



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

GEOVANA FERREIRA GUEDES SILVESTRE

**ESTUDO FITOQUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *APODANTHERA
CONGESTIFLORA* COGN.: UMA CUCURBITACEAE DA CAATINGA
BRASILEIRA**

CAMPINA GRANDE

2020

GEOVANA FERREIRA GUEDES SILVESTRE

**ESTUDO FITOQUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *APODANTHERA*
CONGESTIFLORA COGN.: UMA CUCURBITACEAE DA CAATINGA
BRASILEIRA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Obtenção e avaliação da atividade biológica de produtos naturais e sintéticos de interesse farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Harley da Silva Alves

CAMPINA GRANDE

2020

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

S587e Silvestre, Geovana Ferreira Guedes.
Estudo fitoquímico e farmacológico de *Apodanthera Congestiflora* Cogn. [manuscrito] : uma cucurbitaceae da caatinga brasileira / Geovana Ferreira Guedes Silvestre. - 2020.
133 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.
"Orientação : Prof. Dr. Harley da Silva Alves, Departamento de Farmácia - CCBS."
1. Cabeça-de-nego. 2. Cucurbitacinas. 3. Análise térmica. 4. Toxicidade. 5. Atividade anti-inflamatória. 6. Fitoterapia. I.
Título

21. ed. CDD 615.321

GEOVANA FERREIRA GUEDES SILVESTRE

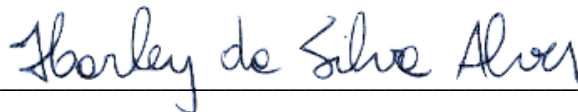
**ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *APODANTHERA CONGESTIFLORA*
COGN.: UMA CUCURBITACEAE DA CAATINGA BRASILEIRA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Obtenção e avaliação da atividade biológica de produtos naturais e sintéticos de interesse farmacêutico.

Aprovada em: 03/12/2020.

Banca examinadora



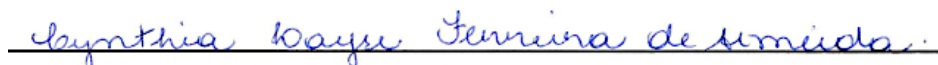
Prof. Dr. Harley da Silva Alves (Universidade Estadual da Paraíba)

Orientador



Prof^ª. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza (Universidade Federal da Paraíba)

Examinadora externa



Prof^ª. Dra. Cynthia Layse F. de Almeida (Universidade Federal do Vale do São Francisco)

Examinadora externa

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual da Paraíba, que me abriu as portas do mundo acadêmico, desde a graduação até o mestrado, me possibilitando crescer como profissional.

Ao meu orientador Harley Alves, sou muito grata pelo acolhimento e oportunidade de crescer no meio científico que o professor me proporcionou. Obrigada por todos os ensinamentos. Ao Laboratório de Fitoquímica, do qual faço parte há 6 anos, onde passei por todas as etapas desde a iniciação científica até o presente momento.

Aos meus companheiros de laboratório Renally Lucena, Genil Oliveira, Layla Soares, Antônio Jr., Helimarcos Nunes, Sara Araújo, Karolayne Barbosa e prof. Ivana Fechine. Só quem vive a rotina da pesquisa sabe os desafios que enfrentamos e com vocês a luta diária se tornou mais divertida.

Aos meus amigos da turma 2018.1, em especial Renaly Ivyna, Pablo Rayff, Sonaly Albino, Mariana Dantas e Isabela Mota que compartilharam tantos momentos comigo, de felicidades, angústias, provas e superações.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos – LabDEM, em especial prof. Ana Cláudia Medeiros e Naara Felipe, que me receberam e me auxiliaram nos momentos que precisei.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos – LDCPF e ao prof. Bolívar Damasceno, pelo apoio e acolhimento.

Ao Laboratório de Multiusuário de Caracterização e Análise – LMCA da Universidade Federal da Paraíba e a todos que fazem parte do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, especialmente ao prof. Vicente, prof. Wellington, os técnicos Marcelo, Evandro, Sócrates e Nonato, que tornam possível a análise espectroscópica para nós da UEPB.

À minha mãe Elma Maria e minha irmã Maria Luiza, por me incentivarem sempre nas minhas decisões e me acolherem durante o processo. Minhas conquistas só valem a pena por ter vocês para dividir.

Ao meu companheiro, Marsell Senko, com quem compartilho a vida e as realizações. Sem seu apoio talvez não tivesse suportado tantas coisas. Obrigada por sonhar esse sonho comigo e me ajudar a caminhar para ele.

“Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil – e, no entanto, é a coisa mais preciosa que temos.”

Albert Einstein (1879-1955)

RESUMO

Apodanthera congestiflora Cogn. é uma Cucurbitácea endêmica da Caatinga brasileira, utilizada na medicina popular para tratar dores nas costas, manchas na pele e como depurativo do sangue. Até o momento, os relatos sobre esta espécie são escassos, com poucas investigações científicas e referentes apenas às raízes. O objetivo deste trabalho foi realizar uma caracterização físico-química da droga vegetal (DV) dos caules da espécie, avaliar a sua composição química e o perfil toxicológico e anti-inflamatório. Foi traçado um perfil de qualidade da DV em diferentes tamanhos de partícula, utilizando métodos farmacopeicos e análise térmica (TG/DTA). A DV foi, ainda, submetida à extração por diferentes técnicas que renderam os extratos aquosos (EA's), o extrato hidroalcoólico (EHC-Ac) e suas respectivas fases orgânicas: hexânica (FHC-Ac) e diclorometano (FDC-Ac). Os EA's passaram por triagem fitoquímica quantitativa apresentando alto teor de saponinas. No estudo fitoquímico, FHC-Ac e FDC-Ac foram submetidas a técnicas cromatográficas, obtendo-se uma mistura de fitosteróis conhecidos como β -sitosterol (**Ac-1**), estigmasterol (**Ac-2**) e espinasterol (**Ac-3**), além de três norcucurbitacinas, também em mistura, denominadas cayaponosídeo C_{5b} (**Ac-4**), cabenosídeo C (**Ac-5**) e fevicordina C₂ glicosídeo (**Ac-6**), sendo esta última inédita na literatura. A identificação estrutural foi realizada por IV e RMN de ¹H e ¹³C. Foi testada a toxicidade da FDC-Ac frente a eritrócitos humanos e em camundongos *Swiss*. No teste *in vitro* não foi evidenciada toxicidade, porém no teste *in vivo* a FDC-Ac apresentou toxicidade significativa, com alterações macroscópicas e bioquímicas. Ademais, investigou-se a atividade anti-inflamatória *in vivo* de FDC-Ac que se mostrou capaz de diminuir os sinais inflamatórios nas primeiras 5h, sendo 7,5 mg kg⁻¹ a dose mais eficaz na redução do edema (66,6 %). A identificação de três cucurbitacinas na investigação fitoquímica, juntamente com os ensaios biológicos realizados no presente estudo, demonstram que *A. congestiflora* é uma espécie promissora na busca por inovação terapêutica, pois carrega em sua composição substâncias com alto potencial farmacológico. O controle de qualidade da droga vegetal permitiu delinear um perfil físico-químico dos pós obtidos do caule de *A. congestiflora* que poderá servir de base para futuros estudos de pré-formulação de um produto fitoterápico.

Palavras-chave: Cabeça-de-nego. Cucurbitacinas. Análise Térmica. Toxicidade aguda. Atividade anti-inflamatória.

ABSTRACT

Apodanthera congestiflora Cogn. is a Cucurbitaceae endemic to the Brazilian Caatinga, used in folk medicine to treat back pain, skin blemishes and as a blood purifier. Until now, reports on this species are scarce, with a few scientific investigations and referring only to the roots. The objective of this work was to carry out a physical-chemical characterization of the plant drug (DV) of the species' stems, to evaluate its chemical composition, besides toxicological and anti-inflammatory profile. A quality profile of the DV was drawn in different particle sizes, using Pharmacopeial methods and thermal analysis (TG / DTA). DV was also subjected to extraction by different techniques that yielded aqueous extracts (EA's), hydroalcoholic extract (EHC-Ac) and their respective organic phases: hexane (FHC-Ac) and dichloromethane (FDC-Ac). EA's have undergone quantitative phytochemical screening presenting high saponin content. In the phytochemical study, FHC-Ac and FDC-Ac were subjected to chromatographic techniques, obtaining a mixture of phytosterols known as β -sitosterol (**Ac-1**), stigmasterol (**Ac-2**) and spinasterol (**Ac-3**), as well as three norcucurbitacins, also in mixture, called cayaponoside C5b (**Ac-4**), cabenoside C (**Ac-5**) and fevicordin C2 glycoside (**Ac-6**), the latter being unprecedented in the literature. Structural identification was performed by IR, ^1H and ^{13}C NMR. FDC-Ac has been tested for toxicity against human erythrocytes and in Swiss mice. In the *in vitro* test tototoxicity was not evidenced, however in the *in vivo* test, FDC-Ac presented significant toxicity, with macroscopic and biochemical alterations. In addition, the *in vivo* anti-inflammatory activity of FDC-Ac was investigated, which was shown to be able to reduce inflammatory signs in the first 5 hours, with 7.5 mg kg^{-1} , being the most effective dose in reducing edema (66.6 %). The identification of three cucurbitacins in the phytochemical investigation, together with the biological tests performed in this study, demonstrate that *A. congestiflora* is a promising species in the search for therapeutic innovation, as it carries substances with high pharmacological potential in its composition. The quality control of the vegetable drug allowed to outline a physical-chemical profile of the powders obtained from the *A. congestiflora* stem that could serve as a basis for future studies of pre-formulation of an herbal product.

Keywords: *Cabeça-de-nego*. Cucurbitacins. Thermal analysis. Acute toxicity. Anti-inflammatory activity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa mundial com a distribuição geográfica da família Cucurbitaceae, onde a ocorrência das espécies é ilustrada pelos pontos coloridos **13**
- Figura 2** – Principais tipos de gavinhas presentes em Cucurbitaceae. (A) *Neosalsomitra sarcophylla*; (B) *Thladiantha dúbia*; (C) *Luffa cylindrica* **14**
- Figura 3** – Enfermidades mais citadas na medicina popular tratadas com plantas medicinais da família Cucurbitaceae **17**
- Figura 4** – Distribuição geográfica das três seções do gênero *Apodanthera* Arn.: *Apodanthera*, *Cucurbitopsis* e *Pseudoapodanthera* **18**
- Figura 5** – Distribuição geográfica da espécie *Apodanthera congestiflora* Cogn **20**
- Figura 6** – *Apodanthera congestiflora*: a. ramo em estado vegetativo com folhas e gavinhas; b-c. folhas; d. flor estaminada; e. flor estaminada dessecada; f. flor pistilada; g. fruto; h-i. sementes **21**
- Figura 7** – *Apodanthera congestiflora* coletada no semiárido paraibano: (A) e (B) Frutos; (C) Paquipódio; (D) Caule **22**
- Figura 8** – Gráfico representativo de todos os medicamentos aprovados 1981-2019 **24**
- Figura 9** – Núcleos de metabólitos secundários de plantas organizadas pelas principais classes **25**
- Figura 10** – Via do ácido mevalônico (MVA) para a biossíntese de isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP) **26**
- Figura 11** – Formação dos precursores das classes terpênicas **27**
- Figura 12** – Mono- e diterpenos: geraniol (1); citronelol (2); caveol (3) e cafestol (4) **29**
- Figura 13** – Formação do Squaleno a partir do farnesil **30**
- Figura 14** – Ciclização do 2,3-epóxido squaleno seguida de formação dos núcleos triterpênicos e esteroides **31**
- Figura 15** – Correlação esquemática entre as principais estruturas triterpênicas **32**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies da família Cucurbitaceae empregadas na medicina popular, finalidade de uso, parte da planta utilizada e referência consultada	15
Tabela 2 – Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenoides	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo Geral	12
2.2	Objetivos Específicos	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	Família Cucurbitaceae	13
3.2	Gênero <i>Apodanthera</i> Arn.	18
3.3	Espécie <i>Apodanthera congestiflora</i> Cogn.	20
3.4	Metabólitos Secundários	23
3.4.1	<i>Terpenoides</i>	26
4	METODOLOGIA	34
4.1	Pesquisa Bibliográfica	34
5	RESULTADOS	35
5.1	Artigo Científico I	35
5.2	Artigo Científico II	64
5.3	Artigo Científico III	81
6	CONCLUSÕES	121
	REFERÊNCIAS	122
	ANEXOS	132

1 INTRODUÇÃO

A química dos produtos naturais é considerada uma ciência de ampla interdisciplinaridade, sendo reconhecida desde os tempos da alquimia. Nessa época, iniciou-se sua consolidação graças à grande dependência criada pela população que não possuía recursos e matéria-prima para produção de medicamentos, recorrendo assim ao que a natureza oferecia através das plantas medicinais (BERLINCK et al., 2017).

Até os dias de hoje, existem pesquisas envolvendo a utilização de plantas para fins farmacológicos. Entretanto, o surgimento da química combinatória e da triagem biológica automatizada (*High Throughput Screening*, HTS) no final do século XX, que possibilitava o acesso a milhares de estruturas químicas e seus respectivos testes de interação biológica *in vitro*, fez com que a química medicinal se voltasse quase que totalmente para o mundo da descoberta sintética, esquecendo e, em alguns casos, até ignorando os produtos naturais (PN) na busca por fármacos (AMARAL et al., 2003).

Viegas Junior e Bolzani (2006) afirmam que, apesar do grande avanço da química combinatória, a síntese de entidades químicas pelas vias sintéticas não cumpriu o papel de se apresentar como fonte primária de estruturas capazes de exercer atividade farmacológica. Diante disso, os compostos naturais ressurgiram no âmbito das pesquisas como alternativa para suprir a necessidade, cada vez mais urgente, de fornecimento de novos fármacos para a indústria farmacêutica.

Com o desenvolvimento de técnicas voltadas para extração, separação e identificação de substâncias advindas dos vegetais, o número de estudos cresceu consideravelmente, sobretudo, nas primeiras décadas do século XXI, onde a modernização de métodos, como as técnicas hifenadas, por exemplo, deu início a uma era bastante consistente para investigação de constituintes químicos vegetais (CORRÊA; BERNARDI; GEHRKE, 2016).

No ano de 2015, o *Dictionary of Natural Products* (DNP) estimou que cerca de 80% dos quase 160.000 compostos naturais catalogados apresentavam características favoráveis para serem considerados como potenciais modelos de fármacos (HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015). Patridge et al. (2016) afirmaram que os produtos naturais e seus derivados representam mais de um terço de todas as novas entidades moleculares aprovadas pela FDA (*Food and Drug Administration*), onde cerca de 25% destas são de origem vegetal, ou seja, de plantas medicinais.

Corrêa, Bernardi e Gehrke (2016) estimam que só no Brasil há mais de 32 mil espécies distribuídas por todo o país, abrigadas em seus biomas, e aproximadamente 57% são endêmicas

destas regiões. A riqueza de biodiversidade é indiscutível, e, embora tenha aumento da quantidade de pesquisas relacionadas a esta área nos últimos anos, sabe-se que ainda resta uma fonte inestimável de recursos sequer descobertos.

A Caatinga, por exemplo, possui uma biodiversidade que ampara diferentes atividades econômicas voltadas para fins agrícolas e industriais, especialmente nos ramos farmacêutico, de cosméticos, químico e de alimentos (BRASIL, 2019). De acordo com Rodal e Sampaio (2002), esse bioma detém de espécies que compartilham certas características entre si, como, por exemplo, uma notável capacidade de adaptação à baixa disponibilidade de água. No entanto, mesmo em escala local, apresenta diferentes formações vegetacionais que variam de acordo com os regimes de precipitação, temperatura e altitude (SAMPAIO, 2003).

De acordo com os dados levantados por Gomes-Klein e Lima (2010), dentre as várias espécies endêmicas da Caatinga utilizadas na medicina popular, *Apodanthera congestiflora* Cogn é uma Cucurbitaceae conhecida vulgarmente por “cabeça-de-nego”, a qual se distribui por todo semiárido nordestino, desde o sertão do Piauí até o norte de Minas Gerais. É citada por Roque, Rocha e Loiola (2010) como planta medicinal utilizada para o alívio de dores na coluna e como depurativo do sangue (“sangue grosso”). Silva et al. (2015) afirmam que seu chá também é indicado para uso externo na forma de banho para o tratamento de manchas na pele e coceira.

Embora a espécie *A. congestiflora* seja citada na literatura como planta medicinal, a ausência de estudos relacionados à mesma é um fator que motiva a investigação químico-farmacológica que tem como principal objetivo a descoberta de agentes terapêuticos e o desenvolvimento de novos medicamentos. Além disso, a realização de pesquisas relacionadas às plantas medicinais traz benefícios significativos às pessoas que fazem uso destes recursos, embasando sua utilização e proporcionando mais conhecimento e segurança. A quimiotaxonomia da família Cucurbitaceae também é beneficiada, recebendo mais incentivo ao estudo de suas espécies.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo de bioprospecção dos caules de *Apodanthera congestiflora*.

2.2 Objetivos Específicos

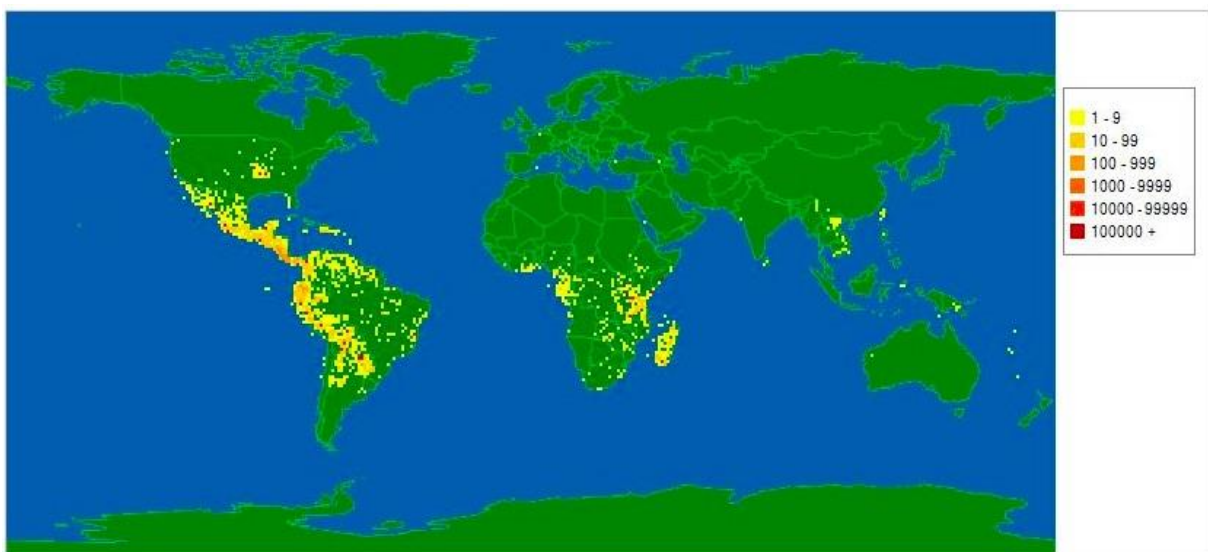
- a) Elaborar um levantamento bibliográfico a respeito da atuação das cucurbitacinas no sistema imunológico;
- b) Traçar o perfil físico-químico da droga vegetal (DV) do caule de *Apodanthera congestiflora*;
- c) Obter extratos aquosos (EA) dos pós tamisados da DV e submetê-los à triagem fitoquímica preliminar;
- d) Obter extrato hidroalcoólico da DV e fracioná-lo em fases orgânicas;
- e) Promover o isolamento de compostos químicos das fases particionadas (hexânica e diclorometano);
- f) Determinar as estruturas químicas desses compostos por análises de IV e RMN de ^1H e ^{13}C ;
- g) Testar a toxicidade *in vitro* e *in vivo* da fase diclorometano;
- h) Testar atividade anti-inflamatória *in vivo* da fase diclorometano seguindo o modelo de edema de pata induzido por carragenina.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Família Cucurbitaceae

Com uma vasta distribuição mundial (Fig. 1) e um elevado número de espécies, a família Cucurbitaceae Juss. é considerada uma das famílias mais importantes da flora mundial. Estima-se que existam cerca de 98 gêneros e 975 espécies, distribuídas essencialmente em regiões de clima tropical e subtropical, com relativamente poucas espécies atingindo as regiões temperadas do mundo (XU; CHANG, 2017).

Figura 1 – Mapa mundial com a distribuição geográfica da família Cucurbitaceae, onde a ocorrência das espécies é ilustrada pelos pontos coloridos



Fonte: Tropicos.org (2019).

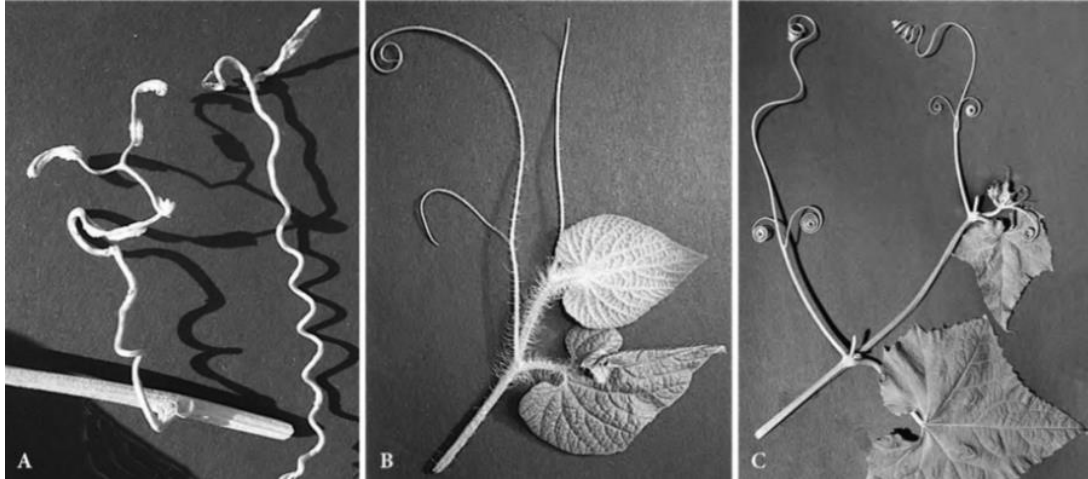
Segundo Gomes-Klein, Hall e Gil (2016, p. 1319)

A família [Cucurbitaceae] é constituída principalmente por plantas prostradas ou trepadeiras, monoicas ou dioicas; geralmente com gavinhas; folhas alternas, frequentemente palminérvias; flores unissexuadas, actinomorfas, diclamídeas, com hipanto em flores de ambos os sexos; [...] fruto geralmente bacoide ou peponídeo.

A Figura 2 mostra três espécies com anatomia típica da família Cucurbitaceae: presença de gavinhas – estruturas semelhantes a ‘elásticos’ que se agarram a outras estruturas

fixas como galhos e cercas, possibilitando sua aderência, o que evidencia sua característica trepadeira.

Figura 2 – Principais tipos de gavinhas presentes em Cucurbitaceaes. (A) *Neoalsomitra sarcophylla*; (B) *Thladiantha dúbia*; (C) *Luffa cylindrica*



Fonte: Schaefer; Renner (2011).

A família Cucurbitaceae detém grande relevância econômica na maioria dos países tropicais e é valorizada pelo grande número de espécies que apresenta (BHOWMICK; JHA, 2015). Só no Brasil, são registrados 30 gêneros e 160 espécies distribuídas em todas as regiões do país (GOMES-KLEIN; HALL; GIL, 2016) e de acordo com Silva et al. (2016) estas possuem uma importância econômica considerável devido ao consumo de suas hortaliças que são produzidas e valorizadas pela população, como é o caso das espécies variantes de melão (*Cucumis melo* L.), melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb. Matsum & Nakai)] e abóboras (*Cucurbita* sp.).

Além de seus frutos, registros etnobotânicos apontam o uso de diversas espécies da família Cucurbitaceae na medicina popular e suas indicações variam de acordo com a planta e a parte utilizada. A Tabela 1 mostra uma relação de espécies citadas na medicina popular ao redor do mundo entre os anos de 2015 e 2019.

Tabela 1. Espécies da família Cucurbitaceae empregadas na medicina popular, finalidade de uso, parte da planta utilizada e referência consultada

Espécie	Tratamento	Parte usada	Referência
<i>Apodanthera congestiflora</i> Cogn.	dor na coluna, depurativo do sangue, manchas de pele coceira	raiz	ROQUE; ROCHA; LOIOLA (2010); SILVA et al. (2015)
<i>Bryonia alba</i> L.	expectorante	não informado	PAULI et al. (2018)
<i>Bryonia cretica</i> subsp. <i>Dioica</i> (Jacq.)	resfriado, malária, picada de aranha, dispepsia	fruto	RIVERA et al. (2019)
<i>Bryonia dioica</i>	câncer	raíz	BOURHIA et al. (2018)
<i>Citrullus colocynthis</i>	câncer de mama, diabetes	fruto, semente	SAMOUEH et al. (2019); TELLI; ESNAUT; KHELIL (2016)
<i>Citrullus lanatus</i> (Thunberg) Matsumura & Nakai	circulação sanguínea, febre, complicações renais e intestinais	casca do fruto, semente	BUSSMAN; SHARON (2015); OTONI (2018)
<i>Citrullus vulgaris</i> Schrad. Ex Eckl. & Zeyh	diurética; pedra nos rins; cistite; constipação intestinal, infecção urinária	fruto, semente	CARVALHO (2015)
<i>Cucumis anguria</i> L.	pneumonia	não informado	BIESKI et al. (2015)
<i>Cucumis dipsaceus</i> Ehrenb.	caspa, queda de cabelo	fruto	BUSSMAN; SHARON (2015)
<i>Cucumis prophetarum</i> L.	malária, infertilidade	fruto	KIGEN et al. (2016)
<i>Cucumis sativus</i> L.	perda de peso, inflamação do fígado, indigestão, azia, ácidos intestinais, hipertensão	fruto	BUSSMAN; SHARON (2015); RIVERA et al. (2019); BIESKI et al. (2015)
<i>Cucurbita maxima</i> Duch.	prevenir aborto, ansiedade, doença cardíaca, verruga, câncer de pulmão, hipercolesterolemia, parasitose, otite	flor, folha, semente	BUSSMAN; SHARON (2015); AGYARE et al. (2018); BIESKI et al. (2015); YAZBEK et al. (2019)
<i>Cucurbita moschata</i> Duch.	prevenir aborto, ansiedade, doença cardíaca, verruga	flor, folha, semente	BUSSMAN; SHARON (2015)
<i>Curcubita pepo</i> L.	parasitose intestinal, hemorroida, dor de ouvido	semente, flor	BATISTA et al. (2019); BELTRESCHI; LIMA; CRUZ (2019)
<i>Cyclanthera pedata</i> L. Schrad.	diabetes, inflamação renal, cefaleia	planta inteira	ANTI; CAÑIGUERAL; HEINRICH (2016); BUSSMAN; SHARON (2015)

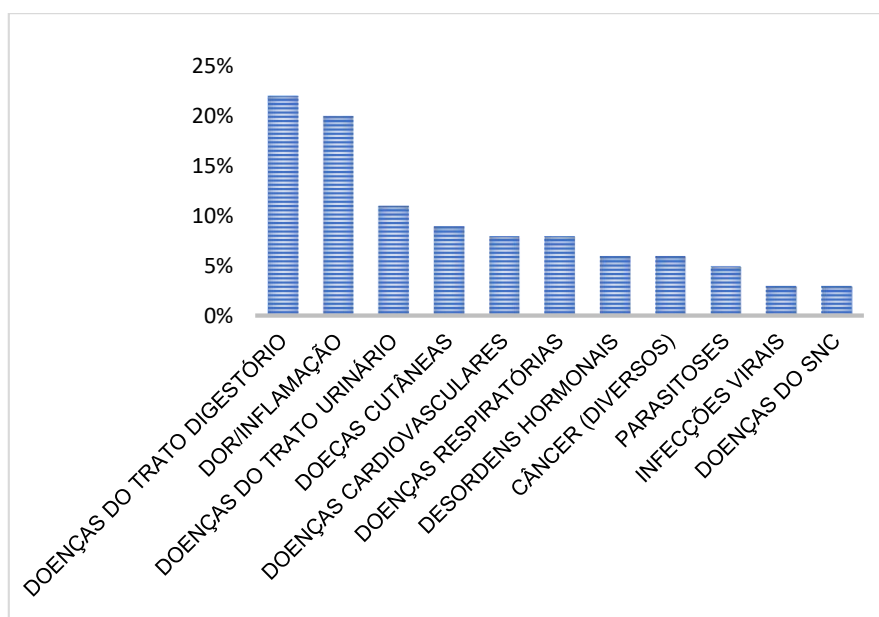
<i>Fevillea trilobata</i>	cólica menstrual, dor de estômago, epilepsia	semente, fruto	OTONI (2018)
<i>Lagenaria siceraria</i> (Molina) Standl.	amigdalite, febre, queimadura, diarreia	fruto, folha	SINGH; DEVE; SHARMA (2018); WANGCHUK; YESHI; JAMPHEL (2017)
<i>Luffa operculata</i> L. Cogn.	dor, sinusite, febre, abortiva, malária	raiz, fruto	BITU et al. (2015); SILVA et al. (2015); SILVA (2018); SILVA; SILVEIRA; GOMES (2016)
<i>Momordica angustisepala</i> Harms	câncer de pele	folha	AGYARE et al. (2018)
<i>Momordica charantia</i> L.	malária, fígado, diarreia, queimadura, digestão, dengue, inflamação, infecção uterina, diabetes, coqueluche, micose, vermífugo, coceira, sintomas da menopausa, combate a piolho, câncer de pele, câncer de mama, câncer de estômago, abortiva, gastrite, dor local, febre, desordens hepáticas, úlcera, escabiose	fruto, semente, folhas	VEIGA; SCUDELLER (2015); SILVA et al. (2015); HANSEN (2016); GONÇALVES; PASA (2015); SILVA (2017); VILLARREAL-IBARRA et al. (2015); PAULI et al. (2018); OTONI (2018); AGYARE et al. (2018); SILVA; SILVEIRA; GOMES (2016); SILVA; BARROS; MOITA-NETO (2015); BIESKI et al. (2015); YAZBEK et al. (2019)
<i>Sechium edule</i> Jacq. Sw.	diabetes, circulação sanguínea, varizes, hipertensão, calmante	fruto, folha, casca	VILLARREAL-IBARRA et al. (2015); BUSSMAN; SHARON (2015); Otoni (2018); BIESKI et al. (2015)
<i>Siolmatra brasiliensis</i> Cogn. Baill.	gastrite, inflamação muscular	não informado	BIESKI et al. (2015)
<i>Sycos baderoa</i> H. et A.	picada de serpente; toupeira de pele	semente, folha	BUSSMAN; SHARON (2015)
<i>Wilbrandia</i> sp.	abortiva	raíz	SILVA; SILVEIRA; GOMES (2016)
<i>Wilbrandia verticillata</i> Cong.	gripe, pneumonia	raíz	SILVA; BARROS; MOITA-NETO (2015)
<i>Zehneria scabra</i> Sond.	artrite, reumatismo, icterícia, diurese	planta inteira	SINGH; DEVE; SHARMA (2018)

Fonte: Autoria própria.

Pode-se observar que existe uma variedade grande de usos na medicina popular, até mesmo da mesma espécie, o que pode ser explicado pelo fato da família apresentar espécies que crescem em diferentes partes do mundo, as quais enfrentam ambientes climáticos totalmente diferentes e, conseqüentemente, produzem compostos com propriedades biológicas distintas. Além disso, a mudança cultural afeta drasticamente o uso dessas plantas, pois a medicina popular é uma forma de saber que se perpetua dentre as gerações, sendo o conhecimento a respeito do uso das plantas herdado de pai para filho (OTONI, 2018).

A Figura 3 mostra um gráfico representativo das finalidades de uso das cucurbitáceas em função da porcentagem de citações observadas.

Figura 3 – Enfermidades mais citadas na medicina popular tratadas com plantas medicinais da família Cucurbitaceae



Fonte: Autoria própria.

Em pesquisas de campo, Madaleno (2011) e Roque e Loiola (2013) observaram que na Caatinga do Nordeste brasileiro, as cucurbitáceas mais citadas nos estudos que relatam o uso de suas espécies com fins medicinais são *Apodanthera congestiflora* Cogn. (cabeça-de-nego), *Luffa cylindrica* M. Roem. (bucheira) e *Luffa operculata* (L.) Cogn (cabacinha).

Em outros continentes como África e Ásia, também há estudos avaliando o potencial farmacológico de extratos vegetais dessa grandiosa família. Um estudo realizado por Teugwa et al. (2013) com animais mostrou que espécies como *Telfairia occidentalis*, *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*, *Cucumeropsis mannii* e *Cucurbita moschata*, ambas nativas da África, apresentaram na composição de suas sementes, globulinas capazes de exercer atividade

hipoglicemiante. Outro estudo, realizado em Bangladesh, por Houssain et al. (2012), mostrou atividade anti-inflamatória de extrato da raiz de *Lagenaria siceraria* em ratos Wistar, corroborando seu uso pela população local para o alívio de dor.

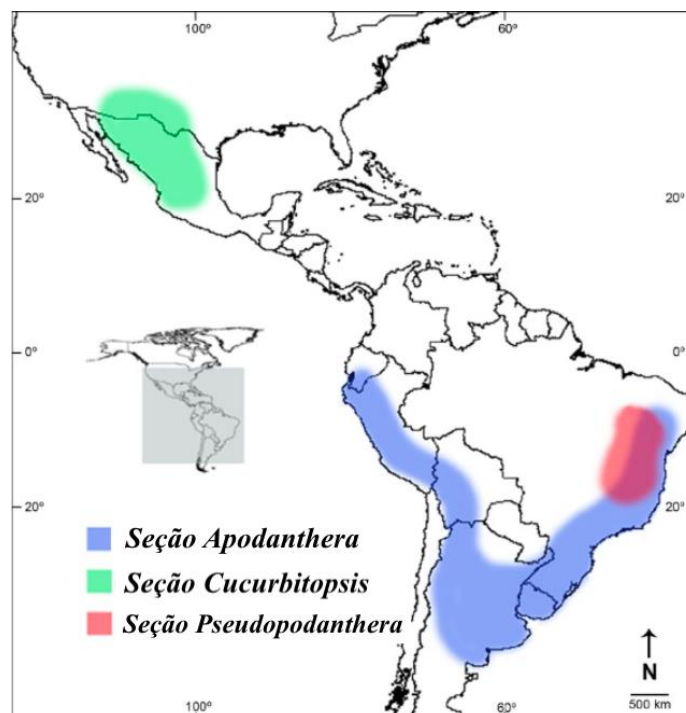
Embora a Cucurbitaceae apresente tamanha relevância econômica e científica como citando anteriormente, nota-se que ainda é escassa a quantidade de pesquisas relacionadas à composição química de espécies desta família, principalmente da América do Sul.

3.2 Gênero *Apodanthera* Arn.

Segundo Belgrano e Pozner (2017), o gênero *Apodanthera* Arn possui cerca de 45 espécies e 6 variações, sendo dividido em três seções: *Apodanthera*, *Cucurbitopsis* e *Pseudoapodanthera* distribuídas pela América do Norte e América do Sul (Fig. 4). No Brasil prevalecem as espécies da seção *Apodanthera* (*A. argentea*, *A. glaziovii*, *A. laciniosa*, *A. sagittifolia* var. *villosa* e *A. ulei*) que habitam diversos ambientes, desde formações florestais até áreas campestres e *Pseudoapodanthera* (*A. congestiflora*, *A. hindii*, *A. pedisecta*, *A. succulenta*, *A. trifoliata* e *A. villosa*), estas restritas às formações de Caatinga e campos rupestres do Nordeste brasileiro (LIMA, 2010).

Figura 4 – Distribuição geográfica das três seções do gênero *Apodanthera* Arn.:

Apodanthera, *Cucurbitopsis* e *Pseudoapodanthera*



Fonte: Belgrano e Pozner (2017).

De acordo com Lima (2010), as *Pseudoapodantheras* ocorrem mais frequentemente em pequenas populações e estão associadas a ambientes menores. De um modo geral, apresentam adaptações relacionadas ao estresse hídrico, como armazenamento de água em paquipódios, podendo ocorrer nessas partes a presença de nutrientes, tornando-as atrativas para consumo alimentício. Clark et al. (2012) mostraram o valor nutricional das raízes de *Apodanthera biflora*, nas quais os teores de proteínas, carboidratos, fósforo e cálcio demonstram-se equivalentes ou superiores ao de culturas empregadas na alimentação.

Na literatura, os estudos químicos e biológicos relacionados às espécies dos subgêneros prevalentes no Brasil são escassos. Dentre estes, destacam-se os que envolvem as espécies *A. congestiflora*, *A. villosa* e *A. smilacifolia*. Videres (2017) relatou que extratos das raízes de *A. congestiflora* são fontes de compostos fenólicos, incluindo flavonoides e cumarinas, com capacidade de reduzir a viabilidade das células cancerígenas, com maior seletividade em relação às células normais, além de apresentar atividade antimicrobiana e antioxidante.

Vilar, Carvalho e Furtado (2007) demonstraram que o extrato aquoso de *A. villosa* (batata-de-teiu) foi capaz de retardar a mortalidade de camundongos que receberam veneno de *Bothrops jararaca*. Tal atividade antiofídica foi atribuída à presença do composto pterocarpano - (-) edunol na espécie, que é um tipo de isoflavonoide.

Ferreira et al. (2019) estudaram a espécie *Apodanthera smilacifolia* (cipó azogue) que é utilizada na medicina popular para o tratamento de algumas doenças infecciosas cutâneas, como úlcera dérmica, escabiose e herpes. O estudo constatou a presença de alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos no extrato aquoso obtido da casca. Além disso, demonstrou através do teste de letalidade sobre o microcrustáceo de *Artemia salina* que a espécie apresenta baixa toxicidade celular, apresentando uma DL_{50} de $8.012 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Vale ressaltar, ainda, que *A. smilacifolia* é utilizada na medicina popular como adjuvante no tratamento de câncer e moléstias da pele, sendo a única espécie do gênero a ser incluída na lista da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de fitoterápicos usados em associação no Brasil (CARVALHO et al., 2008; OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES, 2014).

A investigação científica das espécies do gênero *Apodanthera* Arn. que são endêmicas do Brasil, em especial as *Pseudoapodantheras* que habitam na região da Caatinga, são de extrema importância para reunir informações ainda não coletadas a respeito da etnofarmacologia, composição química e potenciais farmacológicos destas plantas.

3.3 Espécie *Apodanthera congestiflora* Cogn.

A espécie *Apodanthera congestiflora*, também denominada por Martínez Crovetto em 1954 como *Melothria congestiflora* Mart. Crov., possui maior distribuição geográfica em relação às demais espécies da seção *Pseudoapodanthera*, que vai desde o litoral piauiense até Minas Gerais (Fig. 5).

Figura 5 – Distribuição geográfica da espécie *Apodanthera congestiflora* Cogn.

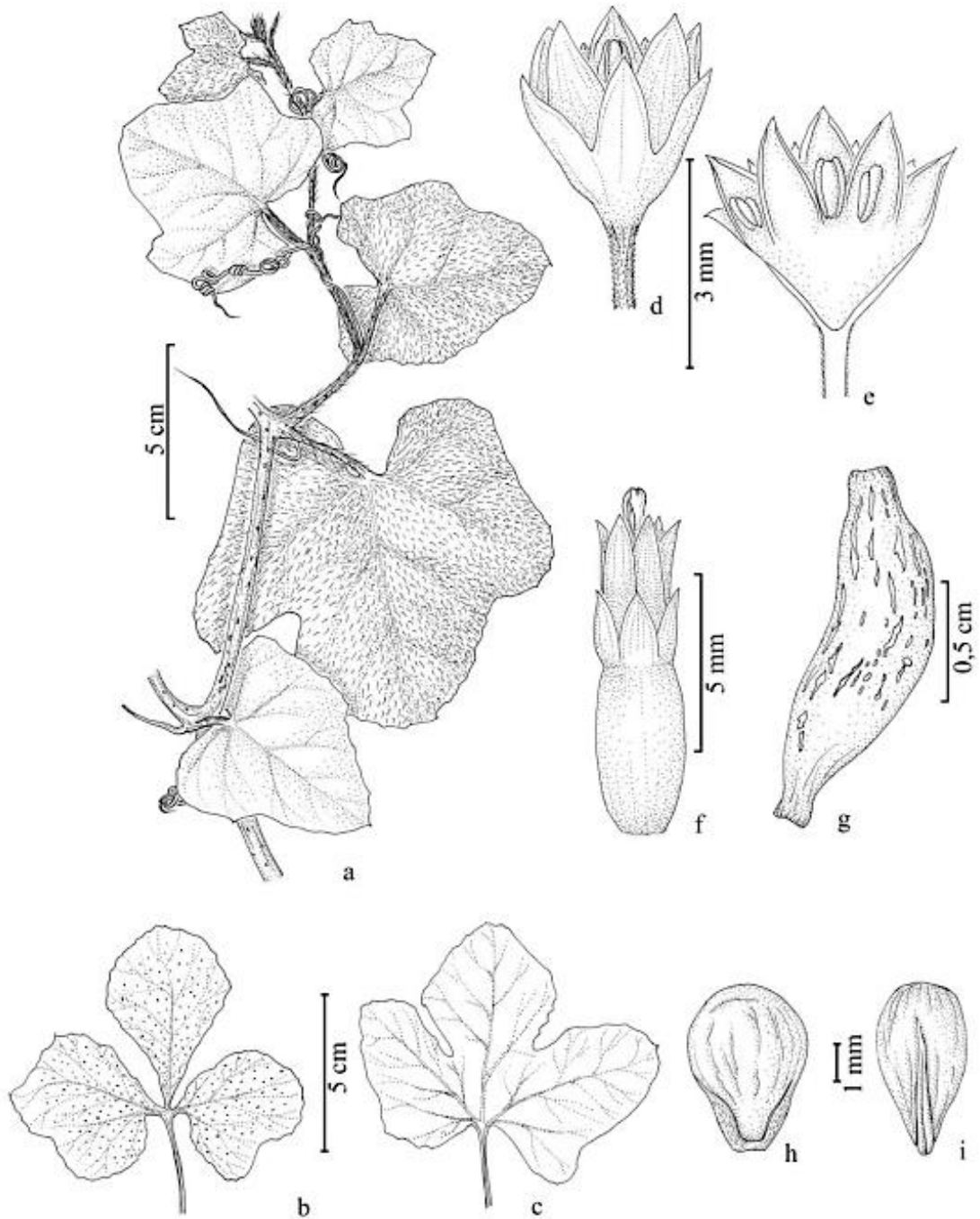


Fonte: SiBBR.gov.br (2020).

