (PATIL, 2011), podendo esta levar ao aborto e à pré-implantação, além de gerar teratogenicidade e infertilidade em ambos os sexos (GAIÃO et al., 2017) .

2.4. Componentes Bioativos da *M. charantia* e composição química.

Todos os efeitos positivos até então abordados, relacionados à *M. charantia*, estão associados a uma vasta gama de grupos de diversos compostos bioativos com aplicações distintas, presentes em diversas partes da planta, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Principais componentes bioativos da *M. charantia* e suas funções relacionadas.

PRINCIPAIS GRUPOS DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS	APLICAÇÕES	FARMACÓGENO
Polissacarídeos	Antioxidante, antidiabético, imunológico, neuroprotetor, antitumoral	Várias partes de plantas
Peptídeos e proteínas	Atividade de RNA, polinucleotídeo adenosina glicosidase (PAG), tipo DNase, fosfolipase, superóxido dismutase, antitumoral, imunossupressor, antimicrobiano	Semente
Lipídios	Antitumoral, antioxidante	Semente, mesocarpo
Terpenóides	Anticancerígeno, antioxidante, antidiabético, hipoglicêmico, antitumoral	Caule, folha, pericarpo
Saponinas	anti-hiperglicêmico, hipolipídico, antiviral	Fruta, raiz, semente
Compostos fenólicos	Antioxidante, anti-inflamatória, imunológico	Masocarpo semente

Esteróis	Antimicrobiano	Pericarpo
----------	----------------	-----------

Fonte: Adaptado de SHUO et al. (2017).

A *M. charantia* Apresenta, em sua constituição, distintos minerais e vitaminas, apresentando relevância e interesse nutricional, como demonstra a Tabela 3 a seguir.

Tabela 3: Principais contituíntes, vitaminas e minerais da *M. charantia*.

COMPONENTE	Concentração (ppm*)
MINERAIS	
Cálcio	20510,00 ± 5,77
Magnésio	255,00 ± 0,69
Sódio	2200,00 ± 1,15
Potássio	413,00 ± 1,45
Ferro	98,00 ± 0,23
Zinco	120,00 ± 1,15
Manganês	156,00 ± 0,33
Cobre	32,00 ± 1,85
VITAMINAS	
A	Traços
E	800 ± 14
C	66000 ± 141
B12	5355 ± 7,10
Ácido Fólico	20600 ± 42,43

*Média ± Desvio Padrão.

Fonte: Adaptado de ANILAKUMAR, KUMAR e ILAIYARAJA (2015).

Considerando inúmeras pesquisas que apontam uma grande relevância medicinal e o extenso repertório de bioativos do MSC com ação antimicrobiana e antifúngica, entende-se como necessária a ampliação e o aprofundamento desses estudos. Considerando a possibilidade de ampliar esses estudos em diferentes espécies de fungos, o foco em fungos causadores de antropozoonoses - a exemplo dos fungos do complexo *Sporothrix spp*, agentes etiológicos da

esporotricose - adquire especial relevância devido ao aumento de sua ocorrência em ambientes urbanos e rurais no Brasil e no mundo.

3. Esporotricose

A esporotricose é uma micose subcutânea com uma disposição global, sendo a mais frequente na América do Sul (DÍAZ, 1989). Descoberto por Benjamin Schenck, nos Estados Unidos, em 1898 (SCHENCK, 1898), a doença começou a ser noticiada mais regularmente nos Estados Unidos, na Europa e no Extremo Oriente, com maior ocorrência na França. Na atualidade, as principais regiões endêmicas estão no Japão, na América do Norte e do Sul, com áreas de alta endemicidade nos países: México, Uruguai, Peru, Brasil e Colômbia (DÍAZ, 1989; KWON-CHUNG, 1992).

No Brasil, os primeiros casos de esporotricose, descritos em humanos, gatos e ratos, foram documentados por Lutz e Splendore, em 1907 (LUTZ, 1907). Após esse primeiro relato, deu-se início ao aparecimento de diversos casos isolados (RODRIGUES, 2013) e, a partir de 1998, uma epidemia de esporotricose, em humanos, gatos e em uma menor proporção em cães, iniciou-se na região metropolitana do Rio de Janeiro (RJ), existindo uma prevalência nas áreas com condições socioeconômicas fragilizadas, juntamente com serviços de saúde precários e insatisfatórios (BARROS, 2004).

O município apresenta a maior epidemia mundial, tornando-se um grave problema de saúde pública. Acredita-se que uma das características que tornou essa situação possível foi o fato de os gatos domésticos das regiões metropolitanas terem maior acesso à rua, envolvendo-se em brigas e tendo uma maior exposição ao solo em quintais com condições de saúde pública e sanitária precárias (SILVA, 2012).

Tal enfermidade fúngica de extrema relevância tem como agente etiológico um complexo de fungos dimórficos, não somente o *S. schenckii*, como se imaginava, mas também existe em sua etiologia as espécies *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. luriae* e *S. pallida* (*S. albicans*) (SILVA, 2016), sendo

estas nominadas como espécies do complexo *Sporothrix schenckii* (BAZZI, 2016).

3.1. Complexo *Sporothrix schenckii*

Uma característica do *S. schenckii* e do seu complexo, que também ocorre com outros fungos patogênicos, é o dimorfismo que se apresenta em decorrência das distintas condições de crescimento ou do cultivo. Dessa maneira, são contempladas transformações em sua morfologia, as quais acompanham o processo infeccioso. Esse tipo de fungo é observado, na forma de micélio, no meio ambiente (fase saprofítica) (Figura 2, porém nas lesões encontra-se a fase leveduriforme (parasitária). Sua morfologia modifica-se pela influência de diversas características ambientais, como tensão de CO₂, fonte de carbono, aeração, pH e temperatura. A presença de biotina e tiamina nos meios de cultivo, juntamente à baixa tensão de CO₂, possibilita a transição da forma miceliana para a leveduriforme (TEIXEIRA, 2014).

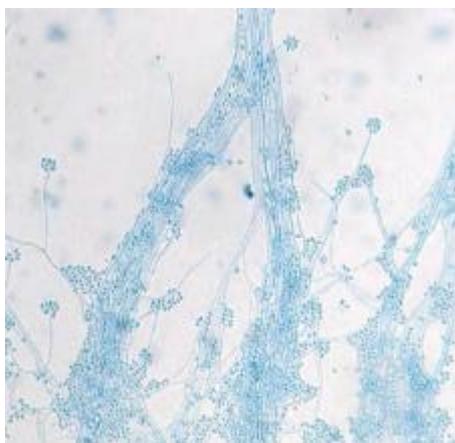


Figura 2: Fungo *S. schenckii* na fase saprofítica.
Fonte: Adaptado de Qin & Zhang (2019).

3.1.1. *S. Schenckii*

No ambiente ou no laboratório, em temperaturas que variam de 25 a 30°C, o *S. schenckii* apresenta-se nas culturas feitas em placas de petri, na forma filamentosa, por um período de dias ou semanas, com colônias apresentando coloração entre branca e creme, porém, com o passar das semanas, altera-se a sua coloração, variando de marrom a preto, com aparência enrugada (Figura 3).

Seus conídios são escuros ou hialinos e se encontram ao longo das hifas, com aparência de buquê. *In vivo* a 37°C, *S. schenckii*, encontra-se na forma de levedura, reproduzindo-se por brotamento e não se formam conídios (KWON-CHUNG, 1979).



Figura 3: Fungo *S. schenckii* na forma filamentosa.
Fonte: Adaptado de Qin & Zhang (2019).

3.1.2. *S. brasiliensis*

As colônias de *S. brasiliensis* atingem um diâmetro de 15 a 38 mm, após 21 dias de incubação a 30°C, apresentando células conidiogênicas, em prevalência terminais ou intercalares em conidióforos, apresentando maior ou menor diferenciação, levemente inchadas, e produzem conídios simpodialmente (Figura 4) em alguns denticulos. Os conídios simpodiais são geralmente hialinos a sub-hialinos, obovoidais e com 2 a 6 µm de comprimento por 1 a 4 µm de largura. Os conídios apresentam coloração entre o marrom e o marrom escuro, paredes espessas, globosas a subglobosas e 2,5 a 5 µm de comprimento por 2 a 3 µm de largura. A temperatura máxima de crescimento é de 37 °C , atingindo 5 a 10 mm de diâmetro após 21 dias. Em temperatura de 40 °C, o *S. Brasiliensis* não é capaz de assimilar sacarose e rafinose, não gerando crescimento (MARIMON, 2007).

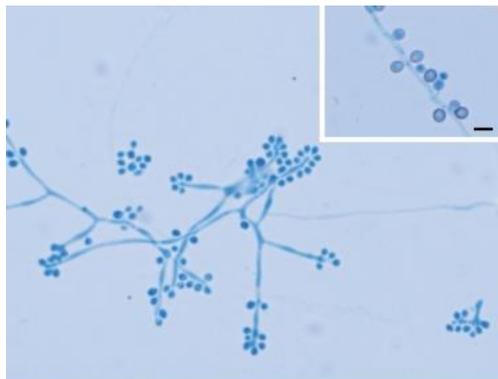


Figura 4: Micromorfologia dos conídios simpodiais e sésseis de *S. brasiliensis* 10 dias de incubação a 25 °C.
Fonte: Adaptado de SILVA-VERGARA (2012).

3.1.3. *S. globosa*

As colônias de *S. globosa* atingem um diâmetro de 18 a 40 mm após 21 dias de incubação a 30°C, suas células conidiogênicas são usualmente terminais ou intercalares em conidióforos, com maior ou menor diferenciação, apresentando frequentemente inchaço e produzindo conídios simpodialmente em vários dentículos. Os conídios simpodiais são, na maioria das vezes, hialinos a subhialinos, obovoidais e com 2 a 5 µm de comprimento por 1 a 3 µm de largura. A coloração dos conídios sésseis (Figura 5) varia de castanhos a castanhos escuros, com paredes espessas, apresentando predominância de globosos a subglobosos de 2,5 a 4 µm de comprimento por 2 a 3,5 µm de largura. De modo geral o *S. globosa* tem como temperatura máxima de crescimento 35 °C , crescendo 2,5 a 20 mm de diâmetro após 21 dias, sendo, na sua grande maioria, incapaz de crescer a 37 °C e assimilar a rafinose (MARIMON, 2007).

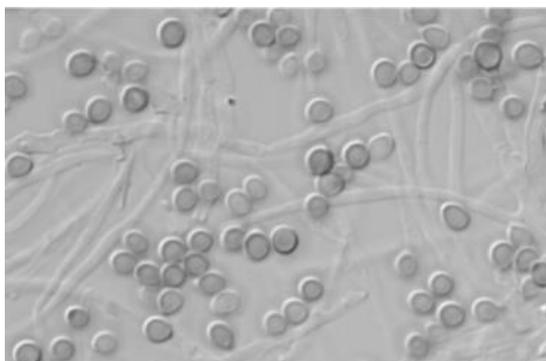


Figura 5: Morfologia dos conídios sésseis do *S. globosa*.
Fonte: Adaptada de Marimon (2007).