De acordo com Videres (2017) *Apodanthera congestiflora*, conhecida popularmente como “teiú” e “cabeça-de-negro”, é uma trepadeira lenhosa endêmica do Brasil, nativa da região da Caatinga. Possui folhas trilobadas e gavinhas (Fig. 6) que se espiralam para cima e para baixo, permitindo a aderência em estruturas vizinhas que servem como suporte para a trepadeira. Apresenta uma estrutura tuberosa localizada entre o caule e a raiz chamada paquipódio (Fig. 7-C), a qual fica exposta acima da terra e tem a função de armazenar água. Na

época de estiagem a planta perde toda ou grande parte de sua folhagem, sobrevivendo graças à esta água armazenada nos tubérculos (LIMA, 2010).

Figura 6 – *Apodanthera congestiflora*: a. ramo em estado vegetativo com folhas e gavinhas; b-c. folhas; d. flor estaminada; e. flor estaminada dessecada; f. flor pistilada; g. fruto; h-i. sementes



Fonte: Lima (2010).

Figura 7 – *Apodanthera congestiflora* coletada no semiárido paraibano: (A) e (B) Frutos; (C) Paquipódio; (D) Caule



Fonte: Acervo próprio.

Roque, Rocha e Loiola (2010) afirmam que *A. congestiflora* é uma das plantas medicinais mais utilizadas pela comunidade sertaneja, ingerida principalmente na forma de chá/lambedor, para o alívio de dores na coluna e como depurativo do sangue (“sangue grosso”). Seu chá também é indicado para uso externo na forma de banho para o tratamento de manchas na pele e coceira (SILVA et al. 2015). Segundo Videres (2017) sua parte mais utilizada na medicina popular é a raiz.

Uma caracterização do extrato aquoso das raízes de *A. congestiflora* realizada por Pereira et al. (2018) revelou a presença de saponinas, alcaloides e polissacarídeos. Outra pesquisa desenvolvida por Cabral (2017) com animais, mostrou que o extrato das raízes de *A. congestiflora* apresentou baixa toxicidade *in vivo*, além de considerável atividade anti-inflamatória no teste de peritonite induzida por carragenina e atividade antinociceptiva em análise de contorções abdominais, apontando um ótimo potencial para estudos posteriores, especialmente com outras partes da planta, já que a retirada das raízes ceifa a vida da mesma.

A medicina popular é, de fato, muito importante para o crescimento antropológico e cultural de uma população que faz uso desta em sua rotina, contudo há uma necessidade real em embasar o uso destas plantas, tanto para assegurar quem consome, quanto para buscar novas perspectivas no âmbito científico. Muitas pesquisas etnofarmacológicas são guiadas pelo saber popular através de bases empíricas e resgatam, na maioria das vezes, comprovações científicas que vêm a se estender à toda sociedade (CARVALHO, 2015).

A falta de estudos relacionados à espécie *Apodanthera congestiflora* revela a importância de investigações químicas e biológicas visando evidenciar potenciais fármacos.

3.4 Metabólitos Secundários

O metabolismo é um conjunto de transformações moleculares que ocorrem nas células dos organismos vivos por meio de reações químicas em cascata mediadas por enzimas. Esse processo metabólico que supre as necessidades energéticas das células é chamado metabolismo primário. Porém, há outros tipos de reações mais complexas onde há síntese de substâncias que atuam direta ou indiretamente na sobrevivência da espécie (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

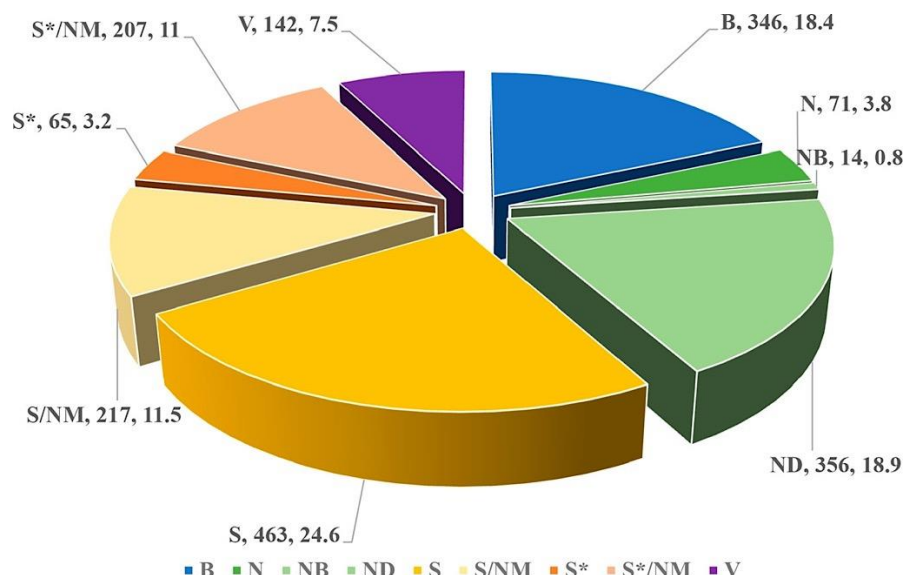
Segundo Silva e Lima (2016), essas substâncias são produtos do metabolismo secundário encontrados nas plantas geralmente em pequenas concentrações, quando comparadas aos compostos do metabolismo primário, apresentando estruturas complexas e com baixo peso molecular. Elas possuem grande potencial farmacológico, pois como desempenham funções especializadas intrínsecas no vegetal, suas estruturas favorecem a atividade em meio biológico. Embora sejam recorrentes em todas as espécies vegetais, surgem em determinados grupos de plantas de acordo com suas necessidades metabólicas. No passado quando ainda não se conhecia ao certo as estruturas químicas dos metabólitos secundários, estes eram considerados produtos de excreção dos vegetais, porém atualmente com o avanço eminente das pesquisas relacionadas ao assunto sabe-se que eles são essenciais para a adequação do produtor ao meio em que se encontra (POZER; MENTZ, 2007).

De acordo com Furlan, Baldoqui e Kato (2009), trata-se de funções adaptativas, as quais estão associadas aos mecanismos de interação da planta com micro-organismos, insetos e até mesmo com outras plantas, onde os compostos produzidos podem atuar como fitoalexinas, inseticidas e até mesmo atraentes polinizantes. Como dito anteriormente, muitos compostos do metabolismo secundário apresentam atividade farmacológica, o que torna o reino vegetal uma valiosa fonte de substâncias úteis nas terapias que envolvem humanos.

Uma vez identificada atividade biológica e segurança de um determinado metabólito secundário, Brandão (2009) afirma que este é utilizado pela Indústria Farmacêutica tanto na produção de fitofármacos, que é o metabólito propriamente dito, quanto no desenvolvimento de princípios ativos utilizando sua estrutura química como modelo para uma nova droga. Segundo Newman e Cragg (2020), a utilização de produtos naturais, bem como variações sintéticas de suas estruturas ainda é a principal fonte de novas entidades químicas aprovadas como fármacos pelos órgãos regulamentadores federais.

A Figura 8 mostra um gráfico que classifica medicamentos de acordo com sua origem, desde 01 de janeiro de 1981 até 30 de setembro de 2019.

Figura 8 – Gráfico representativo de todos os medicamentos aprovados 1981-2019



B = macromolécula biológica; N = produto natural inalterado; NB = produto natural botânico (mistura definida); ND = derivado de produto natural; S = fármaco sintético; S/NM = sintético mimético ao produto natural; S* = fármaco sintético com farmacóforo de um produto natural; V = vacina.

Fonte: Newman e Cragg (2020).

Embora a química combinatória tenha sido criada para ser uma ferramenta direcionada à descoberta de entidades farmacêuticas, nem sempre obtém-se a partir dela uma boa reprodutibilidade dos compostos e a prova disso é que, até o momento, apenas três fármacos oriundos exclusivamente da química combinatória foram aprovados para uso clínico: o antitumoral sorafenibe (*Nexavar*) da Bayer®, originalmente aprovado pelo FDA em 2005 para tratamento de carcinoma de células renais; ataluren (*Translarna*), que foi aprovado pela União Europeia para o tratamento de distrofia muscular de Duchenne; e vemurafenib (*Zelboraf*) da Roche®, antitumoral aprovado pela FDA em 2011 (RYAN, 2014).

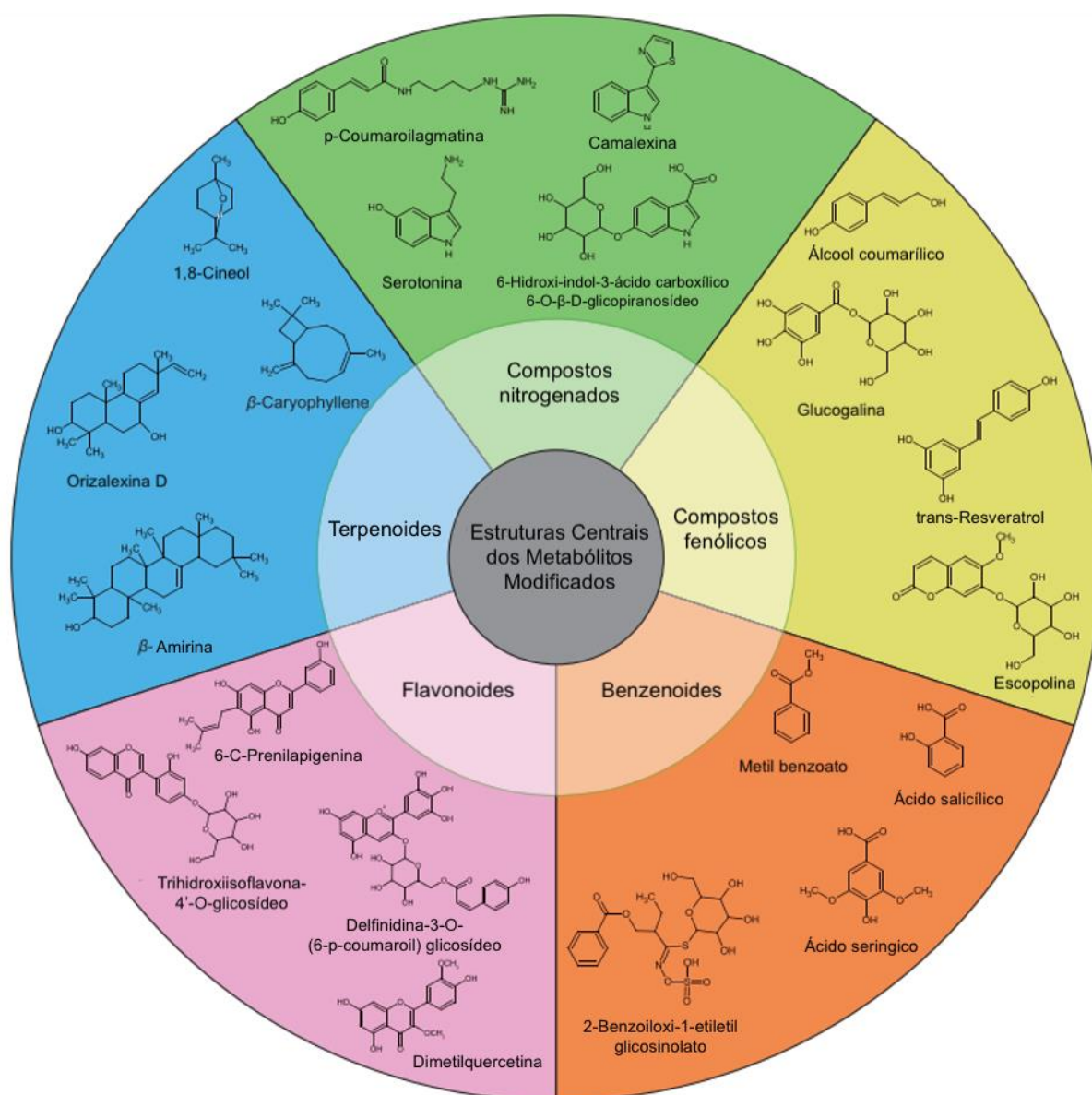
O cenário muda quando já se conhece o esqueleto químico da molécula que se quer trabalhar. A utilização das bibliotecas combinatórias, nesse caso, permite a otimização de compostos já evidenciados, exercendo um papel fundamental no desenvolvimento de fármacos derivados, híbridos e miméticos (NEWMAN; CRAGG, 2020). Nessa perspectiva, os produtos naturais de plantas medicinais acendem novamente a luz da inovação, trazendo à tona a importância da busca de novos modelos de estruturas químicas que o reino vegetal com toda sua biodiversidade pode oferecer.

Willis (2017) estimou que existam aproximadamente 400 mil espécies de plantas vasculares espalhadas pelo planeta. Segundo Fang, Fernie e Luo (2018), o reino vegetal pode conter até 1 milhão de metabólitos diferentes e que uma única espécie pode produzir entre 5000

e dezenas de milhares de metabólitos. O Brasil é o país com a maior diversidade de espécies no mundo, espalhadas nos seis biomas terrestres. São mais de 43.020 espécies vegetais conhecidas em território nacional e, em sua grande maioria, muito pouco estudadas quanto à composição química e potencial biológico (BRASIL, 2020).

De acordo com Wang et al. (2019) as principais estruturas químicas produzidas pelo metabolismo secundário das plantas são: compostos nitrogenados (se enquadram na classe dos alcaloides), fenólicos, benzenoides, flavonoides e terpenoides. Alguns exemplos são citados na Figura 9:

Figura 9 – Núcleos de metabólitos secundários de plantas organizadas pelas principais classes



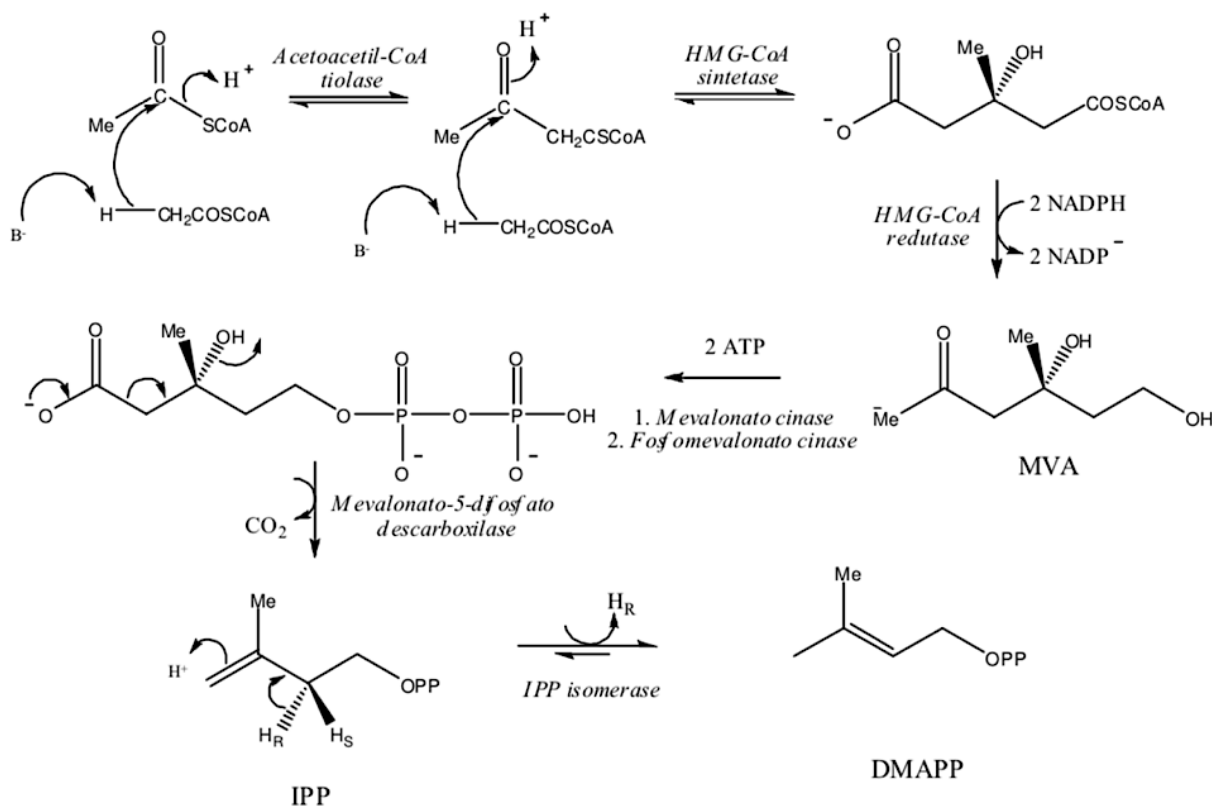
Fonte: Wang et al. (2019) adaptado.

3.4.1 Terpenoides

A classe dos terpenoides é considerada a mais numerosa e diversificada dentre os grupos de metabólitos secundários conhecidos e inclui compostos acíclicos, monocíclicos e policíclicos. O termo “terpenoides” abrange todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades de isopreno (2-metilbutadieno) e embora a classificação dos terpenos se dê a partir da quantidade de unidades isoprênicas, os precursores na biossintese destes metabólitos são o mavelonato ou ácido mavelônico e deoxi-xilulose fosfato, sendo a via do mavelonato (Fig. 10) a mais conhecida (DEWIK, 2002).

A biogênese do mavelonato (MVA) sugere que todos os carbonos do isopentenilil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP), que dão origem à unidade isoprenoide, são derivados do acetil-coenzima A (CoA), descoberta que rendeu a Konrad Bloch e Feodor Lynen o Nobel de Fisiologia ou Medicina de 1964 (BLOCH, 1992; EISENREICH et al, 2004).

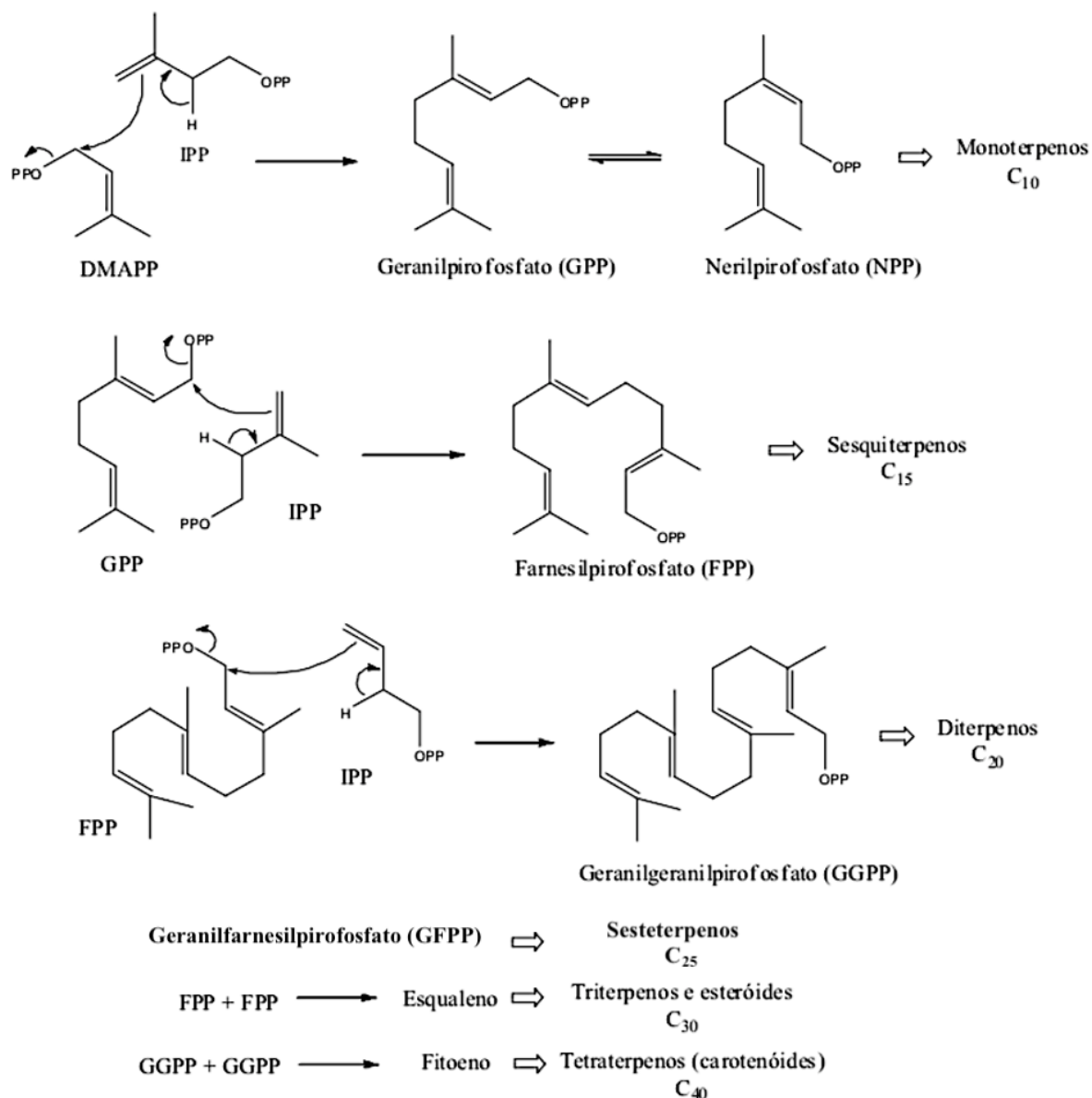
Figura 10 – Via do ácido mevalônico (MVA) para a biossintese de isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP)



Fonte: Valente (2007).

A Figura 11 apresenta a união das unidades isoprênicas a partir de IPP e DMAPP para formar os principais precursores das classes de terpenoides:

Figura 11 – Formação dos precursores das classes terpênicas



Fonte: Valente, (2007) adaptado.

Como já foi citado, a união de unidades de isopreno forma os terpenoides e a classificação destes é baseada na quantidade de isoprenos que os compõem (Tab. 2). Uma unidade de isopreno equivale aos hemiterpenos (C_5), duas unidades aos monoterpenos (C_{10}), três unidades sesquiterpenos (C_{15}), quatro unidades diterpenos (C_{20}), cinco unidades sesterterpenos (C_{25}), seis unidades triterpenos (C_{30}) e oito unidades tetraterpenos (C_{40}) (MARQUES, 2010).

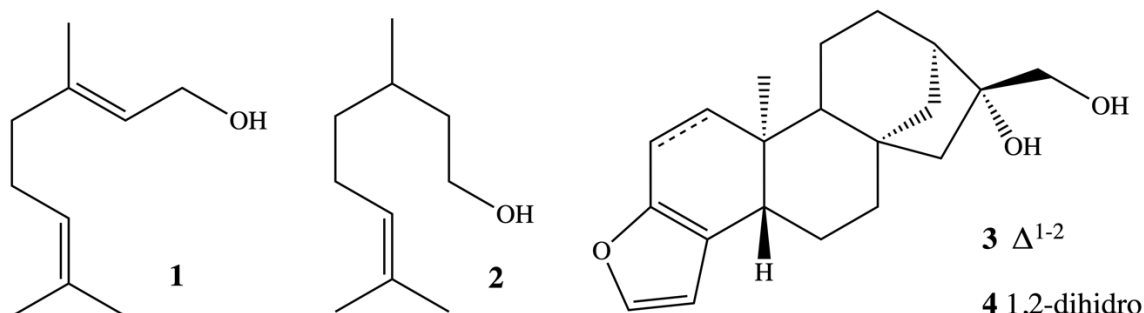
Mono e sesquiterpenos são as principais substâncias que compõem os chamados óleos voláteis. Geralmente tem odor característico e são muito utilizados para conferir essência em formulações, como o geraniol e citronelol por exemplo, os quais compõem o óleo essencial de gerânio extraído das rosas de *Pelargonium graveolens* e vastamente utilizado na indústria cosmecêutica (PATIAS et al., 2016). Os diterpenos são comuns em óleos fixos, como é o caso do cafestol e caveol encontrados nos grãos de café (*Coffea arabica*) (TSUKUI, OIGMAN, REZENDE, 2013). A Figura 12 mostra exemplos de mono-, di- e sesquiterpenos.

Tabela 2 – Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenoides

Nº de Und.	Nº de átomos de carbono	Nome ou Classe
1	5	Isopreno
2	10	Monoterpenoides
3	15	Sesquiterpenoides
4	20	Diterpenoides
5	25	Sesteterpenoides
6	30	Triterpenoides
8	40	Tetraterpenoides
>8	>40	Polisoprenoides

Fonte: Simões (2007) adaptado.

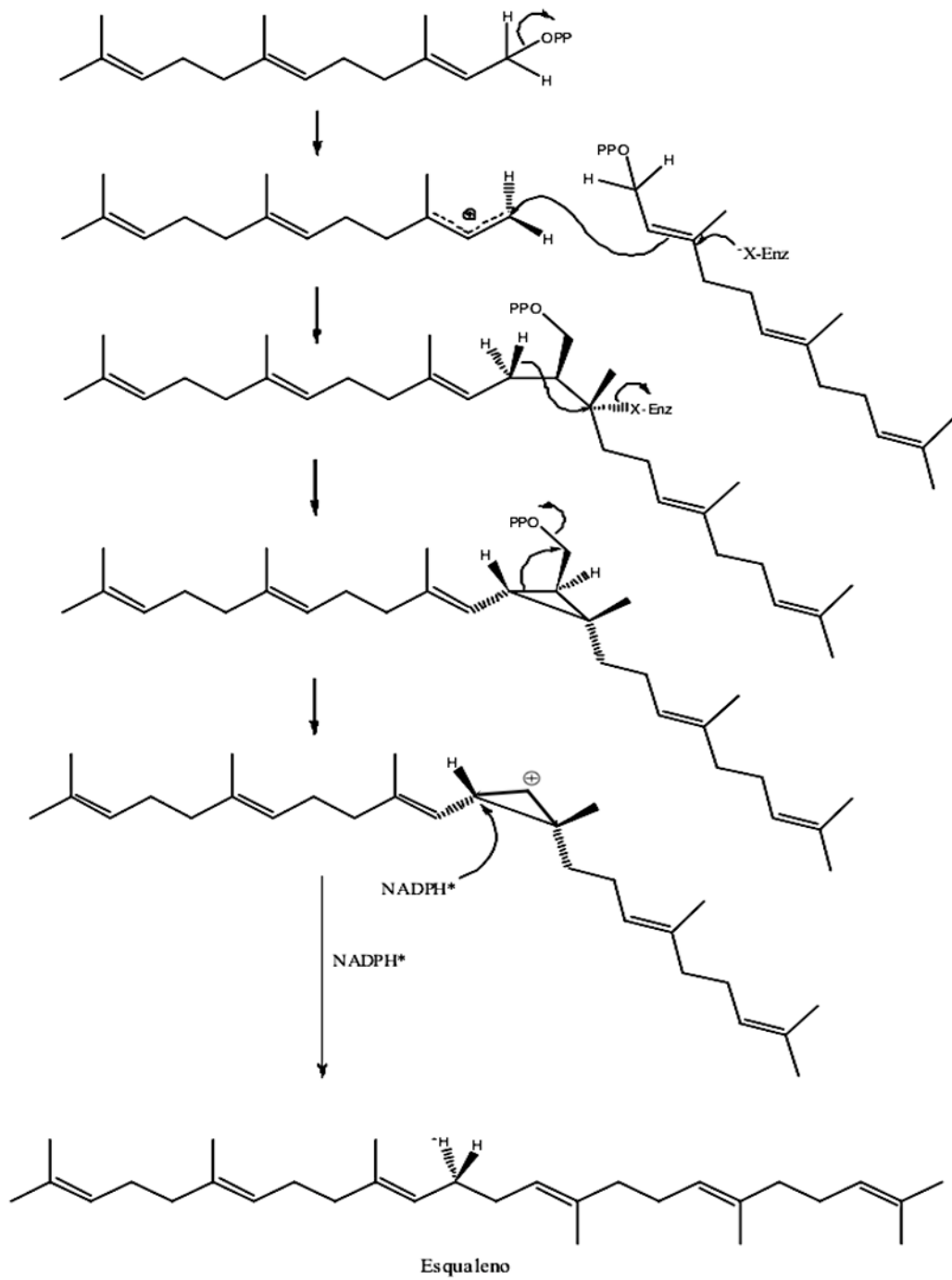
Figura 12 – Mono-, diterpenos: geraniol (1); citronelol (2); caveol (3) e cafestol (4)



Fonte: Autoria própria.

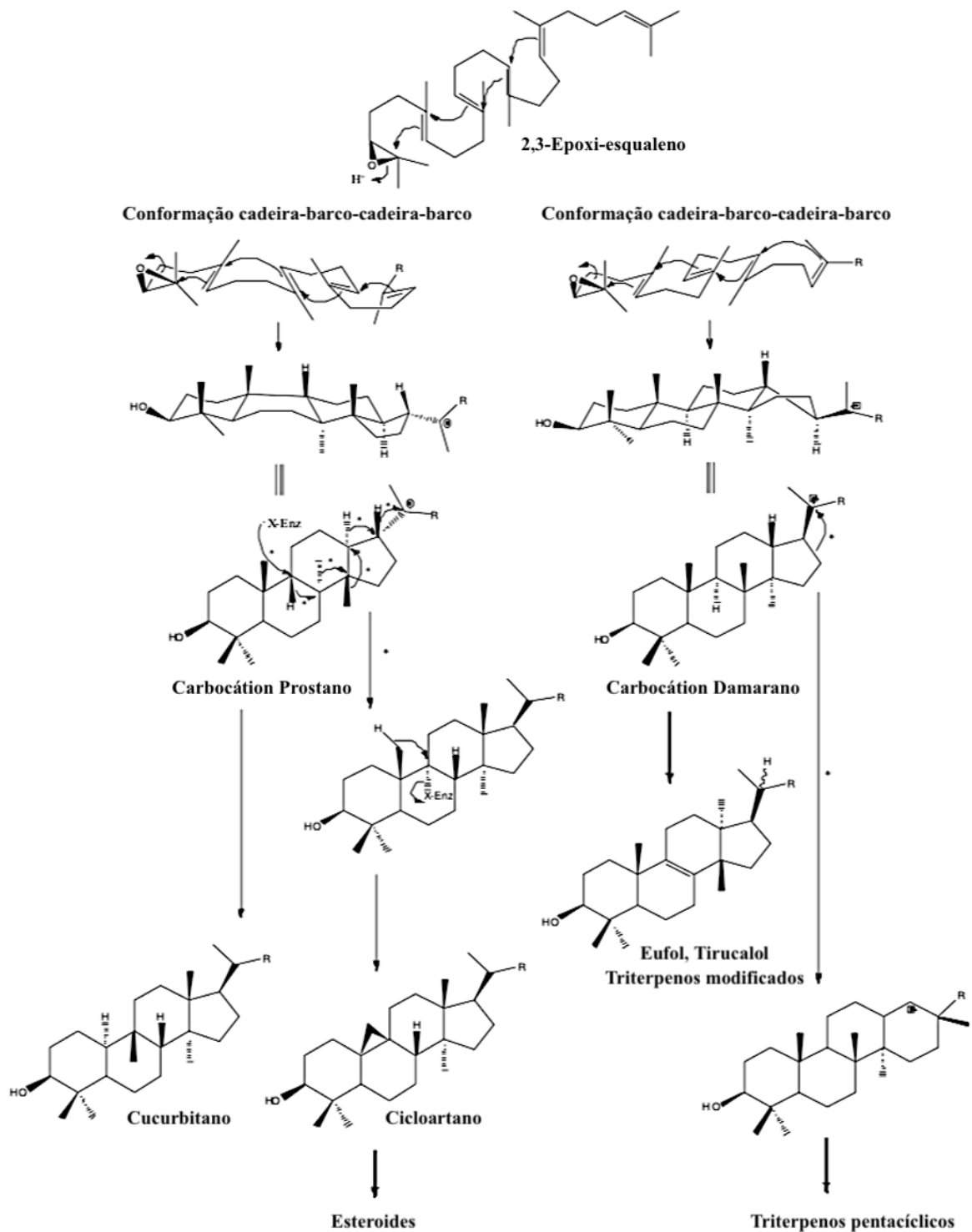
Os triterpenos são usualmente encontrados em sua forma livre ou glicosilados (saponinas) e esterificados pela hidroxila no carbono C-3 ou em outras posições. A síntese dos triterpenos se dá a partir do esqualeno, o qual é originado a partir de duas unidades farnesil ligadas em mecanismo cauda-cauda (Fig. 13). A mesma rota sintética também ocorre para formação dos esteroides até a formação do 2,3-epóxido esqualeno, que sofre um processo de ciclização que pode derivar uma grande diversidade de confôrmeros (Fig. 14). Podem ocorrer também rearranjos envolvendo metilas e hidrogêncios, com conseqüente formação de cadeias carbônicas específicas de alguns triterpenos (SIMÕES; SPITZER, 2007).

Figura 13 – Formação do Esqualeno a partir do farnesil



Fonte: Valente (2007).

Figura 14 –Ciclização do 2,3-epóxido esqualeno seguida de formação dos núcleos triterpênicos e esteroides

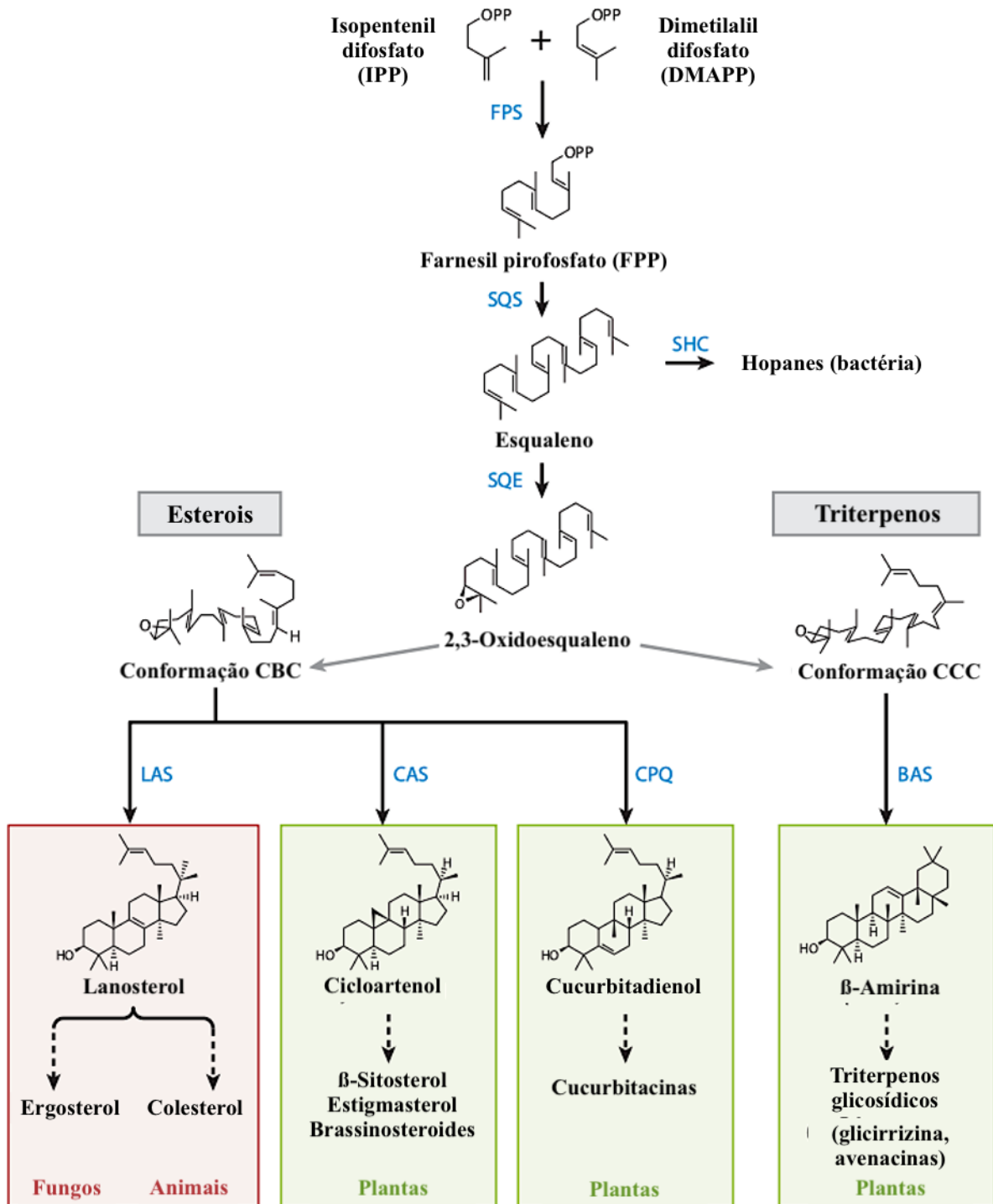


Fonte: Valente (2007) adaptado.

O esqualeno é o precursor mais importante da síntese de triterpenos e esteroides, incluindo colesterol, o qual em plantas e animais associa-se a outros precursores podendo

originar 200 diferentes tipos de esqueletos triterpênicos. A Figura 15 mostra algumas correlações entre principais estruturas triterpênicas oriundas da ciclização do esqualeno.

Figura 15 – Correlação esquemática entre as principais estruturas triterpênicas



FPS, farnesil pirofosfato sintase; SQS, esqualeno sintase; SQE, esqualeno monooxigenase ou epoxidase; SHC, esqualeno-hopeno ciclase; LAS, lanosterol sintase; CAS, cicloartenol sintase; CPQ, cucurbitadienol sintase; BAS, β-amirina sintase. Outras abreviações: CBC, cadeira-barco-cadeira; CCC, cadeira-cadeira-cadeira.

Fonte: Thimmapa et al. (2014) adaptado.

Segundo Croteau et al. (2000) os terpenos fazem parte do grupo de metabólitos mais abundantes das plantas, junto dos alcaloides e compostos fenólicos, com base em seus números e diversidade, oferecem muito potencial em uma variedade de aplicações medicinais. São descritas na literatura inúmeras atividades farmacológicas atribuídas aos triterpenos, dentre estas propriedades se destacam a ação anti-inflamatória, antibacteriana, fungicida, antiviral, analgésica, cardiovascular e antitumoral (ZWENGER; BASU, 2008).

4 METODOLOGIA

4.1 Pesquisa Bibliográfica

As bases de dados utilizadas para pesquisa de trabalhos científicos foram Periódicos CAPES, Science Direct, Scielo e PubMed. Foram incluídos artigos originais e de revisão, monografias, capítulos de livros e publicações em sites oficiais do Estado. As palavras-chave utilizadas na pesquisa foram: família Cucurbitaceae, *Apodanthera congestiflora*, metabólitos secundários, terpenoides, saponinas, cucurbitacinas e atividade farmacológica. As palavras foram digitadas aos pares a cada busca, nos idiomas inglês e português. Foram priorizados documentos dos últimos 10 anos, contudo o aporte bibliográfico para alguns termos é escasso e foi necessária a inclusão de trabalhos mais antigos para completude do estudo.

5 RESULTADOS

5.1 Artigo Científico I

Cucurbitacinas e Sistema imune: avanços na pesquisa sobre mecanismos anti-inflamatórios, antioxidantes e imunomoduladores

Geovana Ferreira Guedes Silvestre¹, Renally Pereira Lucena¹, Harley da Silva Alves^{*1}

¹Departamento de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-Brasil.

Resumo

As cucurbitacinas fazem parte de um vasto grupo de produtos naturais encontrados em várias famílias de plantas, especialmente na família Cucurbitaceae. Na última década houve um aumento significativo de estudos buscando identificar novas atividades biológicas das cucurbitacinas e desvendar seus mecanismos de ação. Dentre as funções farmacológicas mais conhecidas, encontram-se a atividade antineoplásica e anti-inflamatória, sendo a primeira revisada recentemente. O presente trabalho traz uma revisão narrativa à respeito do potencial anti-inflamatório, antioxidante e imunomodulador das cucurbitacinas, com o objetivo de identificar os compostos mais citados nesse âmbito e explorar seus mecanismos de ação já estudados. Ademais, foi feita uma breve abordagem sobre as principais características estruturais das cucurbitacinas, além de uma atualização das atividades biológicas atribuídas à esta classe nos últimos 5 anos. A cucurbitacina B e cucurbitacina E foram identificadas como as mais investigadas quando se trata de resposta imunológica, desempenhando funções tanto na imunidade inata quanto na adaptativa. Dentre os mecanismos evidenciados, é possível citar a inibição de COX-2 e NOS, diminuição do estresse oxidativo, supressão de citocinas e mediadores químicos envolvidos na inflamação, modulação de proteínas da imunidade adquirida e proliferação/ativação de leucócitos. Foi possível constatar que as cucurbitacinas são moléculas promissoras na busca por inovação terapêutica e apresentam ampla versatilidade na resposta imunológica.

Palavras-chave: Cucurbitaceae, Citocinas, Macrófagos, COX-2, Cucurbitacina B, Cucurbitacina E, NF- κ B, Linfócitos.

Introdução

As cucurbitacinas pertencem a um grupo de metabólitos secundários bastante diversificado, que se apresentam na natureza na forma livre (aglicona) ou glicosilada (KAUSHIK; AERI; MIR, 2015). As primeiras cucurbitacinas foram identificadas na família Cucurbitaceae e, posteriormente, observou-se que não eram restritas à esta, ocorrendo também nas famílias Brassicaceae, Scrophulariaceae, Begoniaceae, Elaeocarpaceae, Liliaceae, Datisceae, Desfontainiaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Rubiaceae, Sterculiaceae, Rosaceae, Thymelaeaceae, Cruciferae, Tropaeolaceae, Lauraceae, Chrysobalanaceae, Flacourtiaceae, Saxifragaceae, Euphorbiaceae, além de alguns gêneros de cogumelos incluindo *Russola* e *Hebeloma* (ALI et al., 2019; CHEN et al., 2005; KAUSHIK; AERI; MIR, 2015; VALENTE, 2004).

As espécies que contêm cucurbitacinas estão espalhadas por todo o planeta, inclusive no Brasil, que é o país com a maior diversidade de espécies no mundo, distribuídas em seus seis biomas terrestres. Dentre estes, está a Caatinga, região que ocupa cerca de 11 % de todo o território nacional, abrangendo-se por 10 estados do país. Sua biodiversidade ampara diferentes atividades econômicas voltadas para fins agropecuários e industriais, especialmente nos ramos farmacêutico, cosmético, químico e alimentos (BRASIL, 2020 a, b). Na Caatinga, encontram-se diversas espécies que são utilizadas na medicina popular e, em muitas delas, já foram encontradas cucurbitacinas, tais como no gênero *Wilbrandia* spp. (MATOS et al., 1991; OCHI et al., 2009) e *Apodanthera* (VIDERES, 2017), usadas frequentemente no tratamento de diarreia, febre, lombalgia, reumatismo e inflamações cutâneas (SILVA et al., 2015).

Em uma densa revisão bibliográfica feita por Chen e colaboradores (2005), foram apresentadas e discutidas mais de 200 cucurbitacinas diferentes, sendo o principal foco da revisão as características químicas e atividades biológicas. Concluiu-se que essa classe possui grande diversidade estrutural e apresenta amplo espectro de atividades biológicas. Kaushik (2015) reporta que, dentre as principais bioatividades bem documentadas à respeito das cucurbitacinas, estão as atividades antitumoral, pelo fato de algumas apresentarem elevada citotoxicidade, e a anti-inflamatória, sendo a primeira mais revisada pela literatura atual.

O objetivo desta revisão foi reunir informações do potencial anti-inflamatório e da capacidade de modulação do sistema imunológico das cucurbitacinas, reportando os mecanismos de ação já documentados na literatura e relacionando com as revisões bibliográficas mais relevantes, além de realizar uma breve atualização sobre as moléculas e as atividades biológicas evidenciadas desta classe nos últimos 5 anos.

Cucurbitacinas: Visão Geral

A história das cucurbitacinas é tão antiga quanto o surgimento da fitoquímica. A primeira cucurbitacina isolada data de 1831, denominada inicialmente como α -elaterina. Nesta época, ainda não havia método eficiente de identificação estrutural e a elucidação só era concluída muitos anos após o isolamento. Com o avanço das técnicas espectrais a elaterina foi novamente analisada e, então, chamada de cucurbitacina E (BERG, 1906). A nomenclatura atribuída às cucurbitacinas tem origem do prefixo “cucurbit” que faz referência ao núcleo triterpênico cucurbitano e aos primeiros registros da ocorrência dessas substâncias que foi em espécies da família Cucurbitaceae (KAUSHIK; AERI; MIR, 2015). São consideradas cucurbitacinas todas as moléculas cujo núcleo seja do tipo cucurbitano, na forma livre (aglicona) ou ligadas a uma ou mais moléculas de açúcar (glicosídeos).

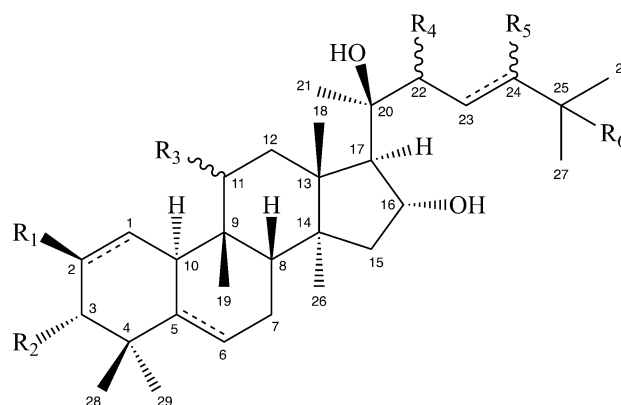
A forma livre é a mais comum em decorrência da ação enzimática dos vegetais que promove a desglicosilação das saponinas. Alguns estudos indicam que derivados glicosilados apresentam menor toxicidade quando comparado às agliconas (MACHADO et al., 2015; TANNIN-SPITZ et al., 2007). Outra nomenclatura comum é quando a cucurbitacina é identificada pela primeira vez em determinada espécie, e esta, por sua vez, recebe o nome similar ao do gênero acrescida do sufixo “ina” se for aglicona e “sídeo” se for glicosídeo, como é o caso das fevicordinas isoladas das espécies *Fevillea trilobata* e *Fevillea cordifolia* (ACHENBACH et al., 1993; VALENTE et al., 1994), cayaponosídeos de *Cayaponia tayuya* (HIMENO et al., 1994), bacobitacinas de *Bacopa monnieri* (BHANDARI et al., 2007) e momordicosídeos isolados de *Momordica charanthia* (WANG et al., 2001).

Os primeiros estudos que relacionam as cucurbitacinas a um potencial antitumoral datam dos anos 1960 e foi por esta propriedade que a classe se tornou conhecida por ser citotóxica. Esse fato pode embasar o uso das plantas que as contêm para diversas finalidades que envolvem, direta ou indiretamente, morte celular (MÉNDEZ-CUESTA et al., 2018; MORALES-VELA et al., 2019). Contudo, a numerosa quantidade de estruturas e conformações que a classe apresenta permite uma variedade de farmacóforos que atuam em diversas vias farmacológicas, como as vias da inflamação e imunossupressão por exemplo, revisadas detalhadamente pela última vez em 2005 por Ríos, Escandell e Recio (2005) e mais superficialmente por Kaushik (2015).

Estruturas Químicas das Cucurbitacinas

A grande maioria das cucurbitacinas apresenta estruturas tetracíclicas de um núcleo cucurbitano, com esqueleto do tipo 19(10→9β)-abeo-10α-lanostano (Figura 1), no qual ocorre a presença de uma metila na posição C-9 com configuração β e um hidrogênio em α tornando o núcleo bioenergeticamente incomum (CÁRDENAS; ALMEIDA; BAK, 2019; CHEN et al., 2005).

Figura 1 – Esqueleto básico das cucurbitacinas



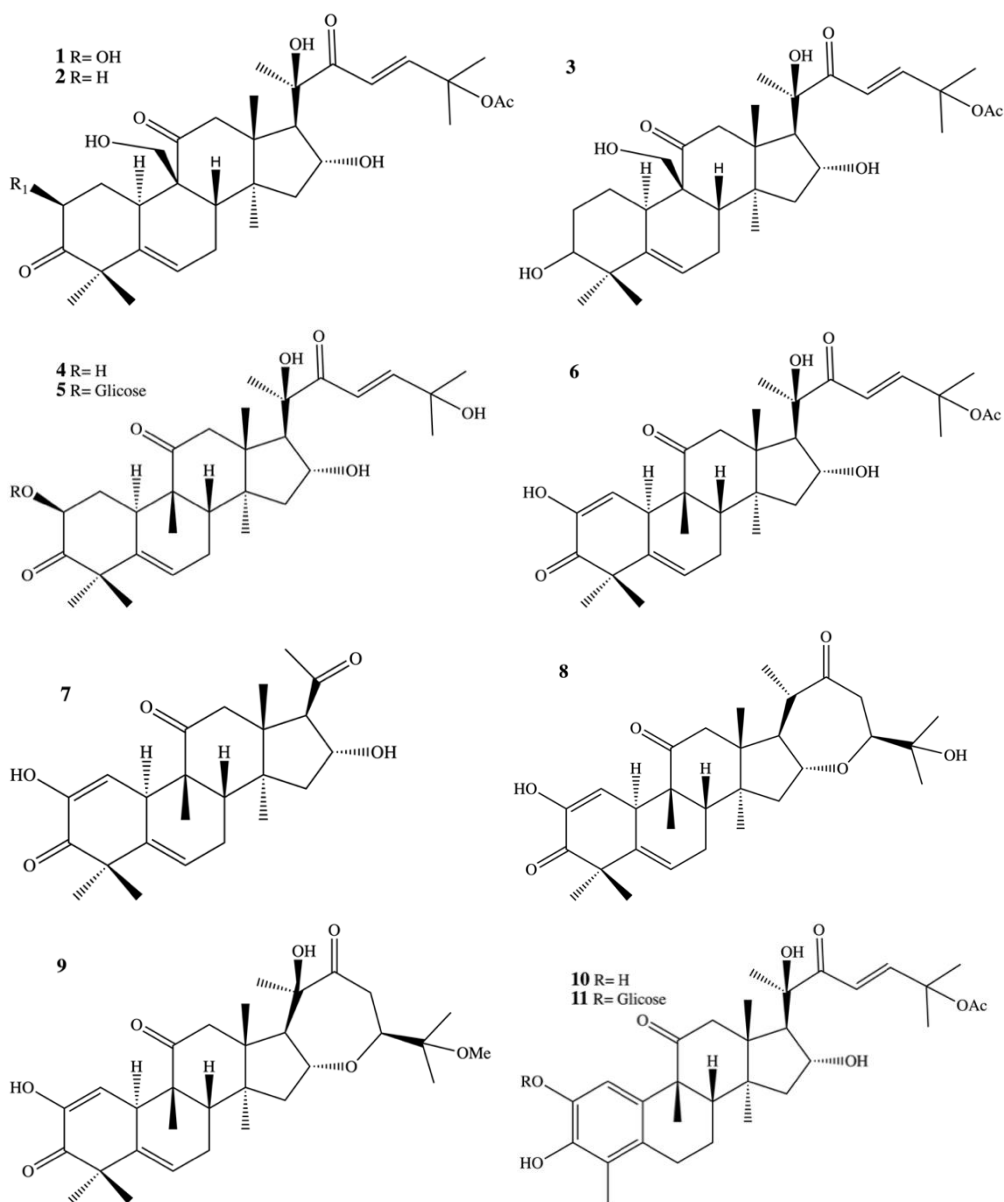
Fonte: Autoria própria.

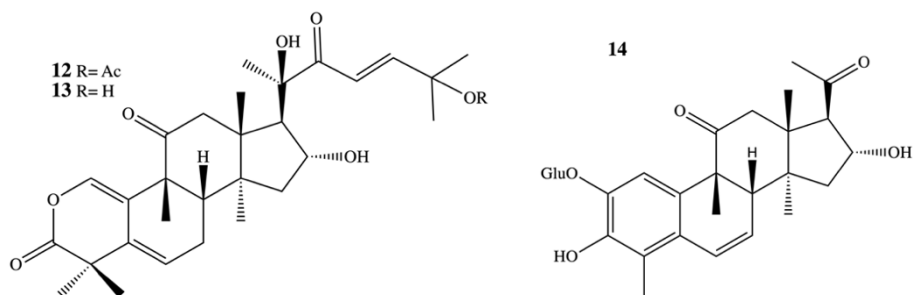
A nomenclatura adotada para proporcionar melhor assimilação destas substâncias foi a palavra “cucurbitacina” seguida por uma letra maiúscula, sequenciando o padrão cucurbitacina A, B, C... e, assim sucessivamente, contabilizando até o presente momento 12 principais categorias. As subcategorias variam de acordo com as substituições (representadas pela letra “R” na Figura 1), geralmente radicais hidroxil, metil, alquil, acetil e piranosil) e suas respectivas posições, bem como o grau de oxigenação e instauração (CAI et al., 2015).

Há moléculas que possuem esqueleto diferenciado e representam as exceções da classe, como é o caso das cucurbitacinas S e T (GAMLATH et al., 1988; HYLANDS; MANSOUR, 1982) que apresentam um anel extra oriundo de um rearranjo da cadeia lateral, quebrando o padrão tetracíclico. Nas nor-cucurbitacinas ocorre a ausência de um grupamento metila na posição C-28 ou C-29 fazendo com que se contabilize um número de carbonos diferente do núcleo cucurbitano tradicional, além do anel A que passa a ser aromático (ACHENBACH et al., 1993; HIMENO et al., 1994), e nas neocucurbitacinas o anel A é do tipo lactona (JIANG et al., 2018; KAWAHARA et al., 2001). Além disso, como já citado anteriormente, é habitual a presença de um ou mais radicais glicosídicos nas cucurbitacinas, que geralmente estão ligados aos oxigênios dos carbonos C-2 e/ou C-3 do anel A, C-16 do anel

D e/ou nas substituições da cadeia lateral (CHEN et al., 2005; KAUSHIK; AERI; MIR, 2015).
A Figura 2 mostra as principais representantes de cada subclasse das cucurbitacinas.

Figura 2 – Estruturas químicas das cucurbitacinas mais estudadas atualmente: Cucurbitacina A (1); cucurbitacina B (2); cucurbitacina C (3); cucurbitacina D (4); cucurbitacina D glicosídeo (5); cucurbitacina E (6); hexanocucurbitacina I (7); cucurbitacina S (8); cucurbitacina T (9); fevicordina A (10); fevicordina A glicosídeo (11); neocucurbitacina A (12); neocucurbitacina B (13); andirobicina B glicosídeo (14)





Fonte: Autoria própria.

Embora seja significativa a quantidade de diferentes cucurbitacinas que vem sendo evidenciadas ao longo do século, nos últimos cinco anos, os estudos publicados nas principais bases de dados a respeito desta classe vem abordando a temática biofarmacológica, a qual busca comprovar as atividades biológicas relatadas *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, além de desvendar os mecanismos de atuação e seus sítios de ligação (KUMAR et al., 2016; XU et al., 2020). Estudos fitoquímicos visando identificar novas cucurbitacinas ainda são realizados substancialmente, contudo, com menor incidência de compostos inéditos quando comparado com a década passada. Na Tabela 1 pode-se observar uma relação de novas cucurbitacinas evidenciadas entre os anos de 2015 e 2020.

Tabela 1 – Cucurbitacinas evidenciadas entre 2015 e 2020

Nº	Cucurbitacina	Referência
1	Kuguacina II	Chen et al. (2015)
2	Kuguacina III	
3	Kuguacina IV	
4	Kuguacina V	
5	Kuguacina VI	
6	Hemslepensídeo B	
7	Hemslepensídeo C	
8	Hemslepensídeo D	
9	Hemslepensídeo F	
10	16,25- <i>O</i> -diacetil-cucurbitano F	Chawech et al. (2015)
11	6'-acetil-2- <i>O</i> - β -D-glicocucurbitacina E	
12	25-p-coumaroil-3'-acetil-2- <i>O</i> - β -D-glicocucurbitacina I	Song et al. (2015)
13	16-(2-prop-1-enila)-2- <i>O</i> - β -D-glicopiranosil cucurbitacina I	
14	16-(2-prop-1-enila)-25- <i>O</i> -acetil-2- <i>O</i> - β -D-glicopiranosil cucurbitacina I	Li et al. (2016)
15	Jinfushanencina C	

16	Jinfushanencina D	
17	Jinfushanencina E	
18	Jinfushanencina F	
19	Hemslepencina A	Li et al. (2017)
20	Hemslepencina B	
21	Hemslepencina C	
22	Hemslepencina D	
23	Hemslepensídeo F	
24	Hemslepensídeo G	
25	Hemslepensídeo H	
26	Hemslepensídeo I	
27	Hemslepensídeo J	Wang et al. (2018)
28	Hemslepensídeo K	
29	Hemslepensídeo L	
30	Hemslepensídeo M	
31	Hemslepensídeo N	
32	Hemslepensídeo O	
33	Hemslepensídeo P	
34	Neocucurbitacina D	Jiang et al. (2018)
35	Hemsleyasina A	Sun et al. (2019)
36	Hemsleyasina B	
37	Hemsleyasina C	
38	Hemsleyasina D	
39	Hemsleyasina E	
40	Hemsleyasina F	
41	Hemsleyasina G	
42	Hemsleyasina H	
43	Hemsleyasina I	
44	Hemsleyasina J	
45	29-nor-2 β ,20 β ,25- trihidroxi-16 α -acetil-3,11,22-trioxo-cucurbita-4,23-dieno	Douhoré et al. (2020)
46	29-nor-1,2,3,4,5,10-dihidro-3,15 α ,20 β -trihidroxi-16 α - acetil-11,22-dioxo-cucurbita-23-en 2- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo	
47	29-nor-2 β ,15 α ,20 β - trihidroxy-16 α -acetil-3,11,22-trioxo-cucurbita-4,23-dien-2- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo	
48	Kurroaosídeo D	Morikawa et al. (2020)

Fonte: Autoria própria.

Relatos Atuais sobre Atividades Biológicas das Cucurbitacinas

Quando se fala em potencial farmacológico das cucurbitacinas, é incontestável a predominância de estudos que demonstram a atuação destas moléculas na interrupção do crescimento tumoral. Seu fator citotóxico, motivo pelo qual a classe ficou conhecida, tem sido largamente explorado nas investigações atuais, sendo uma das principais linhas de pesquisa abordada na literatura (ALI et al., 2019). Neste tópico serão discutidas as atividades biológicas reportadas nos últimos cinco anos (Tab. 2), com exceção da ação anticâncer. Para obter mais informações sobre esse tema, pode-se consultar as revisões recentemente publicadas por Liang e Dan (2019) e Ali et al. (2019).

A atividade hepatoprotetora de algumas cucurbitacinas já havia sido descrita há mais de duas décadas, as quais já são utilizadas para tratar determinadas doenças como hepatite e câncer de fígado. Relatos científicos confirmaram o potencial de cucurbitacina D (CuD) e dihidro-cucurbitacina D (DHCuD) para reduzir a hepatotoxicidade induzida quimicamente ao bloquear a via do NF- κ B e inibir a produção das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6 (ARJAIBI; AHMED; HALAWEISH, 2017).

Tabela 2 – Atividades biológicas reportadas das cucurbitacinas entre 2015-2020

Cucurbitacina	Atividade biológica	Referência
Cucurbitacina B	Hepatoprotetora	Sallam, Esmat e Abdel-Naim (2018)
	Antienvelhecimento	Lin et al. (2019);
	Anti-hipertrófica e anti-fibrótica em células do miocárdio	Morikawa et al. (2020)
	Antimicrobiana e antiviral	Xiao et al. (2017)
	Antiprurido	Hassan et al. (2017)
	Neuroprotetora	Zhong et al. (2019)
Cucurbitacina E	Redução da expressão de receptores associados à periodontite	Li et al. (2019)
	Antidiabética	Zhang et al. (2020)
	Doença intestinal	Chen et al. (2015)
Cucurbitacina I	Obesidade	Song et al. (2018)
	Anti-hipertrófica	Murtaza et al. (2017)
Cucurbitacina IIa	Antidepressivo	Jeong et al. (2015)
Dihidro-cucurbitacina D	Hepatoprotetora	Zhou et al. (2017)
		Arjaibi; Ahmed; Halaweish (2017)

Fonte: Autoria própria.

Em outro estudo realizado também com células hepáticas, foi demonstrada a atividade antidiabética de cucurbitacinas isoladas de *Momordica charantia*. Neste, foi observada a diminuição da glicemia em consequência da inibição da enzima PEPCK, a qual está envolvida diretamente na gliconeogênese (CHEN et al., 2015). Além disso, evidências apontam outras vias de atuação de cucurbitacinas na redução da glicemia. Tais resultados mostram que cucurbitacina E (CuE) mediou esses efeitos aumentando a captação de glicose em células do tecido adiposo visceral e diminuindo a resistência à insulina em camundongos tratados. O mecanismo de sensibilização à insulina, neste caso, foi alcançado indiretamente, por inibir a fosforilação de janus quinase (JAK), melhorando a atividade da proteína quinase AMPK nos adipócitos. A regulação via JAK-STAT3 afeta toda função do tecido adiposo e desempenha efeitos além da hipoglicemia, como a supressão da obesidade visceral, dislipidemia e resistência à insulina no modelo de ratos com síndrome metabólica, o que reforça a atuação da CuE como excelente alternativa terapêutica para tratar este mal (MURTAZA et al., 2017).

Ademais, a CuE é citada em inúmeros modelos de estudos biológicos, sendo uma das mais investigadas da classe. Ela foi considerada alternativa no tratamento de distúrbios intestinais a nível epitelial, sendo capaz de inibir a proliferação e migração celular do epitélio intestinal através da ativação da cofilina, a qual induz a parada de fase G2/M, interrompendo a dinâmica da actina nas células epiteliais intestinais (SONG et al., 2018). Cofilina é uma proteína pertencente à família das ADF/cofilina que apresenta um importante papel na regulação da polimerização e despolimerização dos filamentos de actina, a qual também é alvo da Cucurbitacina B (CuB) em células neuronais. A fosforilação da cofilina nos neurônios pela CuB ocasiona um efeito neuroprotetor (LI et al., 2019). O efeito neuroprotetor também é explorado em pesquisa realizada *in vivo* utilizando modelos experimentais de depressão, no qual a cucurbitacina IIa (CuIIa) mostrou possuir capacidade de equilibrar os níveis de glutamato e receptores GABA, regulando a via CaMKII-CREB-BDNF, mostrando-se um potencial agente terapêutico antidepressivo (ZHOU et al., 2017).

Em suma, a CuB também está sempre em evidência quando se trata de propriedades farmacológicas e é um dos destaques positivos na maioria dos testes, pois apresenta grande versatilidade em termos de interações com diferentes alvos que vão muito além da modulação de fatores transcricionais na expressão ou supressão de genes relacionados à morte celular. Em uma pesquisa sobre sua provável ação antienvhecimento foram identificadas 44 proteínas que não estão associadas ao crescimento ou morfologia celular que são alvos da CuB (LIN et al., 2019). Um de seus derivados glicosídicos isolado de *Picrorhiza kurroa*, uma planta utilizada na medicina tradicional Ayurvedica, promoveu significativamente a síntese de colágeno entre

10 e 30 μM , sem que nenhuma citotoxicidade fosse observada nas concentrações efetivas, o que também pode ser atribuído como um potencial agente antienvhecimento, já que a diminuição da produção de colágeno tipo I nas células da camada dérmica está diretamente relacionada ao envelhecimento. O mecanismo de indução de síntese ainda não está bem elucidado (MORIKAWA et al., 2020).

Sabe-se que a CuB possui afinidade por quinases, como revelou a triagem *in vitro/in silico* realizada com a família dessas proteínas. A atividade inibitória mais forte foi encontrada contra TrkA (90% de inibição), que é um receptor transmembrana de superfície tirosina quinase para a neurotrofina, o qual desempenha um papel importante na patogênese da psoríase e prurido associado, observando-se um efeito antiprurido relacionado a distúrbios de ativação de TrkA (ZHONG et al., 2019).

Para a CuB também foi atribuída a atividade antimicrobiana e antiviral. Em estudo realizado *in vitro* foi investigado seu efeito sinérgico com antibióticos contra isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e atividade antiviral frente à *Herpes simplex* (HSV-1). A CuB exerceu atividade inibidora de crescimento direta contra todas as cepas de *S. aureus* testadas com valores de MICs variando de 0,12 a 0,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$, bem como efeito de sinergia com tetraciclina ou oxacilina contra quatro das seis cepas de *S. aureus* testadas. A atividade anti-HSV-1 foi notável em comparação com a do aciclovir com valores de IC_{50} de 0,94 e 1,74 μM , respectivamente (HASSAN et al., 2017).

Achados sugerem que a CuB tem ação anti-hipertrofica e antifibrótica em células do miocárdio. Foi demonstrada diminuição do peso cardíaco, da área de secção celular do miocárdio e da fibrose intersticial em camundongos hipertroficados induzidos por sobrecarga de pressão. O mecanismo apontado pelo teste *in vitro* mostra que CuB protege o miocárdio contra a hipertrofia cardíaca, aumentando o nível de autofagia nos cardiomiócitos, o que está associado à inibição do eixo do sinal de Akt/mTOR/ FoxO3a (XIAO et al., 2017). Segundo Jeong et al. (2015) a cucurbitacina I (CuI) também tem efeitos positivos nas células do coração que sofrem de hipertrofia, porém descreve o mecanismo de ação dependente da inibição de CTGF / MAPK e eventos facilitados por TGF- β /Smad.

A CuB ainda é citada nos estudos de Sallam, Esmat e Abdel-Naim (2018) como agente supressor de marcadores da fibrose hepática (inibindo fatores de crescimento) e no modelo experimental de Zhong et al. (2020) como agente supressor de receptores importantes no desenvolvimento de periodontite associada à perda óssea. Ademais, os testes recentes têm demonstrado que o potencial farmacológico das cucurbitacinas não se limitam ao tratamento do câncer, pelo contrário, os mecanismos já desvendados que levam à diminuição da

proliferação celular estão intimamente ligados a outras atividades por ser, em sua maioria, a nível de expressão gênica de proteínas.

Atividade Anti-inflamatória

A inflamação desempenha um papel crucial no desenvolvimento de muitas doenças e distúrbios complexos como doenças autoimunes, síndrome metabólica, doenças neurodegenerativas, patologias cardiovasculares e câncer (FERRER et al., 2019). A busca pela comprovação da atividade anti-inflamatória das cucurbitacinas tem origem no uso medicinal de plantas que as continha em sua composição química e eram empregadas para tratamento de doenças relacionadas a dor crônica e febre, como por exemplo *Wilbrandia ebracteata* popularmente conhecida como “cabeça-de-nego”, utilizada na medicina tradicional brasileira para atenuar os sintomas da artrite reumatoide (ALMEIDA; RAO; MATOS, 1992).

Estudos realizados com cucurbitacinas mostraram fortes indícios de atuação nos sinais inflamatórios (Tab. 3), os quais são abordados neste tópico frisando os principais mecanismos de ação já descritos.

Inibição da inflamação via COX/NO/ROS

As ciclooxigenases (COXs) têm três isoformas: COX-1, COX-2 e COX-3, das quais COX-2 é conhecida há tempos como alvo de tratamento para alívio de sinais cardinais da inflamação, principalmente dor. Trata-se de uma proteína de membrana de ação enzimática responsável pela geração de prostanoídes e sua expressão basal ocorre apenas no estômago, rim, sistema nervoso central e sistema reprodutor feminino, ocorrendo em quantidade desprezível em células normais e exacerbada em células em estado inflamatório incluindo células cancerígenas, sua produção é regulada positivamente por citocinas, mitógenos e endotoxinas de muitos tipos (CHENG et al., 2013; HASHEMI GORADEL et al., 2019).

Tabela 3 – Estudos de cucurbitacinas envolvendo atividade anti-inflamatória/imunomoduladora e seus respectivos mecanismos de ação

Referência	Cucurbitacinas	Modelo do estudo	Atividade farmacológica	Mecanismo de ação proposto
PETERS et al. (1999)	CuB	<i>in vivo</i>	Anti-inflamatória	Inibição de COX-2
JAYAPRAKASAM; SEERAM; NAIR (2003)	CuB, CuD, CuE, CuI	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória Antioxidante	Inibição de COX-2 Inibição de peroxidação lipídica
ATTARD et al. (2004)	CuE	<i>in vitro</i>	Antineoplásica	Estimulação de linfócitos T normais
PARK et al. (2004)	DHCuD	<i>in vitro/in vivo</i>	Anti-inflamatória	Inibição de NO
SIQUEIRA JR et al. (2007)	DHCuB	<i>in vitro/in vivo</i>	Anti-inflamatória	Inibição de COX-2
TANNIN-SPITZ; BERGMAN; GROSSMAN (2007)	CuB + CuE glicosídeos	<i>in vitro</i>	Antioxidante	Inibição de ROS
ESCANDELL et al. (2007)	CuR	<i>in vivo</i>	Anti-inflamatória	Supressão de TNF- α , NO e PGE2
U-PRATYA et al. (2010)	CuB	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Supressão de NOS, COX-2, MHC-II e moléculas coestimuladoras de adesão
ESCANDELL et al. (2010)	CuR	<i>in vitro/in vivo</i>	Anti-inflamatória	Inibição de NFAT e citocinas
ESCANDELL et al., 2010b)	CuR	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Inibição da proliferação de macrófagos e linfócitos T
ABDELWAHAB et al. (2011)	CuE	<i>in vitro/in vivo</i>	Anti-inflamatória Antioxidante	Inibição de COX-1 e COX-2 Inibição de RNS
SONG et al. (2013)	CuD	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Ativação de inflamassoma e aumento da sinalização de LPS
WANG et al. (2014)	CuBII	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória Imunomoduladora	Inibição da proliferação de linfócitos T
PARK; KIM; PARK (2015)	CuB, CuE, CuI	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória	Supressão de NOS e COX-2

LI et al. (2015b)	CuB	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória	Supressão de mediadores inflamatórios
KIM et al. (2015)	CuB	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória Imunomoduladora	Supressão de mediadores inflamatórios Supressão de MHC-II
WANG et al. (2015)	CuE	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Supressão de citocinas próinflamatórias
JIA et al. (2015)	CuE	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória	Supressão de citocinas pró- inflamatórias
JEVTIĆ et al. (2016)	CuE	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Supressão de citocinas pró- inflamatórias
HUSSEIN et al. (2017)	CuE glicosídeo	<i>in vitro/in vivo</i>	Anti-inflamatória Antioxidante	Inibição de COX-2 Inibição de ROS e RNS
CUI et al. (2017)	CuI	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Supressão de IgE
SALLAM; ESMAT; ABDEL-NAIM (2018)	CuB	<i>in vitro/in vivo</i>	Anti-inflamatória Antioxidante Imunomoduladora	Inibição de ROS Supressão de marcadores inflamatórios
KIM et al. (2018)	CuE	<i>in vitro/in vivo</i>	Imunomoduladora	Supressão de citocinas pró- inflamatórias
SHANG et al. (2019)	CuE	<i>in vitro</i>	Anti-inflamatória	Supressão de citocinas e MUC5AC
DU et al. (2019)	MoG	<i>in vitro</i>	Imunomoduladora	Inibição da proliferação de macrófagos M1

Fonte: Autoria própria.

Um estudo realizado com a CuB utilizando o modelo *in vivo* de edema pleural induzido por carragenina demonstrou uma inibição significativa do influxo celular e do extravasamento de fluido da cavidade pleural, bem como redução dos níveis de prostaglandina E2 (PGE2) o que sugere inibição da COX-2 (PETERS et al., 1999). A capacidade inibitória de CuB frente às enzimas COXs também foi testada por Jayaprakasam, Seeram e Nair (2003) que avaliou também CuD, CuE e CuI constatando a eficácia destes compostos como inibidores seletivos de COX-2. Além disso, o estudo mostrou que CuB e CuI inibiram a peroxidação lipídica em 59% e 23%, respectivamente.

A dihidro-cucurbitacina B (DHCuB) foi testada quanto à capacidade de inibir COX-1 e COX-2, mostrando seletividade apenas para COX-2 durante processo de inflamação aguda (SIQUEIRA JR. et al., 2007) corroborando Peters et al. (2003) que apontou resultados semelhantes.

Outro estudo *in vivo* realizado com a CuE revelou significativa inibição do desenvolvimento de edema de pata induzido por carragenina em ratos nas doses de 30 e 60 mg kg⁻¹ (ABDELWAHAB et al., 2011). Vale salientar que a carragenina é um agente flogístico que induz um edema bifásico e está intimamente associado à produção de mediadores inflamatórios, como as enzimas COXs, prostaglandinas, óxido nítrico e citocinas, o que torna o método do edema muito interessante na busca por novos fármacos anti-inflamatórios que atuem inibindo a produção destes mediadores, sendo um dos métodos de primeira escolha na maioria dos testes *in vivo* relacionados as cucurbitacinas (HASHEMI GORADEL et al., 2019; HUSSEIN et al., 2017; MARZOUK et al., 2013).

Ainda no estudo de Abdelwahab (2011) verificou-se por meio de um ensaio de biossíntese de prostaglandinas *in vitro* que a CuE foi capaz de inibir COX-1 e COX-2 com mais seletividade por COX-2 demonstrada pelos valores de IC₅₀ de 90 e 69 µM, respectivamente. Além disso, constatou-se também que a CuE diminuiu a produção de óxido nítrico (NO) em macrófagos sem afetar a viabilidade dessas células. O óxido nítrico é um gás radical livre que desempenha funções importantes como segundo mensageiro em diversas respostas imunológicas, cardiovasculares e neurológicas. É sintetizado a partir de L-arginina pela família de enzimas óxido nítrico sintases (NOS). A sua isoforma induzível (iNOS) produz grandes e sustentadas quantidades de NO e tem sua ativação a partir de estímulos inflamatórios, estando intimamente associado a resposta inflamatória (PETERS et al., 2003). É sabido que altas concentrações de NO pode potencializar a ativação de COX-2, contribuindo para respostas inflamatórias mais intensas, como visto em muitos distúrbios inflamatórios crônicos.

Outro mecanismo de ação plausível para cucurbitacinas é a remoção de espécies de oxigênio reativo (ROS) precursores dos radicais livres ativos peróxido de hidrogênio, radical hidroxil e oxigênio singlete, que desempenham um papel importante no dano oxidativo a lipídios, proteínas e DNA, induzindo dano tecidual e resposta inflamatória aguda (ABDELWAHAB et al., 2011; GÜLÇİN, 2006).

Foi relatado por Abdelwahab (2011) que a CuE não foi capaz de atuar nessa via de redução de ROS, apresentando fraca atividade antioxidante. Contudo, em estudo conduzido utilizando métodos semelhantes, observou-se que o glicosídeo da CuE e seus derivados semissintéticos cucurbitacina E cinamil glicosídeo e cucurbitacina E cafeoil glicosídeos foram capazes de reduzir significativamente os radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico, sugerindo dessa forma que os derivados glicosídicos podem atuar utilizando este mecanismo melhor que as formas agliconas (HUSSEIN et al., 2017).

Sallam, Esmat e Abdel-Naim (2018) identificaram que a CuB reduziu o estresse oxidativo induzido por CCl₄ em células hepáticas. A resposta antioxidante da CuB foi dose-dependente, sendo comprovada através do aumento do conteúdo de GSH, atividade de CAT e redução da peroxidação lipídica. Esses resultados corroboram os achados de Tannin-Spitz, Bergman e Grossman (2007) que relataram a capacidade sequestradora de radicais livres de glicosídeos de cucurbitacinas (CuB + CuE glicosídeos), indicando que esses compostos são promissores na prevenção de doenças humanas envolvendo danos oxidativos.

Atividade Imunomoduladora

Modulação de citocinas e proteínas

O processo inflamatório envolve diversas células leucocitárias como macrófagos, neutrófilos e linfócitos que por sua vez liberam substâncias químicas capazes de mediar vários mecanismos que vão desde a instalação da inflamação até a restauração da função do tecido. Dentre os mediadores inflamatórios pode-se incluir as aminas vasoativas, eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos), peptídeos e proteínas (por exemplo NOS e COXs) (ABDULKHALEQ et al., 2018).

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular (< 60 kD) e apresentam efeito pleiotrópico, isto é, a mesma citocina atua em diferentes tipos de célula, produzindo reações que podem ser sinérgicas ou antagônicas, desempenhando papel fundamental no ajuste da resposta imunológica. No entanto, o desequilíbrio na liberação dessas citocinas pode causar

danos ao tecido, promovendo exacerbação dos sinais inflamatórios e caracterizando quadros patológicos crônicos (GUPTA; KHAN; SINGH, 2020).

Um estudo realizado com células da micróglia apontou que cucurbitacinas B, E e I foram capazes de inibir as citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6, as quais exercem papel central na neuroinflamação, além de reduzir a expressão de NOS e COX-2 (PARK; KIM; PARK, 2015).

A CuB também foi avaliada frente à outras citocinas como IL-8, CCL20 em queratinócitos (LI et al., 2015b) e IL-12 em linfócitos circulantes (U-PRATYA et al., 2010), apresentando inibição significativa. Esses resultados foram corroborados por Kim et al. (2015) que verificaram que a CuB, além de bloquear a liberação de mediadores pró-inflamatórios (ROS, NO, PGE2, TNF- α , IL-6, IL-12, IL-1 β), também atenuou a expressão de NOS, COX-2, MHC-II e moléculas coestimuladoras de adesão (CD40, CD54, CD80 e CD86) em macrófagos, indicando que este composto possui efeitos imunomoduladores.

A CuE foi avaliada por Jia et al. (2015) quanto ao seu efeito anti-inflamatório na artrite reumatoide (AR) e demonstrou supressão significativa das citocinas inflamatórias induzida por TNF- α em células MH7A de sinoviócitos humanos por meio da modulação da via PI3K/Akt/NF- κ B. Esses achados indicaram que CuE é um candidato potencial para terapia de AR. O tratamento com CuE também se mostrou eficaz na redução da lesão provocada por LPS em células epiteliais brônquicas, mostrando ser um potencial agente antiasmático. Nesse estudo, a CuE melhorou a resposta inflamatória através da supressão de citocinas e redução de MUC5AC, uma proteína de muco proverbial que é secretada do epitélio da superfície das vias aéreas e exerce papéis críticos na progressão da asma (SHANG et al., 2019).

Wang et al. (2015) constataram que a CuE inibiu significativamente a produção de IL-2, TNF- α e IFN- γ em meio de cultura de células tratadas com forbol 12,13-dibutirato (PDB) mais ionomicina (íon). Além disso, os níveis de mRNA dessas citocinas em células T Jurkat ativadas também diminuíram com o tratamento da CuE, sugerindo um potencial efeito modulador nas vias de sinalização críticas para a expressão de citocinas, incluindo NF- κ B ou ativado por MAPKs. Em apoio ao seu efeito na via de sinalização de NF- κ B, CucE diminuiu os níveis de fosforilação do inibidor de κ B (I κ B) e NF- κ B / p65 em células estimuladas com PDB + íon. Ademais, Jevtić et al. (2016) e Kim et al. (2018) corroboram a ação imunomoduladora da CuE na expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-17, IFN- γ , mediados pelas vias STAT-3, NF- κ B, MAPK e sinalização miR-146.

Em outro estudo, desta vez utilizando a dihidro-cucurbitacina D (DHCuD), foi demonstrada sua capacidade em bloquear a ativação de NF- κ B inviabilizando a transcrição de

iNOS. Sabe-se que a via do NF- κ B é importante não só para o estímulo da síntese de NO, mas de diversas outras proteínas e citocinas pró-inflamatórias (PARK et al., 2004).

O fator nuclear- κ B (NF- κ B) é um fator de transcrição crítico que regula a expressão de citocinas pró-inflamatórias durante a inflamação. O complexo NF- κ B contém os componentes da família Rel, Rel A/p65, c-Rel e Rel B, bem como os componentes NF- κ B p50 (p105) e p52 (p100). Em células não estimuladas, o complexo NF- κ B é preso no citoplasma através da ligação às proteínas I κ B inibitórias (I κ Ba, I κ Bb, I κ Bc, I κ Be e Bcl3). Quando as células são expostas a sinais de perigo, como lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), estresse oxidativo e luz ultravioleta (UV), I κ B é fosforilado, resultando em ubiquitinação e degradação por meio da via do proteassoma. NF- κ B é, então, liberado e translocado para o núcleo, onde ativa uma série de genes, codificando citocinas (QIAO et al., 2013).

Foi observado no estudo *in vivo* realizado por Hua e colaboradores (2017) que a CuB diminuiu significativamente as contagens de células (células totais, neutrófilos e linfócitos) de BALF e reduziu drasticamente os níveis de citocinas de TNF- α e IL-6 no BALF. Além disso, os resultados da morfologia pulmonar mostraram que a CuB pode reduzir de forma dose-dependente a infiltração de células inflamatórias. A partir disso, concluiu-se que a CuB pode efetivamente melhorar a função de troca gasosa pulmonar, reduzir o edema e proporcionar efeito protetor no pulmão com lesão aguda induzida por sepse, tornando-se um agente potencial no tratamento da LPA ao bloquear a liberação de fatores inflamatórios e inibir a ativação da via do NF- κ B.

A curcubitacina R (CuR) também é citada como potencial modulador de citocinas. Nos experimentos de Escandell et al. (2007, 2010) são descritas as atividades imunossupressoras de TNF- α , IL-2, IL-4, IL-10 e IFN- γ . Além disso, a CuR foi capaz de inibir a produção de enzimas pró-inflamatórias e proliferação de linfócitos T através da inibição seletiva do fator nuclear AT (NFAT), o qual compõe uma família de fatores de transcrição que regula a expressão induzível de diferentes citocinas e receptores de superfície celular críticos para a resposta imune (LEE; PARK, 2006).

Modulação da atividade leucocitária

Na seção anterior foi relatada sumariamente a capacidade de algumas cucurbitacinas de modular a produção de citocinas e outros mediadores químicos em células leucocitárias, o que já as caracteriza como potenciais agentes imunomoduladores. Além disso, também é possível encontrar na literatura menção a funções antiproliferativas de células envolvidas na inflamação,

em especial macrófagos e linfócitos. Vale salientar que a ativação de granulócitos, bem como sua infiltração exacerbada acarreta aumento dos sinais inflamatórios, como tempestade de citocinas, que podem agravar quadros de infecções, neoplasias e doenças autoimunes. A manutenção da atividade linfocitária é uma via importante, principalmente na inflamação crônica que geralmente está ligada a distúrbios imunológicos e câncer (NEFEDOVA et al., 2005).

A atividade imunomoduladora da CuR demonstrada por Escandell et al. (2010a, 2010b) envolveu a inibição da proliferação de macrófagos e linfócitos T. Verificou-se que a CuR induziu a apoptose em macrófagos RAW 264.7 estimulados por LPS, interrompendo o ciclo celular (fase G2/M) e diminuindo a expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2. A CuR também foi capaz de modificar o ciclo celular de linfócitos T humanos e, conseqüentemente, a produção de citocinas e ciclinas importantes na patogênese de doenças autoimunes como artrite e DTH.