3.1.4. *S. mexicana*

A colônia atinge um diâmetro de 66 a 69 mm após 21 dias de incubação a 30°C. Suas células conidiogênicas são usualmente terminais ou intercalares em conidióforos, apresentando maior ou menor diferenciação juntamente ao inchaço usual, e densamente denticulada. Seus conídios simpodiais (Figura 6) são geralmente hialinos a sub-hialinos, obovoidais de 3 a 5,5 µm de comprimento por 2 a 2,5 µm de largura. Os conídios sésseis assumem coloração variável entre castanhos e castanhos escuros, possuindo paredes espessas, com predominância de subglobosos, obovoidais ou elipsoidais e com 3 a 4 µm de comprimento por 2 a 3,5 µm de largura. O *S. mexicana* tem como temperatura máxima de crescimento, 37 °C, crescendo 1,5 a 2,5 mm de diâmetro após 21 dias de incubação, não sendo capaz de crescer a 40 °C e assimilar sacarose, rafinose e ribitol (MARIMON, 2007).

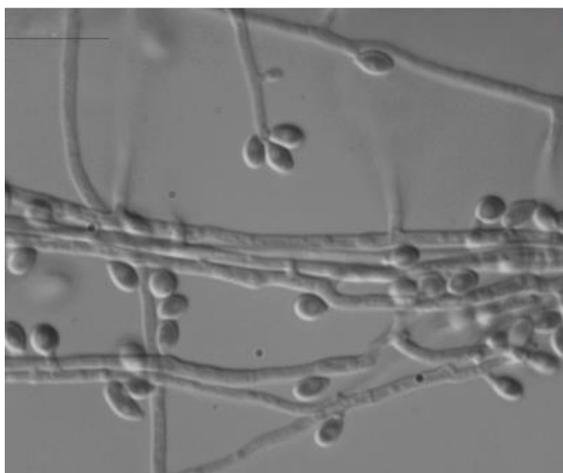


Figura 6: Fotomicrografia de conídios simpodiais e sésseis de *S. mexicana*
Fonte: Adaptada de Dias (2011).

3.1.5. *S. luriei*

A colônia apresenta crescimento ideal de 51 mm, incubado a 30°C, após 21 dias. Já na temperatura de 35°C, apresenta crescimento de 35–36 mm após 21 dias de incubação e, na temperatura de 37°C, tem o crescimento de 21 mm após 21 dias. Na temperatura de 40°C, apresenta incapacidade de crescimento. É capaz de assimilar o ribitol, porém não é capaz de assimilar a sacarose e a

rafinose (MARIMON, 2008). A ausência de conídios sésseis com pigmentação escura, característica típica do complexo de *Sporothrix spp.*, somada à existência morfológica de conídios muito longos (Figura 7), podem qualificar-se como as duas principais características morfológicas de distinção entre o *S. schenckii* e *S. luriei* (PADHYE, 1992).

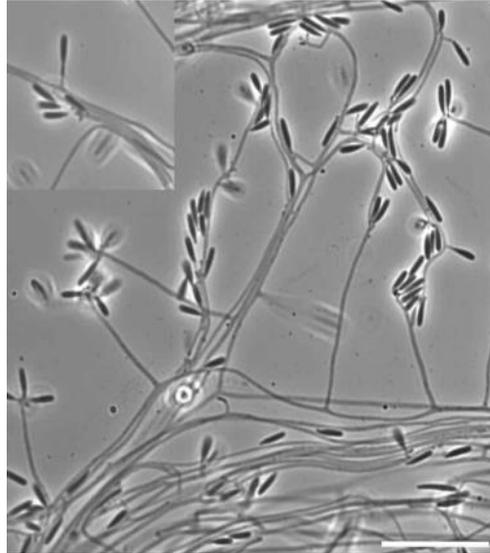


Figura 7: Conídios simpodiais e sésseis, de colônia de *S. luriei* incubado 30 °C após 14 dias.
Fonte: Adaptada de Marimon (2008).

3.1.6. *S. pallida*

A colônia apresenta crescimento de 50 mm incubada em temperatura de 30°C e 60 mm incubada em temperatura de 37°C, após 21 dias. Observam-se hifas finas, hialinas, septadas e ramificadas, com abundantes conídios hialinos, ovóides de 4-7 x 1,6-2,5 μ m, em aglomerados simpodiais na região terminal do conidióforo (Figura 8). O *S. pallida* possui capacidade de assimilar sacarose, porém não assimila rafinose (CHOAPPA, OYARZO & SILVA, 2014).

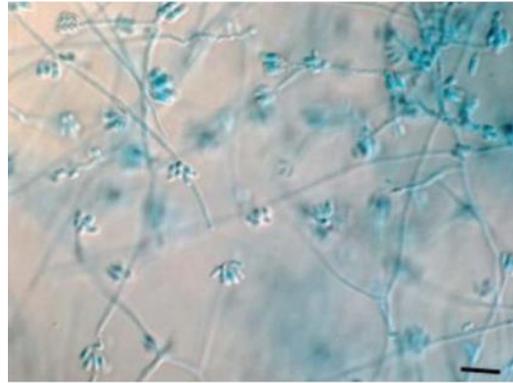


Figura 8: Conidióforos e conídios do *S. pallida*.
Fonte: Adaptada de CHOAPPA, OYARZO & SILVA (2014).

3.2 Transmissão

Duas das razões do interesse no controle e tratamento de tal enfermidade são o seu caráter antroponóico e o crescente número de casos em seres humanos, em especial no Brasil (PIRES, 2017). Sua transmissão ocorre habitualmente pelo contato do agente etiológico na pele traumatizada, que contenha alguma região exposta. Tradicionalmente é considerada uma doença ocupacional, vinculada à manipulação direta da terra, das plantas e de materiais orgânicos contaminados (FERREIRA, 2016), amplamente encontrados na natureza, principalmente em solos ricos com extensa quantidade de matéria orgânica em processo de decomposição - madeiras, folhas secas, musgos e espinhos de plantas (BAZZI et al., 2016).

Porém os casos de transmissão antroponóico por meio de mordedura ou arranhadura do animal ao homem, ou mesmo somente por meio do contato direto com animais domésticos infectados, principalmente gatos, vem tornando-se a principal forma de transmissão. Apesar de existir prevalentemente em felinos, também é comum em cachorros e é relatada também a ocorrência em cavalos (RISPAL & DALOUS, 1909), galos (SUTTON, 1910), papagaios (ROUSLACROIX, 1912), roedores, insetos (KAUFFMAN, 1999) e tatus (VIDAL & RODRÍGUEZ DE KOP, 1993), em sua maioria machos. É uma antroponose que vem aumentando sua incidência, sendo os felinos domésticos os animais mais acometidos (FERREIRA, 2016 e ROSA, 2017).

3.3. Manifestação da doença

A manifestação da doença em animais e seres humanos pode se apresentar em forma cutânea localizada, cutânea linfática ou cutânea disseminada, podendo-se agravar e resultar em manifestações sistêmicas, levando o organismo afetado ao comprometimento de distintos órgãos, como rins, fígado, baço, pulmões e linfonodos (SILVA, 2018).

A forma cutânea disseminada ocorre, principalmente, em pacientes imunodeprimidos, especialmente portadores do vírus HIV. As formas clínicas extracutâneas, como esporotricose pulmonar, osteoarticular, ocular e meningite, são raras (CORDEIRO et al, 2010).

O fungo, após um período de incubação, evolui progressivamente, podendo passar de um pápulo-noduloso no local da inoculação, a uma ulceração (esporotricose cutânea fixa) ou a múltiplos nódulos ao longo do sistema linfático (esporotricose linfocutânea) (Figura 9).



Figura 9: Erupção cutânea anular de aumento progressivo na mão direita e no antebraço de um fazendeiro de 65 anos, na China, causada por *S. schenckii*.
Fonte: Adaptado de Qin & Zhang (2019).

Uma forma rara de apresentação da esporotricose em humanos é a síndrome oculoglandular de Parinaud (Figura 10). Essa síndrome se caracteriza por uma conjutivite granulomatosa com linfadenopatia adjacente. A transmissão

do fungo ocorre, usualmente, a partir da inoculação traumática diretamente na conjuntiva (RIBEIRO et al, 2010).



Figura 10. Síndrome oculoglandular de Parinaud. A) Nódulos na conjuntiva tarsal inferior; B) Linfadenomegalia submandibular; C) Erupções na pálpebra inferior. Fonte: Ribeiro et al. (2010).

A esporotricose osteoarticular e a esporotricose pulmonar ou respiratória primária são manifestações raramente encontradas da doença e ocorrem por inalação de conídios ou inoculação direta (Figura 11). A esporotricose cutânea disseminada ou o envolvimento de múltiplos órgãos viscerais, particularmente o sistema nervoso central, ocorre mais comumente em indivíduos com imunossupressão (MARAJAN, 2014).



Figura 11. Cão acometido por esporotricose com secreção nasal, indicando comprometimento respiratório. Fonte: BARRETO (2018).

Os felinos frequentemente apresentam mais de uma forma, simultaneamente, da doença. Quando avaliadas histologicamente, essas formas mostram uma resposta inflamatória com características predominantemente

granulomatosas, apresentando variações principalmente quanto à prevalência de macrófagos ou de células epiteliodes (MIRANDA, 2013).

Observa-se uma relação entre a quantidade de leveduras e os padrões de respostas inflamatórias, caracterizando-se por elevadas quantidades de leveduras que se encontram, predominantemente, no interior de numerosos macrófagos com citoplasma abundante e, muitas vezes, vacuolizado. Nesse padrão, a quantidade de neutrófilos pode variar de leve a moderada. Outra relação observada é uma vasta quantidade de células epitelioides, predominantemente infiltradas, e de neutrófilos aumentados, sendo que a quantidade de leveduras observada é leve e geralmente encontram-se livres no espaço extracelular (BAZZI, 2016)



Figura 12. Felino acometido por esporotricose, apresentando lesão ulcerativa e crostosa, comprometendo o plano nasal, juntamente com a ponte ao espelho nasal, e a orelha esquerda.
Fonte: Bazzi (2016).

3.4. Tratamento

Os tratamentos disponíveis atualmente são os iodetos, os azólicos (cetoconazol, itraconazol), a anfotericina B e a terbinafina. Alternativamente, existem a terapia de calor (aplicada no local de inoculação do fungo) e a retirada cirúrgica das lesões (GREMIÃO et al, 2015).