Os macrófagos e monócitos representam papel importante no direcionamento da resposta imune inata e na regulação da imunidade adquirida. Dentre os mecanismos mais conhecidos está a ativação do inflamassoma, um complexo protéico oligomérico que inclui proteínas como caspase-1, NALP, ASC, dentre outras capazes de maturar citocinas e sinalizar processos imunofetores. Song et al. (2013) relataram que uma baixa dose de CuD (0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) apresentou atividade imunomoduladora em macrófagos por meio de ativação de inflamassoma e aumento da sinalização de LPS, induzindo resposta imune adquirida.

Outra função especializada da imunidade adaptativa é a síntese de proteínas de superfície produzidas por macrófagos apresentadores de antígenos. De acordo com Kim et al. (2015) a CuB reduziu significativamente a expressão de molécula do complexo principal de histocompatibilidade II (MHC II) e moléculas coestimuladoras de adesão (CD40, CD54 e CD80) em macrófagos, as quais estão diretamente envolvidas na ativação de células do sistema imune, como células T por exemplo, após o contato com produtos microbianos. Diante disso, a CuB se torna um agente imunossupressor capaz de atenuar resposta inflamatória celular exacerbada em doenças que apresentam essas características, como a periodontite (KANAYA et al., 2004).

Du et al. (2019) testaram uma cucurbitacina isolada de *Momordica charantia*, denominada momordicosídeo G (MoG) em um modelo de lesão pulmonar induzida por LPS. O estudo identificou que MoG suprime seletivamente macrófagos M1, estimulando o reparo de lesão pulmonar e prevenindo, conseqüentemente, carcinogênese associada à inflamação. O mecanismo sugerido envolve a diminuição de ROS, autofagia e indução de apoptose dos

macrófagos M1, no entanto, foi observado um aumento de macrófagos do tipo M2 que proporcionou sinergicamente a melhora do quadro da lesão pulmonar.

Além de macrófagos de diferentes linhagens, também tem sido demonstrado que os linfócitos são potenciais alvos de ação das cucurbitacinas. Foi verificado por Wang et al. (2014) que CuIIb inibiu a proliferação de linfócitos T ativados por concavalina A (con A) por múltiplas vias de sinalização celular, dentre elas a supressão de marcadores de ativação CD69/CD25 e ruptura do citoesqueleto de actina e modulação dos níveis de p27Kip1 e ciclina levando à interrupção do ciclo celular. Ademais, a CuIIb foi capaz de diminuir significativamente os níveis de mRNA de I κ Ba e TNF- α , dois genes alvo do NF- κ B, regulou negativamente a fosforilação de STAT3 induzida por Con A e aumentou a apoptose celular.

Embora a proliferação de linfócitos seja prejudicial em determinados desordens imunológicas, devido ao fato de haver produção excessiva de quimiocinas, fatores de crescimento e espécies reativas de oxigênio, a ativação deles é necessária para o combate de células mutagênicas e micro-organismos invasores. Esse equilíbrio homeostático é um ponto crucial para a manutenção do sistema imunológico e que depende de diversos parâmetros complexos, muitos ainda inexplorados. Curiosamente, algumas substâncias desempenham papel “dual” chegando a ser conflitante, como é o caso da CuE. O estudo de Attard et al. (2004), realizado com dois modelos de linfócitos revelou que a CuE estimulou a proliferação sustentada de linfócitos T normais. Entretanto, é importante ressaltar que os mesmos sinais que são necessários para estimular a produção de citocinas e eventual proliferação de células T também parecem ser necessários para inibir o crescimento e iniciar a apoptose nas células T ativadas, o que sugere que CuE pode exercer ações parcialmente competitivas.

A produção de anticorpos pelas células B especializadas também é um mecanismo de defesa que leva à liberação de mediadores inflamatórios em doenças autoimunes e anafiláticas como a asma, por exemplo. Cucurbitacina I (CuI) foi estudada por Cui et al. (2017) demonstrando ser um imunossupressor seletivo de IgE. Sabe-se que a síndrome hiper-IgE está relacionada a uma mutação STAT3, a qual já foi comprovada a inibição por CuI. Coletivamente, esses dados apontam que CuI é capaz de inibir a expressão de IgE pela via STAT3, sem afetar a produção de IgG que é essencial para a imunidade de memória do hospedeiro.

Conclusão e Perspectivas Futuras

Torna-se inegável a versatilidade das estruturas químicas pertencentes à classe das cucurbitacinas. As atividades farmacológicas relatadas nos estudos discutidos nesta revisão mostram que tais moléculas são capazes de atuar em diferentes tipos celulares, exercendo funções que envolvem, primariamente, o reparo tecidual. A quantidade de compostos evidenciados nos últimos anos demonstra a crescente procura por mais variações estruturais, as quais proporcionam todo o diferencial farmacofórico.

CuB e CuE foram as cucurbitacinas mais investigadas pelos estudos aqui mencionados, tanto na atualização das bioatividades quanto na função imunológica, totalizando juntas mais de 20 citações. Seus mecanismos de ação ocorrem a nível citoplasmático, membranar e nuclear, por meio de interações com proteínas, quimiocinas, mediadores químicos e fatores de crescimento. Já haviam sido identificadas vias de atuação de cucurbitacinas importantes na proliferação celular como STAT3 mediada por NF-kB no controle de reprodução de células tumorais, e que agora surgem também como alternativa no equilíbrio do sistema imunológico pela mesma via, que em distúrbios atópicos apresenta proliferação leucocitária desregulada.

Inúmeros processos patológicos estão diretamente associados à proliferação celular desordenada, como o próprio sistema imunológico, no qual tal desequilíbrio acarreta a produção de marcadores inflamatórios cruciais no aparecimento de sintomas e agravamento de quadros anafiláticos. Dessa forma, esta revisão reforça a importância química e farmacológica das cucurbitacinas, trazendo novas perspectivas de inovação terapêutica que vão além do câncer propriamente dito.

*Este artigo será submetido no periódico *Pharmaceutics* (ISSN 1999–4923)

Lista de Abreviações

ADF - Fator despolimerizante de actina

AKT - Proteína quinase serina/treonina específica

AMPK - Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina

AR - Artrite reumatoide

ASC - Proteína tipo Speck associada à apoptose

BALF - Fluido de lavagem broncoalveolar

Bcl-2 - Linfoma de células B2

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro
CaMKII - Proteína quinase II dependente de calmodulina
CAT - Atividade de Catalase
CCL20 - Ligante de quimiocina C-C Motif 20
CCl₄ - Tetracloreto de Carbono
Con A - Concavalina A
COXs - Cicloxigenases
CREB - Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc
CTGF - Fator de crescimento do tecido conjuntivo
CuB - Cucurbitacina B
CuD - Cucurbitacina D
CuE - Cucurbitacina E
CuI - Cucurbitacina I
CuIIa - Cucurbitacina IIa
CuIIb - Cucurbitacina IIb
CuR - Cucurbitacina R
DHCuB - Dihidro-cucurbitacina B
DHCuD - Dihidro-cucurbitacina D
DNA - Ácido desoxirribonucleico
DTH - Hipersensibilidade do tipo tardia
Erk1/2 - Quinase reguladora de sinal extracelular
FoxO3a - Fator de transcrição forkhead box O3a
GABA - Ácido gama-aminobutírico
GSH - Glutathione
HSV-1 - Herpes simplex 1
IFN- γ - Interferon-gama
IgE - Imunoglobulina E
IgG - Imunoglobulina G
IkB - Inibidor de κ B
IkBa - Subunidade inibitória de NF Kappa B Alpha
IL-1 β - Interleucina 1 beta
IL-4 - Interleucina 4
IL-6 - Interleucina 6
IL-8 - Interleucina 8
IL-10 - Interleucina 10
IL-12 - Interleucina 12
IL-17 - Interleucina 17

iNOS - Óxido nítrico sintase induzível
JAK- Janus Quinases
JNK - c-Jun N-terminal quinase
LPA - Lesão Pulmonar Aguda
LPS - Lipopolissacarídeo
MAPKs - Proteína quinases ativadas por mitógenos
MH7A - Células sinoviais reumatóides
MHC-II - Complexo Principal de Histocompatibilidade II
MICs - Concentração inibitória mínima
miR-146 - MicroRNA-146
MoG - Momordicosídeo G
mRNA - RNA mensageiro
mTOR - Alvo mamífero da rapamicina
MUC5AC - Mucina 5AC
NALP - Receptor do tipo NOD
NFAT - Fator nuclear de células T ativadas
NF- κ B - Fator Nuclear Kappa B
NGF - Fator de crescimento nervoso
NO - Óxido nítrico
NOS - Óxido nítrico sintase
P27Kipl - Inibidor de cinase dependente de ciclina 1B
PDB - Forbol 12,13-dibutirato
PEPCK - Fosfoenolpiruvato carboxiquinase
PGE2 - Prostaglandina E2
PI3K - Fosfoinositídeo 3-quinase
ROS - Espécies de oxigênio reativo
RNS – Espécies de nitrogênio reativo
STAT 3 - Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
TGF- β - Fator de transformação do crescimento beta
TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa
TrkA - Receptor de tropomiosina quinase A
UV- Ultravioleta

Referências

ABDELWAHAB, S. I. et al. Anti-inflammatory activities of cucurbitacin e isolated from *Citrullus lanatus* var. *citroides*: Role of reactive nitrogen species and cyclooxygenase enzyme

inhibition. **Fitoterapia**, v. 82, n. 8, p. 1190–1197, 2011.

ABDULKHALEQ, L. A. et al. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. **Veterinary World**, v. 11, n. 5, p. 627–635, 2018.

ACHENBACH, H. et al. Constituents of *Fevillea cordifolia*: new norcucurbitacin and cucurbitacin glycosides. **Journal of Natural Products**, v. 388, n. 9, p. 1506–1519, 1993.

ALI, M. S. et al. Cucurbitacins a Vibrant Triterpenoid: A Review on its Anticancer Property. **PharmaTutor**, v. 7, n. 2, p. 43, 2019.

ALMEIDA, F. R. C.; RAO, V. S. N.; MATOS, M. E. O. Antiinflammatory, antitumour and antifertility effects in rodents of two nor-cucurbitacin glycosides from *Wilbrandia* species. **Phytotherapy Research**, v. 6, n. 4, p. 189–193, 1992.

ARJAIBI, H. M.; AHMED, M. S.; HALAWEISH, F. T. Mechanistic investigation of hepato-protective potential for cucurbitacins. **Medicinal Chemistry Research**, v. 26, n. 7, p. 1567–1573, 2017.

ATTARD, E. et al. The effects of cucurbitacin E on two lymphocyte models. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 2, p. 170–175, 2004.

BERG, A. Sur la Formule de l'Elaterine. **BULL. SOC. CHIM. FRANCE**, v. 35, n. 3, p. 435, 1906.

BHANDARI, P. et al. Cucurbitacins from *Bacopa monnieri*. **Phytochemistry**, v. 68, n. 9, p. 1248–1254, 2007.

CAI, Y. et al. Cucurbitacins: A Systematic Review of the Phytochemistry and Anticancer Activity. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 43, n. 7, p. 1331–1350, 2015.

CÁRDENAS, P. D.; ALMEIDA, A.; BAK, S. Evolution of Structural Diversity of Triterpenoids. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. December, p. 1–10, 2019.

CHAWECH, R. et al. Cucurbitacins from the leaves of *Citrullus colocynthis* (L.) schrad. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 18001–18015, 2015.

CHEN, J. C. et al. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structures and biological activities. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 3, p. 386–399, 2005.

CHEN, J. C. et al. The antigluconeogenic activity of cucurbitacins from *Momordica charantia*. **Planta Medica**, v. 81, n. 4, p. 327–332, 2015.

CHENG, S. E. et al. ATP Mediates NADPH Oxidase/ROS Generation and COX-2/PGE2 Expression in A549 Cells: Role of P2 Receptor-Dependent STAT3 Activation. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, 2013.

CUI, L. et al. JSI-124 inhibits IgE production in an IgE B cell line. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 483, n. 1, p. 669–673, 2017.

- DOUHORE, G. Y. T. et al. Nor-cucurbitacins from the leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). **Fitoterapia**, v. 143, p. 104538, 2020.
- DU, Z. et al. Momordicoside G regulates macrophage phenotypes to stimulate efficient repair of lung injury and prevent urethane-induced lung carcinoma lesions. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. MAR, p. 1–11, 2019.
- ESCANDELL, J. M. et al. Cucurbitacin R reduces the inflammation and bone damage associated with adjuvant arthritis in Lewis rats by suppression of tumor necrosis factor- α in T lymphocytes and macrophages. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 320, n. 2, p. 581–590, 2007.
- ESCANDELL, J. M. et al. Inhibition of delayed-type hypersensitivity by cucurbitacin R through the curbing of lymphocyte proliferation and cytokine expression by means of nuclear factor AT translocation to the nucleus. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 332, n. 2, p. 352–363, 2010a.
- ESCANDELL, J. M. et al. Bcl-2 is a negative regulator of interleukin-1 secretion in murine macrophages in pharmacological-induced apoptosis. **British Journal of Pharmacology**, v. 160, n. 7, p. 1844–1856, 2010b.
- FERRER, M. D. et al. Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 8, p. 3225–3241, 2019.
- GAMLATH, C. B. et al. CUCURBITACINS of *Colocynthis vulgaris**. **Phytochemistry**, v. 27, n. 10, p. 3225–3229, 1988.
- GÜLÇİN, I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. **Life Sciences**, v. 78, p. 803–811, 2006.
- GUPTA, K. K.; KHAN, M. A.; SINGH, S. K. Constitutive Inflammatory Cytokine Storm: A Major Threat to Human Health. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 40, n. 1, p. 19–23, 2020.
- HASHEMI GORADEL, N. et al. Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 5, p. 5683–5699, 2019.
- HASSAN, S. T. S. et al. Cucurbitacin B interacts synergistically with antibiotics against *Staphylococcus aureus* clinical isolates and exhibits antiviral activity against HSV-1. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 90–94, 2017.
- HIMENO, E. et al. Studies on the Constituents of the Root of *Cayaponia tayuya* (VELL.) COGN. III. Structures of Cayaponosides, 29-Nor-1,2,3,4,5,10-hexadehydrocucurbit-6-ene Glucosides. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 11, p. 2370–2317, 1994.
- HUA, S. et al. Protective effects of cucurbitacin B on acute lung injury induced by sepsis in rats. **Medical Science Monitor**, v. 23, p. 1355–1362, 2017.
- HUSSEIN, M. A. et al. Synthesis of Cinnamyl and Caffeoyl Derivatives of Cucurbitacin-Eglycoside Isolated from *Citrullus colocynthis* Fruits and their Structures Antioxidant and

Anti-inflammatory Activities Relationship. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 18, n. 8, 2017.

HYLANDS, P. J.; MANSOUR, E. S. S. A revision of the structure of cucurbitacin S from *Bryonia dioica*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 11, p. 2703–2707, 1982.

JAYAPRAKASAM, B.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*. **Cancer Letters**, v. 189, n. 1, p. 11–16, 2003.

JEONG, M. H. et al. Cucurbitacin i attenuates cardiomyocyte hypertrophy via inhibition of connective tissue growth factor (CCN2) and TGF- β /Smads signalings. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–14, 2015.

JEVTIĆ, B. et al. Cucurbitacin e Potently Modulates the Activity of Encephalitogenic Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 24, p. 4900–4907, 2016.

JIA, Q. et al. Cucurbitacin e inhibits TNF- α -induced inflammatory cytokine production in human synoviocyte MH7A cells via suppression of PI3K/Akt/NF- κ B pathways. **International Immunopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 884–890, 2015.

JIANG, H. Z. et al. Neocucurbitacin D, a novel lactone-type norcucurbitacin as xanthine oxidase inhibitor from *Herpetospermum pedunculatum*. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–7, 2018.

KANAYA, S. et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides induce maturation of dendritic cells with CD14⁺CD16⁺ phenotype. **European Journal of Immunology**, v. 34, n. 5, p. 1451–1460, 2004.

KAUSHIK, U.; AERI, V.; MIR, S. R. Cucurbitacins - An insight into medicinal leads from nature. **Pharmacognosy Reviews**, v. 9, n. 17, p. 12–18, 2015.

KAWAHARA, N. et al. Two novel cucurbitacins, neocucurbitacins A and B, from the Brazilian folk medicine “Buchinha” (*Luffa operculata*) and their effect on PEBP2 α A and OCIF gene expression in a human osteoblast-like Saos-2 cell line. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 10, p. 1377–1379, 2001.

KIM, M. et al. Cucurbitacin B inhibits immunomodulatory function and the inflammatory response in macrophages. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 37, n. 5, p. 473–480, 2015.

KIM, S. Y. et al. Cucurbitacin E ameliorates acute graft-versus-host disease by modulating Th17 cell subsets and inhibiting STAT3 activation. **Immunology Letters**, v. 203, p. 62–69, 2018.

KUMAR, R. P. et al. Docking, molecular dynamics and QM/MM studies to delineate the mode of binding of CucurbitacinE to F-actin. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 63, p. 29–37, 2016.

LEE, M.; PARK, J. Regulation of NFAT activation: A potential therapeutic target for

immunosuppression. **Molecules and Cells**, v. 22, n. 1, p. 1–7, 2006.

LI, J. et al. **Cucurbitacin B induces neurogenesis in PC12 cells and protects memory in APP/PS1 mice** **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, 2019.

LI, Y. et al. Five new cucurbitane triterpenoids with cytotoxic activity from *Hemsleya jinfushanensis*. **Phytochemistry Letters**, v. 14, p. 239–244, 2015a.

LI, Y. et al. Eight new cucurbitane triterpenoids from “Xue Dan,” the roots of *Hemsleya pengxianensis*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 20, n. 1, p. 36–48, 2017.

LI, Y. D. et al. Bioactive cucurbitane triterpenoids from the tubers of *Hemsleya penxianensis*. **Phytochemistry Letters**, v. 18, p. 5–9, 2016.

LI, Z. J. et al. Inhibitory effect of cucurbitacin B on imiquimod-induced skin inflammation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 459, n. 4, p. 673–678, 2015b.

LIANG, J.; DAN, C. Advances in research on the anticancer mechanism of the natural compound cucurbitacin from Cucurbitaceae plants: a review. **Traditional Medicine Research**, v. 4, n. 2, p. 68–81, 2019.

LIN, Y. et al. Cucurbitacin B exerts antiaging effects in yeast by regulating autophagy and oxidative stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.

MACHADO, V. R. et al. Di-Hidrocurcubitacina B: Semi-síntese de Novos Derivados Glicosilados. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p. 37–41, 2015.

MARZOUK, B. et al. Anti-inflammatory and analgesic activities of a new cucurbitacin isolated from *Citrullus colocynthis* seeds. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 8, p. 3984–3990, 2013.

MATOS, M. E. O. et al. Nor-cucurbitacin Glucosides from *Wilbrandia* Species. **PharmaTutor**, v. 30, n. 3, p. 1020–1023, 1991.

MÉNDEZ-CUESTA, C. A. et al. Cytotoxic and Antitumoral Activities of Compounds Isolated from Cucurbitaceae Plants. In: **Pharmacognosy - Medicinal Plants**. [s.l.: s.n.]. p. 1–18.

MORALES-VELA, K. et al. Antiproliferative activity of Cucurbitaceae species extracts from southeast of Mexico. **Preprints**, v. 100, n. August, p. 1–12, 2019.

MORIKAWA, T. et al. Collagen synthesis-promoting and collagenase inhibitory activities of constituents isolated from the rhizomes of *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. **Fitoterapia**, v. 143, n. March, p. 104584, 2020.

MURTAZA, M. et al. Cucurbitacin e reduces obesity and related metabolic dysfunction in mice by targeting JAK-STAT5 signaling pathway. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. 1–13, 2017.

NEFEDOVA, Y. et al. Regulation of dendritic cell differentiation and antitumor immune response in cancer by pharmacologic-selective inhibition of the Janus-activated kinase

2/signal transducers and activators of transcription 3 pathway. **Cancer Research**, v. 65, n. 20, p. 9525–9535, 2005.

OCHI, M. et al. Sweet and bitter constituents of Wilbrandia species. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 61–65, 2009.

PARK, C. S. et al. Inhibition of Nitric Oxide Generation by 23,24-Dihydrocucurbitacin D in Mouse Peritoneal Macrophages. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 309, n. 2, p. 705–710, 2004.

PARK, S. Y.; KIM, Y. H.; PARK, G. Cucurbitacins attenuate microglial activation and protect from neuroinflammatory injury through Nrf2/ARE activation and STAT/NF- κ B inhibition. **Neuroscience Letters**, v. 609, p. 129–136, 2015.

PETERS, R. R. et al. Ant-inflammatory effects of the products from Wilbrandia ebracteata on carrageenan-induced pleurisy in mice. **Life Sciences**, v. 64, n. 26, p. 2429–2437, 1999.

PETERS, R. R. et al. Nitric oxide and cyclooxygenase may participate in the analgesic and anti-inflammatory effect of the cucurbitacins fraction from Wilbrandia ebracteata. **Life Sciences**, v. 73, n. 17, p. 2185–2197, 2003.

QIAO, J. et al. Cucurbitacin e exhibits anti-inflammatory effect in RAW 264.7 cells via suppression of NF- κ B nuclear translocation. **Inflammation Research**, v. 62, n. 5, p. 461–469, 2013.

RÍOS, J. L.; ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C. New insights into the bioactivity of cucurbitacins. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 32, n. PART L, p. 429–469, 2005.

SALLAM, A. M.; ESMAT, A.; ABDEL-NAIM, A. Cucurbitacin-B attenuates CCl₄-induced hepatic fibrosis in mice through inhibition of STAT-3. **Chem Biol Drug Des**, v. 91, n. 4, p. 933–941, 2018.

SHANG, J. et al. Cucurbitacin E ameliorates lipopolysaccharide-evoked injury, inflammation and MUC5AC expression in bronchial epithelial cells by restraining the HMGB1-TLR4-NF- κ B signaling. **Molecular Immunology**, v. 114, n. July, p. 571–577, 2019.

SILVA, C. G. et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 133–142, 2015.

SIQUEIRA JR., J. M. et al. Anti-inflammatory effects of a triterpenoid isolated from Wilbrandia ebracteata Cogn. **Life Sciences**, v. 80, n. 15, p. 1382–1387, 2007.

SONG, F. et al. Two new cucurbitane-type triterpenoid saponins isolated from ethyl acetate extract of Citrullus colocynthis fruit. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 17, n. 8, p. 813–818, 2015.

SONG, H. et al. Cucurbitacin E inhibits proliferation and migration of intestinal epithelial cells via activating cofilin. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. AUG, p. 1–9, 2018.

SONG, Y. et al. Cucurbitacin D is a new inflammasome activator in macrophages. **International Immunopharmacology**, v. 17, n. 4, p. 1044–1050, 2013.

SUN, Z. et al. Polyhydroxy cucurbitane triterpenes from *Hemsleya penxianensis* tubers. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

TANNIN-SPITZ, T. et al. Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 73, n. 1, p. 56–67, 2007.

TANNIN-SPITZ, T.; BERGMAN, M.; GROSSMAN, S. Cucurbitacin glucosides: Antioxidant and free-radical scavenging activities. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 364, n. 1, p. 181–186, 2007.

U-PRATYA, Y. et al. Immunosuppressive effects of cucurbitacin B on human peripheral blood lymphocytes. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 22, p. 2340–2347, 2010.

VALENTE, L. M. M. et al. Norcucurbitacin gentiobiosides from *Fevillea trilobata*. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 11, p. 1560–1563, 1994.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Quimica Nova**, v. 27, n. 6, p. 944–948, 2004.

VIDERES, L. C. C. A. **Apodanthera congestiflora e Myracrodruon urundeuva : Investigação das propriedades biológicas em preparações brutas e produtos isolados.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

WANG, L. et al. Cucurbitacin E suppresses cytokine expression in human Jurkat T cells through down-regulating the NF- κ B signaling. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 47, n. 6, p. 459–465, 2015.

WANG, S. et al. Determination of momordicoside A in bitter melon by high-performance liquid chromatography after solid-phase extraction. **Chromatographia**, v. 53, n. 7–8, p. 372–374, 2001.

WANG, W. et al. Identification of 16,25-O-diacetyl-cucurbitane F and 25-O-acetyl-23,24-dihydrocucurbitacin F as novel anti-cancer chemicals. **Royal Society Open Science**, v. 5, n. 8, 2018.

WANG, Y. et al. Cucurbitacin IIb exhibits anti-inflammatory activity through modulating multiple cellular behaviors of mouse lymphocytes. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. 1–12, 2014.

XIAO, Y. et al. Cucurbitacin B Protects Against Pressure Overload Induced Cardiac Hypertrophy. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 118, n. 11, p. 3899–3910, 2017.

XU, J. et al. Cucurbitacin B inhibits gastric cancer progression by suppressing STAT3 activity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 684, p. 108314, 2020.

ZHONG, H. et al. Cucurbitacin B supplementation reduces inflammatory responses and alveolar bone loss via regulating MPO, COX-2 and RANK/RANKL/OPG signals in a rodent

model of ligature-induced periodontitis. **Journal of King Saud University - Science**, v. 32, n. 3, p. 1889–1895, 2020.

ZHONG, Y. et al. Identification and characterization of the Cucurbitacins, a novel class of small-molecule inhibitors of Tropomyosin receptor kinase a. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2019.

ZHOU, S. M. et al. Cucurbitacin IIa exerts antidepressant-like effects on mice exposed to chronic unpredictable mild stress. **NeuroReport**, v. 28, n. 5, p. 259–267, 2017.

5.2 Artigo Científico II

Delimitação do controle de qualidade da droga vegetal de *Apodanthera congestiflora* Cogn.: uma Cucurbitaceae do Nordeste brasileiro

Geovana Ferreira Guedes Silvestre¹; Renally Pereira Lucena¹, Sara Efigênia Dantas de Mendonça y Araújo¹, Genil Dantas de Oliveira¹, Geovani Pereira Guimarães², Harley da Silva Alves*¹

¹Departamento de Farmácia e Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - UEPB.

²Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPEFarM) - UFPB.

Resumo

Apodanthera congestiflora é uma Cucurbitácea endêmica da caatinga brasileira utilizada na medicina popular para o tratamento de dores nas costas, manchas na pele e como depurativo do sangue. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a droga vegetal do caule de *A. congestiflora* por meio de métodos físico-químicos e análise térmica, além de quantificar metabólitos secundários em extratos aquosos. A droga vegetal foi separada em sete classes granulométricas e submetidas a testes farmacopeicos e análise térmica: termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA). Extratos aquosos foram obtidos por infusão assistida por ultrassom e avaliados quanto à presença de metabólitos por métodos fitoquímicos. Os pós de *A. congestiflora* apresentaram granulometria variada e umidade, cinzas, pH e densidade aceitáveis. Na análise TG, quatro etapas de decomposição térmica foram observadas para todas as amostras, sendo as duas primeiras etapas referentes à desidratação e as duas últimas etapas indicativas da carbonização da matéria orgânica com massa residual variando entre 20,50% e 23,74%. Para todas as amostras, as curvas DTA tiveram três picos, sendo o primeiro um pico endotérmico e os outros dois picos exotérmicos, que são compatíveis com eventos térmicos TG. A triagem qualitativa foi positiva apenas para saponinas, porém, nos testes quantitativos, observou-se alta concentração dessa classe de compostos (entre 18,99% e 56,90%), sugerindo interferência do tamanho de partícula nas concentrações finais das saponinas. Este estudo revelou importantes propriedades físico-químicas de *A. congestiflora* que podem ser usadas em estudos de pré-formulação de produtos fitoterápicos.

Palavras-chave: Cabeça-de-nego; Análise térmica; Métodos Farmacopeicos; Saponinas; Produtos fitoterápicos.

Introdução

A função terapêutica das plantas medicinais é conhecida desde a origem da civilização e se estende até os dias atuais. A fitoterapia inclui medicamentos desenvolvidos a partir de materiais vegetais processados ou naturais obtidos de plantas medicinais (LI et al., 2020). Sabe-se que em uma mesma planta podem existir centenas ou até milhares de metabólitos secundários capazes de desencadear respostas farmacológicas que atuam em diferentes alvos e que possuem diferentes mecanismos de ação que podem ou não ser sinérgicos (KIBBLE et al., 2015). Com o advento da tecnologia e do conhecimento sobre as características dessas matérias-primas, o controle de qualidade dos medicamentos fitoterápicos tornou-se essencial para garantir a segurança e eficácia desses medicamentos (MAKARSKA-BIAŁOKOZ, 2020).

Os achados etnobotânicos são o ponto de partida para a comprovação científica dos efeitos farmacológicos das espécies vegetais e esses estudos servem como diretrizes para a padronização das matérias-primas (ELISABETSKY; SOUZA, 2007). Nesse processo, é criada uma rede de conhecimento que converge e promove a inovação terapêutica por meio da descoberta de novas fontes de compostos biologicamente ativos, seguros, eficazes e acessíveis (PATWARDHAN, 2005).

A espécie *Apodanthera congestiflora*, também denominada por Martínez Crovetto em 1954 como *Melothria congestiflora* Mart. Crov., popularmente conhecida como “teiu” e “cabeça-de-nego”, é uma trepadeira lenhosa endêmica do Nordeste brasileiro e nativa da Caatinga. Possui uma estrutura tuberosa localizada entre o caule e a raiz que armazena água e permite que a planta sobreviva na estação seca quando o clima é árido. Roque, Rocha e Loiola (2010) afirmam que *A. congestiflora* é uma das plantas medicinais mais utilizadas na região para o alívio de dores nas costas e como purificador do sangue (“sangue grosso”), sendo utilizado principalmente na região em forma de chá. Também é usada externamente para tratar manchas na pele e coceira (SILVA et al., 2015).

Até o momento, os relatos sobre esta espécie são escassos, com poucas investigações científicas que se referem apenas às raízes (PEREIRA et al., 2019; VIDERES, 2017). É importante estudar outras partes da planta ainda desconhecidas, visando subsidiar o uso da espécie na medicina popular, bem como delinear suas principais características e direcioná-la para o desenvolvimento de fitoprodutos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do fármaco vegetal de caules de *A. congestiflora* por meio de testes físico-químicos, termoanalíticos e fitoquímicos.

Materiais e Métodos

Material vegetal

Os caules de *A. congestiflora* foram coletados no município de Barra de Santana, na região semiárida da Paraíba Brasil (6 ° 43'18''S, 36 ° 03'46''W). Uma exsicata foi produzida com o material vegetal e depositada no Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM) da Universidade Estadual da Paraíba sob o número 1000.

O material vegetal foi seco em estufa a 40 °C até massa constante. A droga vegetal (DV-1) foi submetida a tamisação com diferentes malhas em um aparelho que reproduz os movimentos horizontais e verticais de operação manual por meio de ação mecânica uniforme. Um conjunto de seis peneiras foi montado, uma sobre a outra, em ordem crescente de número de malha. Em seguida, 200 g de DV-1 foram transferidos para o agitador eletromagnético que foi programado para operar em vibração máxima por 15 min, produzindo 6 amostras, denominadas DV-2 ($\geq 350 \mu\text{m}$), DV-3 ($\geq 180 \mu\text{m}$), DV-4 ($\geq 150 \mu\text{m}$), DV-5 ($\geq 75 \mu\text{m}$), DV-6 ($\geq 38 \mu\text{m}$) e DV-7 ($\leq 38 \mu\text{m}$). DV-1 e seus pós (DV-2 a DV-7) foram embalados separadamente em frascos de polietileno devidamente fechados, protegidos da luz e da umidade e armazenados a 25 °C.

Métodos Farmacopeicos

Todas as amostras das drogas vegetais (DV-1 a DV-7) foram avaliadas quanto à densidade aparente, densidade compactada e reologia do pó de acordo com a razão de Hausner e índice de Carr (compressibilidade), empregando métodos da Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019) e Americana (USP, 2016). A amostra DV-1 também foi avaliada quanto ao seu pH, umidade, teor de sólidos totais e teor de cinzas totais.

Microscopia Óptica

Os parâmetros físicos, como circunferência, raio, diâmetro e área das partículas do pó, foram avaliados por vídeo-microscopia em microscópio óptico digital Hirox®, modelo KH 770. Essas medidas foram determinadas a partir da média de 20 medidas.

Análise térmica

A análise termogravimétrica (TG) e térmica diferencial (DTA) foram obtidas em um termopar TG/DTA simultâneo, modelo Q600 (*TA Instruments*, EUA), utilizando cadinhos de alumínio com cerca de $8,00 \pm 0,10$ mg de amostra sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL min^{-1} . Os experimentos foram realizados entre 25 e $900 \text{ }^\circ\text{C}$, com taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. Todas as sete drogas vegetais foram analisadas nesses testes. Os dados foram analisados usando o software TA Universal Analysis 2000.

Extratos Aquosos

Dez gramas de cada amostra, incluindo DV-1, foram submetidos à infusão assistida por ultrassom usando água destilada a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ para a extração (1:10, p/v) e foram mantidos em banho de ultrassom (ECO-SONICS) por 15 min. Em seguida, a solução extraída foi filtrada e liofilizada (*JJ Scientific*, modelo LJJ05), resultando na obtenção dos extratos aquosos EA-1, EA-2, EA-3, EA-4, EA-5, EA-6 e EA-7, mantendo a mesma ordem dos pós peneirados.

Triagem Fitoquímica

A triagem fitoquímica foi realizada com os extratos aquosos liofilizados seguindo os métodos de identificação de metabólitos secundários (MATOS, 2009) apresentados na Tabela 1. Além da identificação qualitativa, o teor de saponina total dos extratos também foi medido por espectroscopia no ultravioleta-visível região em 544 nm (SHIMADZU TM UV-1900) usando diosgenina (Merck®) como o padrão (MAKKAR; SIDDHURAJU; BECKER, 2007).

Tabela 1 – Triagem fitoquímica dos extratos aquosos de *A. congestiflora*

Grupo metabólico	Teste aplicado
Saponinas	Índice de espuma
Alcaloides	Drangedorf, Mayer, Bouchardat
Esteroides/triterpenoides	Liebermann-Buchard
Taninos	FeCl_3 1%
Flavonoides	Shinoda
Polissacarídeos	Lugol

Fonte: Autoria própria.

Resultados e Discussão

Métodos Farmacopeicos

O perfil físico-químico de DV-1 foi traçado por meio de análises preliminares baseadas em métodos farmacopeicos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019; USP, 2016). Parâmetros importantes foram avaliados para definir um padrão de qualidade da matéria-prima. Segundo Kumari (2016), os protocolos farmacopeicos abrangem os métodos convencionais de padronização da matéria-prima bruta de medicamentos fitoterápicos. Nesse contexto, o DV-1 foi avaliado quanto ao pH, perda por secagem, incluindo umidade / sólidos totais e cinzas totais (Tab. 2) e granulometria (Tab. 3). Os pós obtidos do dimensionamento DV-1 foram avaliados quanto à densidade, vazão e compressibilidade (Tab. 4), a fim de compará-los e definir o tamanho de partícula ideal para o desenvolvimento de um produto farmacêutico fitoterápico.

Tabela 2 – Perfil físico-químico da droga vegetal (DV-1) baseado nos métodos farmacopeicos

Teste Farmacopeico	Valores de DV-1 ± DP
pH	6,10 ± 0,1
Umidade	11,18 % ± 1,3
Sólidos Totais	88,82 % ± 1,3
Cinzas Totais	6,05 % ± 0,8

Fonte: Autoria própria.

Tabela 3 – Pós obtidos da granulometria de DV-1

Tamanho de partícula	% de retenção	Amostra
> 350 µm	19,91 %	DV-2
> 180 µm	40,06 %	DV-3
> 150 µm	4,20 %	DV-4
> 75 µm	14,80 %	DV-5
> 38 µm	4,33 %	DV-6
< 38 µm	15,81 %	DV-7

Fonte: Autoria própria.

Tabela 4 – Índice reológico de DV-1 e de seus pós derivados, calculados a partir da densidade

Amostra	Densidade bruta	Densidade compactada	Índice de Hausner	Compressibilidade	Fluidez
DV-1	0,4114 g mL ⁻¹	0,5413 g mL ⁻¹	1,31	23,9 %	Pobre
DV-2	0,5005 g mL ⁻¹	0,5460 g mL ⁻¹	1,09	8,3 %	Excelente
DV-3	0,4036 g mL ⁻¹	0,4656 g mL ⁻¹	1,15	13,3 %	Boa
DV-4	0,3746 g mL ⁻¹	0,4597 g mL ⁻¹	1,22	18,5 %	Aceitável
DV-5	0,3755 g mL ⁻¹	0,4005 g mL ⁻¹	1,06	6,2 %	Excelente
DV-6	0,2729 g mL ⁻¹	0,4619 g mL ⁻¹	1,69	38,8 %	Muito pobre
DV-7	0,3336 g mL ⁻¹	0,5459 g mL ⁻¹	1,63	40,9 %	Muito pobre

Fonte: Autoria própria.

A imersão de DV-1 em água resultou em um pH de $6,10 \pm 0,1$, que está dentro da faixa limite recomendada para materiais vegetais (entre 4,0 e 7,5) (VAIKOSEN; ALADE, 2011). O caráter levemente ácido sugere a presença discreta de substâncias ácidas em sua composição. A umidade do DV-1 foi de 11,18%, dentro do limite indicado pela Farmacopeia Brasileira (o limite é de 14%). No entanto, este é um parâmetro que pode variar drasticamente dependendo das condições ambientais e da natureza do material. A higroscopicidade dos sólidos farmacêuticos está frequentemente associada à estabilidade do produto devido à capacidade da água de causar alterações físicas e químicas, além da deterioração microbológica (ALLADA et al., 2016). O teor de cinzas ficou abaixo de 14%, citado por Vaikosen e Alade (2011) como limite máximo para o teor de matéria inorgânica em drogas vegetais. O teor de cinzas é um parâmetro importante para medir a presença de resíduos inorgânicos e impurezas. A granulometria indicou a presença de partículas de 6 tamanhos diferentes; dos quais, o mais abundante foi DV-3 ($\geq 180 \mu\text{m}$) com 40,06% de retenção, enquanto DV-4 ($\geq 150 \mu\text{m}$) foi o menos abundante com 4,20% de retenção. A morfologia dos pós em tamanhos variados contidos neste material vegetal é observada à microscopia óptica, conforme mostra a Figura 1.

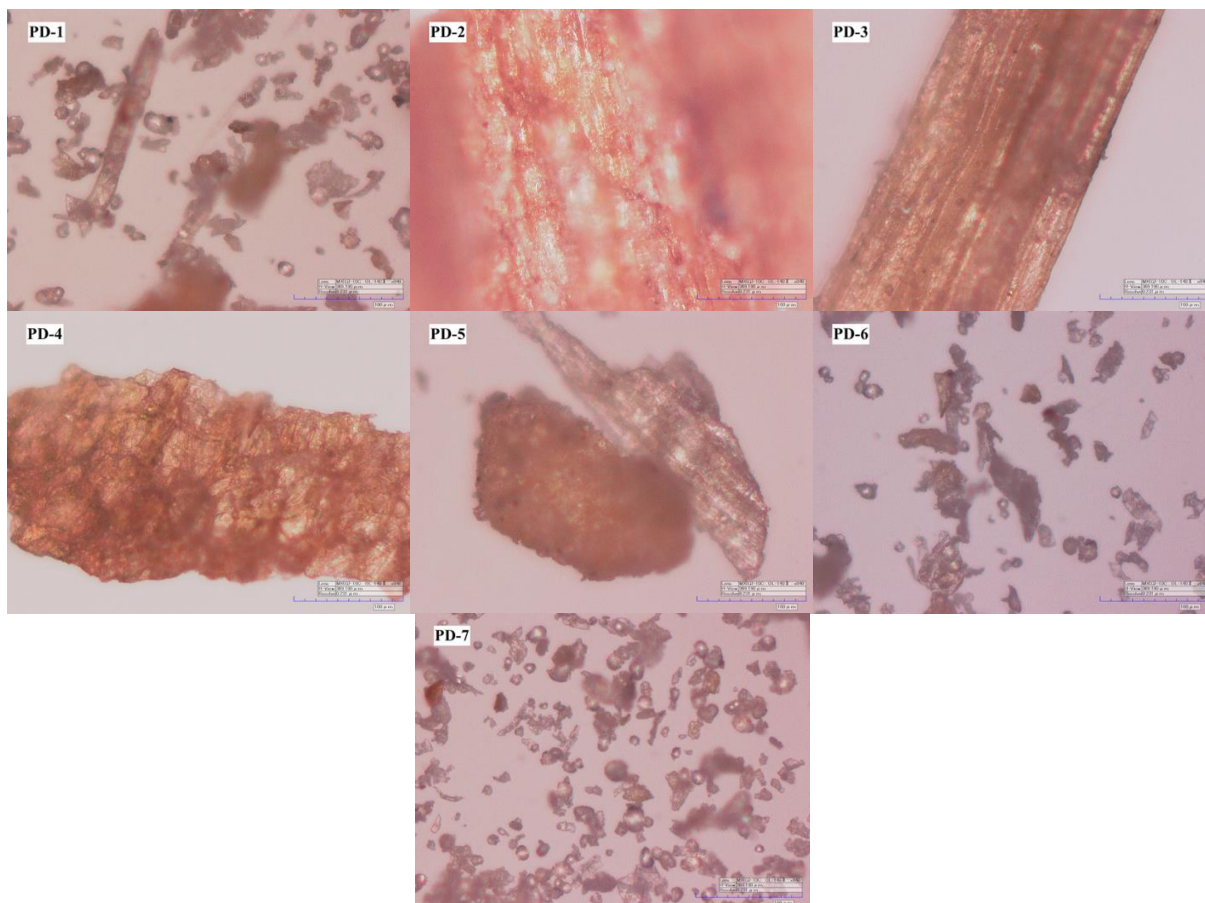
As características reológicas dos pós variaram, destacando-se o DV-2 e o DV-5 pelo excelente escoamento. Em contraste, DV-6 e DV-7 mostraram pouca fluidez e foram classificados como tendo fluxo muito pobre. É possível observar que quanto maior o índice de compressibilidade (Tab. 3), mais deficiente é o fluxo do pó. Isso geralmente é considerado em estudos de pré-formulação de medicamentos. O equilíbrio entre esses dois parâmetros é importante uma vez que boas propriedades de fluxo de um pó farmacêutico são essenciais para garantir a eficiência da produção (MOHAN, 2012).