3.4.1. Tratamento de escolha

Na atualidade, o fármaco de escolha para tratamento da esporotricose em felinos e humanos é o itraconazol, mas, por consequência do seu uso em ampla escala, casos isolados resistentes ao fármaco e casos de reincidência da doença, tanto em animais domésticos quanto em humanos, têm sido frequentes (MEINERZ, 2007).

O itraconazol é o fármaco com maior efetividade e segurança e tem ação 5-100 vezes mais potente que o cetoconazol (*in vitro*), apresentando mecanismo de ação majoritariamente fungistático, podendo ser fungicida (dependendo da dose e da vulnerabilidade do fungo). A administração de itraconazol deve ser feita, preferencialmente, junto à refeição, pois sua absorção depende do pH gástrico. Essa administração conjunta aumenta a biodisponibilidade do fármaco (de duas a três vezes mais) (PEREIRA et al, 2009).

Além da resistência ao fármaco, existem outras barreiras a serem transpostas para a eficácia do tratamento, como a dificuldade na administração medicamentosa por via oral em alguns animais, como felinos, que muitas vezes é dificultada devido à inexperiência do tutor ou responsável pela medicação, justamente pela própria inexistência de cooperação dos felinos, os quais não reagem bem à manipulação e/ou a substâncias que não lhes sejam agradáveis ao paladar. Outro agravante é o tratamento para esporotricose com itraconazol ter uma média de duração de no mínimo três meses de administração contínua e mais um mês após o desaparecimento das lesões (REIS, 2016).

Fatores como o extenso tempo de tratamento, juntamente à dificuldade de administração medicamentosa e ao confinamento dos animais, além do elevado valor investido, por vezes, resultam no abandono do tratamento pelos tutores e, em algumas situações, do próprio animal (REIS, 2016).

A dose recomendada de itraconazol é 5-10 mg/kg/12-24 horas até a cura clínica. No Brasil a única apresentação é em cápsulas (10, 25, 50 e 100mg). Itraconazol apresenta potencial hepatotóxico resultando em náuseas, vômitos e anorexia. Caso esses efeitos adversos ocorram, o fármaco deve ser administrado em doses menores ou em maiores intervalos de tempo. As enzimas de dano

hepático devem ser acompanhadas em exames periódicos e o uso de hepatoprotetores é recomendado (PEREIRA et al, 2009).

3.4.2. Tratamentos alternativos

A termoterapia local é um método indicado como alternativa a pacientes humanos hipersensíveis a tratamentos convencionais (iodetos, azólicos e terbinafina) e a gestantes. A alta temperatura inibe o crescimento de *S. schenckii* nas formas cutânea e cutâneo-linfática (PEREIRA et al, 2009). HONSE et al (2010) relataram a cura clínica de um gato com esporotricose apresentando lesão cutânea única, usando apenas a hipertermia local.

Existe atualmente um grande investimento - em pesquisas - para descoberta de novas substâncias naturais, com atividade sobre os fungos do complexo *Sporotrix schenckii*, as quais possam ser empregadas como coadjuvantes ou até substitutas no tratamento convencional da doença.

Waller (2015) observou o efeito do chá verde, utilizando o extrato obtido por infusão e decocção das folhas secas da *Camellia sinensis* L. , ambos a 10% e foi testado no modelo *in vitro* com resultados promissores. Ambos os extratos apresentaram atividade inibitória contra *S. brasiliensis* e *S. schenckii* nos valores de concentração inibitória mínima CIM entre $\leq 1,56$ e $6,25$ mg mL⁻¹, inclusive em isolados resistentes ao itraconazol, porém a atividade fungicida foi fraca ou não ocorreu.

Outras alternativas terapêuticas têm sido pesquisadas *in vitro*, incluindo o uso de derivados terpenóides, da classe dos óleos essenciais provenientes de algumas plantas (BRILHANTE et al, 2014); a miltefosina, um medicamento usado principalmente no tratamento da leishmaniose (BORBA-SANTOS et al, 2015); os análogos de miltefosina (BORBA-SANTOS et al, 2016a); e os inibidores de esteroil metiltransferase (BORBA-SANTOS et al, 2016b).

Outro estudo desenvolvido por Oliveira (2017), dentro dessa mesma perspectiva, avaliou o efeito antifúngico da planta *Vismia guianensis*, usada de forma empírica nas regiões Norte e Nordeste do Brasil com a finalidade de tratar

dermatomicoses. Ambos os extratos etanólicos, tanto das folhas quanto da casca, apresentaram atividade antifúngica relevante, no ensaio *in vitro* de microdiluição (CIM = 3,9 µg / mL) e juntamente ao modelo *in vivo* de infecção esplênica, com redução da carga de *S. schenckii*. Também se constatou uma diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias avaliadas, exceto o TNF α , apresentando juntamente estimulação de IL-10, resultando na constatação de um efeito anti-inflamatório adjuvante.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi determinar o perfil fitoquímico e avaliar a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico das folhas do MSC para possível utilização e formulação auxiliar no tratamento da esporotricose.

4.2. Objetivos Específicos

Obter um extrato hidroalcoólico das folhas do MSC;

Determinar o perfil fitoquímico do extrato hidroalcoólico do MSC, utilizando cromatografia em camada delgada (CCD);

Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do extrato hidroalcoólico do MSC sobre o fungo *Sporothrix* spp. utilizando técnica de microdiluição em placas de 96 poços com posterior plaqueamento em ágar Mycosel.

Elaborar uma formulação para uso tópico contendo o extrato de MSC e avaliação da atividade *in vivo*, em gatos acometidos de esporotricose, como tratamento auxiliar, caso a atividade antifúngica seja identificada.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Preparo do extrato hidroalcolico das folhas da *Momordica charantia*

5.1.1. Obtenção da droga vegetal seca

A planta *M. charantia* foi gentilmente cedida pelo Horto de Plantas Medicinais da Itaipu Binacional, coletada na cidade de Foz do Iguaçu, no estado do Paraná, Brasil, no mês de fevereiro de 2020. Após recebimento, o vegetal foi encaminhado para o Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná para identificação e catalogação. O material foi separado manualmente, sendo selecionadas as folhas para secagem. Primeiramente todo material foi submetido a um processo de secagem, em temperatura ambiente por 48h, e depois por segunda secagem em temperatura de 40C°, em estufa de convecção simples, por um período de 2h.

Após secagem, as folhas foram trituradas para obtenção da droga vegetal seca. Utilizou-se Moinho Multi Uso da marca Tecnal Equipamentos para Laboratório Ltda, modelo TE-631/2. O material seco triturado passou por um processo de peneiramento, sendo empregada uma peneira da marca Bertel Indústria Metalúrgica Ltda, apresentado abertura de 1 mm e mesh 16.

5.1.2. Processo de Extração

Para o processo de extração, empregou-se a proporção de 70:30, álcool absoluto P.A. da marca Êxodo Científica e água hidroalcolico respectivamente, utilizando 2000 mL de solvente para 500g de droga vegetal seca. Aplicado à quantidade de 104,76g de material seco, utilizou-se 396mL de álcool absoluto P.A. e 170mL de água, ou seja, a solução foi preparada na proporção de 1:4 de droga/solvente. A matéria seca e o solvente foram colocados em um béquer de vidro, envolto por papel alumínio, deixados em repouso pelo período de 72h. Após o período de descanso, realizou-se a extração por percolação, utilizando funis de percolação e aplicando três eluições de 600 ml, totalizando em 1800mL de extrato bruto, respeitando a proporção de 70:30 de álcool absoluto PA e água respectivamente no tempo total de quatro horas de extração.

5.1.3. Processo de Secagem do Extrato

A partir do extrato, realizou-se a rotaevaporação, utilizando rotaevaporador da marca Quimis, modelo Q-355J, na temperatura de 45°C, 40 RPM, pelo período de 11 horas e 50 minutos, resultado em 361mL de extrato fluido. Com o extrato já concentrado e sendo eliminado o etanol, foi realizada a liofilização, pelo período de 28 horas e 30 minutos, do material resultante, com auxílio do Liofilizador Freeze Dryer, marca JJ Científica LTDA – ME.

5.2. Perfil fitoquímico da *Momordica charantia* spp. utilizando Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

O material vegetal, proveniente do extrato hidroalcólico das folhas da planta *M. charantia*, foi caracterizado utilizando a técnica de cromatografia em camada delgada. As prospecções foram para os metabólitos secundários: flavonóides, alcaloides, taninos condensados, taninos hidrolisáveis e terpenos, evidenciados anteriormente na literatura (PATIL, 2011; AYENI, 2015; LEELAPRAKASH, 2011; CHOKKI, 2020).

Preparada a amostra analisada (extrato liofilizado), foi dissolvida em hexano, acetato de etila e álcool absoluto, aplicada sobre cromatoplaça de sílica-gel_{F254}, com auxílio de capilar de vidro. A solução da amostra e a solução referência foram aplicadas no mesmo sistema, deixando espaços de 1cm entre ambas e entre os limites da placa. A fase móvel foi adicionada a uma cuba cromatográfica, onde foi inserida a cromatoplaças preparada.

Na sequência, fechou-se o sistema com uma placa de Petri, esperando-se finalizar a eluição completa. Após o desenvolvimento dos cromatogramas, as placas foram removidas e deixadas ao ar para secar. Cada cromatograma foi revelado de três modos: 1) sob luz ultravioleta 254nm; 2) sob luz ultravioleta 366nm; 3) por nebulização com revelador químico específico. Neste caso, as placas foram ativadas com calor, após nebulização.

5.3. Preparo do extrato para diluição em microplaca

Um total de 400mg de extrato seco liofilizado de MSC foi diluído em 0,5mL de DMSO a 3% para auxiliar na dissolução.

5.4. Obtenção da cultura de *Sporothrix spp.*

O isolado de *Sporothrix spp.* (Figura 13) foi cedido pelo Laboratório de Saúde Única da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, a partir de um felino doméstico naturalmente infectado.

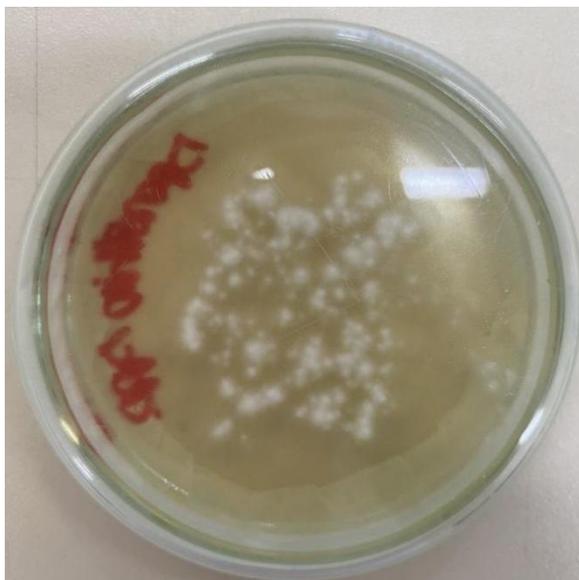


Figura 13. Isolado matriz de *Sporothrix spp.* cedido pela Universidade Federal do Paraná

O cultivo da cultura do *Sporothrix spp.* foi realizado por meio de repicagens em meio sólido Agar BBL Mycosel, incubado na estufa à 27C° pelo período de cinco dias. A partir da placa já repicada, realizou-se a inoculação do fungo, em placa contendo o meio estéril Batata Dextrose Agar, o qual, em seguida, foi incubado em estufa a 37C° pelo período de 48h.