Microscopia Óptica

A observação microscópica de pós de espécies vegetais é considerada essencial na definição do padrão de qualidade de um produto fitoterápico intermediário, uma vez que é uma técnica útil para avaliar o tamanho e a distribuição de partículas (MEDEIROS; MEDEIROS; MACÊDO, 2002). A Figura 1 compara os diferentes aspectos morfológicos das partículas de drogas vegetais de *A. congestiflora*. Por se tratar de uma amostra não tamisada, DV-1 apresentou um maior grau de variação do tamanho de partícula, conforme o esperado. Ao analisar DV-2, DV-3, DV-4 e DV-5, observou-se que são compostos principalmente de partículas filamentosas em forma de bastão, enquanto DV-6 e DV-7 são principalmente esféricos ou sem um formato definido.

É comum que espécimes fitoterápicos não possuam partículas morfológicas uniformes, principalmente devido à natureza do material vegetal, além do processo de moagem e peneiramento, que nem sempre promove uma separação eficiente (ANDRADE et al., 2019). A estrutura morfológica das plantas é bastante diversa, com variações significativas na histologia dependendo do órgão. As amostras analisadas são apresentadas em texturas variadas, típicas de caules (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2007). O tamanho de partícula escolhido para a formulação farmacêutica deve seguir padrões morfológicos pré-determinados, utilizando técnicas de pulverização adicionais, se necessário, uma vez que o formato das partículas interfere diretamente no desempenho e reprodutibilidade dos processos de fabricação (TITA; FULIAS; TITA, 2011).

Figura 1 – Microscopia óptica da droga vegetal de *A. congestiflora* e seus pós derivados em diferentes tamanhos de partícula: DV-1 (sem tamisação), DV-2 ($\geq 350 \mu\text{m}$), DV-3 ($\geq 180 \mu\text{m}$), DV-4 ($\geq 150 \mu\text{m}$), DV-5 ($\geq 75 \mu\text{m}$), DV-6 ($\geq 38 \mu\text{m}$) e DV-7 ($<38 \mu\text{m}$)



Fonte: Acervo próprio.

Termogravimetria (TG)

A termogravimetria foi usada para traçar um perfil de decomposição térmica da droga vegetal em diferentes tamanhos de partícula de *A. congestiflora*. As curvas TG são mostradas na Figura 2 e seus respectivos dados são mostrados na Tabela 5. Quatro estágios de decomposição térmica foram observados para todas as amostras. O primeiro estágio de degradação ocorreu entre 39,46 e 120,27°C, com a maior perda de massa sendo 9,06% para DV-6 e a menor 5,68% para DV-7. Este primeiro evento térmico é geralmente atribuído à perda de água residual e compostos voláteis (FERNANDES et al., 2018). A perda de massa do DV-1 com esta técnica foi de 7,93%, valor inferior ao obtido pela técnica de perda por dessecação no presente estudo (11,18%). A discrepância entre esses valores pode ter ocorrido devido à flutuação nas condições experimentais e ambientais. Segundo Costa et al. (2013), a análise

termogravimétrica é mais confiável do que as técnicas gravimétricas convencionais devido à precisão e eficiência de sua resposta.

Após a etapa de desidratação, o segundo evento térmico ocorreu entre 92,79 e 231,27 °C, correspondendo à volatilização da água adsorvida ou ligada que está ligada a sítios polares de macromoléculas em estruturas vegetais (PEREIRA et al., 2019). Nessa etapa, foram observadas perdas de massa entre 4,98% e 5,35%, a menor entre as quatro etapas. Isso pode justificar a diferença entre o valor de umidade do DV-1 obtido pelo método farmacopeico (11,18%) e o presente método analítico (7,93%), presumindo-se que o resultado obtido por dessecação seja semelhante aos resultados de perda de massa dos dois primeiros estágios de TG (7,93% e 4,98%).

Tabela 5 – Dados de decomposição térmica dos pós vegetais de *A. congestiflora*

Amostras	1			2		
	$T_{onset}/^{\circ}\text{C}$	$T_{endset}/^{\circ}\text{C}$	Perda de massa %	$T_{onset}/^{\circ}\text{C}$	$T_{endset}/^{\circ}\text{C}$	Perda de massa %
DV-1	39,46	112,28	7,93	112,28	209,96	4,98
DV-2	42,12	97,18	7,58	97,18	201,08	5,02
DV-3	48,34	105,17	8,08	105,17	217,06	5,06
DV-4	45,68	92,74	7,38	92,74	199,30	5,14
DV-5	39,46	78,53	6,14	78,53	195,75	5,00
DV-6	40,35	100,73	9,06	100,73	231,27	5,64
DV-7	59,00	120,27	5,68	120,27	227,72	5,34
3			4			Massa residual %
$T_{onset}/^{\circ}\text{C}$	$T_{endset}/^{\circ}\text{C}$	Perda de massa %	$T_{onset}/^{\circ}\text{C}$	$T_{endset}/^{\circ}\text{C}$	Perda de massa %	
209,96	365,36	43,56	365,36	534,08	14,60	23,74
201,08	355,59	45,47	355,59	513,65	13,54	21,83
217,06	333,47	44,36	333,47	483,46	12,33	21,90
199,30	352,04	44,01	352,04	461,26	11,28	22,72
195,75	361,80	50,01	361,80	499,44	10,72	21,60
231,27	340,49	46,93	340,49	474,58	10,70	20,50
227,72	352,92	44,33	352,92	495,59	13,38	22,85

Fonte: Autoria própria.

A terceira fase de decomposição apresentou a maior perda de massa (entre 43,65% e 50,01%), sendo considerada a primeira fase da decomposição térmica dos componentes químicos dos materiais vegetais (BRANDÃO et al., 2016), estando diretamente associada à combustão de carboidratos e outras macromoléculas (MOURA et al., 2020). Essa degradação

química é importante para descrever o perfil termoanalítico de drogas vegetais (PEREIRA et al., 2019), pois é um parâmetro que interfere consideravelmente na delimitação da estabilidade do produto em estudos de pré-formulação de medicamentos (COSTA et al., 2013). O quarto e último estágio de degradação dos compostos orgânicos iniciou em 333,47°C e terminou em 534,08 °C, com perdas de massa variando entre aproximadamente 10% e 15%. Nessa fase, ocorreu a formação de massas residuais entre 20,50% e 23,74%, o que é atribuído à matéria inorgânica que compõe as estruturas da planta (BRANDÃO et al., 2016)

Observou-se semelhança no perfil de degradação encontrado no presente estudo com o de um estudo de caracterização termoanalítica realizado com um fármaco vegetal de raízes de *A. congestiflora*, embora a amostra utilizada na referência tenha sido produzida em outra parte da planta (PEREIRA et al., 2019). Foi possível notar o mesmo número de etapas de degradação e semelhança entre as faixas de temperatura dos eventos térmicos. Além disso, as massas residuais foram próximas a 26,11% e 23,74%, referentes à droga vegetal das raízes (PEREIRA et al., 2019) e do caule, respectivamente. Supõe-se que possam haver compostos em comum em ambas as partes da planta, fato reforçado pelos resultados obtidos na triagem fitoquímica.

Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas DTA dos pós de fármacos vegetais em diferentes tamanhos de partículas (Figura 2) são compostas por três eventos térmicos, referentes às transições de fase em função da temperatura. O primeiro evento foi endotérmico e ocorreu entre 56,71 °C e 71,84 °C, com diferentes valores de entalpia (Tab. 6). Os eventos endotérmicos podem ser atribuídos à perda de água livre do material analisado, o que é consistente com o primeiro estágio de degradação das curvas TG. O segundo evento encontrado nas curvas consistiu em picos exotérmicos, sendo o DV-6 pico com valor de entalpia de 732,20 J g⁻¹ (126,18 °C) e o DV-7 com entalpia de 1968,00 J g⁻¹ (122,74 °C) representou os picos de energia mais altos e mais baixos, respectivamente. Para o terceiro evento exotérmico, as curvas apresentaram picos entre 316,63 °C e 370,34 °C, que estão na mesma faixa de temperatura do terceiro e quarto estágio de degradação térmica presentes nas curvas TG, indicando que as amostras se decompõem durante este intervalo térmico. Além disso, sabe-se que em temperaturas acima de 300 °C ocorre a quebra de ligações saturadas e anéis aromáticos, que estão presentes em algumas estruturas químicas de certos grupos de metabólitos secundários, como polifenóis, triterpenoides e glicosídeos (BRANDÃO et al., 2016).

Tabela 6 – Análise térmica diferencial dos pós vegetais de *A. congestiflora*

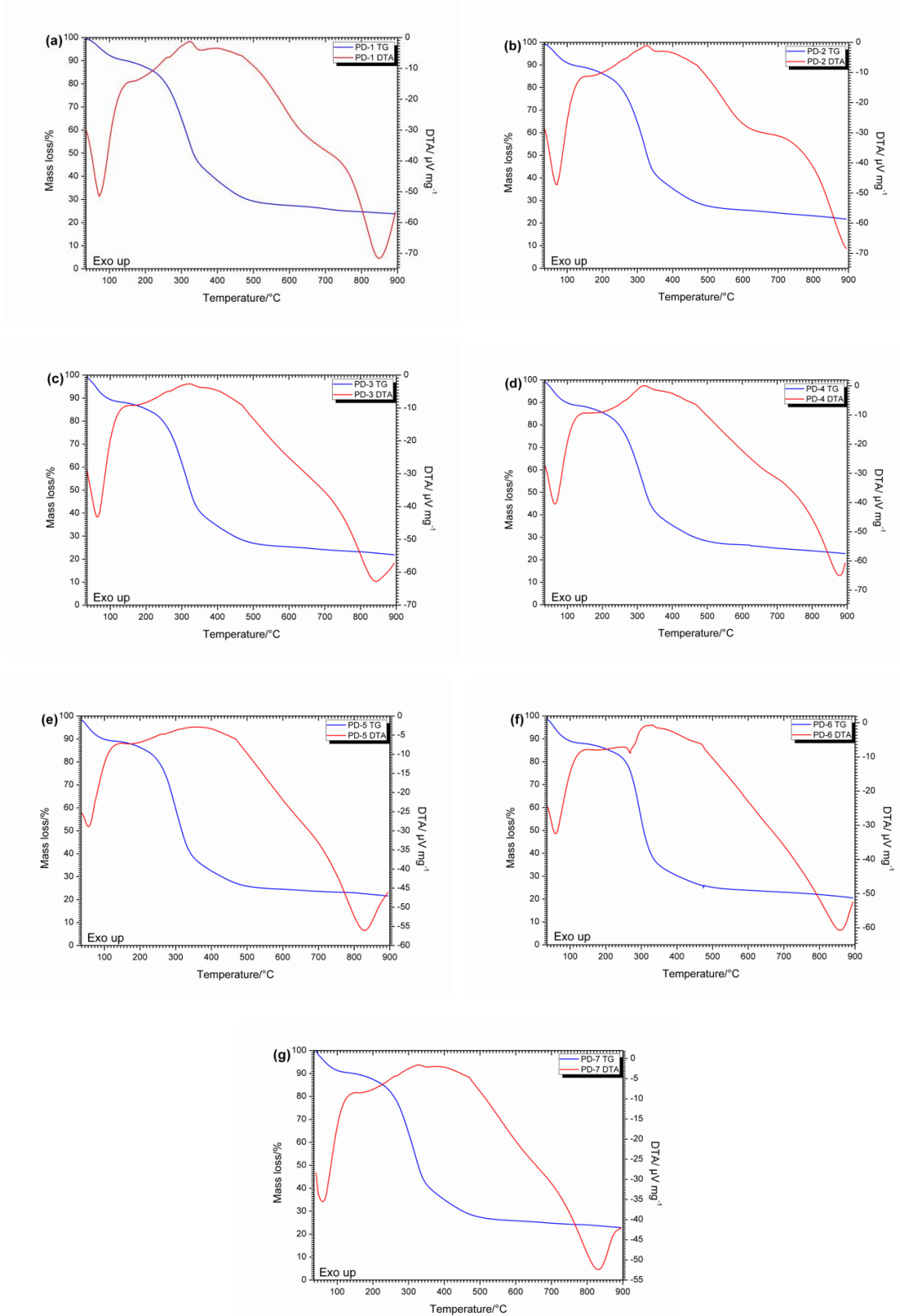
Amostra	Primeiro pico		Segundo pico		Terceiro pico	
	$T_{pico}/^{\circ}\text{C}$	Entalpia/ J g^{-1}	$T_{pico}/^{\circ}\text{C}$	Entalpia/ J g^{-1}	$T_{pico}/^{\circ}\text{C}$	Entalpia/ J g^{-1}
DV-1	71,84	2050,00	136,38	1077,00	320,24	776,20
DV-2	71,02	2253,00	129,69	1717,00	323,51	585,50
DV-3	63,78	2267,00	127,72	1239,00	319,98	580,50
DV-4	66,14	1866,00	126,03	1601,00	316,63	985,00
DV-5	56,78	626,90	116,72	1356,00	370,34	2189,00
DV-6	59,53	1288,00	126,18	732,20	307,87	1623,00
DV-7	61,64	974,00	122,74	1968,00	326,20	1106,00

Fonte: Autoria própria.

A análise combinada de TG e DTA permitiu observar que diferentes matrizes vegetais podem existir dependendo do tamanho das partículas (ANDRADE et al., 2019). Os eventos térmicos apresentados nas curvas DTA foram compatíveis com os estágios de degradação das curvas TG, com faixas de temperatura semelhantes. É importante ressaltar que drogas vegetais são compostas por uma mistura complexa de moléculas orgânicas e inorgânicas, que podem ter características térmicas diferentes e podem variar de acordo com a granulometria dos pós obtidos. O estudo termoanalítico de fármacos vegetais é essencial na caracterização de novos medicamentos fitoterápicos, pois permite a padronização de medidas importantes, como as temperaturas de degradação orgânica, servindo de modelo para estudos posteriores (FERNANDES et al., 2018).

Figura 2 – Curvas TG e DTA da droga vegetal de *A. congestiflora* e seus pós em diferentes tamanhos de partícula: a) DV-1, b) DV-2, c) DV-3, d) DV-4, e) DV-5, f) DV-6, g) DV-7.

Taxa de aquecimento 10 °C min – 1



Fonte: Acervo próprio.

Triagem Fitoquímica

A infusão assistida por ultrassom mostrou-se eficiente no processo de extração utilizado no experimento. O rendimento do extrato (Tab. 7) foi consideravelmente alto quando comparado a outros estudos (VIDERES, 2017), variando entre 13,24% e 27,11% para EA-4 e EA-3, respectivamente. Embora Videres (2017) usasse um método de extração (Soxhlet) e diferentes solventes (metanol, acetato de etila e hexano), os valores de rendimento foram muito diferentes e foram menores que 5% para todos os casos. Isso destaca a vantagem das condições extrativas aplicadas neste estudo. Durante a triagem fitoquímica preliminar, o resultado foi positivo apenas para saponinas, o que pode ser explicado pela temperatura de extração, que girava em torno de 100 °C, favorecendo a evaporação de compostos com baixo ponto de ebulição, como os óleos voláteis, além de compostos degradantes com instabilidade térmica (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2007). A escolha da água como solvente também interfere na extração de metabólitos secundários e é uma variável importante a ser considerada. Nesse caso, a água foi escolhida por ser um solvente de baixo custo e por *A. congestiflora* ser utilizada na medicina popular na forma de chá.

Tabela 7 – Rendimento e teor total de saponinas dos extratos aquosos de *A. congestiflora*

Amostra	Tamanho de partícula submetido à extração		Rendimento %	Saponinas totais mg ED g ⁻¹ extrato ± DP	Teor de saponinas totais %
EA-1	DV-1	Não tamisado	14.35	568.03 ± 1.1	56.80
EA-2	DV-2	> 350 µm	17.59	239.03 ± 0.9	23.90
EA-3	DV-3	> 180 µm	27.11	248.15 ± 1.1	24.81
EA-4	DV-4	> 150 µm	13.24	375.24 ± 1.2	37.52
EA-5	DV-5	> 75 µm	16.32	289.15 ± 1.2	28.91
EA-6	DV-6	> 38 µm	15.09	300.71 ± 1.0	30.07
EA-7	DV-7	< 38 µm	23.00	189.91 ± 0.9	18.99

mg ED g⁻¹ extrato = mg de saponinas equivalente a diosgenina (padrão) por grama de extrato

Fonte: Autoria própria.

A presença de saponinas já foi evidenciada nas raízes de *A. congestiflora* (PEREIRA et al., 2019; VIDERES, 2017), mas nunca no caule. A família Cucurbitaceae, da qual *A. congestiflora* faz parte, contém uma ampla gama de classes de metabólitos secundários já descritos na literatura, principalmente as cucurbitacinas. Segundo Valente (2004), as cucurbitacinas são triterpenos tetracíclicos que apresentam estruturas extremamente oxigenadas

e são encontrados na natureza na forma livre (aglicona) ou na forma glicosilada (saponina), sendo que a forma glicosilada pode estar presente nos extratos deste estudo. Em um ensaio de cromatografia líquida de alta performance, Videres (2017) detectou a presença de terpenoides com núcleo de cucurbitano.

A quantificação do teor de saponina total (Tab. 7) indicou que EA-1 apresentou a maior concentração com 56,80%, seguido de EA-4 com concentração de 37,52%. Esta é uma quantidade significativa, o que pode indicar que essa classe é predominante em extratos. Isso requer investigações fitoquímicas mais aprofundadas, a fim de identificar substâncias e quantificar marcadores. Diante desses resultados, foi possível verificar que os extratos aquosos possuem composições químicas distintas, o que foi inferido pela análise térmica devido à diferença nas curvas TG-DTA. Observou-se também que apesar do rendimento dos extratos diferir de acordo com o tamanho da partícula, este parâmetro não está relacionado quantitativamente ao teor de saponina, como é o caso do EA-7, que teve o segundo melhor rendimento, mas seu teor de saponina foi o mais baixo. Em relação ao tamanho ideal de partícula de um fitoterápico, é necessário levar em consideração as condições ideais durante o processo de fabricação, como a fluidez do pó e o rendimento dos extratos, que indicaram DV-3 como o melhor tamanho de partícula, pois tem bom fluxo e excelente rendimento de extrato (EA-3). Em relação ao teor de saponinas, é necessário estabelecer alguns parâmetros importantes antes de escolher a concentração ideal desses compostos, como a toxicidade, a finalidade terapêutica do fármaco e a concentração mínima capaz de produzir um efeito farmacológico.

Conclusão

Realizar o controle de qualidade de produtos derivados de plantas medicinais é uma das primeiras etapas para o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos. A presente pesquisa descreveu algumas das propriedades físico-químicas e termoanalíticas mais importantes da droga vegetal de *A. congestiflora*, um requisito fundamental para o desenvolvimento de produtos fitoterápicos intermediários. A partir dos métodos de farmacopeia e microscopia óptica, foi possível observar diversos aspectos dos pós obtidos dos caules de *A. congestiflora*, como pH, umidade, cinzas e granulometria, que servirão de base para futuros estudos de pré-formulações. A análise térmica mostrou que o perfil de degradação das partículas depende do tamanho da partícula. As curvas TG apresentaram quatro estágios de degradação térmica para todas as amostras, porém, com temperaturas diferentes no início e no final dos eventos. Três

eventos térmicos foram observados nas curvas DTA, os quais foram compatíveis com as temperaturas de decomposição térmica verificadas por TG. Na triagem fitoquímica foi verificada a presença de saponinas, quantificadas entre 18,99% e 56,80%, demonstrando a elevada concentração desta classe de metabólitos nos extratos aquosos liofilizados obtidos das espécies. Nosso grupo de pesquisa está conduzindo estudos fitoquímicos e biológicos para corroborar o uso medicinal dessa espécie vegetal, elucidando sua composição química e analisando seus efeitos farmacológicos.

*Este artigo foi submetido no periódico *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (ISSN 1588-2926). Comprovante de submissão em ANEXO (p. 135).

Agradecimentos

Esta pesquisa foi financiada pela CAPES / Ministério da Educação; Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste, CERTBIO / UEPB; Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos, LDCPF / UEPB; Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos, LABDEM / UEPB, e Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos, NUPEA / UEPB; PROPESQ-2017 Universidade Estadual da Paraíba.

Referências

ALI, M. S. et al. Cucurbitacins a Vibrant Triterpenoid: A Review on its Anticancer Property. **PharmaTutor**, v. 7, n. 2, p. 43, 2019.

ALLADA, R. et al. Hygroscopicity categorization of pharmaceutical solids by gravimetric sorption analysis: A systematic approach. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 279–286, 2016.

ANDRADE, J. C. et al. Thermal characterization of *Aspidosperma pyrifolium* Mart. plant drugs. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, n. 5, p. 3747–3756, 2019.

BRANDÃO, D. O. et al. Model Analytical Development for Physical, Chemical, and Biological Characterization of *Momordica charantia* Vegetable Drug. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2016, 2016.

CHEN, J. C. et al. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structures and biological activities. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 3, p. 386–399, 2005.

DA COSTA, R. S. et al. Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111,

n. 3, p. 1959–1964, 2013.

DE MEDEIROS, A. C. D.; DE MEDEIROS, I. A.; MACÊDO, R. O. Thermal studies of *Albizia inopinata* crude extract in the presence of cyclodextrin and Aerosil® by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochemica Acta**, v. 392, n. 393, p. 93–98, 2002.

DE MOURA, A. et al. Mechanochemical synthesis, characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, n. 0123456789, p. 12–14, 2020.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. Etnofarmacologia como ferramenta de busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. (Ed.). **Farmacognosia - Da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 1104.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à Análise Fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. (Ed.). **Farmacognosia - Da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 1104.

Farmacopeia Brasileira, 6ª edição. [s.l.: s.n.]. v. 1

FERNANDES, A. F. C. et al. Use of thermoanalytical analysis for the evaluation of a new raw material from *Cnidocolus quercifolius* Pohl. (Euphorbiaceae). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, n. 3, p. 2409–2416, 2018.

KAUSHIK, U.; AERI, V.; MIR, S. R. Cucurbitacins - An insight into medicinal leads from nature. **Pharmacognosy Reviews**, v. 9, n. 17, p. 12–18, 2015.

KIBBLE, M. et al. Network pharmacology applications to map the unexplored target space and therapeutic potential of natural products. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 8, p. 1249–1266, 2015.

KUMARI, R. Standardization of herbal medicines - A review. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 7, n. 2, p. 97–106, 2016.

LI, Y. et al. Quality assessment of herbal medicines based on chemical fingerprints combined with chemometrics approach: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 185, p. 113215, 2020.

MAKARSKA-BIAŁOKOZ, M. History and significance of phytotherapy in the human history. 2. Phytotherapy in ancient Greece and ancient Rome. **Arch Phys Glob Res**, v. 24, n. 1, p. 21–23, 2020.

MAKKAR, H. P. S.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Saponins. In: **Plant Secondary Metabolites**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007. p. 93–100.

MATOS, F. J. DE A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MOHAN, S. Compression Physics of Pharmaceutical Powders: A Review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 06, p. 1580–1592, 2012.

PATWARDHAN, B. Ethnopharmacology and drug discovery. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 50–52, 2005.

PEREIRA, H. N. et al. Physicochemical characterization of the vegetal drug and nebulized extract of the roots from *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae): An efficient experience in quality control of plant raw materials. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 137, n. 2, p. 361–368, 2019.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 31–42, 2010.
SILVA, C. G. et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 133–142, 2015.

TITA, D.; FULIAS, A.; TITA, B. Thermal stability of ketoprofen-active substance and tablets: Part 1. Kinetic study of the active substance under non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 105, n. 2, p. 501–508, 2011.

USP Powder Flow. In: **United States Pharmacopeia**. [s.l.: s.n.]. v. 30p. 7.

VAIKOSEN, E. N.; ALADE, G. O. Evaluation of pharmacognostical parameters and heavy metals in some locally manufactured herbal drugs. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 88–97, 2011.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Quimica Nova**, v. 27, n. 6, p. 944–948, 2004.

VIDERES, L. C. C. A. **Apodanthera congestiflora e Myracrodruon urundeuva : Investigação das propriedades biológicas em preparações brutas e produtos isolados**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

5.3 Artigo Científico III

29-Norcucurbitacinas e atividade anti-inflamatória *in vivo* da fase diclorometano de *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae)

Geovana Ferreira Guedes Silvestre¹, Helimarcos Nunes Pereira², Genil Dantas de Oliveira³, Renally Pereira Lucena³, Jhonatta Alexandre Brito Dias², Ivone Antônia de Souza², Harley da Silva Alves^{1,3}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual da Paraíba, ²Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, ³Departamento de Farmácia - Universidade Estadual da Paraíba

Resumo

Apodanthera congestiflora Cogn. é uma Cucurbitácea endêmica da Caatinga Brasileira, utilizada na medicina popular para tratar dores na coluna, manchas na pele e como depurativo sanguíneo, tendo esse trabalho o objetivo de investigar sua composição química e potencial farmacológico. O extrato hidroetanólico dos caules (EHC-Ac) foi particionado, fornecendo as fases hexânica (FHC-Ac) e diclorometano (FDC-Ac), as quais foram submetidas a processos cromatográficos que renderam uma mistura dos fitosteróis β -sitosterol (**Ac-1**), estigmasterol (**Ac-2**) e spinasterol (**Ac-3**), além de três cucurbitacinas, também em mistura, denominadas cayaponosídeo C_{5b} (**Ac-4**), cabenosídeo C (**Ac-5**) e fevicordina C₂ glicosídeo (**Ac-6**), sendo esta última uma estrutura inédita na literatura. As fases foram testadas em eritrócitos humanos, demonstrando baixa citotoxicidade. A FDC-Ac foi avaliada também em teste de toxicidade *in vivo*, mas desta vez apresentou toxicidade significativa, com alterações macroscópicas e bioquímicas. Ademais, investigou-se a atividade anti-inflamatória *in vivo* de FDC-Ac, utilizando o modelo de edema de pata. Foi observado uma diminuição dos sinais inflamatórios nas primeiras 5h, sendo 7,5 mg kg⁻¹ a dose mais eficaz na redução do edema (66,6 %). A investigação fitoquímica, juntamente com os ensaios biológicos realizados no presente estudo demonstram que *A. congestiflora* é uma espécie promissora na busca por inovação terapêutica, pois carrega em sua composição substâncias com alto potencial farmacológico.

Palavras-chave: Cabeça-de-nego; Cucurbitacinas; Toxicidade aguda; Atividade anti-inflamatória.

Introdução

Com uma vasta distribuição mundial e um elevado número de espécies, a família Cucurbitaceae Juss. é considerada uma das famílias mais importantes da flora mundial (XU; CHANG, 2017). Só no Brasil são registrados 30 gêneros e 160 espécies distribuídas em todas as regiões do país (GOMES-KLEIN; HALL; GIL, 2016) e, de acordo com Silva *et al.* (2016), estas possuem uma importância econômica considerável, devido ao consumo de suas hortaliças que são produzidas e valorizadas pela população, como é o caso das espécies variantes de melão (*Cucumis melo* L.), melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb. Matsum & Nakai)] e abóboras (*Cucurbita* sp.).

Além de seus frutos, registros etnobotânicos apontam o uso de diversas espécies da família Cucurbitaceae na medicina popular, bem como evidenciam a presença de compostos com amplo espectro biológico, como é o caso das cucurbitacinas. Esse grupo de metabólitos secundários possui grande relevância química e biológica, pois apresenta uma vasta diversidade estrutural e potencial farmacológico, podendo-se citar suas propriedades anti-inflamatória, antidiabética, antiulcerogênica, analgésica, antiparasitária e antitumoral (MÉNDEZ-CUESTA *et al.*, 2018; MORALES-VELA *et al.*, 2019).

Em pesquisas de campo, Madaleno (2011) e Roque e Loiola (2013) observaram que na Caatinga do Nordeste Brasileiro, a espécie *Apodanthera congestiflora* Cogn é uma das Cucurbitáceas mais citadas nos estudos de espécies com fins medicinais. *Apodanthera congestiflora*, também denominada por Martínez Crovetto em 1954 como *Melothria congestiflora* Mart. Crov., é uma trepadeira lenhosa endêmica do Brasil. Conhecida popularmente como “teiú” e “cabeça-de-nego”, é empregada na medicina popular principalmente na forma de chá/lambedor, para o alívio de dores na coluna e como depurativo do sangue (“sangue grosso”). Seu chá também é indicado para uso externo para o tratamento de manchas na pele e coceira (SILVA *et al.*, 2015).

Embora *A. congestiflora* seja citada na literatura como planta medicinal, a ausência de estudos relacionados a espécie é um fator que motiva a investigação químico-farmacológica com foco na descoberta de agentes terapêuticos e no desenvolvimento de novos medicamentos. Até o momento, os relatos sobre esta espécie são escassos e se referem apenas às raízes (PEREIRA, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019; VIDERES, 2017). O objetivo dessa pesquisa foi realizar um estudo fitoquímico dos caules de *A. congestiflora*, além de avaliar a segurança de uso e a atividade anti-inflamatória dos produtos derivados da espécie.

Materiais e Métodos

Material Vegetal

Os caules de *A. congestiflora* foram coletados no município de Barra de Santana, na região do semiárido paraibano, sob as coordenadas (6°43'18''Sul – 36°03'46''Oeste) a partir de plantas adultas selecionadas. As partes coletadas foram submetidas a processos de seleção, corte e limpeza, sendo reservados os galhos contendo partes reprodutivas da planta para a confecção e depósito de exsicata no herbário Manuel de Arruda Câmara - número 1000 da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB.

A secagem foi realizada em estufa com renovação e circulação de ar, à temperatura de 40 °C, até a estabilização da umidade. Após a secagem, o material foi triturado em moinho de facas, com granulometria definida em torno de 10 mesh. Em seguida, a droga vegetal foi acondicionada em frasco hermeticamente fechado, protegida do ar e da radiação solar.

Extração e Partição Líquido-líquido

O material vegetal seco e pulverizado (1,5 kg) foi submetido à extração por maceração com uma solução de etanol a 70° GL. Foram realizadas 12 extrações utilizando 5 litros de solvente a cada troca, num intervalo de 72 horas. O macerado obtido passou por um processo de evaporação do álcool, sob pressão reduzida, em evaporador rotativo *Technal TE-211* a uma temperatura de 50°C. Em seguida, a solução extrativa foi submetida à secagem em liofilizador (modelo *Terroni LS3000*) fornecendo 233 g (15,53%) de extrato hidroalcolico (EHC-Ac).

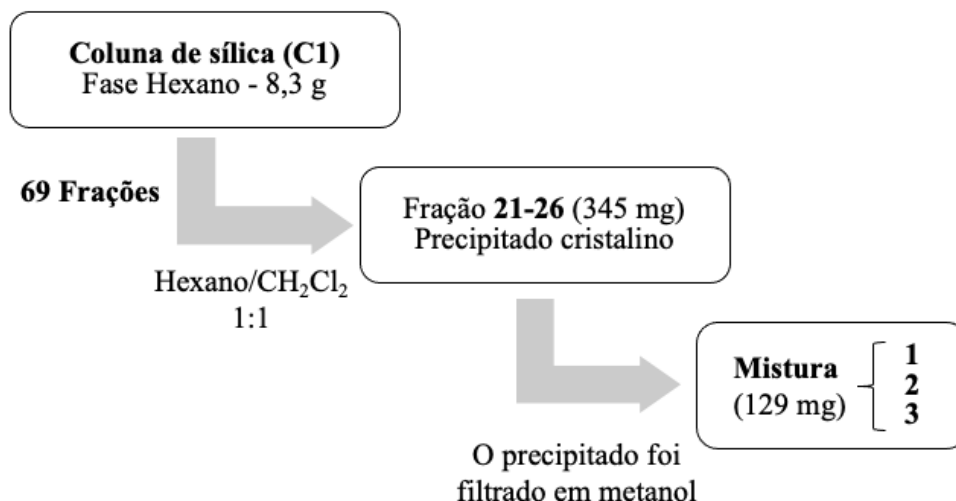
Parte do EHC-Ac (200 g) foi solubilizado em solução de metanol:água (7:3 – v:v) e particionado em solventes orgânicos fornecendo 12,89 g da fase hexânica (FHC-Ac) e 31,18 g da fase diclorometano (FDC-Ac).

Processo de obtenção dos compostos

Inicialmente, 8,3 g da FHC-Ac foram submetidas à cromatografia em coluna (C1) utilizando gel de sílica 60 (0,2-0,5 mm–MERCK™) como fase estacionária e hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol como fase móvel. O processo cromatográfico forneceu 69 frações (Fluxograma 1), das quais as frações de 21-26 apresentaram formação de precipitado cristalino e fatores de retenção (FR) idênticos. Os cristais (126 mg)

foram lavados com metanol para retirar resquícios de impureza e encaminhados para análise espectroscópica, que indicou a presença de uma mistura de 3 compostos, codificados como **Ac-1**, **Ac-2** e **Ac-3**.

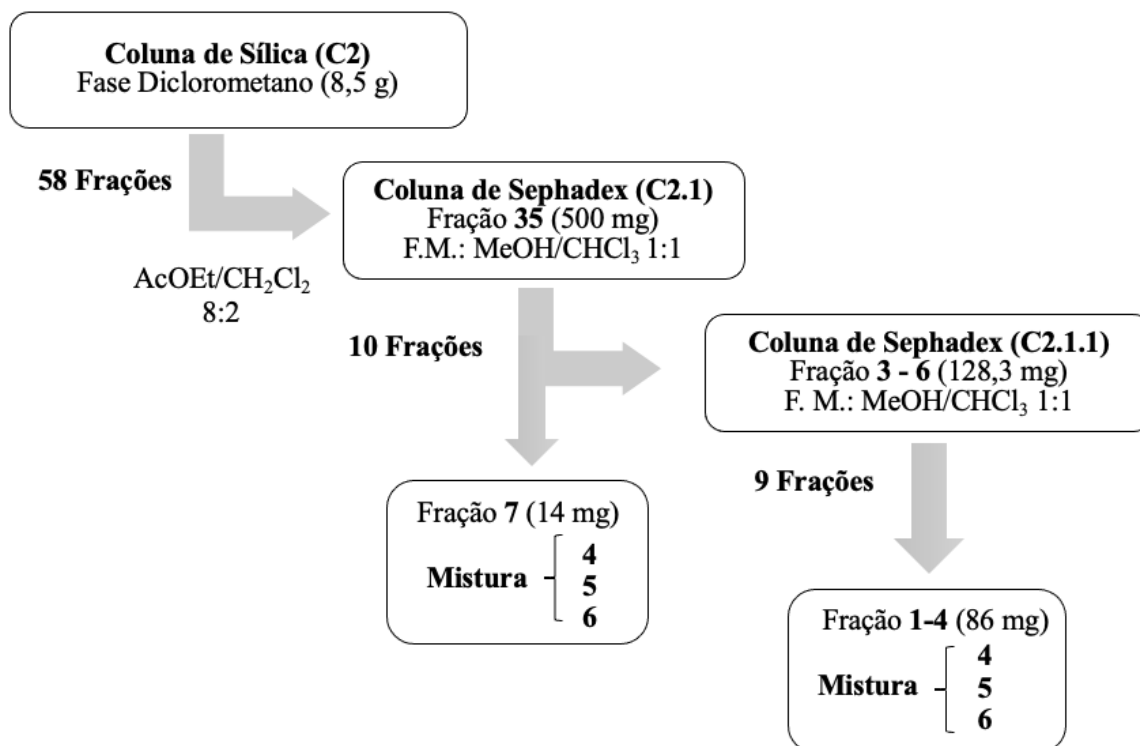
Fluxograma 1 – Esquema cromatográfico para a obtenção dos compostos **Ac-1**, **Ac-2** e **Ac-3** da fase hexânica (FHC-Ac)



Fonte: Autoria própria.

A FDC-Ac (8,5 g) também foi cromatografada em coluna (C2) com gel de sílica, fornecendo 58 frações. A fração 35 (500 mg) da C2 apresentou precipitado amarelado solúvel em metanol e foi purificada em coluna com Sephadex LH-20 (SIGMATM) e solução de MeOH:CHCl₃ (1:1 – v:v), fornecendo 3 compostos (**Ac-4**), (**Ac-5**) e (**Ac-6**) obtidos em mistura. O monitoramento das frações foi realizado por meio de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), reveladas em câmara de luz ultravioleta (Cromat UVE 254-366 nm) e vapores de iodo sublimado. O esquema cromatográfico da FDC-Ac está apresentado no Fluxograma 2.

Fluxograma 2 – Esquema cromatográfico para a obtenção dos compostos **Ac-4**, **Ac-5** e **Ac-6** da fase diclorometano (FDC-Ac)



Fonte: Autoria própria.

Identificação espectroscópica dos compostos isolados

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer, utilizando pastilhas de KBr para dispersão das amostras e uma faixa de varredura entre 4000 a 650 cm^{-1} .

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono (RMN de ^{13}C), e técnicas bidimensionais, foram registrados em espectrômetro BRUKER AVANCE III operando a 400 MHz para o ^1H e 100 MHz para o ^{13}C , empregando a técnica *Attached proton test* (APT) para os carbonos. Os solventes deuterados utilizados foram o CDCl_3 e a Acetona- d_6 . Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm), sendo utilizado o próprio solvente como referência interna e as constantes de acoplamento (J) foram dadas em Hz.

Toxicidade em Eritrócitos Humanos

O ensaio de atividade hemolítica foi baseado no método de Pinto et al. (2012) com adaptações. Para realização deste experimento, foram obtidas amostras de sangue humano do tipo O⁺ recém-coletadas em tubos contendo anticoagulante EDTA. Os eritrócitos foram separados por centrifugação (3.000 rpm, 5 minutos), lavados com solução fisiológica e novamente centrifugados. Esse processo foi repetido 3 vezes para a completa remoção do plasma. Após a lavagem, os eritrócitos foram ressuspensos em solução fisiológica na concentração de 1%. As amostras da FHC-Ac e FDC-Ac foram dissolvidas em solução fisiológica e Tween 80[®] a 0,2% nas concentrações de 10, 100 e 1000 µg mL⁻¹. Foi feita a mistura de 2 mL da suspensão de hemácias + 500 µL das soluções-teste e aguardou-se 1h em temperatura ambiente para que ocorresse a hemólise. Concomitantemente, foi utilizado controle negativo (solução fisiológica + Tween 80[®] a 0,2%) e controle positivo (Triton X-100 a 1%) para hemólise.

Após o período de incubação, as amostras foram centrifugadas e o líquido sobrenadante foi submetido à análise em espectrofotômetro UV-VIS SHIMADZU no comprimento de onda 540 nm. O potencial hemolisante das amostras testadas foi calculado a partir da seguinte equação:

$$Ph = \frac{(Ae - Ab)}{At} \times 100$$

Ph = Potencial hemolisante (em porcentagem);

Ae = Absorbância do extrato;

Ab = Absorbância do branco (controle negativo);

At = Absorbância do Triton-X 100 (controle positivo).

Ensaio Biológicos in vivo

Animais Experimentais

Neste trabalho foram utilizados 52 camundongos fêmeas adultas (com cerca de 60 dias de nascidos) albinos swiss (*Mus musculus*), pesando entre 25 e 35 g - provenientes do biotério da Universidade Estadual da Paraíba e aclimatados por 15 dias no Laboratório de Ensaio Farmacológicos, onde foram utilizados para a realização dos experimentos de toxicidade aguda e inflamação.

Os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno com grades de aço inoxidável e maravalha como cobertura, tendo acesso livre à água e ração balanceada, mantidos num ambiente com temperatura de 22 ± 2 °C e luminosidade controlada, proporcionando um ciclo claro-escuro de 12 horas. Todos os animais foram submetidos a jejum, com a retirada da ração cerca de 4 horas antes do início dos experimentos. Durante os ensaios os animais tiveram livre acesso à ingestão de água. Os animais foram mantidos de acordo com as normas internacionais do Conselho de Laboratório de Animais Experimentais (ICLAS).

Procedimentos Éticos

Todos os experimentos foram realizados de acordo com as normas estabelecidas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animal de Laboratório (SBCAL) e com as normas estabelecidas pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. O Comitê de Ética no Uso em Animais (CEUA-UEPB) aprovou este estudo que foi registrado como processo nº 002/2020.

Avaliação da Toxicidade Aguda

Para a avaliação da toxicidade aguda foi utilizada a metodologia recomendada pela Organization for Economic Cooperation and Development - Guideline 423 (OECD, 2001). Camundongos fêmeas (60 dias) foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos de três animais. Uma dose única foi administrada via oral nos animais do grupo teste. O grupo controle (n=3) recebeu o veículo (água + Tween 80 a 5% - v:v) e o grupo tratado (n=3) recebeu a FDC-Ac na dose de 2.000 mg kg⁻¹.

Os animais foram observados nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente, durante 14 dias, após a administração da FDC-Ac. A avaliação foi realizada pelo método de *screening* hipocrático e, além disso, a massa, o consumo de água e ração foram avaliados diariamente. No 14º dia, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina (2:1 – v:v) por via intraperitoneal e, em seguida, foi coletado o sangue por punção cardíaca para realização dos exames hematológicos e bioquímicos. A eutanásia dos animais foi cumprida utilizando a mesma associação de anestésicos em dose letal. Os órgãos fígado, rins, baço, pulmão e coração foram coletados para análise macroscópica, bem como para a determinação do índice de órgãos calculado seguindo a fórmula:

$$\text{Peso relativo dos \u00f3rg\u00e3os} = \frac{\text{Peso do \u00f3rg\u00e3o (g)}}{\text{Peso do animal (g)}} \times 10$$

Posteriormente, foi repetido todo o experimento conforme as mesmas condi\u00e7\u00f5es iniciais para confirma\u00e7\u00e3o dos resultados obtidos. Os resultados encontrados foram analisados e avaliados de igual forma sendo expressos por m\u00e9dia entre os grupos.