Após o período de crescimento estimado, realizou-se o preparo do inóculo ao redor do fogo, sendo feito um raspado sobre a parte superficial do fungo e introduzido em um frasco contendo solução salina 3% estéril, até atingir a turbidez

de 1,0, na escala de McFarland, escala nefelométrica usada como padrão de turvação classificado de 0,5 á 10 , para padronização da solução. Essa solução padronizada foi utilizada para avaliar a atividade antifúngica do extrato de MSC.

5.5. Teste de Avaliação da Atividade Antifúngica do Extrato de *Momordica charantia* pelo método de Microdiluição em placa e posterior incubação

O experimento realizado foi adaptado a partir de método proposto por BONA et al (2014). O teste de avaliação da atividade antifúngica do extrato de MSC para determinação da sua concentração inibitória mínima foi realizado em capela de fluxo laminar, com auxílio microplaca de fundo chato para diluição, com tampa low 50 Corning, com 96 poços, micropipeta monocanal Basic 20-200 μ L K1 μ -200B Kasvi, sendo primeiramente introduzindo 70 μ L de caldo Muller Hinton estéril, preparado em dupla concentração, de acordo com as instruções do fabricante, em 17 colunas, em triplicata.

1) **Controle negativo (CN):** na primeira sequência de três poços na vertical, sendo cada poço uma replicata, utilizando somente o caldo de cultivo Muller Hinton estéril.

2) **Controle positivo (CP):** na segunda sequência de poços, foram adicionados 70 μ L do antifúngico itraconazol, diluído na proporção de 200mg para 2mL de água destilada estéril, em triplicata.

3) **Controle branco (CB):** na terceira sequência de poços, foram adicionados 70 μ L de DMSO a 3% em triplicata.

4) **Diluições do extrato (D2 a D14):** do quarto poço em diante, foram introduzidas as diluições do extrato, conforme Figura 14. O extrato inicial (Solução 1 - D1) foi realizado a partir do extrato liofilizado na concentração inicial de 400mg/mL em DMSO 3%. A Solução 1 não foi colocada em microplaca, mas adicionaram-se 70 μ L da solução do extrato D1, em poço contendo 70 μ L do caldo Muller Hinton em dupla concentração. Retiraram-se 70 μ L da mistura e transferiu-se o seu volume para o próximo poço. Este mesmo procedimento foi realizado

nas triplicatas e repetido para os seguintes poços em triplicatas, realizando-se a diluição em série, conforme demonstra na Tabela 03.

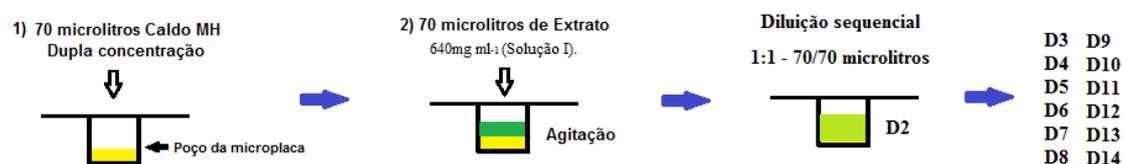


Figura 14: Esquema de diluição dos extratos de *M. charantia* e do caldo Muller Hinton para obtenção das diluições a serem testadas.

Tabela 4: Esquema de diluição do Extrato de *M. charantia* para teste.

Diluição	Concentração final de Extrato (mg/mL)
Inicial-D1	400
D2	200
D3	100
D4	50
D5	25
D6	12,5
D7	6,25
D8	3,125
D9	1,5625
D10	0,78125
D11	0,3906
D12	0,195
D13	0,0976
D14	0,0488

*Para a diluição, usaram-se partes iguais (70µL) de meio de cultivo dupla concentração e de extrato de cada solução anterior para produção da diluição seguinte.

Após a distribuição de todas as diluições na microplaca, foi realizada a inoculação de 70µL de inóculo do fungo ajustado a 1,0 da escala McFarland, em cada poço. Somente no controle negativo não foi adicionado inóculo. No teste

Branco, foi adicionado o inóculo para verificar se o DMSO usado como diluente teve efeito inibidor sobre o cultivo, como mostra na Figura 15 e 16.

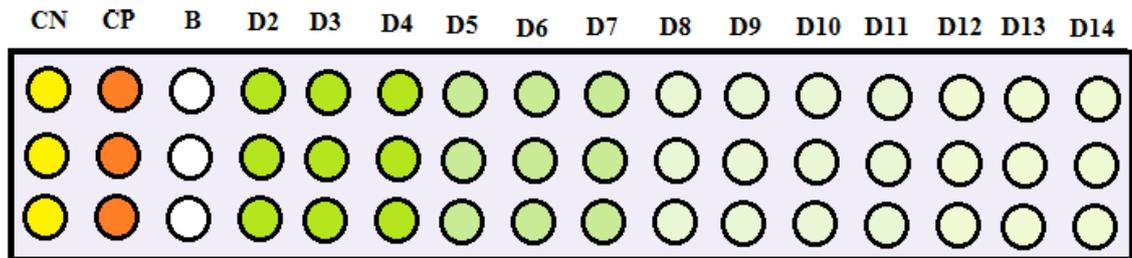


Figura 15: Esquema de distribuição dos extratos na microplaca. (Fonte: Dados do autor)



Figura 16: Modelo de Microplaca Marca Corning estéril, transparente de 96 poços com fundo chato, onde o teste de microdiluição foi realizado. (Fonte: Corning.com)

Após inoculação, a microplaca, modelo da marca Corning estéril, transparente de 96 poços com fundo chato, foi devidamente fechada e incubada a 37C° pelo período de 72 horas. Após incubação, o conteúdo de cada poço foi incubado em placa contendo ágar Mycosel para verificação do crescimento ou não do fungo.

Após a incubação das placas de Ágar Mycosel, aquelas diluições que não apresentassem crescimento da cultura de *Sporothrix spp* na placa seriam

consideradas como dotadas de atividade antifúngica, uma vez que teriam sido inibidas pelo extrato naquela concentração respectiva. A concentração mínima de extrato de MSC capaz de inibir a cultura de *Sporothrix spp.* seria a concentração mínima inibitória a ser considerada em proposta de posterior aplicação em produto fitoterápico.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Obtenção da droga vegetal seca

A planta *M. charantia* usada nesta pesquisa foi identificada, catalogada e encontra-se depositada no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná sob o nº UNOP 010892.

A droga vegetal seca obtida a partir da amostra de MSC em sua forma triturada e peneirada está apresentada na Figura 17. Toda massa de droga vegetal seca obtida num total de 140,4g foi utilizada nesta pesquisa.



Figura 17. *M. charantia* após ter passado pelo processo de secagem, trituração e peneiramento (Fonte: Dados do autor).

A droga vegetal seca foi submetida a processo de extração por percolação com a solução hidroalcoólica, conforme mostrado na Figura 18. Toda massa de droga vegetal seca obtida foi utilizada no processo de percolação.



Figura 18. Extração por percolação. Ao lado esquerdo, funil de vidro de percolação e frasco para recepção e armazenamento do extrato hidroalcoólico e, ao lado direito, béquer contendo material seco e solvente. (Fonte: Dados do autor)

Após a extração por percolação, foi obtida a quantidade de 1800mL de extrato bruto de MSC, hidroalcoólico (Figura 19), respeitando a proporção de 70:30 de álcool absoluto PA e água.



Figura 19. Extrato vegetal hidroalcoólico da *M. charantia*. (Fonte: dados do autor).

6.2. Processo de secagem do extrato

O processo de de rotaevaporação de 1800mL de extrato bruto de MSC, após 11 horas e 50 minutos de procedimento (Figura 20), resultou em 361mL de extrato fluido concentrado, que foi levado em seguida à liofilização.



Figura 20. A) Rotaevaporador da marca Quimis, modelo Q-355J, em processo de uso, para a primeira etapa de secagem do extrato. B) Extrato fluido rotaevaporado. (Fonte: Dados do autor)

O extrato fluido rotaevaporado passou por um processo de liofilização (Figura 21a), pelo período de 28 horas e 30 minutos, resultando em 33,09g de material liofilizado (extrato liofilizado) (Figura 21b).

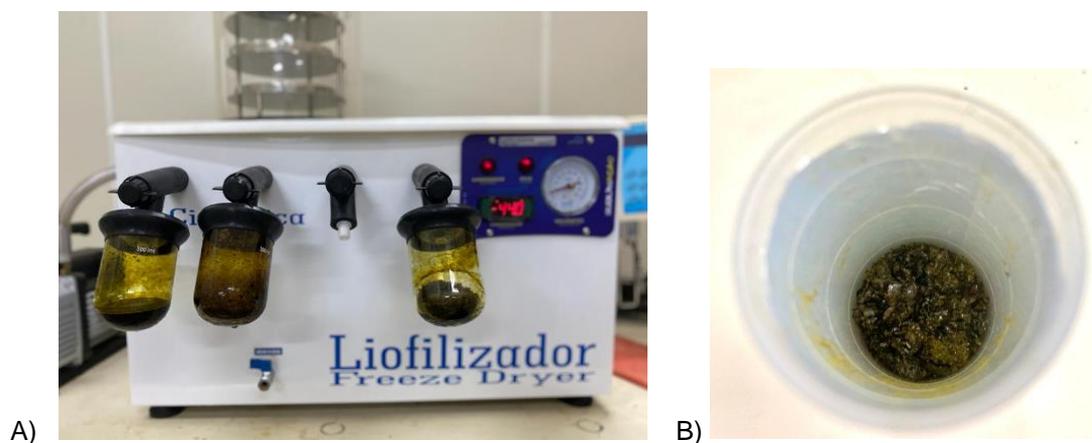


Figura 21. A) Processo de liofilização do extrato fluido rotaevaporado. **B)** Extrato liofilizado, obtido após processo de liofilização do extrato fluido rotaevaporado da *M. charantia*. (Fonte: Dados do autor)

6.3. Perfil fitoquímico da *Momordica charantia* spp. utilizando Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A avaliação do perfil fitoquímico do extrato hidroalcoólico de folhas de MSC indicou a presença de vários metabólitos secundários, os quais estão descritos na Tabela 4. Os sistemas selecionados tiveram como base a literatura.

Tabela 5. Prospecção dos metabólitos secundários do extrato liofilizado.

Metabólitos	Fase móvel	Proporção	Revelador	Presença
Flavonoide	AcOEt ¹ – acetona - HCOOH ³ – água	06:02:01:01	amônia	+
Terpeno	Hexano –AcOEt ¹	09:01	vanilina	+
Alcaloide	AcOEt ¹ – metanol	09:01	<i>Draguendorf</i>	+/-
Tanino 1 hidrolisáveis	AcOEt ¹ -AcOH ² – água	09:05:05	cloreto férrico	+
Tanino 2 Condensados	AcOEt ¹ -AcOH ² – água	09:05:05	vanilina – FCl ⁴	-

Legenda: 1 Acetato de Etila, 2 Ácido acético, 3 Ácido fórmico, 4 Ácido clorídrico.

6.3.1. Flavonoides

Para o sistema de flavonoide, utilizou-se como fase móvel acetato de etila: acetona: ác. acético:água (06:02:01:01); como revelador foi utilizado vapor de amônia (HARBORNE, 2013).

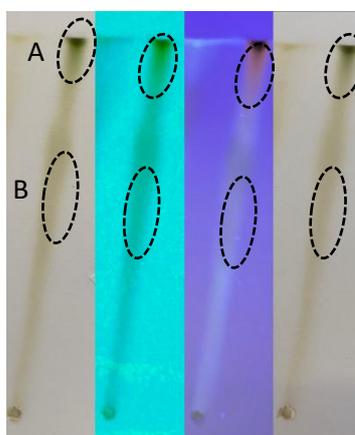


Figura 22. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita: placa não revelada exposta à luz natural; placa exposta à luz UV254nm; placa exposta à luz UV 364nm; e placa revelada com NH₃. Fonte: Dados do autor (2021).

A partir da análise do cromatograma (Figura 22), no sistema de CCD utilizado, pode-se sugerir a presença de flavonoides glicosídeos, uma vez que as manchas principais, A ($R_f \sim 1$) e B ($R_f \sim 0,7$), apresentaram fluorescência intensificada após revelação com vapor de amônia. Os valores de R_f obtidos para este sistema de eluente polar, juntamente ao fato de as manchas fluorescentes haverem ficado retidas no ponto de aplicação no sistema aplicado para terpenos (Figura 23), corroboram essa hipótese, pois, se fossem flavonoides do tipo genina, deveriam eluir em hexano:AcOEt (9:1).

Os valores encontrados para R_f e a fluorescência apresentada, quando comparados à literatura, supõem a existência de flavonóides glicosídeos, provavelmente dos tipos 3-arabinosídeo, 3-xilosídeo ou 3-arabinosídeo, no entanto, estudos mais aprofundados são necessários para sua confirmação (HARBORNE, 2013).

6.3.2. Terpenos

Para o sistema cromatográfico empregado na caracterização de terpenos, utilizou-se hexano: acetato de etila (9:1) como fase móvel; e como revelador, a vanilina clorídrica (figura 23).

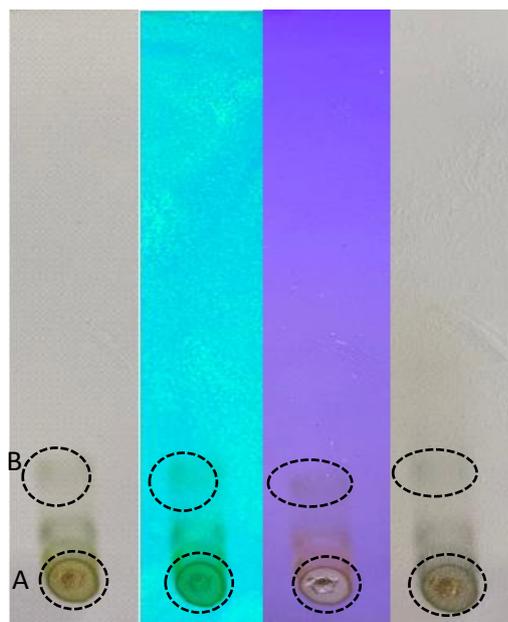


Figura 23. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita: placa não revelada exposta à luz visível; placa exposta à luz UV 254nm; placa exposta à luz UV 364nm; e placa revelada com vanilina clorídrica. Fonte: Dados do autor (2021).

Levando em consideração a utilização de sistemas apolar e contando com uma maior quantidade de substâncias retidas no ponto de aplicação, sugere-se a existência de substâncias apolares do tipo terpenoidal em $R_f \sim 0,2$.

6.3.3. Alcaloides

Para o sistema cromatográfico aplicado na caracterização dos alcaloides, utilizou-se hexano:acetato de etila:amônia (70:25:5), para fase móvel. Como padrão revelador específico para alcaloides, adotou-se o reagente *Dragendorff* (WAGNER, 1996).

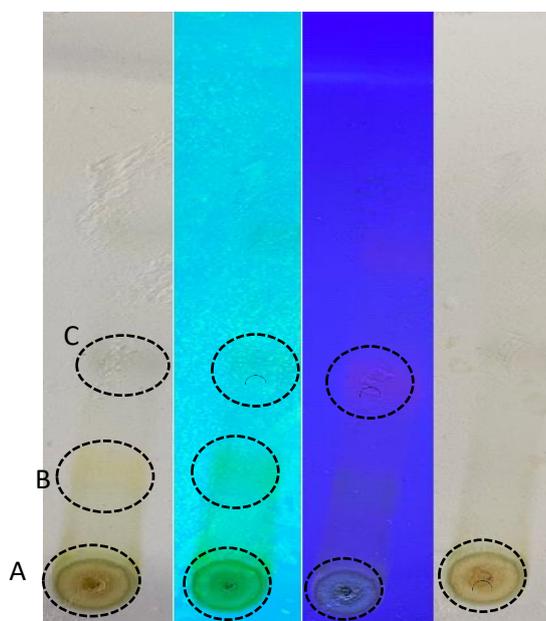


Figura 24. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita: placa não revelada exposta à luz visível; placa exposta à luz UV 254nm; placa exposta à luz UV 364nm; e placa revelada com Dragendorff. Fonte: Dados do autor (2021).

Observa-se a existência de substâncias que foram reveladas após a aplicação do reagente Dragendorff (Figura 24), sugerindo existir em tal extrato substâncias nitrogenadas. Os valores de R_f obtidos para manchas B e C foram $R_f \sim 0,2$, e $0,4$, respectivamente. Manchas alaranjadas são sugestivas da presença de alcaloide quando revelados com Dragendorff, porém, as colorações

foram inconclusivas, fazendo-se necessária a repetição do teste com as aplicações mais concentradas, ou utilizando-se de outro revelador.

6.3.4. Taninos

6.3.4.1. Sistema 01

Para o primeiro sistema de taninos, utilizou-se acetato de etila: ácido fórmico: água (90:5:5) como para fase móvel. O revelador utilizado foi o cloreto férrico 1% (p/v). Esse sistema selecionado é o mesmo aplicado na monografia da Aroeira, portanto, pode-se fazer uma discussão comparativa com relação aos taninos presentes, quando se utiliza do mesmo padrão, ácido gálico, como referência (ANVISA, 2019).

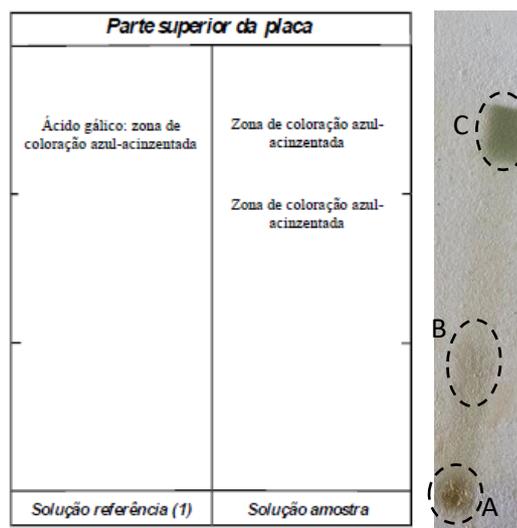


Figura 25. As imagens estão organizadas da esquerda para direita: cromatograma representativo da Aroeira (*Farmacopeia Brasileira*); placa revelada com cloreto férrico. Fonte: Dados do autor (2021).

Os valores de Rf obtidos para as manchas majoritárias foram: B R~0,3 e C Rf ~ 0,6. A mancha C (Figura 25) apresentou uma leve coloração azul-acinzentada, em um Rf comparativo ao do ácido gálico, segundo à literatura. Pode-se então inferir a presença de taninos hidrolisáveis na amostra analisada (ANVISA, 2019).

6.3.4.2. Sistema 02

Para o segundo sistema de taninos, utilizou-se acetato de etila:ácido fórmico:água (90:5:5), para fase móvel. No mesmo sistema aplicado anteriormente, porém, utilizou-se vanilina clorídrica como revelador.

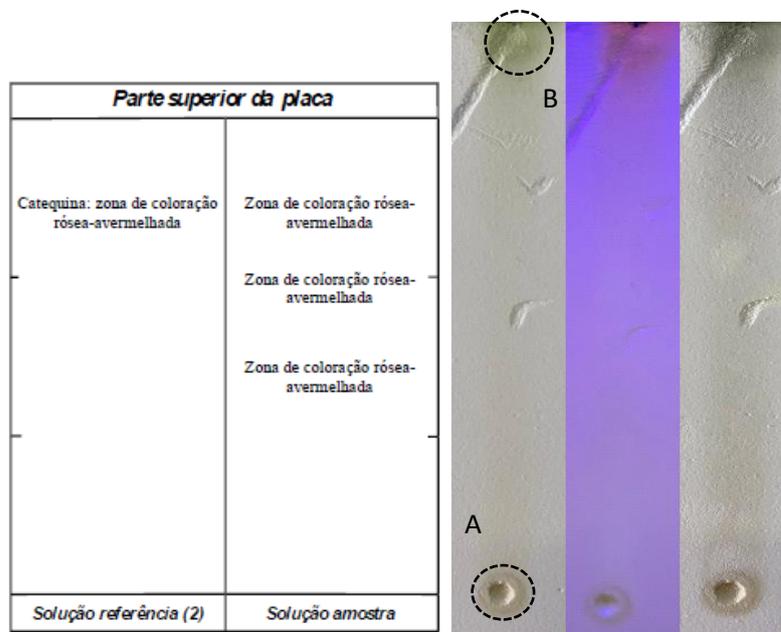


Figura 26. As imagens estão organizadas no sentido da esquerda para a direita: Cromatograma representativo da Aroeira (*Farmacopeia Brasileira*); placa revelada com vanilina exposta à luz visível; placa exposta à luz UV 364nm; placa revelada com vanilina clorídrica. Fonte: Dados do autor (2021).