Edema de pata induzido por carragenina

Esta \u00e9 uma metodologia que permite a observa\u00e7\u00e3o do efeito sist\u00eamico da subst\u00e2ncia-teste atrav\u00e9s da indu\u00e7\u00e3o de um est\u00edmulo inflamat\u00f3rio local. Neste ensaio os animais foram divididos em 5 grupos, cada um contendo 8 animais. Os grupos receberam as subst\u00e2ncias via oral: FDC-Ac nas doses de 30, 15 e 7,5 mg kg⁻¹, um grupo controle (\u00e1gua + 5% de Tween 80TM) e um grupo f\u00e1rmaco padr\u00e3o (dexametasona 10 mg kg⁻¹).

Uma hora ap\u00f3s o tratamento de cada grupo, foi induzido o processo inflamat\u00f3rio atrav\u00e9s de uma inje\u00e7\u00e3o intra-plantar (i.pl.) de 50 \u00b5L de carragenina (1%) na pata posterior direita (WINTER et al., 1962; HENRIQUES et al., 1987). A outra pata do animal tamb\u00e9m foi analisada para aferi\u00e7\u00e3o do volume e comparada com as patas que receberam a carragenina. Os volumes das patas foram medidos antes da indu\u00e7\u00e3o pelo agente flog\u00edstico e posteriormente \u00e0 indu\u00e7\u00e3o, em intervalos pr\u00e9-estabelecidos de 1, 2, 3, 4 e 5 horas ap\u00f3s a administra\u00e7\u00e3o de carragenina. O volume do edema, em mililitros (mL), foi registrado atrav\u00e9s de um pletism\u00f4metro (Ugo Basile, It\u00e1lia). A pata posterior do animal foi submersa at\u00e9 a jun\u00e7\u00e3o t\u00edbio-tarsal na c\u00e2mara de leitura do aparelho. O volume de l\u00edquido deslocado foi registrado digitalmente e correspondeu ao volume da pata. Os resultados foram expressos como a diferen\u00e7a de volume (mL) entre a pata que recebeu a carragenina e a pata contralateral que n\u00e3o recebeu a carragenina.

An\u00e1lise dos Dados

Os experimentos de edema de pata induzido por carragenina foram avaliados por meio de an\u00e1lise de vari\u00e2ncia (ANOVA) por duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni com intervalo de confian\u00e7a de 95%, utilizando-se o software Graph Pad Prism 5.0. Valores de “p” menores que 0,05 (p<0,05) foram considerados como indicativos de signific\u00e2ncia. Os demais experimentos foram estatisticamente avaliados atrav\u00e9s da an\u00e1lise de vari\u00e2ncia (ANOVA) de uma via, seguido pelo teste de Newman-Keuls com intervalo de confian\u00e7a de 99%, utilizando-

se o software Graph Pad Prism 7.0. Valores de “p” menores que 0,01 ($p < 0,01$) foram considerados como indicativos de significância.

Resultados e Discussão

Caracterização dos compostos químicos Ac-1, Ac-2 e Ac-3

O espectro de infravermelho (Fig. 2, p. 92) dos cristais purificados da fração 21-26 do processo cromatográfico (C1) mostrou uma banda larga em 3429 cm^{-1} característica de estiramento de ligação O–H, bandas intensas entre 2958 e 2866 cm^{-1} sugestivas de ligação C–H de carbonos sp^3 , uma banda de fraca intensidade em 1639 cm^{-1} que pode ser atribuída a estiramento de ligação C=C não conjugada, duas bandas em 1466 e 1381 cm^{-1} típicas de dobramento de ligação CH_2 e CH_3 , respectivamente, além de uma banda em 1053 cm^{-1} de ligação C–O (PAVIA et al., 2012). Foi vista ainda uma banda em 968 cm^{-1} indicativa de dupla ligação com estereoquímica *trans* (VILLASEÑOR et al., 1996).

A análise do espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) permitiu visualizar um envelope de sinais entre $\delta_{\text{H}} 2,3$ - $0,53$ (Fig. 3, p. 92) sugestivos de hidrogênios metilênicos e metílicos de núcleo triterpênico e/ou esteroidal. Dois multipletos em $\delta_{\text{H}} 3,59$ e $3,52$ foram sugestivos para a presença de hidrogênio oximetínico na posição 3 de triterpenos e/ou esteroides, que podem caracterizar uma mistura de um sitosterol (**Ac-1**) e de um estigmasterol (**Ac-2**) (ALVES et al., 2010). A presença de sinais em $\delta_{\text{H}} 5,35$ e $\delta_{\text{H}} 5,34$ (Fig. 4, p. 94) caracterizam os hidrogênios da posição H-6 de um sitosterol (**Ac-1**) e de um estigmasterol (**Ac-2**), corroborando os sinais anteriores. Os duplos dubletos em $\delta_{\text{H}} 5,16$ ($J=2,0$ e $12,1$ Hz, 2H) e $5,03$ ($J=3,6$ e 12 Hz, 2H) foram sugestivos dos H-22 e H-23 do estigmasterol (ALVES et al., 2010).

A presença do terceiro composto foi visualizada pelos sinais em $\delta_{\text{H}} 5,14$ e $\delta_{\text{H}} 5,01$, além do sinal em $\delta_{\text{H}} 0,54$ (d, $J=5,8$ Hz) (Fig. 5, p. 94) que é característico do grupamento metílico do carbono 18 do composto conhecido por espinasterol (**Ac-3**) (KOJIMA et al., 1990; MENESES-SAGRERO et al., 2017).

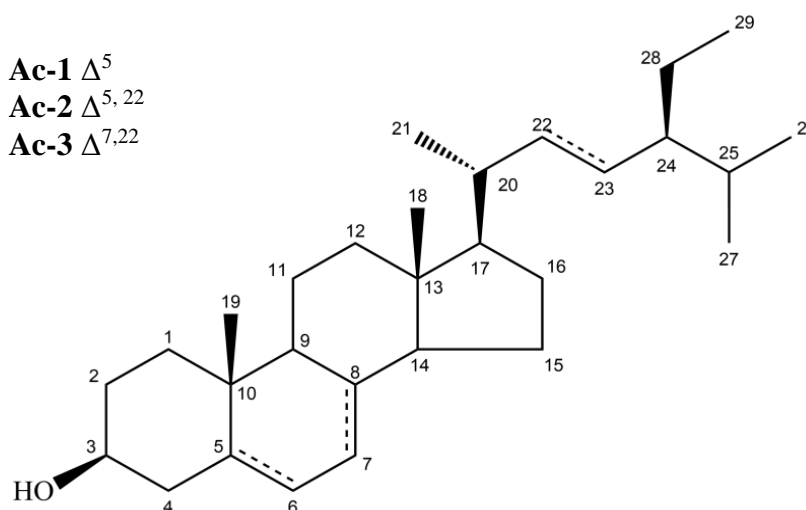
No espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) (Fig. 6, p. 94), técnica APT, foram visualizados sinais em $\delta_{\text{C}} 121,8$ e $140,9$ característicos de esteroides com uma ligação dupla entre C-5 e C-6, além dos sinais em $\delta_{\text{C}} 138,4$ e $129,4$ (Fig. 7, p. 94) sugestivos de uma ligação dupla entre C-22 e C-23 presente no estigmasterol (TOMAZ et al., 2008). Nesse mesmo espectro ainda foi registrada a presença dos sinais em $\delta_{\text{C}} 117,6$ e $139,7$, característicos de

carbonos metínico e não hidrogenado, com hibridização sp^2 , e sugeridos para os C-7 e C-8 do espinaesterol. Os sinais registrados em δ_c 138,3 e 129,6 mostram que o terceiro composto também tem uma dupla entre os C-22 e C-23 e reforça a presença do espinaesterol (KOJIMA et al., 1990; VILLASEÑOR et al., 1996). As Figuras 8 e 9 (p. 95) mostram as expansões do espectro de carbono.

A análise dos dados espectrais de RMN de 1H e ^{13}C e de IV (Tab. 1, p. 92), juntamente com os dados obtidos da literatura (ALVES et al., 2010; MENESES-SAGRERO et al., 2017), permitiu identificar que Ac-1, Ac-2 e Ac-3 tratava-se de três fitosteróis β -sitosterol, estigmasterol e espinaesterol em mistura (Fig. 1) amplamente encontrados no reino vegetal.

Vários estudos conferem bioatividade ao β -sitosterol e ao estigmasterol, como por exemplo, atividade analgésica (VILLASEÑOR; ANGELADA; CANLAS, 2002), antihepatotóxica (GAWADE; CHANDRASHEKAR RAO, 2012), antiproliferativa (GHOSH; MAITY; JAGADISH, 2011) e hipolipemiante (CHANDLER; HOOPER; ISMAIL, 1979). β -sitosterol e estigmasterol foram isolados anteriormente em espécies da família Cucurbitaceae, como a *Luffa cylindrica* (SAAB et al., 2013), e o espinaesterol em *Cucurbita maxima* (VILLASEÑOR et al., 1996), porém isolados pela primeira vez nas partes aéreas da espécie *Apodanthera congestiflora*.

Figura 1 – Estruturas químicas do β -sitosterol (**Ac-1**), estigmasterol (**Ac-2**) e espinaesterol (**Ac-3**)



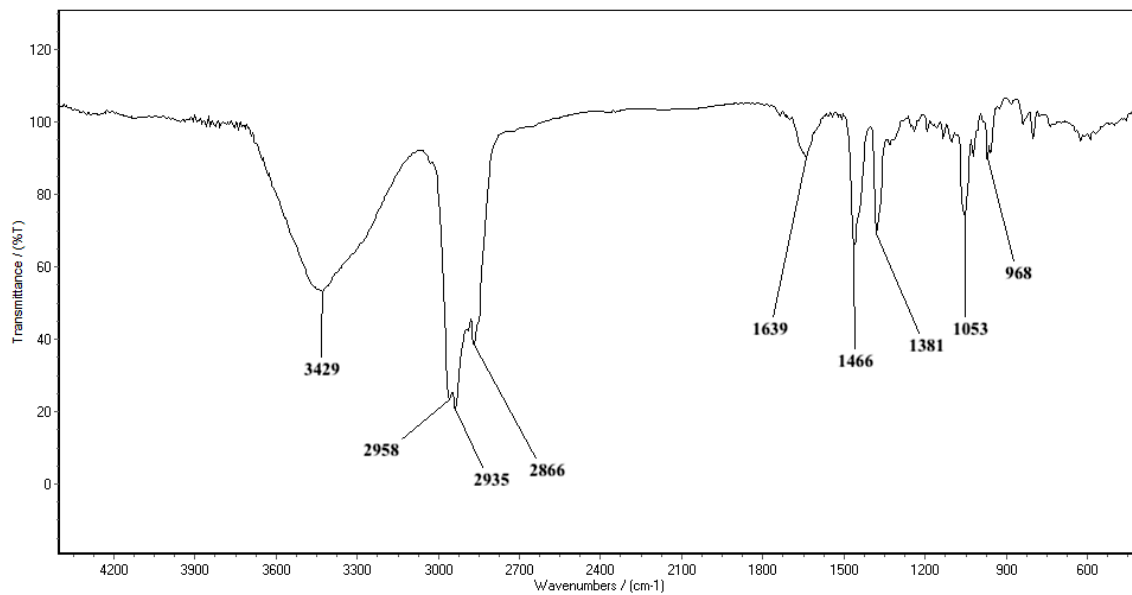
Fonte: Autoria própria.

Tabela 1 – Dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) de β -sitosterol (**Ac-1**), estigmasterol (**Ac-2**) e espinasterol (**Ac-3**)

β -Sitosterol				Estigmasterol			Espinasterol		
N	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)
1	37,3	CH ₂		37,4	CH ₂		37,3	CH ₂	
2	31,8	CH ₂		31,8	CH ₂		31,6	CH ₂	
3	71,9	CH	3,52 , tt (3,6 e 8,9)	72,2	CH	3,52 , tt (3,6 e 8,9)	71,2	CH	3,59 , tt (3,7 e 8,8)
4	42,4	CH ₂		42,4	CH ₂		38,1	CH ₂	
5	140,9	C		140,9	C		40,4	CH	
6	121,8	CH	5,35 , m	121,8	CH	5,34 , m	29,8	CH ₂	
7	31,8	CH ₂		31,8	CH ₂		117,6	CH	5,15 , dd (2,0 e 5,1)
8	32,1	CH		32,03	CH		139,7	C	
9	50,3	CH		50,3	CH		49,6	CH	
10	36,6	C		36,6	C		34,1	C	
11	21,2	CH ₂		21,2	CH ₂		21,7	CH ₂	
12	39,9	CH ₂		39,9	CH ₂		39,7	CH ₂	
13	42,4	C		42,4	C		42,4	C	
14	56,9	CH		57,0	CH		55,3	CH	
15	23,1	CH ₂		23,2	CH ₂		23,1	CH ₂	
16	26,2	CH ₂		26,2	CH ₂		28,4	CH ₂	
17	56,2	CH		56,1	CH		56,1	CH	
18	12,0	CH ₃	0,69 , sl	12,2	CH ₃	0,68 , sl	12,3	CH ₃	0,54 , s
19	19,5	CH ₃	1,0 , s	19,9	CH ₃	1,0 , s	13,1	CH ₃	0,80 , s
20	36,3	CH		40,6	CH		40,4	CH	
21	18,9	CH ₃	0,92 , d (5,1)	21,3	CH ₃	1,01 , sl	21,2	CH ₃	1,02 , sl
22	33,8	CH ₂		138,4	CH	5,16 , dd (2,0 e 12,1)	138,3	CH	5,14 , dd (2,0 e 12,1)
23	26,3	CH ₂		129,4	CH	5,03 , dd (3,6 e 12,1)	129,6	CH	5,01 , dd (3,6 e 12,1)
24	46,0	CH		51,4	CH		50,3	CH	
25	29,3	CH		32,1	CH		32,0	CH	
26	19,9	CH ₃	0,82 , d	21,3	CH ₃	0,84 , d	21,2	CH ₃	0,85 , d
27	19,5	CH ₃	0,78 , d	19,5	CH ₃	0,80 , sl	19,5	CH ₃	0,80 , sl
28	23,2	CH ₂		24,4	CH ₂		24,5	CH ₂	
29	12,0	CH ₃	0,82 , sl	12,3	CH ₃	0,80 , sl	12,2	CH ₃	0,80 , sl

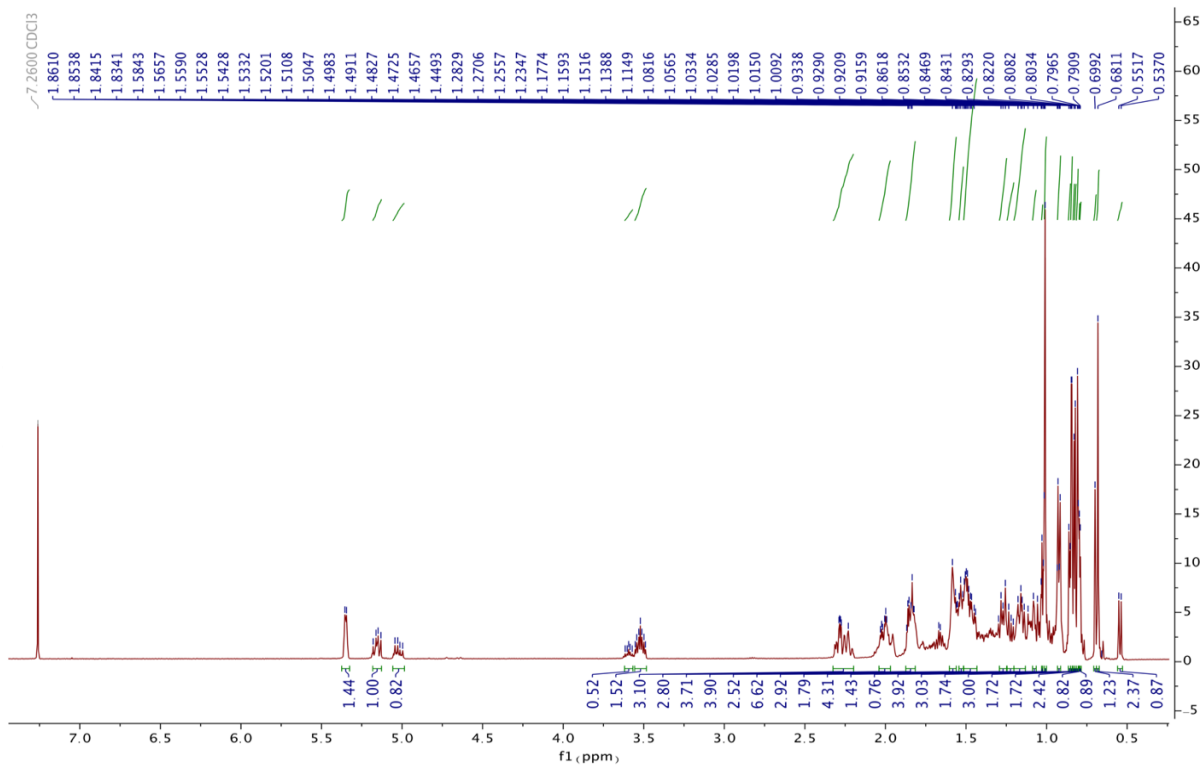
Fonte: Autoria própria.

Figura 2 – Espectro de infravermelho da mistura de **Ac-1**, **Ac-2** e **Ac-3**



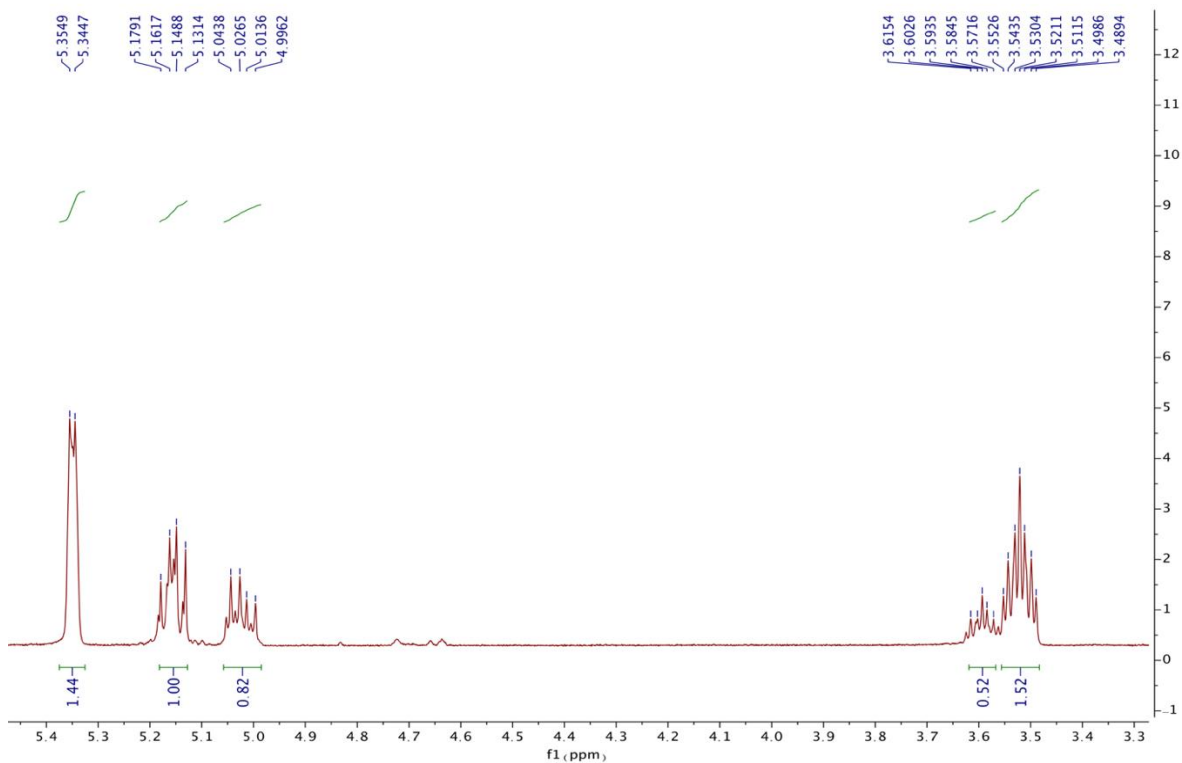
Fonte: Acervo próprio.

Figura 3 - Espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de **Ac-1**, **Ac-2** e **Ac-3**



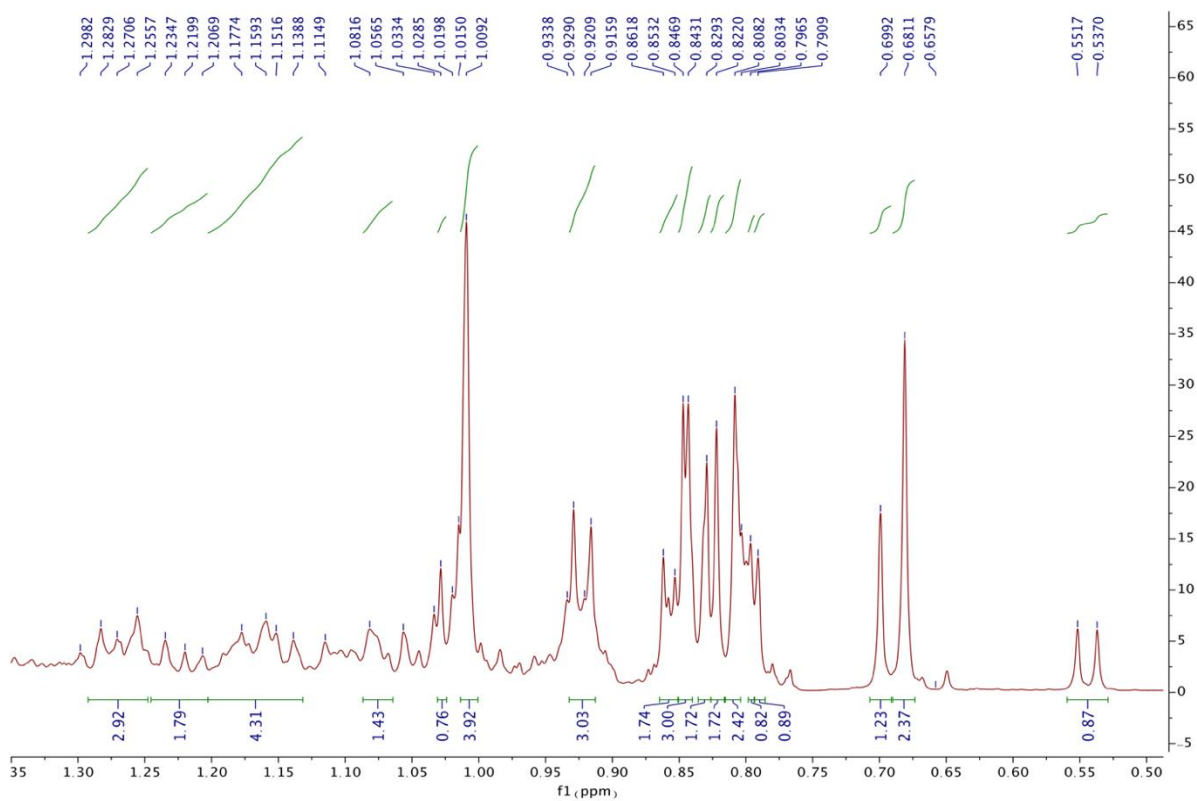
Fonte: Acervo próprio.

Figura 4 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz)



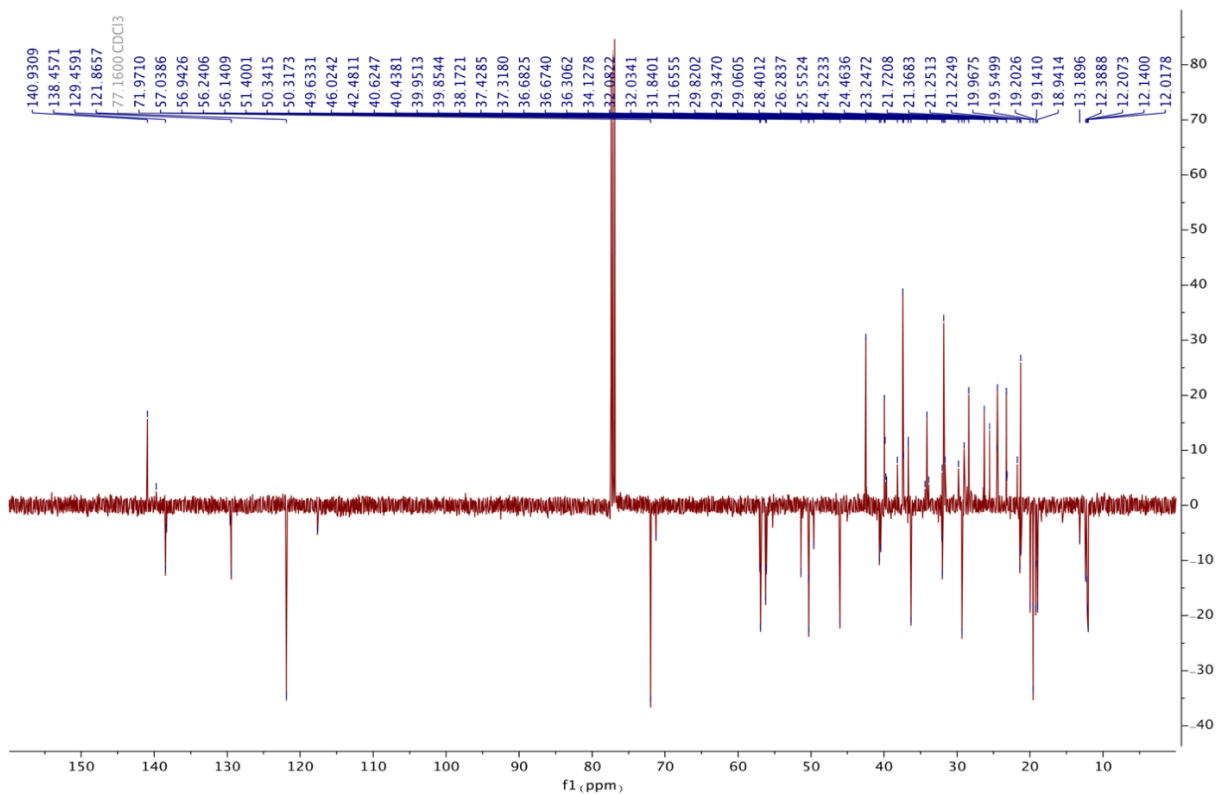
Fonte: Acervo próprio.

Figura 5 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz)



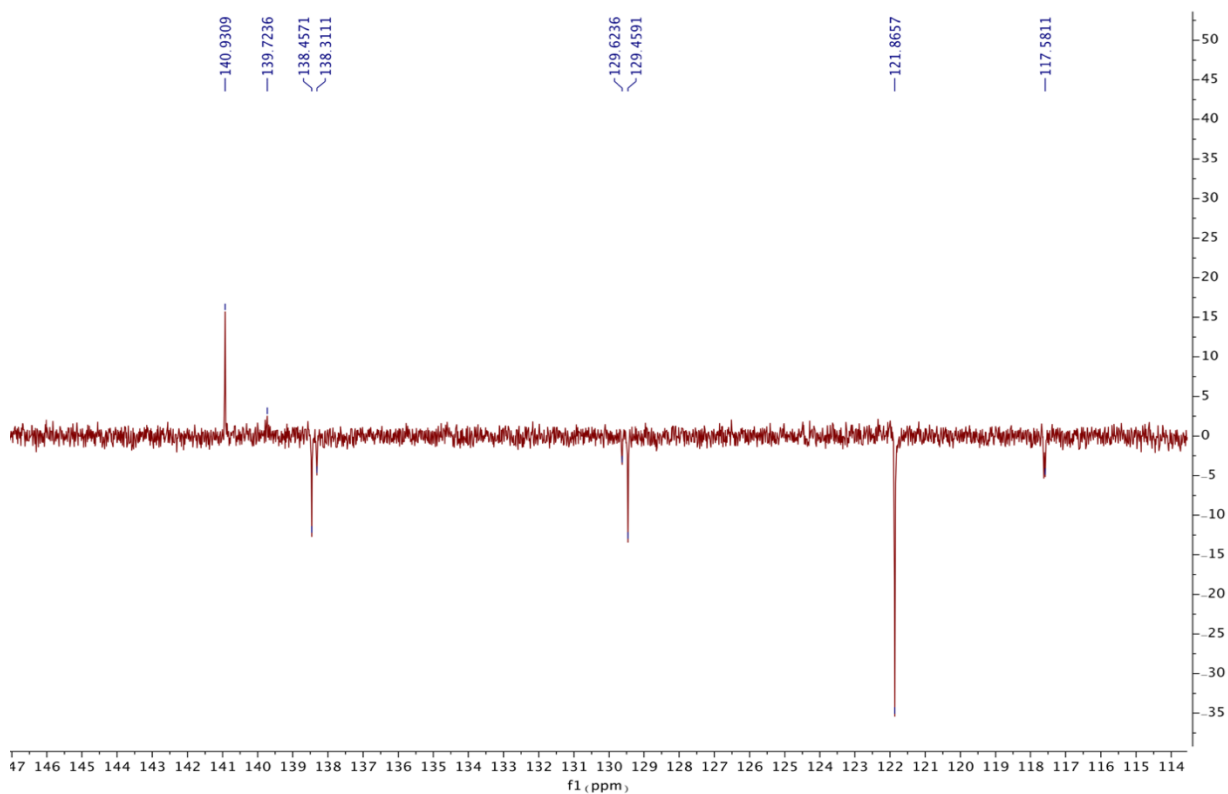
Fonte: Acervo próprio.

Figura 6 – Espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Ac-1, Ac-2 e Ac-3



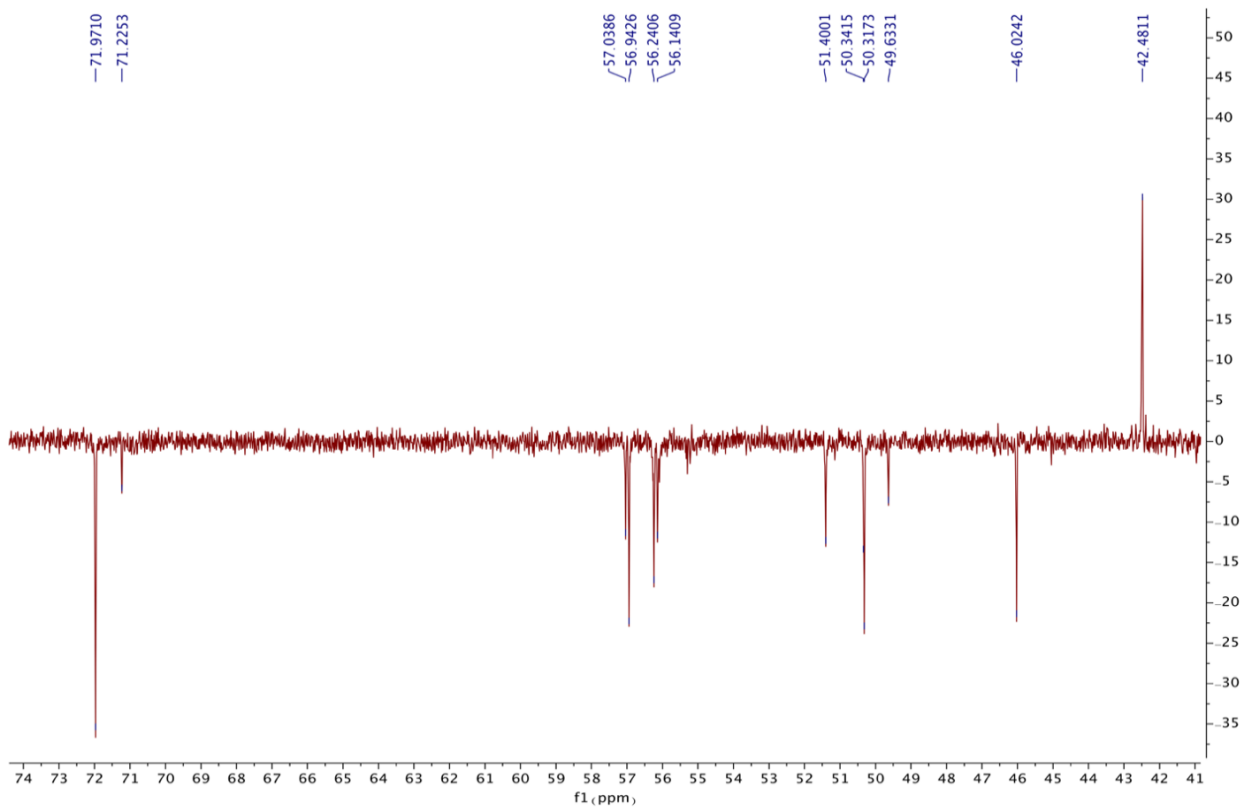
Fonte: Acervo próprio.

Figura 7 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz)



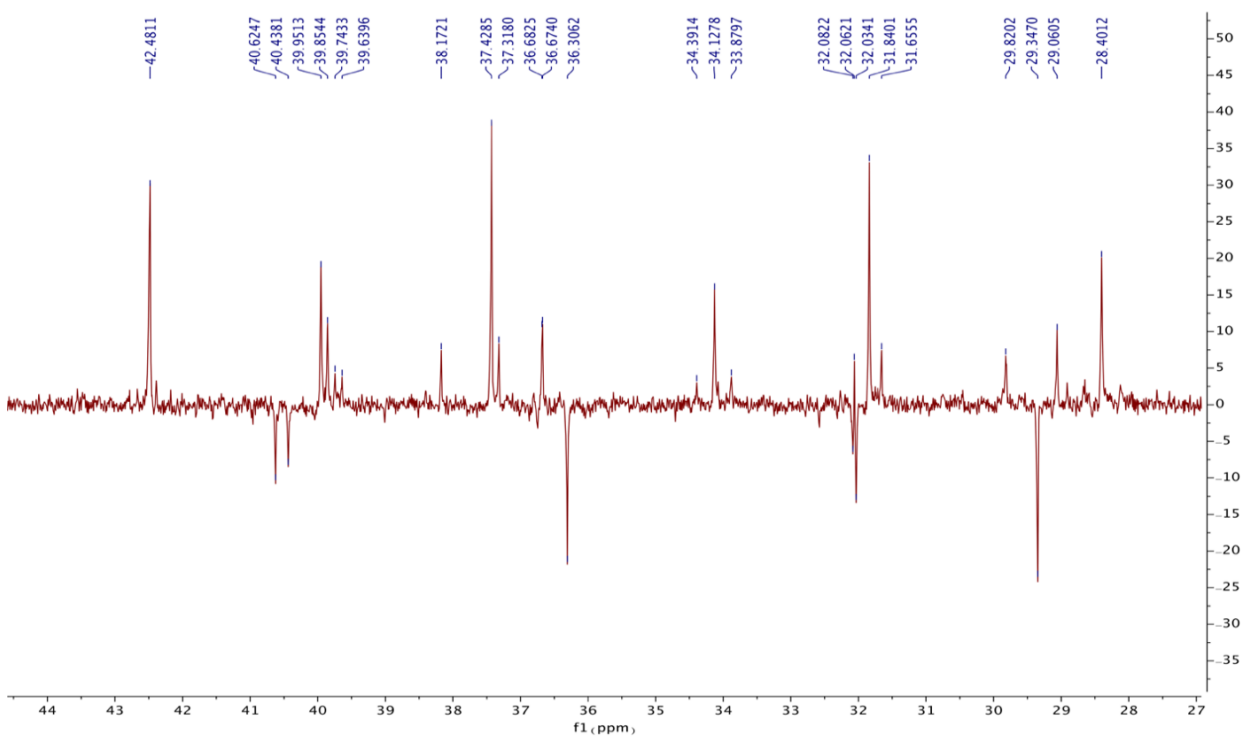
Fonte: Acervo próprio.

Figura 8 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz)



Fonte: Acervo próprio.

Figura 9 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz)



Fonte: Acervo próprio.

Caracterização dos compostos químicos Ac-4, Ac-5 e Ac-6

O espectro de IV (Fig. 11, p. 102) dos cristais amarelados retirados da C2.1 apresentou uma banda larga em 3402 cm^{-1} característica de estiramento O–H, bandas em 2970 e 2924 cm^{-1} típicas de ligação C–H de carbono sp^3 , além de uma banda de média intensidade em 1685 cm^{-1} sugerindo a presença de carbonila. As duas bandas em 1485 e 1388 cm^{-1} indicam dobramento de ligação C–H, além de uma banda em 1076 cm^{-1} sugestiva de ligação C–O (PAVIA et al., 2012).

Na análise dos dados de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 400 MHz) foi visualizado um envelope de sinais entre $\delta_{\text{H}} 2,5 - 0,95$ (Fig. 12, p. 103) sugestivos de hidrogênios ligados a carbono sp^3 , dos quais 7 deles foram associados a grupos metílicos em $\delta_{\text{H}} 0,95$ (C-18); 1,20 (C-19); 1,38 (C-21); 1,13 (C-26); 1,12 (C-27); 2,21 (C-28) e 1,01 (C-30). Na região entre $\delta_{\text{H}} 5,80 - 6,94$ (Fig. 13, p. 103) foram vistos sinais típicos de prótons ligados a carbonos sp^2 . Além disso, singletos em $\delta_{\text{H}} 6,60$, $6,58$ e $6,55$ sugerem a presença de hidrogênios aromáticos presentes em estruturas do tipo norcucurbitacinas. (Achenbach et al, 1993). Através da observação da integral desses últimos sinais (Fig. 13, p. 103), numa proporção de 70 %, 25 % e 5 %, respectivamente, foi possível deduzir que a amostra se tratava de uma mistura de 3 compostos.

Na expansão do espectro mostrado na Figura 14 (p. 104) foi possível perceber sinais entre $\delta_{\text{H}} 3,6$ e $3,4$ (m, H-2', H-3', H-4' e H-5') indicando a presença de unidade osídica na molécula, além de um dubleto em $\delta_{\text{H}} 4,65$ ($J = 7,4\text{ Hz}$, H-1') característico de próton anomérico. Tais dados sugerem a presença de uma molécula de açúcar do tipo β -glicose. (Tab. 5, p. 102) (ACHENBACH et al., 1993; NAKANO et al., 1994).

No espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 16, p. 105), técnica APT, foi possível visualizar aproximadamente 80 sinais, o que confirmou a presença de mais de um composto na fração analisada. Foram observados dois sinais em campo baixo ($\delta_{\text{C}} 213,8$ e $212,7$ – Fig. 17, p. 105) sugestivos de carbonilas cetônicas presentes em triterpenos tetracíclicos de núcleo cucurbitano (VALENTE, 2004) corroborando com o espectro de IV. Foi possível visualizar ainda sinais na região de anéis aromáticos em $\delta_{\text{C}} 112,8$; $145,2$; $144,9$; $122,3$; $129,3$ e $129,4$ (Fig. 18, p. 106) referentes aos carbonos do anel A do núcleo tetracíclico C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 e C-10, além de sinais entre $\delta_{\text{C}} 70,3 - 77,7$ (Fig. 19, p. 106) que são típicos de carbonos de açúcar, o que reforça a presença de unidade glicosídica ligada a um núcleo triterpênico.

Foi observado um sinal em aproximadamente em $\delta_{\text{C}} 58,7$ (Fig. 20, 107) que é característico do C-17 que possui uma cadeia lateral diretamente ligado à ele (ACHENBACH et al., 1993). Nessa cadeia lateral foi identificada, além da carbonila em $\delta_{\text{C}} 215,6$ (C-22), os

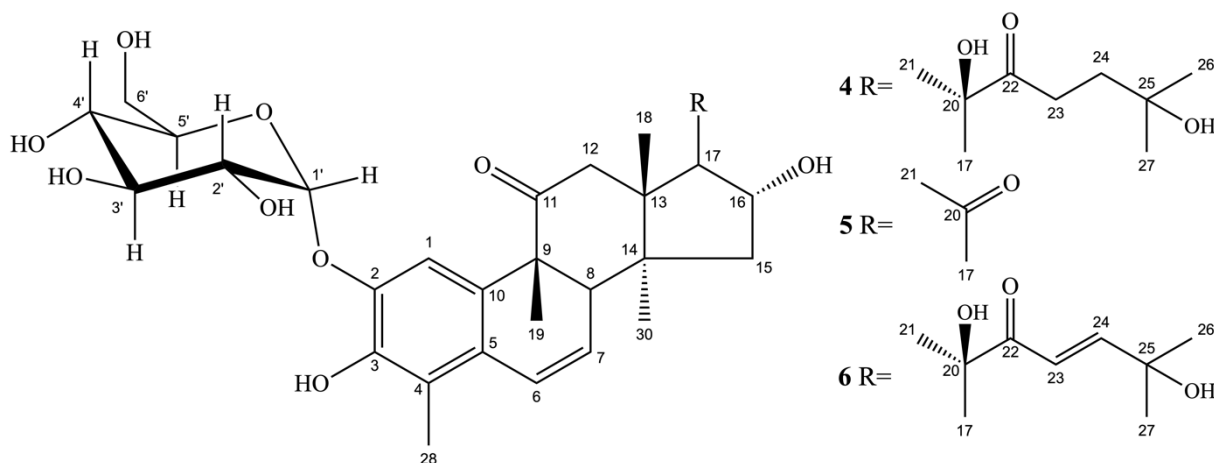
sinais em δ_C 29,6 e δ_C 29,4 (C-26 e C-27 – Fig. 21, p. 107), sugestivos de carbonos metílicos e um sinal em δ_C 79,6 (C-25), o que permitiu deduzir que o carbono 25 sustentava duas metilas e uma hidroxila (HIMENO et al., 1992). Esses sinais foram atribuídos ao composto majoritário denominado de cayaponosídeo C_{5b} (Tab. 2, p. 99). Contudo, foi visualizado, também, um sinal em δ_C 67,5 (Fig. 19, p. 106) referente ao carbono 17, quando este não sustenta uma cadeia lateral e um outro sinal em δ_C 208,6 (Fig. 17, p. 105) compatível com carbono de cetona da posição 20 para este tipo de estrutura (ACHENBACH; HEFTER-BÜBL; CONSTENLA, 1987). A presença desse valor para o carbono 17 foi reforçada pelas interações vistas no mapa de correlação heteronuclear HSQC entre δ_H 3,07/ δ_C 67,8 (Fig. 22, p. 108) e no HMBC entre δ_H 3,07/ δ_C 49,5, 72,0, 208,4 e 19,7 (Fig. 23, p. 108) confirmando que o segundo composto não tinha a cadeia lateral e que se tratava do cabenosídeo C (Tab. 3, p. 100)

Para os carbonos 23 e 24 da cadeia lateral do cayaponosídeo C_{5b} (**Ac-4**) foram visualizadas as correlações entre δ_H 2,85/ δ_C 32,1 e δ_H 1,69/ δ_C 38,0, no HSQC (Fig. 22, p. 108) e entre δ_H 2,86/ δ_C 37,7; 215,3 e δ_H 1,69/ δ_C 215,4; 32,0 e 29,3, no HMBC (Fig. 23, p. 108), respectivamente, o que confirma que esses dois carbonos têm hibridização sp^3 e que os valores em δ_C 32,0, 37,7, 215,4, e 29,3 podem ser atribuídos aos carbonos das posições 23, 24, 22 e 26-27, respectivamente. Entretanto, a ocorrência dos sinais em δ_C 120,6 e 155,3 (Fig. 18, p. 105) apontam para a presença de carbonos insaturados nas posições 23 e 24 indicando a presença de um isômero do composto **Ac-4**, ainda não evidenciado na literatura. No espectro de RMN de 1H foram vistos dois dubletos em δ_H 6,81 e 6,94 (Fig. 13, p. 103), com constantes de acoplamento de $J = 15,4$ Hz, que juntamente com o sinal em δ_C 203,6 visto no RMN de ^{13}C (Fig. 17, p. 105), sugere a presença de hidrogênios vinílicos pertencentes a um grupamento com carbonila α,β -insaturada. Para dar suporte a esses dados foram visualizados, também, no mapa de correlação heteronuclear - HSQC os sinais em δ_H 6,81/ δ_C 120,6 e δ_H 6,94/ δ_C 155,3 (Fig. 22, p. 108) e no HMBC, por meio de correlações indiretas, os acoplamentos entre δ_H 6,81/ δ_C 70,4, 155,2 e 203,5 e de δ_H 6,94/ δ_C 70,4, 120,3, 203,3 e 29,4 (Fig. 23, p. 108), confirmando 30,4, 70,4, 120,3, 155,2 e 203,3 para as posições 26, 25, 23, 24 e 22, respectivamente.