Neste sistema, a comparação à literatura seria realizada considerando a presença ou ausência de catequina, que apareceria num $R_f \sim 0,8$ e revelaria coloração rosada, com vanilina clorídrica. Isso indicaria a presença de taninos condensados. No entanto, tal mancha não foi observada (Figura 26) no cromatograma da amostra analisada. Além disso, muitas substâncias foram eluídas juntamente à frente, indicando predominância de compostos apolares.

A partir dos testes em CCD, pode-se inferir a presença de algumas classes de metabólitos secundários. Porém, os cromatogramas deverão ser repetidos em outros sistemas e comparados a padrões específicos para a confirmação de presença ou ausência desses compostos.

6.4. Obtenção de cultura de *Sporothrix spp.*

A cultura do *Sporothrix* spp. gentilmente cedida pela UFPR foi cultivada em meio sólido BBL Mycosel Agar e incubada em estufa à 27°C pelo período de cinco dias (Figura 27A). A cultura repicada em Ágar Batata Dextrose e incubada a 37°C pelo período de 48h foi inoculada por meio de raspado da parte superficial do fungo, sendo padronizada por meio de inserção do composto em frasco de solução salina 3% estéril até turbidez de 1,0, na escala de McFarland (Figura 27B), sendo essa solução utilizada para avaliar a atividade antifúngica do extrato de MSC.

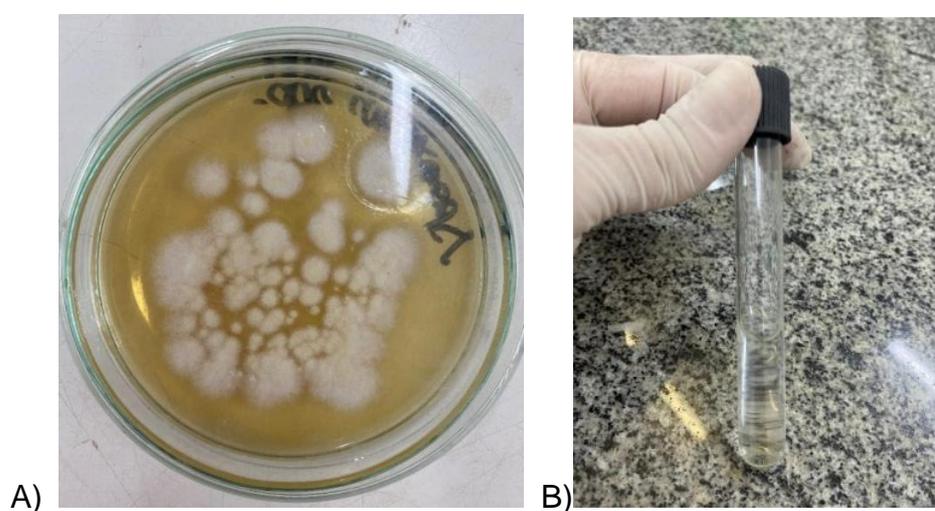


Figura 27. A) Isolado de *Sporothrix* spp., semeada em meio sólido Ágar BBL Mycosel, após o período de cinco dias na estufa à 27°C. B) Inóculo de *Sporothrix* spp. em solução salina 3% estéril com turbidez de 1,0 na escala de McFarland (Fonte: Dados do autor).

6.5. Teste de Avaliação da Atividade Antifúngica do Extrato de *Momordica charantia* pelo método de Microdiluição em placa e posterior incubação

A avaliação da atividade antifúngica do extrato de *M. charantia*, pelo método de Microdiluição em placa e posterior incubação, foi realizada para as 14 diluições estabelecidas. Os resultados da avaliação estão na Tabela 5.

Tabela 6: Resultado da avaliação da atividade antifúngica do extrato de *M. charantia* nas diluições avaliadas, controle negativo, positivo e prova em branco.

Amostra	Extrato diluído (mg/mL)	Crescimento após plaqueamento	Atividade Antifúngica
CN	--	-	Ausente
CP (Itraconazol)	--	-	Presente
CB	--	+	Ausente
Inicial-D1	400	+	Ausente
D2	200	+	Ausente
D3	100	+	Ausente
D4	50	+	Ausente
D5	25	+	Ausente
D6	12,5	+	Ausente
D7	6,25	+	Ausente
D8	3,125	+	Ausente
D9	1,5625	+	Ausente
D10	0,78125	+	Ausente
D11	0,3906	+	Ausente
D12	0,195	+	Ausente
D13	0,0976	+	Ausente
D14	0,0488	+	Ausente

CN: controle negativo (sem inibidor); CP: Controle positivo (Itraconazol); CB: Controle Branco (DMSO).
 +: Crescimento evidenciado na placa de ágar Mycosel; - : crescimento ausente na placa de Ágar Mycosel.

Considerando os resultados apresentados, o extrato hidroalcolico de *M. charantia* produzido nas condições estabelecidas nesta pesquisa e avaliado nas concentrações D2 a D14 não apresentou atividade antifúngica frente ao *Sporothrix spp*, por meio do método de microdiluição em placas de 96 poços, adaptado com posterior inoculação em ágar BBL Mycosel.

A ausência de atividade do extrato obtido impossibilitou realizar uma das etapas previstas de utilização do referido extrato para possível aplicação com o desenvolvimento de formulação fitoterápica inovadora.

Esses resultados foram similares àqueles descritos por Prabhakar (2008), que avaliou a atividade antifúngica do extrato etanólico das folhas do MSC, pelo método de difusão em disco, em relação a quarenta e seis cepas isoladas de *Candida sp.*, proveniente de setenta e cinco pacientes com lesões orais, atendidos nos diferentes departamentos do Rajah Muthiah Medical College e Hospital. Nesta pesquisa, não foi encontrado atividade antifúngica no extrato testado.

O autor supõe que, por se tratar de um extrato bruto, não padronizado, nem isolado e o MSC, sendo uma planta que pode sofrer variações em sua

composição, dependendo do genótipo, da área de cultivo, da época de colheita, dos métodos de processamento, podem exercer influência sob os resultados. Tais considerações podem também estar associadas a esta pesquisa, uma vez que também neste trabalho foi usado o extrato bruto das folhas de MSC.

Em oposição aos resultados anteriores, o autor Mwambete (2009), que avaliou os extratos brutos metanólico e de éter de petróleo das folhas e frutos do MSC, por meio do método de difusão em disco, testando seu efeito frente às cepas padrão de *Candida albicans* e quatro cepas clínicas de *Cryptococcus neoformans*, encontrou atividade antifúngica moderada em relação à cepa de *Candida albicans*, porém não apresentou frente ao *Cryptococcus neoformans*.

O autor supôs que a presença de impurezas nos extratos brutos podem ter diminuído a atividade antimicrobiana deles, ou a existência de propriedade farmacológica antagônica, por não ter sido realizado nenhum processo de purificação dos ativos. Nessa pesquisa, as impurezas do extrato também não foram removidas, o que pode ter contribuído para a ausência de identificação de atividade antimicrobiana, mesmo tendo sido identificada a presença de metabólitos secundários no extrato avaliado.

Corroborando com os resultados vistos anteriormente, o autor Guarniz (2019) observou um fraco efeito antifúngico dos extratos de acetona e nenhuma ação do extrato hidroalcolico, ambos das folhas, frutos e sementes do MSC, em frente à cepa de *Candida albicans*, testados em microdiluição em caldo.

Em concordância com o autor Prabhakar (2008), pode-se dizer que fatores como variações nas estações das coletas, clima, disponibilidade de água, intensidade de radiação solar, disponibilidade de nutrientes, poluição atmosférica, danos mecânicos e ataques de patógenos são fatores relevantes que influenciam na composição e nos níveis de metabólitos secundários, os quais paralelamente podem ter influenciado tais resultados.

A presença de metabólitos secundários ativos e a possibilidade de que tais metabólitos apresentem diversas atividades indica a necessidade de trabalhos futuros em que a retirada de interferentes, associada à purificação de grupos específicos de metabólitos que possam ser avaliados isoladamente, seria uma

possibilidade de se pesquisar de forma mais específica a atividade antifúngica dessas substâncias.

6. Conclusão

O extrato hidroalcoólico bruto obtido a partir de folhas de *M. charantia*, preparado na proporção de 1:4 de droga seca/solvente em solvente álcool/água na proporção de 70:30, testado em 14 microdiluições seriadas entre 200mg/mL e 0,0488mg/mL, utilizando método de avaliação de atividade antifúngica em microplacas de 96 poços, adaptada com inoculação em ágar BBL Mycosel, não demonstrou atividade inibitória sobre o fungo *Sporothrix* spp. nas condições estabelecidas e testadas nesta pesquisa.

A separação de possíveis substâncias bioativas com evidência de atividade antifúngica descritas em literatura e a realização de testes de inibição, a partir do uso dessas substâncias isoladas no futuro, podem trazer resultados mais promissores que podem possibilitar o desenvolvimento de formulações fitoterápicas capazes de inibir tais fungos que foram objetos deste estudo, entre outros, e serem auxiliares no tratamento da esporotricose e de outras antropozoonoses, tanto em animais quanto em humanos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-TAWFIQ, J. A.; WOOLS, K. K. **Disseminated sporotrichosis and *Sporothrix schenckii* fungemia as the initial presentation of human immunodeficiency virus infection.** *Clinical Infectious Diseases*, 26 (6), 1403-1406, 1998.

ANILAKUMAR, K. R.; KUMAR, G. P.; ILAIYARAJA, N. **Nutritional, pharmacological and medicinal properties of *Momordica charantia*.** *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4 (1) 75-83, 2015.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira.** 6ªed. v.1., 2019.

AYENI, M. J., OYEYEMI, S. D., KAYODE, J., & PETER, G. P. **Phytochemical, proximate and mineral analyses of the leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Momordica charantia* L.** *Journal of Natural Sciences Research*, 5(6), 99-107, 2015.

BAO, B., CHEN, Y. G., ZHANG, L., NA Xu, Y. L., WANG, X., LIU, J., & QU, W. ***Momordica charantia* (Bitter Melon) reduces obesity-associated macrophage and mast cell infiltration as well as inflammatory cytokine expression in adipose tissues.** *PLoS One*, 8 (12), e84075, 2013.

BASIT, A., MAJEED, M. Z.; AHMED, S.; GOHAR, A.; JAVAID, M. **In Situ Evaluation of Different Refractive Color Sheets and Reduced-Risk Insecticide Formulation Against *Bactrocera cucurbitae* (Diptera tephritidae) on Bitter Gourd (*Momordica charantia* L.).** *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 31(2), 166-172, 2018.

BARRETO, N. B. M. **Esporotricose no Distrito Federal: descrição de casos..** *Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)*.56, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

BARROS, M.B.D.L., SCHUBACH, A.D.O., DO VALLE, A.C.F., GALHARDO, M.C.G., CONCEIÇÃO-SILVA, F., SCHUBACH, T.M.P. & CONCEIÇÃO, M.J. **Epidemia de esporotricose transmitida por gato no Rio de Janeiro, Brasil: descrição de uma série de casos.** *Clinical Infectious Diseases* , 38 (4), 529-535, 2004.