De acordo com a interpretação dos sinais de IV e RMN, utilizando técnicas uni e bidimensionais e, auxiliados pela comparação com os dados descritos na literatura (ACHENBACH et al., 1993; HIMENO et al., 1994; NAKANO et al., 1994), foi possível deduzir que a mistura dos compostos tratavam-se de norcucurbitacinas, que possuem um anel aromático A comumente assinalado como um derivado 2,3-di-*O*-substituído. Foram identificados 3 compostos nessa mistura (Fig. 10, p. 98), sendo 2 já conhecidos na literatura: cayaponosídeo C_{5b} (Tab. 2, p. 99) e cabenosídeo C (Tab. 3, p. 100), bem como uma nova

norcucurbitacina de nome químico (9R, 13R, 14S, 16R)-17-((R, E)-2,6-dihidroxi-6-metil-3-oxohept-4-en-2-il)-3,16-dihidroxi-4, 9, 13, 14-tetrametil-2-(((2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil) tetrahydro-2H-piran-2-il)oxi)-8,9,12,13,14,15,16,17-octa-hidro-11H-ciclopenta [a] fenantreno-11-ona, denominada provisoriamente de fevicordina C₂ glicosídeo (Tab. 4, p. 101). As norcucurbitacinas são uma subclasse das cucurbitacinas e apresentam estruturas conhecidas pela ausência de uma metila na posição C-28 ou C-29. Já foram evidenciadas em espécies do gênero *Fevillea*, *Cayaponia* e *Wilbrandia*, todas pertencentes à família Cucurbitaceae (CHEN et al., 2005), porém identificadas pela primeira vez no gênero *Apodanthera*.

Figura 10 – Estruturas químicas de cayaponosídeo C_{5b} (**Ac-4**), cabenosídeo C (**Ac-5**) e fevicordina C₂ glicosídeo (**Ac-6**)



Fonte: Autoria própria.

Tabela 2 – Dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 400 e 100 MHz) de cayaponosídeo C_{5b} (**Ac-4**) em comparação com Himeno et al., 1994 (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz)

Cayaponosídeo C_{5b}				Himeno et al. (1994)		
Nº	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)
1	112,8	CH	6,60 (s)	113,6	CH	6,57 (s)
2	145,2	C		146,1	C	
3	144,9	C		146,5	C	
4	122,3	C		124,1	C	
5	129,3	C		130,6	C	
6	125,6	CH	6,87 (d, 10)	126,9	CH	6,87 (d, 10)
7	127,2	CH	5,80 (dd, 6,2, 10)	128,0	CH	5,80 (dd, 6, 10)
8	47,4	CH	2,56 (m)	49,0	CH	2,56 (d, 6)
9	51,7	C		52,9	C	
10	129,4	C		129,1	C	
11	213,8	C		216,8	C	
12	51,1	CH ₂	2,71 (d, 14,9) 3,05 (d, 14,9)	52,7	CH ₂	2,72 (d, 15) 3,02 (d, 15)
13	50,0	C		51,3	C	
14	48,7	C		50,4	C	
15	44,5	CH ₂	1,33 (sl) 2,05 (m)	45,6	CH ₂	1,32 (d, 14) 2,03 (dd, 9, 14)
16	70,7	CH	4,34 (t, 7,5)	72,6	CH	4,43 (t, 7)
17	58,7	CH	2,53 (m)	60,5	CH	2,47 (d, 7)
18	17,9	CH ₃	0,95 (s)	21,1	CH ₃	0,94 (s)
19	26,7	CH ₃	1,20 (s)	27,4	CH ₃	1,22 (s)
20	79,8	C		81,6	C	
21	25,2	CH ₃	1,38 (s)	26,3	CH ₃	1,38 (s)
22	215,6	C		217,4	C	
23	32,1	CH ₂	2,86 (m)	33,6	CH ₂	2,7-2,8 (m)
24	37,9	CH ₂	1,69 (t, 7,9)	36,6	CH ₂	1,7 (m)
25	79,9	C		83,9	C	
26	29,4	CH ₃	1,13 (s)	27,0	CH ₃	1,17 (s)
27	29,4	CH ₃	1,12 (s)	27,1	CH ₃	1,17 (s)
28	11,2	CH ₃	2,21 (s)	12,0	CH ₃	2,22 (s)
30	20,2	CH ₃	1,01 (s)	18,9	CH ₃	1,02 (s)

Fonte: Autoria própria.

Tabela 3 – Dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 400 e 100 MHz) de cabenosídeo C (**Ac-5**) em comparação com Nakano et al., 1994 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz)

Cabenoσίdeo C				Nakano et al. (1994)		
Nº	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)
1	112,7	CH	6,58 (s)	113,4	CH	7,23 (s)
2	144,9	C		145,6	C	
3	145,1	C		146,1	C	
4	122,3	C		123,0	C	
5	127,8	C		127,6	C	
6	125,6	CH	6,88 (d, 9,9)	125,3	CH	6,96 (d, 10,0)
7	126,9	CH	5,82 (dd, 6,2, 10)	126,4	CH	5,85 (dd, 6,35 e 10,25)
8	47,6	CH	2,54 (m)	47,4	CH	2,58 (d, 5,86)
9	50,5	C		51,3	C	
10	129,2	C		128,9	C	
11	212,7	C		212,1	C	
12	49,7	CH ₂	2,87 (m) 3,17 (m)	49,5	CH ₂	2,79 (d, 14,65) 3,16 (d, 14,65)
13	49,0	C		49,0	C	
14	49,5	C		49,2	C	
15	44,2	CH ₂	2,21 (sl)	44,2	CH ₂	1,83 (d, 13,68) 2,21 (dd, 8,78 e 13,68)
16	71,7	CH	4,66 (m)	71,7	CH	5,37 (t, 7,33)
17	67,7	CH	3,07 (m)	68,0	CH	3,40 (d, 6,35)
18	19,7	CH ₃	0,95 (s)	19,7	CH ₃	0,88 (s)
19	26,5	CH ₃	1,38 (s)	26,8	CH ₃	1,46 (s)
20	208,6	C		208,5	C	
21	31,7	CH ₃	2,13 (s)	31,7	CH ₃	2,15 (s)
28	11,2	CH ₃	2,22 (s)	11,7	CH ₃	2,48 (s)
30	17,8	CH ₃	1,01 (s)	18,0	CH ₃	1,30 (s)

Fonte: Autoria própria.

Tabela 4 – Dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 400 e 100 MHz) de fevicordina C_2 glicosídeo (**A c -6**) em comparação com Achenbach et al., 1993 (δ , CD_3OD , 360 e 90,5 MHz)

Glicosídeo de fevicordina C_2				Achenbach et al. (1993) Glicosídeo de fevicordina C		
Nº	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)
1	112,8	CH	6,58 (s)	113,2	CH	6,66 (s)
2	145,1	C		144,6	C	
3	145,1	C		144,7	C	
4	122,4	C		124,8	C	
5	129,4	C		131,2	C	
6	125,6	CH	6,88 (d, 9,9)	24,8	CH ₂	2,84 (ddd, 18, 9, 9) 2,64 (brdd, 18, 9, 9)
7	127,3	CH	5,82 (dd, 6, 2, 10)	20,2	CH ₂	2,25 (dddd, 15, 9, 9, 7)
8	47,5	CH		44,0	CH	2,12 (brd, 7)
9	50,1	C		52,0	C	
10	129,3	C		129,8	C	
11	213,8	C		217,0	C	
12	50,9	CH ₂	2,87 (m) 2,67 (m)	51,8	CH ₂	2,90 (d, 14,5) 2,64 (d, 14,5)
13	50,5	C		51,3	C	
14	50,9	C		49,7	C	
15	48,6	CH ₂	1,33 (sl)	46,3	CH ₂	1,48 (brd, 13,5)
16	70,3	CH	4,48 (m)	71,6	CH	4,45 (brdd, 7,5, 7,0)
17	58,8	CH	2,66 (d, 7,9)	59,5	CH	2,53 (d, 7)
18	20,0	CH ₃	0,95 (s)	20,6	CH ₃	0,94 (s)
19	29,8	CH ₃	1,20 (s)	29,2	CH ₃	1,30 (s)
20	79,9	C		79,9	C	
21	26,0	CH ₃	1,37 (s)	25,2	CH ₃	1,35 (s)
22	203,6	C		205,0	C	
23	120,6	CH	6,81 (d, 15,4)	121,1	CH	6,76 (d, 15,5)
24	155,3	CH	6,94 (d, 15,3)	155,4	CH	6,94 (d, 15,5)
25	69,7	C		71,4	C	
26	30,4	CH ₃	1,26 (s)	29,2	CH ₃	1,28 (s)
27	29,7	CH ₃	1,27 (s)	29,3	CH ₃	1,28 (s)
28	11,2	CH ₃	2,22 (s)	11,5	CH ₃	2,08 (s)
30	19,7	CH ₃	1,01 (s)	20,0	CH ₃	1,00 (s)

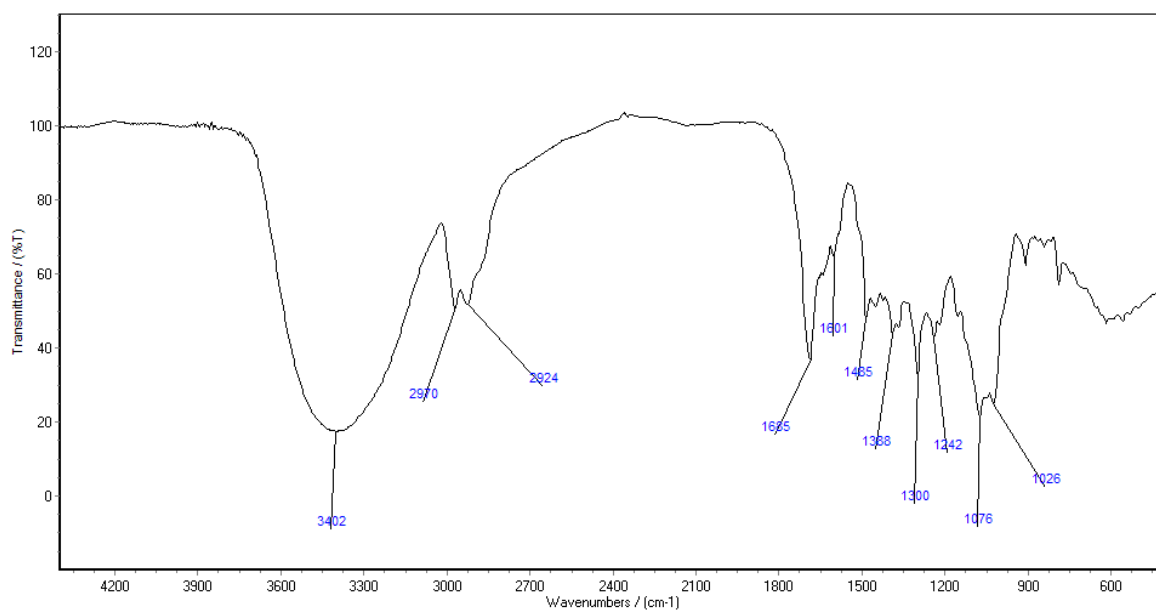
Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 – Dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 400 e 100 MHz) do radical D-glucopiranosil em comparação com Achenbach et al., 1993 (δ , CD_3OD , 360 e 90,5 MHz)

D-glucopiranosil				Achenbach et al. (1993)		
Nº	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	Tipo	δ_{H} (J em Hz)
1'	104,5	CH	4,65 (d, 7,4)	105,0	CH	4,58 (d, 7,5)
2'	74,3	CH	3,6-3,4 (m)	74,7	CH	3,5-3,4 (m)
3'	77,3	CH	3,6-3,4 (m)	77,6	CH	3,5-3,4 (m)
4'	70,7	CH	3,6-3,4 (m)	70,8	CH	3,5-3,4 (m)
5'	77,7	CH	3,39 (m)	78,0	CH	3,34 (ddd)
6'	62,0	CH ₂	3,92 (dd, 2,8 e 12) 3,80 (dd, 4,5 e 12)	62,0	CH ₂	3,96 (dd, 12, 4) 3,84 (dd, 12, 4)

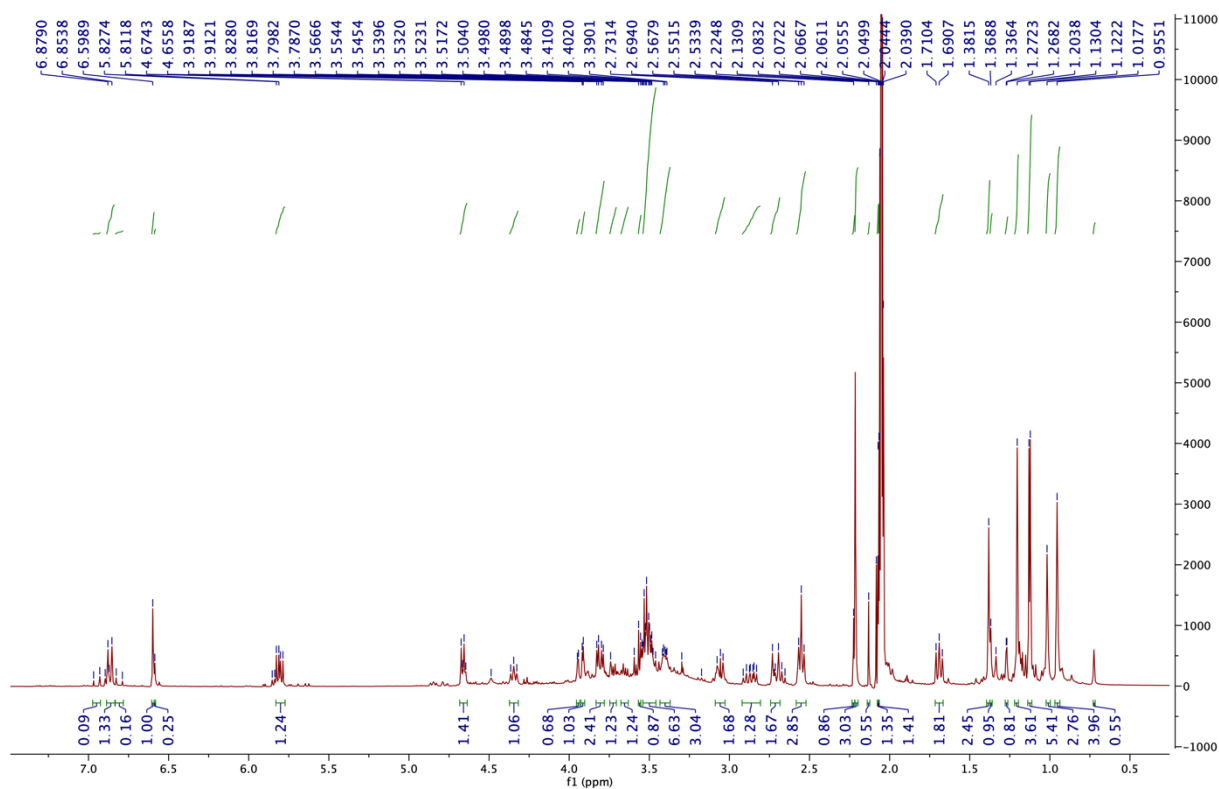
Fonte: Autoria própria.

Figura 11 – Espectro de infravermelho da mistura de **Ac-4**, **Ac-5** e **Ac-6**



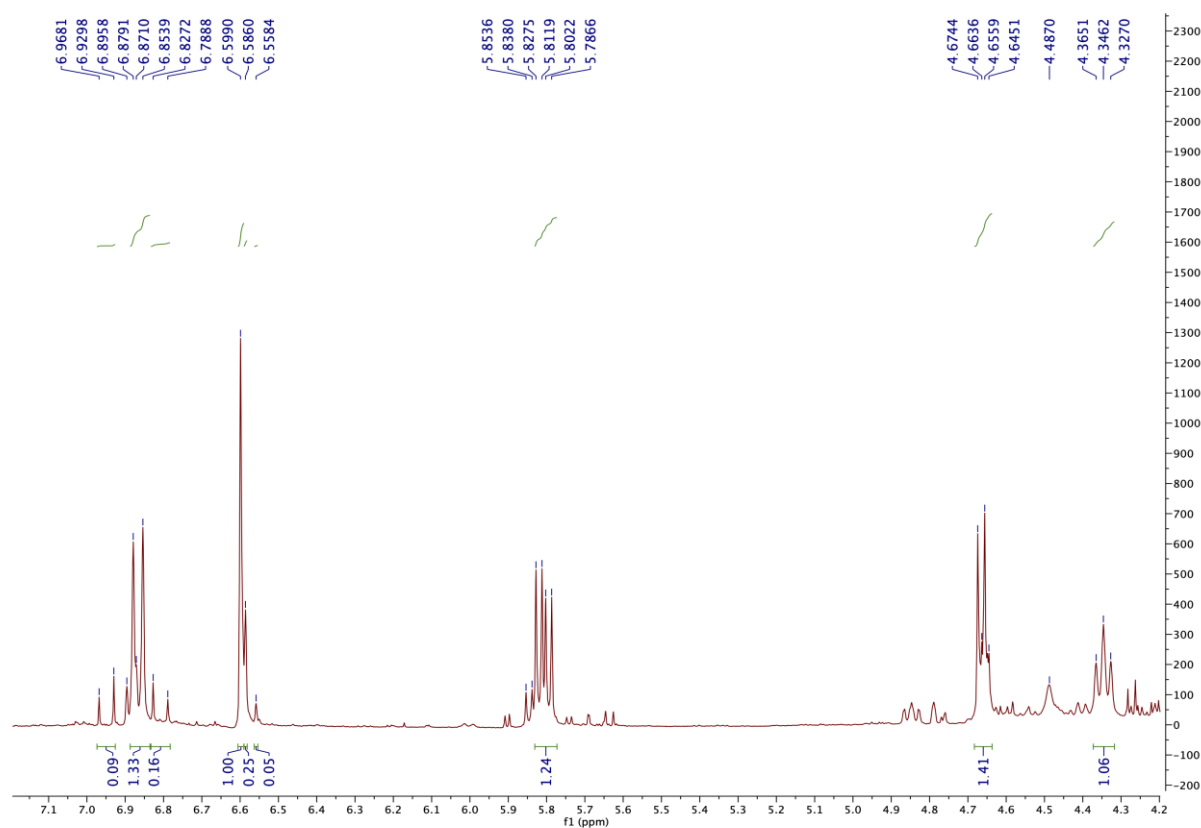
Fonte: Acervo próprio.

Figura 12 - Espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 400 MHz) de Ac-4, Ac-5 e Ac-6



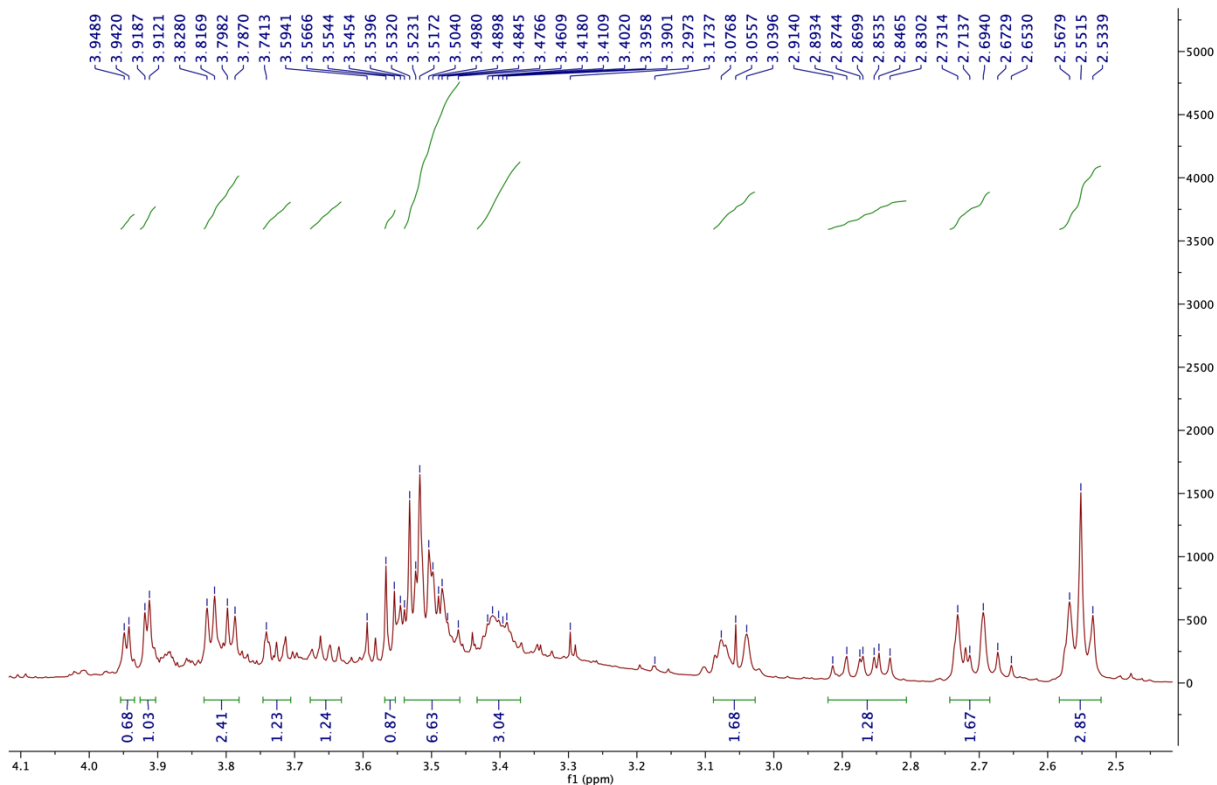
Fonte: Acervo próprio.

Figura 13 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 400 MHz)



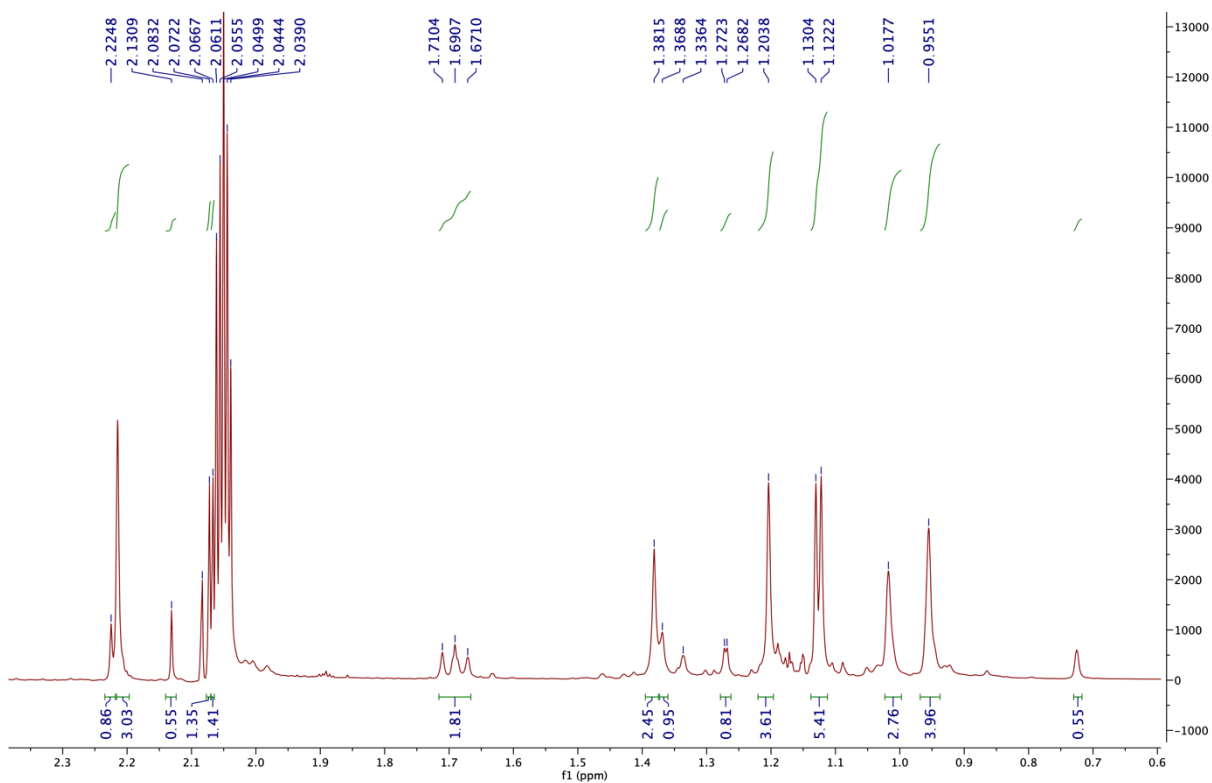
Fonte: Acervo próprio

Figura 14 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 400 MHz)



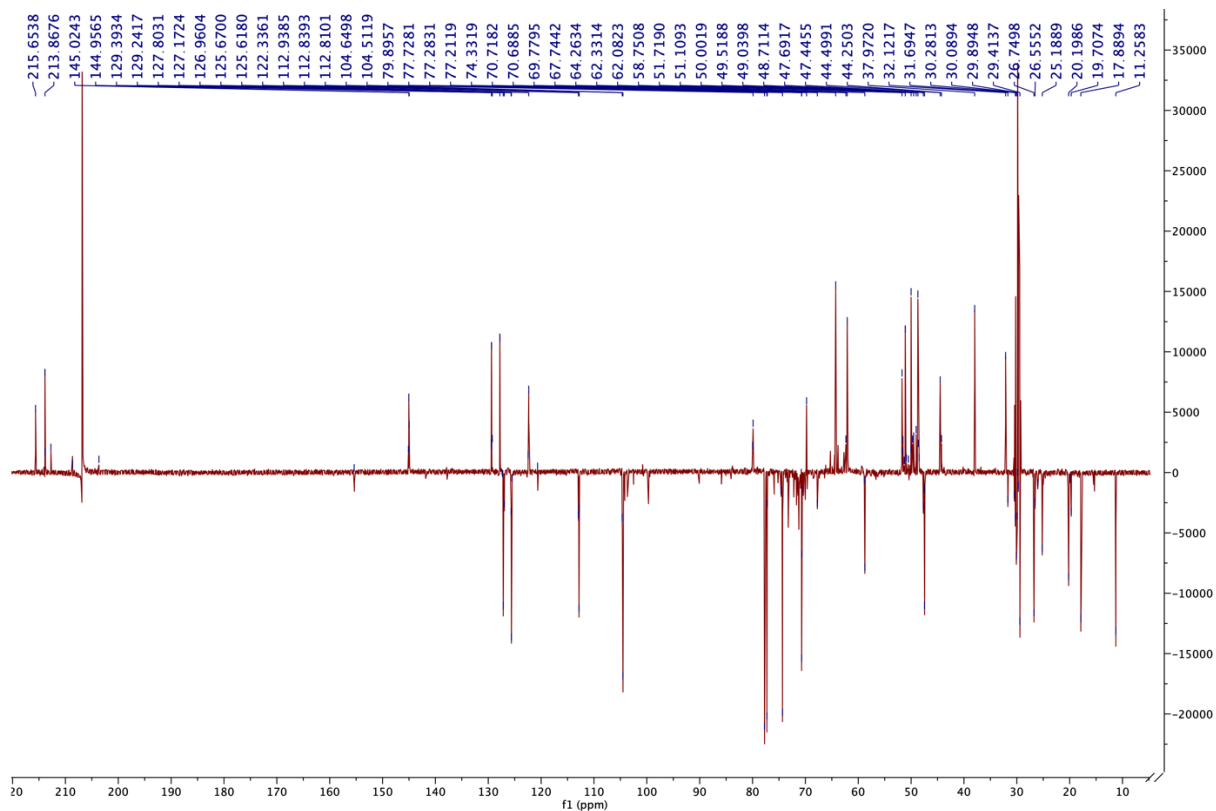
Fonte: Acervo próprio.

Figura 15 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 400 MHz)



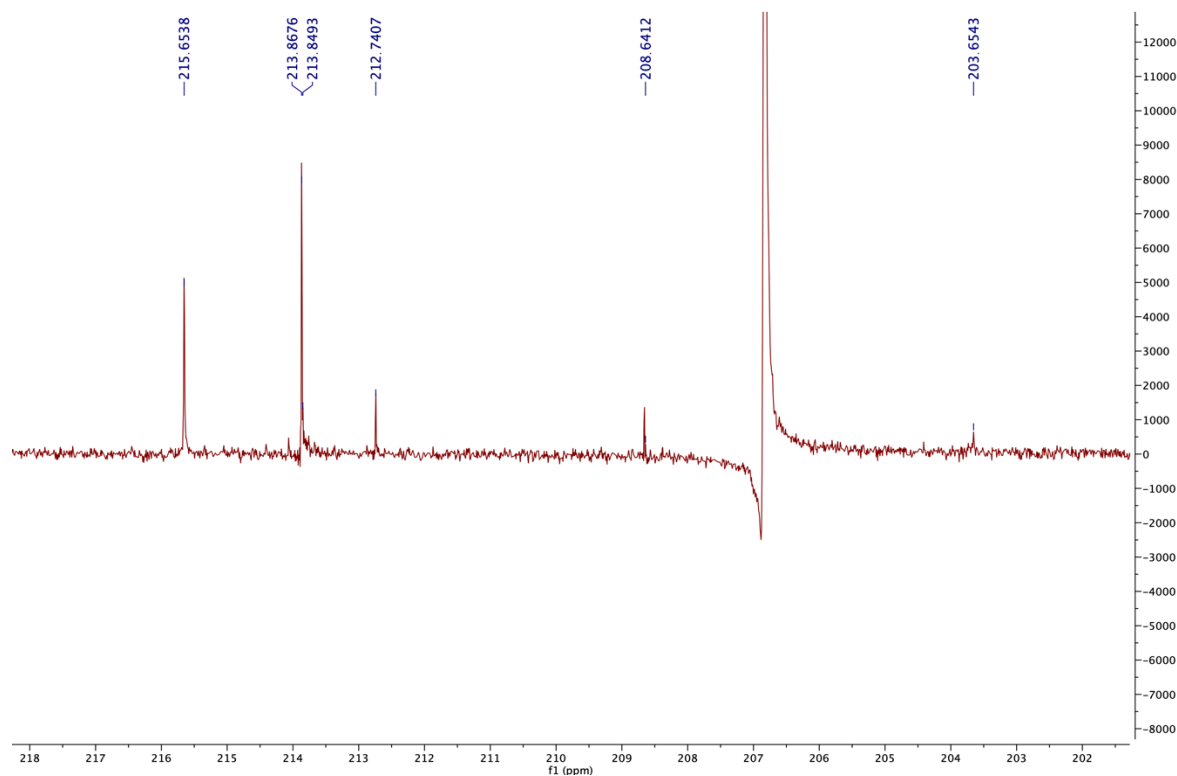
Fonte: Acervo próprio.

Figura 16 – Espectro de RMN de ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 100 MHz) de **Ac-4**, **Ac-5** e **Ac-6**



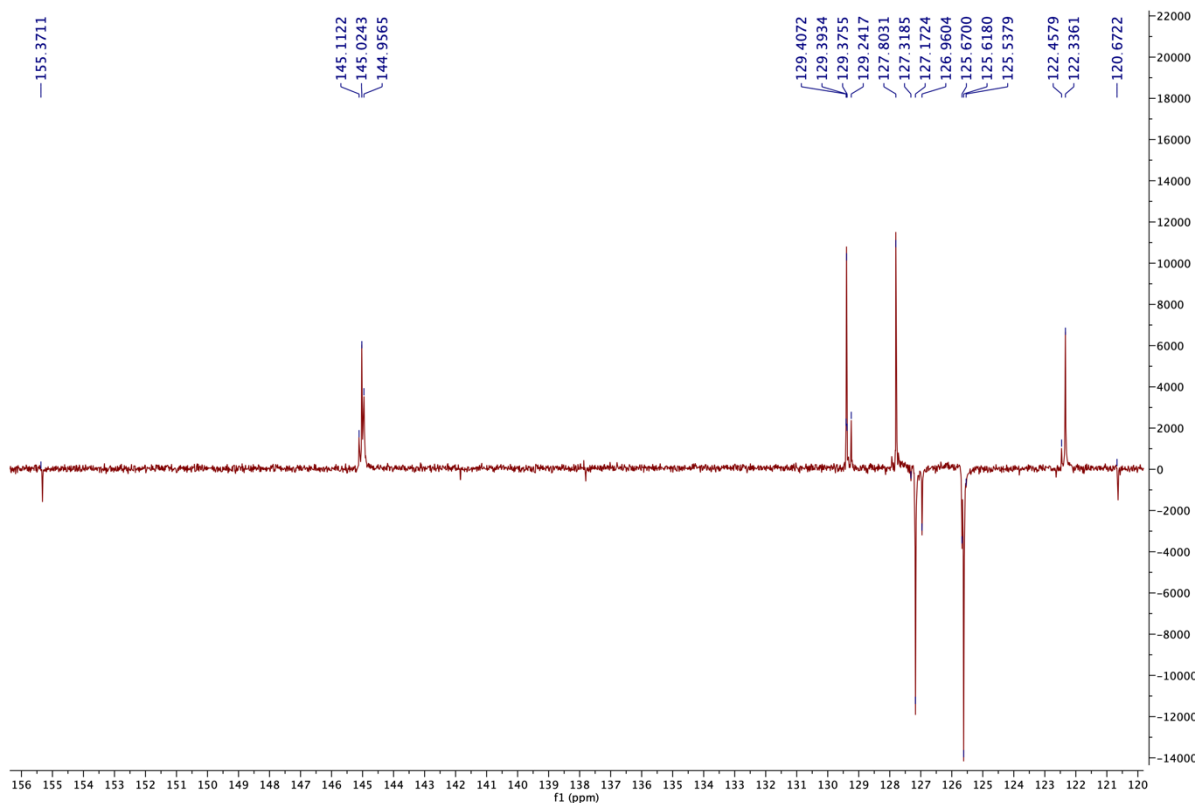
Fonte: Acervo próprio.

Figura 17 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 100 MHz)



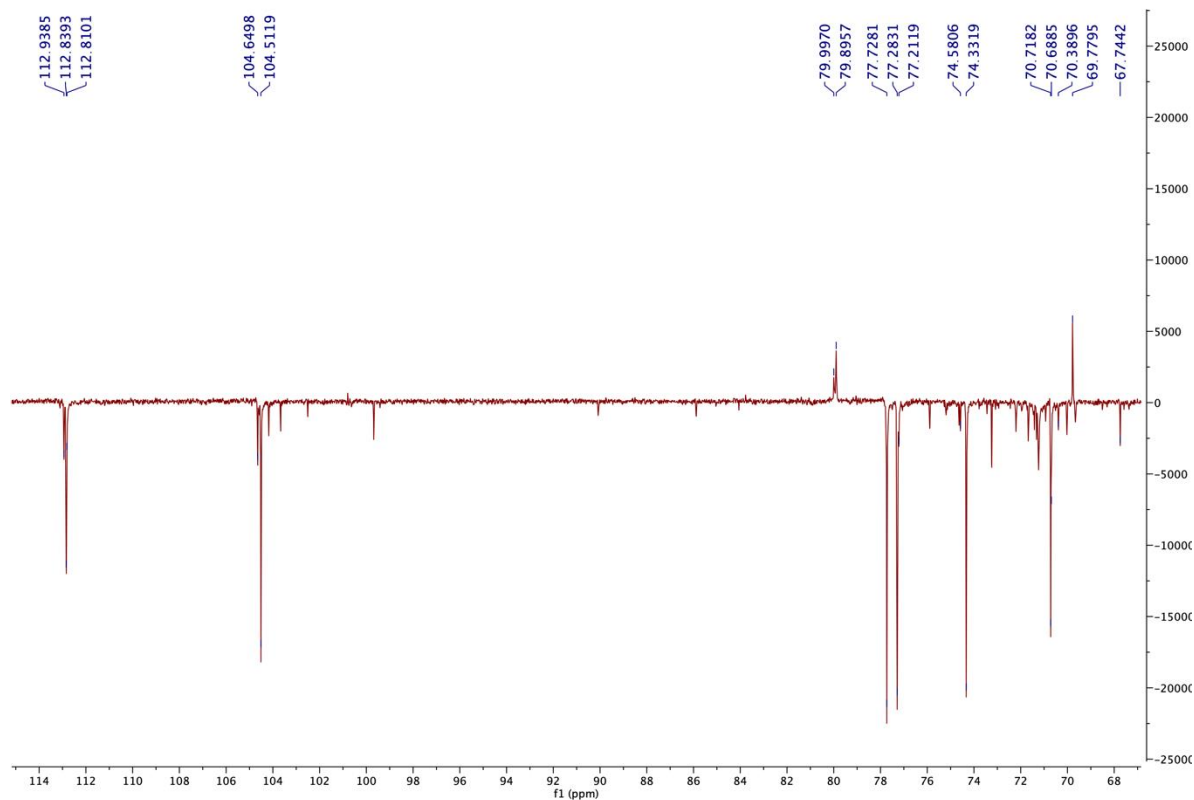
Fonte: Acervo próprio.

Figura 18 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , Acetona-d₆, 100 MHz)



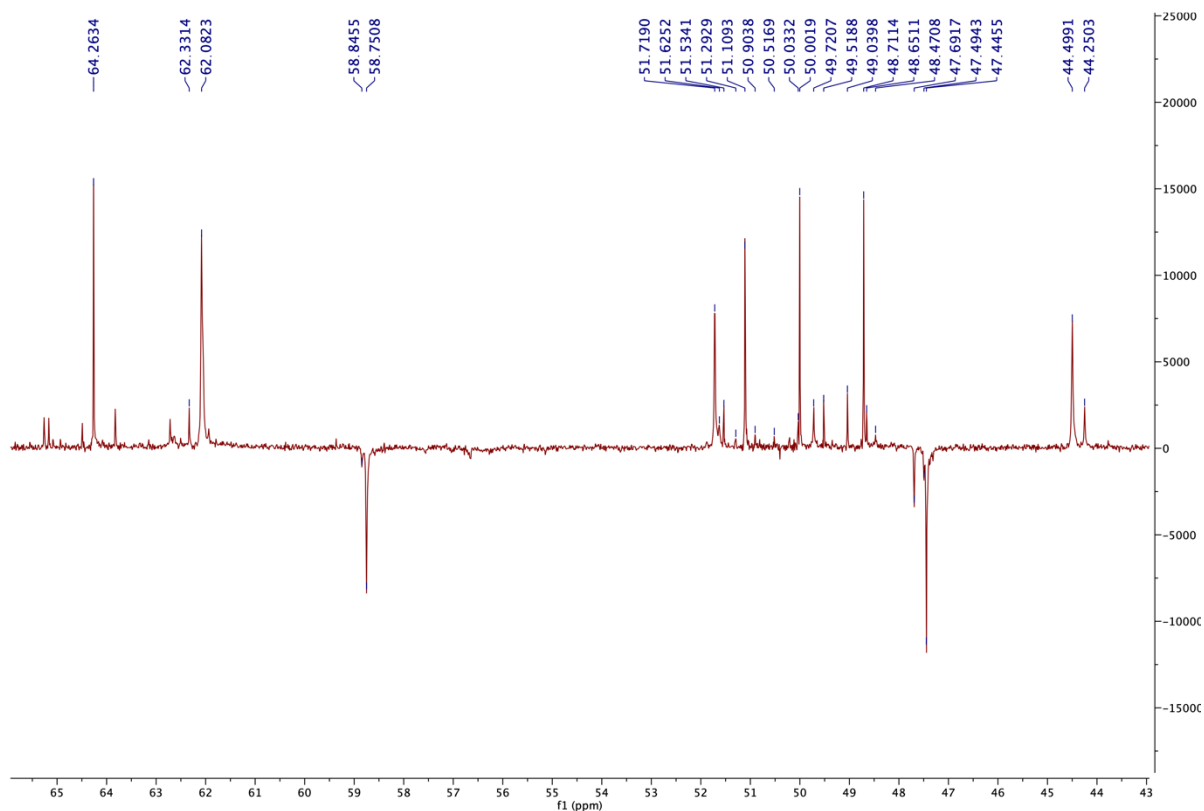
Fonte: Acervo próprio.