BAZZI, T., MELO, S. M. P. D., FIGHERA, R. A., & KOMMERS, G. D. **Características clínico-epidemiológicas, histomorfológicas e histoquímicas da esporotricose felina.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36 (4), 303-311, 2016.

BHATTACHARYA, S., MUHAMMAD, N., STEELE, R., PENG, G., RAY, R. B. **Immunomodulatory role of bitter melon extract in inhibition of head and neck squamous cell carcinoma growth.** *Oncotarget*, 7(22), 33202-33209, 2016.

BOMFIM, C. M. I. **Atividade antifúngica de extratos de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx.** *Dissertação (Mestrado em Agronomia) Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 73, São Paulo, 2005,*

BORBA-SANTOS, L. P., VISBAL, G., GAGINI, T., RODRIGUES, A. M., DE CAMARGO, Z. P., LOPEZ-BEZERRA, L. M., ... & ROZENTAL, S. **24-Sterol Methyltransferase plays an important role in the growth and development of *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis*.** *Frontiers in Microbiology*, 7 (1), 311-320, 2016.

BORBA-SANTOS, L. P. ISHIDA, K., CALOGEROPOULOU, T., SOUSA, W. D., & ROZENTAL, S. **Adamantylidene-substituted alkylphosphocholine TCAN26 is more active against *Sporothrix schenckii* than miltefosine.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111 (8), 523-527, 2016.

BORBA-SANTOS, L. P. GAGINI, T., ISHIDA, K., DE SOUZA, W., & ROZENTAL, S. **Miltefosine is active against *Sporothrix brasiliensis* isolates with in vitro low susceptibility to amphotericin B or itraconazole.** *Journal of Medical Microbiology*, 64 (4), 415-422, 2015.

BOURINBAIAR, ALDAR S.; LEE-HUANG, SYLVIA. **The Activity of Plant-Derived Antiretroviral Proteins MAP30 and GAP31 against *Herpes simplex Virus* Infection in Vitro.** *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 219 (3), 923-929, 1996.

BRILHANTE, R. S. N., SILVA, N. F., MARQUES, F. J. D. F., CASTELO-BRANCO, D. D. S. C. M., LIMA, R. A. C. D., MALAQUIAS, A. D. M., ... & ROCHA, M. F. G.. **In vitro inhibitory activity of terpenic derivatives against clinical and environmental strains of the *Sporothrix schenckii* complex.** *Sabouraudia*, 53 (2), 93-98, 2014.

CELOTO, M. I. B. **Atividade antifúngica de extratos de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae*, (Berk. & Curtis) Arx., 74f.** *Dissertação (Mestrado em Agronomia).* Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2005.

CHAN, W. Y.; TAM, P. P. L.; YEUNG, H. W. **The termination of early pregnancy in the mouse by β -momorcharin.** *Contraception*, 29 (1), 91-100, 1984.

CHOKKI, M., ZONGO, C., DAH-NOUVLESSOUNON, D., CUDALBEABU, M., NOUMAVO, P., GHINEA, I. O.; BABA-MOUSSA, F. **Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Momordica charantia* L. and *Morinda lucida* Benth extracts from Benin.** *African Journal of Microbiology Research*, 14 (8), 426-435, 2020.

CORDEIRO, L. N. **Efeito in vitro de extratos etanólicos da raiz de jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e das folhas de melão-de-São-Caetano**

(*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos... *Dissertação (Mestrado em Zootecnia)*. 67f. Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2008.

DOS SANTOS COELHO, M. O.; DE ALMEIDA BERBERT, C.; BORGES, L. L. ***Momordica charantia* and breast cancer: An in silico approach.** *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, 19 (6), 2050015-2050021, 2020.

DIAS, N. M., OLIVEIRA, M. M. E., PORTELA, M. A., SANTOS, C., ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M., & LIMA, N. **Sporotrichosis caused by *Sporothrix mexicana*, Portugal.** *Emerging Infectious Diseases*, 17 (10), 2011.

DÍAZ, ISMAEL A. CONTI. **Epidemiology of sporotrichosis in Latin America.** *Mycopathologia*, 108 (2), 113-116, 1989.

DUNSTAN, R. W., LANGHAM, R. F., REIMANN, K. A., & WAKENELL, P. S. **Feline sporotrichosis: a report of five cases with transmission to humans.** *Journal of the American Academy of Dermatology*, 15 (1), 37-45, 1986.

FERREIRA, C. P. **Descrição de aspectos clínicos e laboratoriais de pacientes com esporotricose e leishmaniose tegumentar americana, com ênfase em mulheres grávidas.** *Tese (Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas)*. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

FONSECA, Z. A. A. de S. **Avaliação da toxicidade e atividade anti-helmíntica de *Momordica charantia*.** *Tese (Doutorado em Ciência Animal)*. 77 f. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2016

GAIÃO, C. K. T.; MELO, D. F.; SILVA, L. M.; SILVA, W. C.; ALBUQUERQUE, M. C. **Avaliação e classificação da contra-indicação de plantas medicinais usadas popularmente na interferência reprodutiva.** *In: II COMBRACIS – CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, 2017*, Campina Grande. Anais... Campina Grande: Paraíba. 1-12, 2017.

GONG, Z; ZHANG, J; XU, Y. **Metabolomics reveals that *Momordica charantia* attenuates metabolic changes in experimental obesity.** *Phytotherapy Research*, 296-302, (31), 2017.

GREMIÃO, I. D. F. et al. **Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects.** *Medical Mycology*, 53 (1), 15-21, 2015.

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. **Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review.** *Journal of Ethnopharmacology*. (93), 1, 123-132, 2004.

GUARNIZ, W. A. S., CANUTO, K. M., RIBEIRO, P. R. V., DOUBOU, H. V., MAGALHAES, K. N., SÁ, K., ... & BANDEIRA, M. A. M. ***Momordica charantia* L.**

variety from northeastern Brazil: analysis of antimicrobial activity and phytochemical components. *Pharmacognosy Journal*, 11(6), 2019.

GURBUZ, I.; AKYUZ, Ç.; YESILADA, E.; SENER, B. **Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats.** *Journal of Ethnopharmacology*, (71), 2000.

HARBORNE, J. B.; MARBY, H.; MARBY, T. J. **The flavonoids.** *Springer*, 2013.

HONSE, C.; PEREIRA, S. A., GREMIÃO, I. D. F. **Use of local hyperthermia to treat sporotrichosis in a cat.** *The Veterinary Record*, 166 (7), 208-9, 2010.

JIA S, SHEN M, ZHANG F, XIE J **Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities.** *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (12) 2017.

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 Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2, (1), 95-100, 2010.

KWON-CHUNG, K. J. **Comparison of isolates of *Sporothrix schenckii* obtained from fixed cutaneous lesions with isolates from other types of lesions.** *Journal of Infectious Diseases*, 4, (139), 424-431, 1979.

LAGARTO, A., COURET, M., GUERRA, I., & López, R. **Toxicidad aguda oral y ensayos de irritación de extractos acuoso e hidroalcohólico de *Momordica charantia* L.** *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(3), 0-0, 2008.

LEE-HUANG, S., HUANG, PL, CHEN, HC, HUANG, PL, BOURIMBAIAR, A., HUANG, HI, & KUANG, HF. **Anti-HIV and anti-tumor activities of recombinant MAP30 from bitter melon.** *Gene*, 161 (2), 151-156, 1995.

LEELAPRAKASH, G., ROSE, J. C., GOWTHAM, B. M., JAVVAJI, P. K., & PRASAD, S. A. **In vitro antimicrobial and antioxidant activity of *Momordica charantia* leaves.** *Pharmacophore*, 2(4), 244-252, 2011.

LIAW, C. C., HUANG, H. C., HSIAO, P. C., ZHANG, L. J., LIN, Z. H., HWANG, S. Y., & KUO, Y. H. **5 β , 19-epoxycucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* and their anti-inflammatory and cytotoxic activity.** *Planta medica*. 01, (81), 62-70, 2015.

LIMA, M. N. B. **Extração de compostos fenólicos das folhas de *Momordica charantia* L. e avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica dos extratos orgânicos.** *Monografia (Graduação em Farmácia) – Departamento de Farmácia*, 72f, Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018.

LUTZ, A.; SPLENDORE, A. **Sobre uma micose observada em homens e ratos: contribuição para o conhecimento das assim chamadas esporotricoses.** *Rev Med*, (10), 443-50, 1907.

MAHMOUD, M. F.; EL-ASHRY, F. E. Z. Z.; EL-MARAGHY, N. N.; FAHMY, A. **Studies on the antidiabetic activities of *Momordica charantia* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats.** *Pharmaceutical Biology*, 1, (55), 758-765, 2017.

MAHAJAN, V. K. **Sporotrichosis: an overview and therapeutic options.** *Dermatology research and practice*, (2014), 2014.

MARIMON, R., CANO, J., GENÉ, J., SUTTON, D. A., KAWASAKI, M., & GUARRO, J. ***Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest.** *Journal of Clinical Microbiology*, 45(10), 3198-3206, 2007.

MARIMON, R., GENÉ, J., CANO, J., & GUARRO, J. ***Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin.** *Sabouraudia*, 46(6), 621-625, 2008.

MEINERZ, A. R. M., NASCENTE, P. D. S., SCHUCH, L. F. D., CLEFF, M. B., SANTIN, R., BRUM, C. D. S., ... & MELLO, J. R. D. B. **Suscetibilidade in vitro de isolados de *Sporothrix schenckii* frente à terbinafina e itraconazol.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1, (40), 60-62, 2007.

MENG, Y., LIU, S., LI, J., MENG, Y., & ZHAO, X. **Preparation of an antitumor and antiviral agent: chemical modification of α -MMC and MAP30 from *Momordica charantia* L. with covalent conjugation of polyethylene glycol.** *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3133, 2012.

MONTES, R. A.; SOUZA, R. O.; MORAES, S. R.; MIRANDA, M. G.; FRIEDE, R.; LIMA, A. L. S. **Qualidade microbiológica de drogas vegetais utilizadas na fitoterapia popular.** *Revista Espacios (Caracas)* 11, (38), 12-20. 2017.

MIRANDA, L. H., CONCEIÇÃO-SILVA, F., QUINTELLA, L. P., KURAIEM, B. P., PEREIRA, S. A., & SCHUBACH, T. M. **Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation.** *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 36(4), 425-432, 2013.

MWAMBETE, K. D. **The in vitro antimicrobial activity of fruit and leaf crude extracts of *Momordica charantia*: A Tanzania medicinal plant.** *African health sciences*, v. 9, n. 1, p. 34-39, 2009.

NERURKAR, P. V., JOHNS, L. M., BUESA, L. M., KIPYAKWAI, G., VOLPER, E., SATO, R., & NERURKAR, V. R. ***Momordica charantia* (bitter melon) attenuates high-fat diet-associated oxidative stress and neuroinflammation.** *Journal of Neuroinflammation*, 8(1), 1-19, 2011.

NETO, A. M. D.; MARINHO, M. L.; LEITE, D. P. S. B. M.; OLIVEIRA, M. G.; LIMA, E. R. L. **Estudo do efeito acaricida do melão de São Caetano (*Momordica charantia*) contra ácaros do tipo *Psoroptes ovis* e *Sarcoptes scabiei*.** *Ciência Animal*, 2, (27), 42-4, 2017.

OLIVEIRA, A. H. DE OLIVEIRA, G. G., NETO, F. C., PORTUONDO, D. F., BATISTA-DUHARTE, A., & CARLOS, I. Z. **Anti-inflammatory activity of *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. extracts and antifungal activity against *Sporothrix schenckii*.** *Journal of Ethnopharmacology*, (195), 266-274, 2017.

PADHYE, A. A., KAUFMAN, L., DURRY, E., BANERJEE, C. K., JINDAL, S. K., TALWAR, P., & CHAKRABARTI, A. **Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix schenckii* var. *luriei* in India.** *Journal of Clinical Microbiology*, 30(9), 2492-2494, 1992

PATIL, S. A.; PATIL, S. B. **Toxicological studies of *Momordica charantia* Linn. Seed extracts in male mice.** *Int J Morphol*, 29.4: 1212-1218, 2011.

PEREIRA, S. A., SCHUBACH, T. M. P., GREMIÃO, I. D. F., DA SILVA, D. T., FIGUEIREDO, F. B., DE ASSIS, N. V., & PASSOS, S. R. L. **Aspectos terapêuticos da esporotricose felina.** *Acta Scientiae Veterinariae*, 37 (4), 17-25, 2009.

PIRES, C. Revisão de literatura: esporotricose felina. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, 1, 15, 16-23, 2017.

PRABHAKAR, K., KUMAR, L. S., RAJENDRAN, S., CHANDRASEKARAN, M., BHASKAR, K., & KHAN, A. S. **Antifungal activity of plant extracts against *Candida* species from oral lesions.** *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 70(6), 801, 2008.

QIN, J.; ZHANG, J. **Sporotrichosis. Images in Clinical Medicine.** *New England Journal of Medicine*, 771, (380), 2019.

RAISH, M. ***Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, hyperlipidemia, inflammation, and apoptosis during myocardial infarction by inhibiting the NF- κ B signaling pathway.** *International Journal of Biological Macromolecules* n. 97: p. 544-551. 2017.

RAISH, M.; AHMAD, A.; ANSARI, M. A.; ALKHARFY, K. M.; ALJENOABI, F. I.; JAN, B. L.; AL-MOHIZEA, M. A.; KHAN, A.; ALI, N. ***Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, inflammation, and apoptosis in ethanol-induced gastritis in mucosa through NF- κ B signaling pathway inhibition.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 193-199. 2018

RAJAMOORTHY, A., SHRIVASTAVA, S., STEELE, R., NERURKAR, P., GONZALEZ, J. G., CRAWFORD, S., ... & RAY, R. B. (2013). **Bitter melon reduces head and neck squamous cell carcinoma growth by targeting c-Met signaling.** *PLoS One*, 8(10), e78006, 2013.

RAY, R. B., RAYCHOUDHURI, A., STEELE, R., & NERURKAR, P. **Bitter melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis.** *Cancer Research*, 70(5), 1925-1931, 2010.

REED, K. D., MOORE, F. M., GEIGER, G. E., & STEMPER, M. E. **Zoonotic transmission of sporotrichosis: case report and review.** *Clinical Infectious Diseases*, 16(3), 384-387, 1993.

REZAEIZADEH, A., ZUKI, A. B. Z., ABDOLLAHI, M., GOH, Y. M., NOORDIN, M. M., HAMID, M., & AZMI, T. I. **Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*.** *African Journal of Biotechnology*, 24, (10), 4932-4940, 2011.

REIS, ÉRICA G. , É. G., SCHUBACH, T. M., PEREIRA, S. A., SILVA, J. N., CARVALHO, B. W., QUINTANA, M. S., & GREMIÃO, I. D.. **Association of itraconazol and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study.** *Medical mycology*, 7, (54), 684-690, 2016.

RIGOTTI, M. **Melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), uma planta com potencial para a economia agrária e saúde alternativa.** *Doutorado*, Faculdades Dourados, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal–UNIDERP, 2004.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, S.; DE CAMARGO, Z. P. **Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex.** *Medical Mycology*, 4, (51), 405-412, 2013.

ROSA, C. S. D. **Esporotricose felina e canina em área endêmica: epidemiologia e tratamento**, *Tese (Doutorado, área de concentração: Sanidade Animal)*, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

CHOAPPA R. M. C., OYARZO P. I. V., SILVA, L. C. **Isolation of *Sporothrix pallida* complex in clinical and environmental samples from Chile.** *Revista Argentina de microbiologia*, 46(4), 311-314, 2014.

RU, P. STEELE, R., NERURKAR, P. V., PHILLIPS, N., & RAY, R. B. **Bitter melon extract impairs prostate cancer cell-cycle progression and delays prostatic intraepithelial neoplasia in TRAMP model.** *Cancer Prevention Research*, 12, (4), 2122-2130, 2011.

SANTOS, T. A. **Avaliação de diferentes métodos e solventes de extração sobre a composição fenólica e centesimal, atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos dos frutos da *Momordica charantia* L.** *Monografia*

(*Graduação em Farmácia*) Departamento de Farmácia, 83f, Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018.

SCHENCK, B. R. **On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the *Sporotricha***. *Bull John Hopkins Hosp*, (9), p. 286-290, 1898.

SHAHIDUL, I.; JALALUDDIN, M. **Biological functions and sensory attributes of different skin colored bitter melon (*Momordica charantia* L.) Varieties**. *American Journal of Food Science and Health*. 5, (2), 25-31, 2019.

SHOBA, F. G. BABU, V. A., PARIMALA, M., & SATHAYA, J. **In vitro evaluation of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* and *momordica charantia* seeds**. *IJPSR*, 5, 1988-1993, 2014.

SHOBHA, C. VISHWANATH, P., SUMA, M., PRASHANT, A., RANGASWAMY, C., & GOWDAPPA, B. . **In vitro anti-cancer activity of ethanolic extract of *Momordica charantia* on cervical and breast cancer cell lines**. *International Journal of Health & Allied Sciences*, 4, (4), 210-210, 2015.

SCHMOURLO, G., MENDONÇA-FILHO, RR, ALVIANO, CS, & COSTA, SS **Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants**. *Journal of ethnopharmacology*, v. 96, n. 3, p. 563-568, 2005.

SHUO, J.; SHEN, M.; ZHANG, F.; XIE, J. **Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities**. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, (18), 2555, 2017.

SILVA, M. B. T. D., COSTA, M. M. D. M., TORRES, C. C. D. S., GALHARDO, M. C. G., VALLE, A. C. F. D., MAGALHAÊS, M. D. A. F., ... & OLIVEIRA, R. M. D. **Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil**. *Cadernos de Saúde Pública*, 28, 1867-1880, 2012.

SILVA, G. M., HOWES, J. C. F., LEAL, C. A. S., MESQUITA, E. P., PEDROSA, C. M., OLIVEIRA, A. A. F., Mota, R. A. **Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(9), 1767-1771. 2018.

SILVA, J. N. **Avaliação da sensibilidade de métodos diagnósticos e da carga fúngica durante o tratamento com itraconazol na esporotricose felina**. *Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 109, Porto Alegre, 2016.

SILVA-VERGARA, M. L., CAMARGO, Z. P. D., SILVA, P. F., ABDALLA, M. R., SGARBIERI, R. N., RODRIGUES, A. M.; FERREIRA-PAIM, K. **Disseminated *Sporothrix brasiliensis* infection with endo-cardial and ocular involvement in an HIV-infected patient: Case report**. *Mycose*, 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 Prevention Research*, 4, (11), 191-202, 2018.

TEIXEIRA, P. A. C.. **Estudo da virulência, adesão e características fenotípicas de isolados do complexo *Sporothrix*.** Tese (Doutorado em Biociências) 84, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

VALERIANO, A. C. D. F. R.; SILVA-JÚNIOR, E. X.; BEDOR, C. N. G.; COSTA, M. M. **O Uso da Fitoterapia na medicina por Usuários do SUS, Uma Revisão Sistemática.** *Revista Multidisciplinar e de Psicologia*, 33, (10), 219-236, 2017.

XU, X., SHAN, B., LIAO, CH, XIE, JH, WEN, PW, & SHI, JY. **Anti-diabetic properties of *Momordica charantia* L. polysaccharide in alloxan-induced diabetic mice.** *International journal of biological macromolecules*, (81), 538-543, 2015.

WALLER, S. B. MADRID, I. M., SERRA, E. F., DOS REIS GOMES, A., CLEFF, M. B., & DE FARIA, R. O.. **In vitro susceptibility of the *Sporothrix brasiliensis* to aqueous extracts of the green tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze).** *Acta Veterinaria Brasilica*, 4, (9), 342-347, 2015.

WANG, S. ZHENG, Y., XIANG, F., LI, S., & YANG, G. **Antifungal activity of *Momordica charantia* seed extracts toward the pathogenic fungus *Fusarium solani* L.** *Journal of Food and Drug Analysis*, 4, (24), 881-887, 2016.

WANG, S., ZHANG, Y., LIU, H., HE, Y., YAN, J., WU, Z., & DING, Y. **Molecular cloning and functional analysis of a recombinant ribosome-inactivating protein (alpha-momorcharin) from *Momordica charantia*.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, 4, (96), 939-950, 2012.

WAGNER, H.; BLADT, S.. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas.** Springer Science & Business Media, 1996.

YADAV, UMESH CS; MOORTHY, K.; BAQUER, NAJMA Z. **Combined treatment of sodium orthovanadate and *Momordica charantia* fruit extract prevents alterations in lipid profile and lipogenic enzymes in alloxan diabetic rats.** *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1, (268), 111-120, 2005.

YEUNG, H. W., LI, W. W., CHAN, W. Y., LAW, L. K., & NG, T. B. **Alpha and beta momorcharins: abortifacient proteins from the seeds of the bitter melon *Momordica charantia* (Family Cucurbitaceae).** *International Journal of Peptide and Protein Research*, 28(5), 518-524, 1986.

ZHANG, B., XIE, C., WEI, Y., LI, J., & YANG, X. **Purification and characterisation of an antifungal protein, MCha-Pr, from the intercellular**

fluid of bitter gourd (*Momordica charantia*) leaves. Protein expression and purification, 107, 43-49, 2015.