Figura 19 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , Acetona-d₆, 100 MHz)



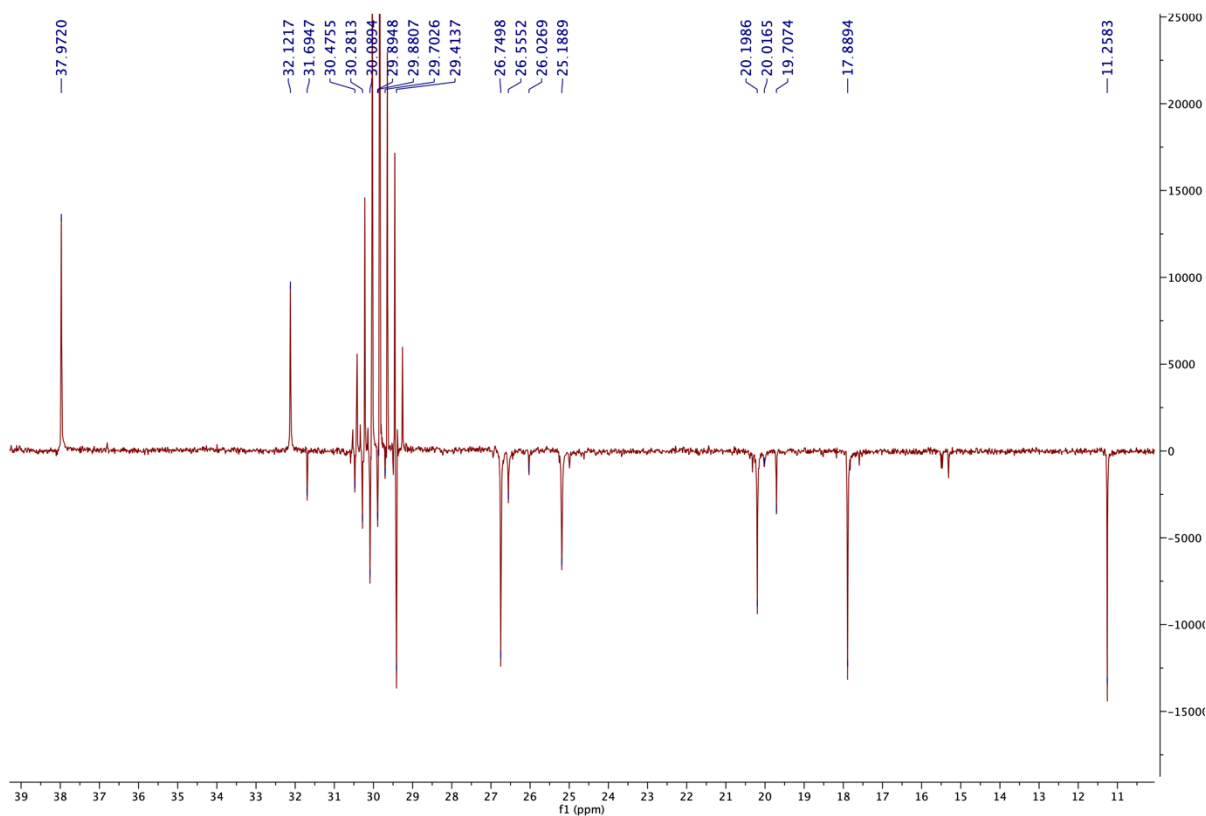
Fonte: Acervo próprio.

Figura 20 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 100 MHz)



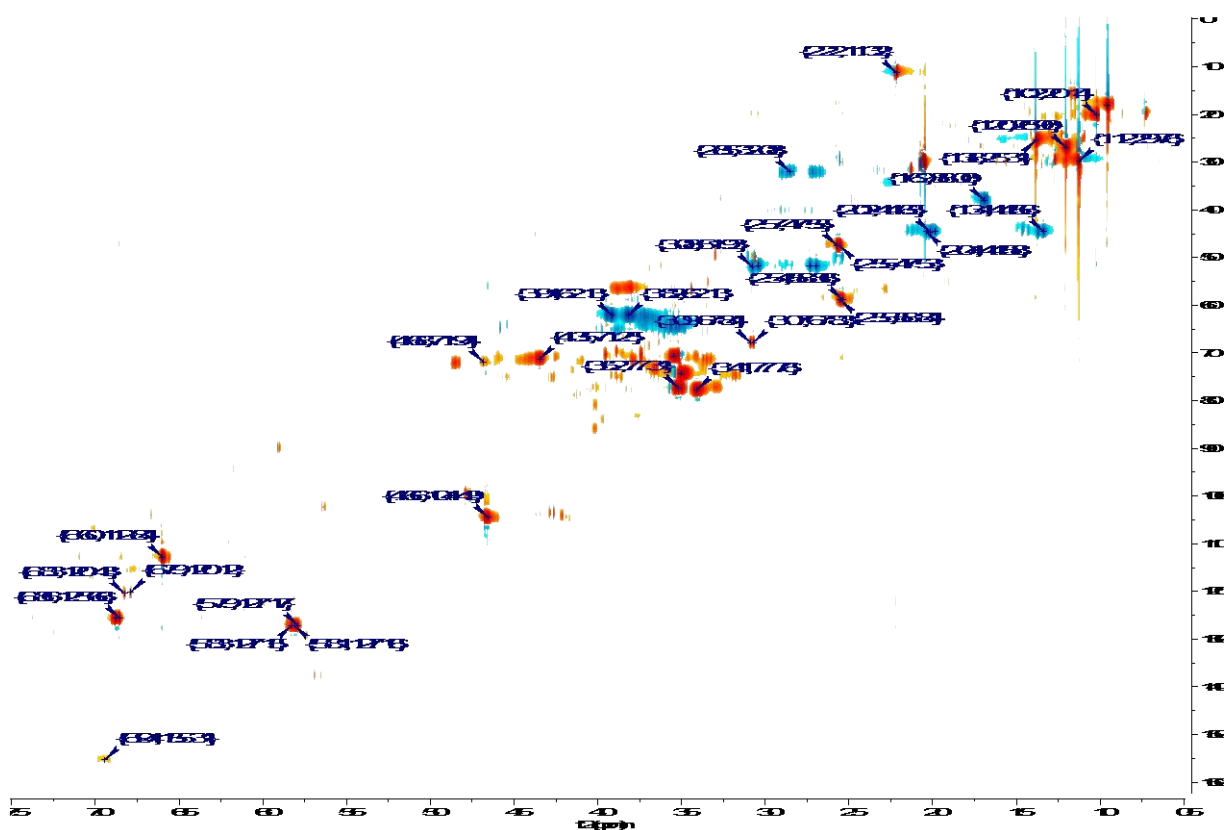
Fonte: Acervo próprio.

Figura 21 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 100 MHz)



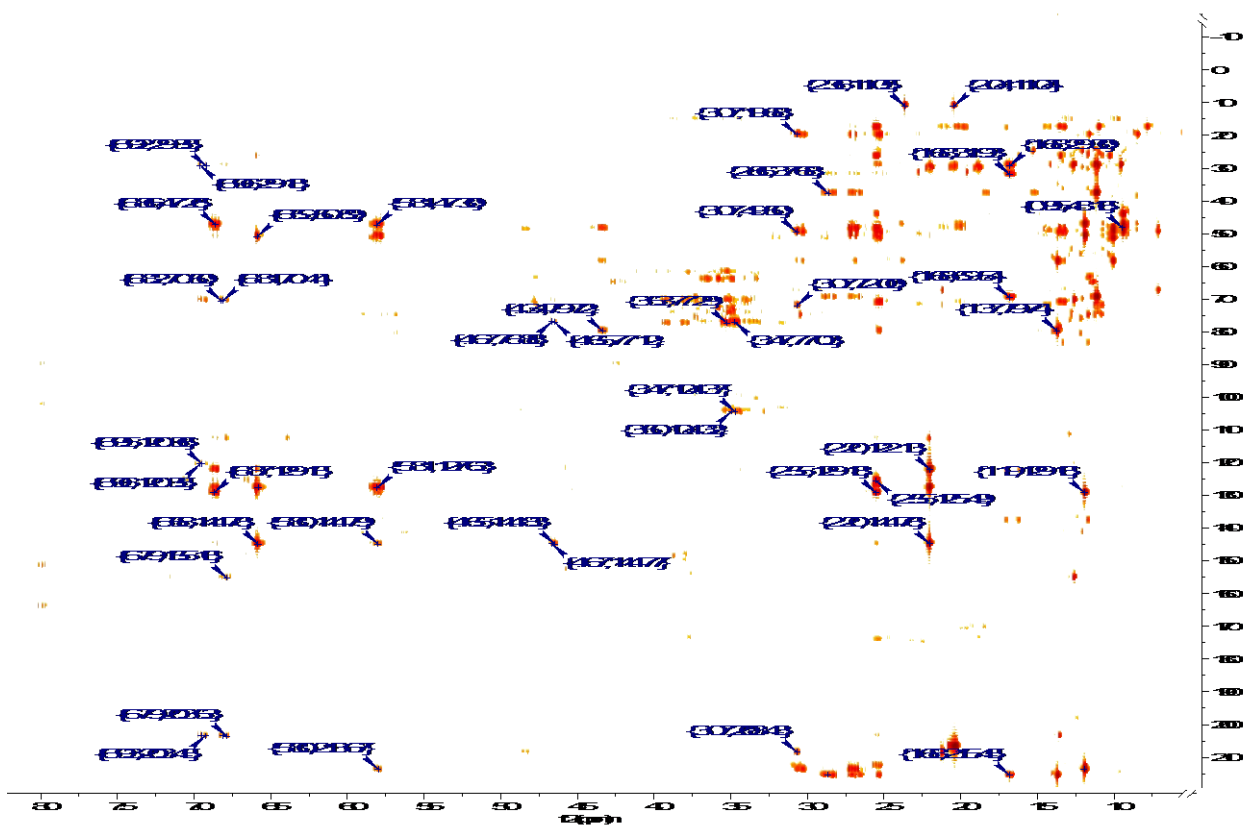
Fonte: Acervo próprio.

Figura 22 – Mapa de contorno HSQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Ac-4, Ac-5 e Ac-6



Fonte: Acervo próprio.

Figura 23 – Mapa de contorno HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Ac-4, Ac-5 e Ac-6



Fonte: Acervo próprio.

Atividade Hemolítica

O potencial da FHC-Ac e FDC-Ac para promover danos à membrana eritrocitária foi avaliado pelo ensaio hemolítico, que permite investigar a capacidade de um produto promover a formação de poros ou causar ruptura da membrana dos eritrócitos. Não ocorreu hemólise para as concentrações de 10 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Logo, o potencial hemolisante (*Ph*) foi calculado apenas para a concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, apresentando *Ph* = 1,80% para a FHC-Ac e *Ph* = 0,28% para a FDC-Ac.

Embora estes estudos relatem a baixa ou nenhuma toxicidade, o fato de haver a presença de saponinas nos extratos poderia acarretar numa maior toxicidade, pois as saponinas, por possuir caráter anfifílico, geralmente apresentam interações com as membranas celulares, incluindo ação hemolítica e ictiotóxica (SIMÕES et al., 2007).

O potencial dos extratos *A. Congestiflora* para promover danos à membrana dos eritrócitos também foi avaliado neste por Pereira (2017), e Videres (2017), usando o ensaio hemolítico. Nesses estudos foram investigados os extratos obtidos das raízes. Videres (2017) não verificou capacidade hemolítica significativa do extrato hidroalcoólico, enquanto Pereira (2017), na investigação da fase acetato não evidenciou indícios de hemólise.

Toxicidade Aguda

As plantas sintetizam uma enorme gama de metabólitos secundários, frequentemente relacionados a mecanismos de defesa do vegetal frente a predadores e patógenos. As espécies tóxicas são aquelas com capacidade de produzir substâncias que podem causar alterações metabólicas danosas ao homem e aos animais. A toxicidade apresentada por uma espécie vegetal pode estar associada a fatores relacionados ao indivíduo, à planta, ao modo de exposição e a questões ambientais. A intoxicação, aguda ou crônica, causada por plantas é de difícil diagnóstico, assim como a associação entre os sintomas e o consumo e/ou contato com algumas espécies apresenta uma grande dificuldade de ser estabelecida (CAMPOS et al., 2016).

Nessa perspectiva, os testes de toxicidade aguda e crônica realizadas de forma pré-clínica constituem estratégias importantes na triagem de espécies vegetais com potencialidade terapêutica. Isso porque os registros etnofarmacológicos de plantas não são suficientes para atestar a sua segurança.

As potencialidades terapêuticas de plantas que pertencem à família Cucurbitaceae é reconhecida desde a história antiga. Essas espécies eram valorizadas por causa das propriedades

medicinais a elas atribuídas. Por outro lado, frequentemente causavam medo por causa de sua alta toxicidade (DANTAS, 2008).

Assim, uma etapa inicial para a validação das propriedades medicinais do caule de *A. Congestiflora* foi a realização dos testes de toxicidade aguda. Segundo a OECD 423 a dose inicial nos experimentos deve ser selecionada entre um dos quatro níveis fixados (5, 50, 300 e 2000 mg kg⁻¹ de massa corporal), sendo escolhida aquela com maior probabilidade de causar mortalidade nos animais testados. Nesse sentido, os animais foram tratados com a FDC-Ac na dose de 2000 mg kg⁻¹ via oral (v.o), tendo em vista a constatação de sinais de toxicidade pelos animais em um estudo de Pereira (2017), realizado com a fase acetato obtida das raízes da planta.

Na primeira etapa da avaliação, denominado teste hipocrático, foram observados sinais clínicos de toxicidade. Por conseguinte, os animais apresentaram várias alterações comportamentais, sobretudo, 4 horas após a administração da fase, tais como: aumento da micção e defecação, perda de reflexo de endireitamento, ataxia, ptose palpebral, taquicardia e alterações respiratórias. Além disso, a FDC-Ac causou mortalidade de um animal no período de 24 horas. Esse último evento motivou a repetição do experimento, de acordo com o protocolo OCDE 423, sendo constatada novamente um óbito ao longo dos 14 dias.

Na Tabela 6, pode ser observado um aumento no consumo de água e redução no consumo de ração pelos animais testados em relação aos do grupo controle, sinais sugestivos de toxicidade que devem ser levados em consideração, ainda que discretos, já que os animais não apresentaram ganho de peso na mesma proporção que os do grupo controle.

Tabela 6 – Evolução ponderal e consumo de água e ração dos grupos controle e tratado com a FDC-Ac do caule de *A. congestiflora* no experimento de toxicidade aguda (2000 mg kg⁻¹)

	Massa (g)		Consumo de água por animal (mL)	Consumo de ração por animal (g)
	Inicial	Final		
Controle	28,2 ± 1,58	36,0 ± 1,01	9,97 ± 0,15	7,89 ± 0,25
FDC-Ac	26,3 ± 1,81	30,6 ± 1,47*	12,84 ± 0,87*	6,49 ± 0,98

*p<0,05. Significativos após análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Fonte: Autoria própria.

A redução no consumo de ração pelo grupo tratado com a FDC-Ac, corrobora os dados do peso final dos animais, denota um ganho ponderal inferior ao obtido pelo grupo controle ao

longo dos 14 dias de experimento, sugerindo uma possível toxicidade atrelada à fase na dose testada. Esse fato pode ser explicado pela capacidade de alguns princípios ativos tóxicos causarem apatia, anorexia e diarreia, sintomas que podem levar a uma perda de peso ou emagrecimento progressivo de indivíduos expostos (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Nesse aspecto, ao longo da investigação química da FDC-Ac realizada no presente trabalho foram isoladas 3 norcucurbitacinas, identificadas como cayaponosídeo C_{5b}, cabenosídeo C e fevicordina C₂ glicosídeo. As cucurbitacinas são compostos bioativos encontrados na maioria das espécies da família Cucurbitaceae e de seus gêneros. Esses compostos apresentam em sua maioria elevada toxicidade e amplo espectro de atividades biológicas, incluindo a citotóxica (VALENTE, 2004). A presença desses constituintes pode explicar a relativa toxicidade da FDC-Ac, muito embora os testes *in vitro* da atividade hemolítica dessa fase não tenham evidenciado toxicidade significativa.

Foi evidenciado, ainda, um aumento significativo do tamanho e da massa do fígado dos animais tratados com o FDC-Ac na dose utilizada (Tab. 7), fato sugestivo de hepatomegalia provocada por constituintes presentes na fase. Podemos sugerir que na dose utilizada, a FDC-Ac pode estar envolvida em vias metabólicas que estejam ligadas diretamente ao fígado, já que o mesmo é responsável pela metabolização de várias substâncias endógenas e exógenas (GUYTON; HALL, 2017). Somado a isso, também foi observado um aumento dos níveis séricos das transaminases (Tab. 8), enzimas importantes em eventos de dano hepático, corroborando a hepatomegalia constatada na avaliação macroscópica e quantitativa.

Tabela 7 – Massa absoluta dos órgãos dos grupos controle e tratado com a FDC-Ac no experimento de toxicidade aguda na dose de 2000 mg kg⁻¹

Grupo	Índice dos órgãos				
	Pulmão	Coração	Rim	Fígado	Baço
Controle	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,42 ± 0,03	1,66 ± 0,04	0,22 ± 0,07
FDC-Ac	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,46 ± 0,01	2,47 ± 0,06*	0,24 ± 0,03

*p<0,05. Significativos após análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Fonte: Autoria própria.

A aparente dissociação ou divergência de resultados biológicos *in vitro* quando comparados aos *in vivo* é um episódio muito frequente e recorrente na pesquisa químico-medicinal, principalmente por conta da complexidade da fisiologia e dos processos

metabólicos. Por esse motivo, os ensaios *in vitro* devem ser considerados como uma etapa inicial na fase não clínica de estudos com novas substâncias.

Além disso, a toxicidade evidenciada no ensaio *in vivo* pode não estar relacionada diretamente à toxicidade em hemácias. Essa proposição foi confirmada pelo hemograma completo do sangue periférico dos animais (Tab. 8) que não apresentou alterações nos parâmetros hematológicos, corroborando os dados obtidos *in vitro* no teste de hemólise.

Tabela 8 – Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos grupos controle e tratado com a fase FDC-Ac no experimento de toxicidade aguda (2000 mg kg⁻¹)

	Teste	Controle	FDC-Ac
Bioquímico	Ureia (mg dL ⁻¹)	16,43 ± 2,03	18,1 ± 1,33
	Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,41 ± 0,09	0,42 ± 0,03
	AST (U L ⁻¹)	10,93 ± 4,30	12,42 ± 5,61
	ALT (U L ⁻¹)	16,57 ± 9,50	19,28 ± 8,65
	F. Alcalina (U L ⁻¹)	26,42 ± 6,71	31,36 ± 8,24
	P. Total (g dL ⁻¹)	3,67 ± 1,12	4,63 ± 0,62
	Albumina (g dL ⁻¹)	1,44 ± 0,26	1,68 ± 0,11
	Glicose (mg dL ⁻¹)	101 ± 8,8	116 ± 4,21
	Colesterol Total (mg dL ⁻¹)	127,67 ± 29,38	116, 23 ± 32,3
	Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	47,33 ± 7,48	43,67 ± 3,61
	Bilirrubina Total (mg dL ⁻¹)	0,62 ± 0,17	0,61 ± 0,12
	Gama-GT (mg dL ⁻¹)	20,36 ± 4,29	19,37 ± 3,84
Hematológico	Hemácias (mm ³)	5,29 ± 0,33	5,74 ± 0,41
	Hemoglobina (g dL ⁻¹)	15,14 ± 0,03	14,63 ± 0,05
	Hematócrito (%)	46 ± 1,31	44 ± 1,46
	VCM (fL)	45,53 ± 0,05	44,24 ± 0,07
	HCM (pg)	16,54 ± 0,07	15,39 ± 0,01
	CHCM (%)	35,67 ± 0,32	34,93 ± 0,28
	Plaquetas (mm ³)	162,08 ± 0,26	148,68 ± 0,21
	Leucócitos totais (mm ³)	6,00 ± 0,48	4,50 ± 0,29
	Neutrófilos segmentados (%)	40	45
	Eosinófilos (%)	01	04
	Linfócitos (%)	57	50
Monócitos (%)	02	01	

*p<0,05. Significativos após análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Fonte: Autoria própria.

Diferentemente dos resultados da análise macroscópica do fígado dos animais submetidos ao teste de toxicidade aguda, na avaliação de outras enzimas hepáticas e metabólitos

envolvidos diretamente em vias hepáticas, como a Gama – GT e a bilirrubina, não foram constatadas alterações significativas. Nesse sentido, se faz necessária a realização de avaliações mais específicas de lesões do tecido hepático, tais como a avaliação imuno-histoquímica e ultra estrutural das lesões, pois são técnicas que exibem ampla dimensão do grau de comprometimento hepático induzido por produtos naturais (SCHONS et al., 2007).

A toxicidade de um composto exógeno pode se manifestar por meio de danos celulares em diferentes estruturas teciduais, desencadeando modificações fisiológicas, principalmente na função hepática e renal. O metabolismo de uma forma geral também é susceptível a alterações, as quais foram observadas neste estudo através dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. É por esse motivo que a análise da toxicidade de qualquer substância é um processo complexo e multifatorial, pois a manifestação dos danos pode ser silenciosa, aparente ou até ser expressa devido a múltiplas exposições ao agente supostamente tóxico. Por causa desses fatores, este experimento é uma etapa inicial e preliminar no estudo da toxicidade de qualquer agente, incluindo os de origem natural (OECD, 2001).

Então, baseado nessas premissas não é possível estabelecer ou cancelar a toxicidade de uma substância de forma simples. Nesse sentido, apesar dos aparentes danos hepáticos preliminares, não ocorreram alterações significativas nos demais órgãos analisados e também nos exames séricos, principalmente de função renal e de metabolismo da glicose e do colesterol.

Atividade anti-inflamatória

A resposta inflamatória num determinado sítio anatômico significa um conjunto de reações pontuais e gerais de um organismo frente a um agressor. Ela é formada de uma variedade de fenômenos complexos, os quais se ligam e se complementam entre si numa reação em cascata (COELHO, 2009).

O processo inflamatório pode se constituir num fenômeno benéfico para a manutenção da homeostase do organismo. Entretanto, seus efeitos subsequentes podem se reverter em danos até mais relevantes que o processo patológico que lhe deu origem. Um exemplo claro e contemporâneo desse processo é o fenômeno batizado como tempestade de citocinas, a qual provoca um dano celular e tecidual dramático e perturbador para o organismo, cursando como um evento sistêmico. Nesse caso, uma das terapias testadas com relativo sucesso é a aplicação de corticoide sistêmico, um potente medicamento anti-inflamatório. Os glicocorticoides poderiam modular a lesão inflamatória do pulmão e, assim, diminuir os casos de evolução para insuficiência respiratória e morte (RECOVERY COLLABORATIVE GROUP, 2020).

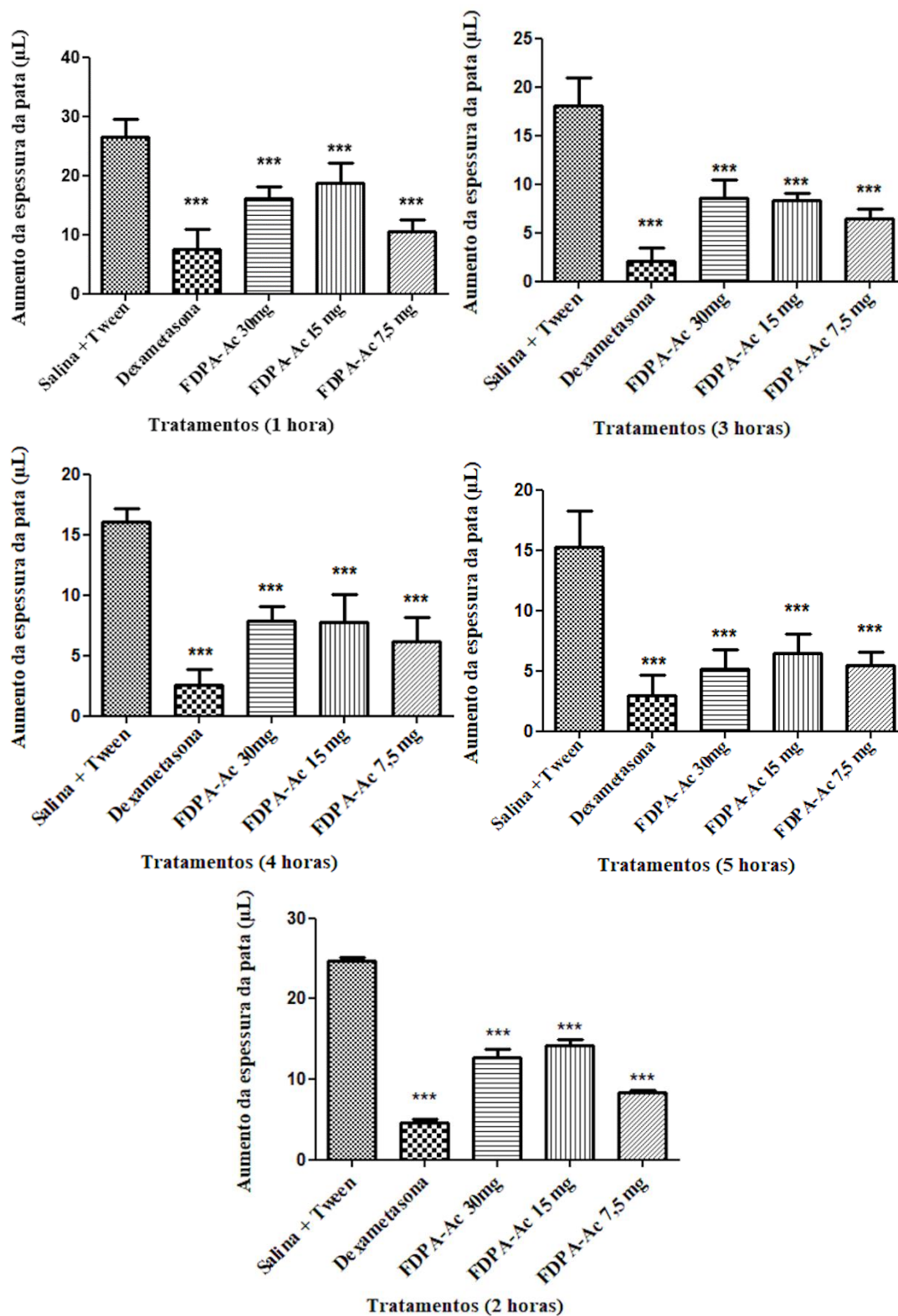
Na perspectiva de terapias farmacológicas efetivas, a classe dos medicamentos anti-inflamatórios é considerada de elevada efetividade e segurança, entretanto um fator complicador para essas substâncias são os seus efeitos colaterais, sobretudo gastrointestinais e renais no caso dos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) ou Síndrome de *Cushing*, hiperglicemia, retenção de líquidos, entre outros, quando tratamos dos agentes corticoides (RANG; DALE, 2016). Essas desvantagens dos medicamentos anti-inflamatórios sintéticos motivam a pesquisa de alternativas terapêuticas eficazes e de menor espectro de reações adversas. Assim, os produtos de origem natural se constituem em alvos importantes para a descoberta de novos princípios ativos, de menor custo e menores danos ao organismo do paciente.

Os ensaios não clínicos são a primeira visualização de eficácia e segurança de qualquer substância de interesse, constituindo uma triagem importante. O edema de pata induzido por carragenina é um dos modelos animais mais consolidados e de relativa eficiência na pesquisa de substâncias com atividade anti-inflamatória. Esse modelo é frequentemente estudado para compreender a eficácia de um composto frente à inflamação aguda. Os processos de sinalização que são direcionados por esses compostos demonstram seu potencial para a mitigação da inflamação (BASU et al., 2017).

Para a avaliação do potencial anti-inflamatório da FDC-Ac foi escolhido o modelo de edema de pata induzido por carragenina nas doses de 7,5, 15 e 30 mg kg⁻¹ por massa de animal. As doses escolhidas foram baseadas em experimentos realizados anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa tendo em vista que a partir da avaliação da toxicidade aguda na dose de 2.000 mg kg⁻¹ foi constatado o óbito de um animal. O experimento foi repetido com a dose de 300 mg kg⁻¹, o qual corroborou o resultado obtido no teste anterior. Desta forma foi escolhida como a maior dose a ser testada a de 30 mg kg⁻¹ correspondente a 10% da segunda maior dose recomendada pelo protocolo da OCDE.

A partir da Figura 24 foi possível observar que a fase diclorometano (codificada como FDPA-Ac) foi capaz de reduzir o edema de forma contínua e sustentada nas 5 horas de observação, não havendo diferença estatística entre as doses testadas. Nessa perspectiva, sugere-se que o efeito dessa fase não é dose-dependente, algo positivo, pois esse fato permite que seja obtido um efeito anti-inflamatório pronunciado mesmo com a administração de baixas doses, o que levaria supostamente a um menor risco de toxicidade.

Figura 24 – Edema de pata induzido por carragenina em camundongos dos grupos controles e tratados com a fase FDP A-Ac. (A) Aumento da espessura da pata após 1 hora de avaliação. (B) Aumento da espessura da pata após 2 horas de avaliação. (C) Aumento da espessura da pata após 3 horas de avaliação. (D) Aumento da espessura da pata após 4 horas de avaliação. (E) Aumento da espessura da pata após 5 horas de avaliação.



Os resultados são expressos como média \pm SEM de três repetições.

Fonte: Autoria própria.

O maior percentual de inibição do edema (Tab. 9) ocorreu após 2 horas, na dose de 7,5 mg kg⁻¹ (66,6%), fato que se repetiu de forma semelhante até a quarta hora de observação. Na quinta hora a dose mais efetiva foi a 30 mg kg⁻¹ (64,3%). Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato da administração da maior dose conseguir manter uma concentração plasmática suficiente para manter a inibição da inflamação por um maior tempo. Nesse caso, se faz necessária uma avaliação posterior da farmacocinética dessa fase para verificar e validar essas observações preliminares.

Tabela 9 – Inibição do edema de pata induzido por carragenina em camundongos dos grupos controles e tratados com a fase FDC-Ac

Grupo	Dose (v.o.)	Inibição (%)				
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
Controle negativo						
Dexametaxona	10,0 mg kg ⁻¹	70,2	81,8	88,5	83,6	79,5
FDPA-Ac 1	30,0 mg kg ⁻¹	37,5	48,4	49,7	51,2	64,3
FDPA-Ac 2	15,0 mg kg ⁻¹	27,6	42,8	52,4	51,6	57,3
FDPA-Ac 3	7,5 mg kg ⁻¹	58,7	66,6	62,7	61,3	60,9

Fonte: Autoria própria.

A atividade anti-inflamatória de *Apodanthera congestiflora* foi citada por levantamentos etnofarmacológicos e em estudos anteriores realizados com as suas raízes, os quais também validaram o conhecimento popular a cerca dessa espécie (PEREIRA, 2017; VIDERES, 2017). Vale salientar que as 3 norcucurbitacinas (Figura 2) evidenciadas no estudo de bioprospecção química estavam presentes na FDC-Ac e podem estar envolvidas na atividade anti-inflamatória observada nos ensaios farmacológicos (VALENTE, 2004; CHEN, 2005).

Conclusão

Os dados obtidos demonstraram que *Apodanthera congestiflora* (cabeça-de-nego) é uma espécie relevante na busca por compostos farmacologicamente ativos. Das fases hexânica (FHC-Ac) e diclorometano (FDC-Ac), provenientes do extrato dos caules, foram obtidos 6 compostos. A análise espectroscópica permitiu identificá-los como sendo 3 fitosteróis comumente encontrados em espécies vegetais, denominados β -sitosterol (**Ac-1**), estigmasterol (**Ac-2**) e espinasterol (**Ac-3**), duas saponinas triterpênicas de núcleo cucurbitano pertencentes à classe das 29-norcucurbitacinas e identificadas como cayaponosídeo C_{5b} (**Ac-4**) e cabenosídeo C (**Ac-5**), obtidas pela primeira vez no gênero *Apodanthera*, além de uma nova substância da mesma classe denominada fevicordina C₂ glicosídeo (**Ac-6**).

O teste de hemólise *in vitro* apresentou baixo potencial tóxico das fases, no entanto, o ensaio de toxicidade aguda indicou que a fase FDC-Ac tem toxicidade importante nas condições avaliadas. Foi evidenciado que a FDC-Ac possui atividade anti-inflamatória durante as 5h subsequentes à injúria (edema de pata) induzida por carragenina. A resposta observada não foi dose-dependente e a dose de 7,5 mg kg⁻¹ atingiu 66,6% de redução da inflamação na segunda hora de observação, sendo uma dose consideravelmente baixa, levando-se em consideração que se trata de uma fase orgânica e não de substância isolada.

Esses dados revelam que *A. congestiflora* é uma fonte de cucurbitacinas e, por isso, é possível atribuir a ela uma gama enorme de potencialidades farmacológicas. As cucurbitacinas são massivamente estudadas quanto à sua toxicidade na busca por agentes anti-neoplásicos, como também outras diversas atividades biológicas incluindo o efeito anti-inflamatório apontado neste estudo. Mais investigações devem ser realizadas a fim de testar as moléculas isoladas e purificadas, visando elucidar os mecanismos de ação tanto da toxicidade quanto da redução da inflamação.

*Este artigo será submetido no periódico *Molecules* (ISSN 1420–3049).

Agradecimentos

Esta pesquisa foi realizada graças ao suporte dado pela CAPES/Ministério da Educação e CNPq; Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos - Universidade Federal da Paraíba (IPeFarM/UFPB); Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF/UEPB); Laboratório de Testes e Desenvolvimento de Medicamentos (LABDEM/UEPB); Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA/UEPB); PROPESQ-2017/UEPB.

Referências

ACHENBACH, H. et al. Constituents of *Fevillea cordifolia*: new norcucurbitacin and cucurbitacin glycosides. **Journal of Natural Products**, v. 388, n. 9, p. 1506–1519, 1993.

ACHENBACH, H.; HEFTER-BÜBL, U.; CONSTENLA, M. A. Fevicordin A and fevicordin A glucoside, novel norcucurbitacins from *Fevillea cordifolia*. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, v. 441, n. 6, p. 441–442, 1987.

ALVES, H. DA S. et al. Flavonóides de *Piper carniconnectivum* C.DC. piperaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 2, p. 160–164, 2010.

BASU, A. et al. STAT3 and NF- κ B are common targets for kaempferol-mediated attenuation of COX-2 expression in IL-6-induced macrophages and carrageenan-induced mouse paw edema. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 12, n. May, p. 54–61, 2017.

CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 373–382, 2016.

CHANDLER, R. F.; HOOPER, S. N.; ISMAIL, H. A. Antihypercholesterolemic studies with sterols: beta-sitosterol and stigmasterol. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, n. 2, p. 245–247, 1979.

CHEN, J. C. et al. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structures and biological activities. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 3, p. 386–399, 2005.

COELHO, C. F. **Avaliação do efeito anti-inflamatório do óxido nítrico administrado por via inalatória no modelo experimental de edema de pata induzido por carragenina em camundongos**. 2009. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

DANTAS, I. N. F. **Estudo das propriedades anticâncer in vitro e in vivo de triterpenos cucurbitanos (cucurbitacinas) obtidos da Cayaponia racemosa COGN**. 2008, 102 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

FINNEY, D. J.; STEVENS, W. L. A table for the calculation of working probits and weights in probit analysis. **Biometrika**, v. 35, p. 191–201, 1948.

GAWADE, S. P.; CHANDRASHEKAR RAO, M. V. Antihepatotoxic activities of Ci Compound: β -sitosterol isolated from fruits and leaves of *Coccinia indica*. **Indian Journal of Pharmaceutical Education**, v. 46, p. 7–11, 2012.

GHOSH, T.; MAITY, T. K.; JAGADISH, S. Evaluation of antitumor activity of stigmasterol, a constituent isolated from *Bacopa monnieri* Linn aerial parts against Ehrlich Ascites Carcinoma in mice. **Oriental Pharmacy & Experimental Medicine**, v. 11, n. 1, p. 41–49, 2011.

GOMES-KLEIN, V. L.; HALL, C. F.; GIL, A. D. S. B. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Cucurbitaceae. **Rodriguesia**, v. 67, n. 5, p. 1319–1327, 2016.

HIMENO, E. et al. Structures of cayaponosides A, B, C, and D, glucosides of new nor-cucurbitacins in the roots of *Cayaponia tayuya*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, n. 10, p. 2885–2887, 1992.

GUYTON, A. C. & HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 13^a ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HIMENO, E. et al. Studies on the Constituents of the root of *Cayaponia tayuya* (VELL.) COGN. III. Structures of Cayaponosides, 29-Nor-1,2,3,4,5,10-hexadehydrocucurbit-6-ene Glucosides. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 11, p. 2370–2317, 1994.

- HOCAYEN, P. D. A. S. et al. Avaliação da Toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **INSULA Revista de Botânica**, n. 41, p. 23–31, 2012.
- KOJIMA, H. et al. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351–2355, 1990.
- MADALENO, I. M. Plantas da medicina popular de São Luís, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 6, n. 2, p. 273–286, 2011.
- MÉNDEZ-CUESTA, C. A.; CAMPOS, A. L. E.; SÁNCHEZ, D. S.; GONZÁLEZ, C. P.; GUTIÉRREZ, S. P. Cytotoxic and antitumoral activities of compounds isolated from Cucurbitaceae plants. In: *Pharmacognosy - Medicinal Plants*, London: IntechOpen. 2018. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82213>.
- MENESES-SAGRERO, S. E. et al. Antiproliferative activity of spinasterol isolated of *Stenosperma halimifolium* (Benth, 1844). **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 8, p. 1137–1143, 2017.
- MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 1, p. 31–34, 1982.
- MORALES-VELA, K. et al. Antiproliferative activity of Cucurbitaceae species extracts from southeast of Mexico. **Preprints**, v. 100, n. August, p. 1–12, 2019.
- MOREIRA, D. L. et al. Estudo Químico e da Atividade Leishmanicida de Frações de *Piper cabralanum* C.DC. (Piperaceae). **Revista Fitos**, v. 5, p. 92–98, 2010.
- NAKANO, K. et al. Nor-cucurbitacin glucosides from *Caputo nigri*. **Phytochemistry**, v. 37, n. 3, p. 817–820, 1994.
- OECD GUIDELINE for testing of chemicals: acute oral toxicity: acute toxic class method. [S.l.], 2001. (OECD/OCDE, 423 Adopted: 17th December 2001). Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en>. Acesso em: 26 jun. 2020.
- OGA, S.; CAMARGO, M. M. DE A.; BATISTUZZO, J. A. DE O. **Fundamentos da Toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
- PAVIA, D. L. et al. **Introduction to spectroscopy**. 4. ed. Califórnia: Brooks/Cole, 2012.
- PEREIRA, H.N. Estudo fitoquímico e atividade biológica das raízes de *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae). 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.
- PEREIRA, H. N. et al. Physicochemical characterization of the vegetal drug and nebulized extract of the roots from *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae): An efficient experience in quality control of plant raw materials. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 137, n. 2, p. 361–368, 2019.

PINTO, D. S. et al. Antibacterial and Hemolytic Activities from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae). **Anti-Infective Agents**, v. 10, n. 1, p. 1–5, 2012.

RANG & DALE. Farmacologia. 7ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 808 p.

RECOVERY COLLABORATIVE GROUP. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19—preliminary report. **New England Journal of Medicine**, 2020.

ROQUE, A. A.; LOIOLA, M. I. B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 4, p. 88–98, 2013.

SAAB, H. B. et al. *Luffa cylindrica* and phytosterols bioconversion: From shake flask to jar bioreactor. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 11, p. 1315–1320, 2013.

SCHONS, S. V et al. Estudo histológico, imuno-histoquímico e ultra-estrutural das lesões induzidas experimentalmente por *Ramaria flavobrunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, n. 7, p. 269–276, 2007.

SILVA, C. G. et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do ítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 133–142, 2015.

SILVA, G. T. M. D. A. et al. Characterization of cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 774–779, 2016.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

TOMAZ, A. C. A. et al. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltld.) Steud. (Rubiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 47–52, 2008.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Quimica Nova**, v. 27, n. 6, p. 944–948, 2004.

VIDERES, L. C. C. ***Apodanthera congestiflora* e *Myracrodruon urundeuva*: Investigação das propriedades biológicas em preparações brutas e produtos isolados**. 2017. 206 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

VILLASEÑOR, I. M. et al. Antigenotoxic spinasterol from *Cucurbita maxima* flowers. **Mutation Research - Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 360, n. 2, p. 89–93, 1996.

VILLASEÑOR, I. M.; ANGELADA, J.; CANLAS, A. P. Bioactivity studies on β -sitosterol and its glucoside. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 5, p. 417–421, 2002.

XU, Z.; CHANG, L. Cucurbitaceae. In: **Identification and Control of Common Weeds**. Singapura: Springer Singapore, 2017. p. 417–432.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu construir um importante arcabouço científico à respeito da espécie *Apodanthera congestiflora*. A caracterização físico-química da droga vegetal obtida dos caules forneceu dados como pH, umidade, cinzas, tamanho de partícula, fluxo de escoamento e perfil de degradação térmica por métodos analíticos, informações fundamentais no processo de desenvolvimento de produtos fitoterápicos que poderão servir de base para futuras investigações envolvendo os caules da espécie.

No estudo fitoquímico, a fase diclorometano dos caules de *A. congestiflora* (FDC-Ac) proporcionou a obtenção e identificação de uma nova saponina triterpênica de núcleo cucurbitano pertencente à classe das norcucurbitacinas, denominada temporariamente de fevicordina C₂ glicosídeo, além de outras duas substâncias da mesma classe já conhecidas na literatura como cayaponosídeo C_{5b} e cabenosídeo C (evidenciadas anteriormente nas espécies *Cayaponia tayuya* e *Caputo nigri*, respectivamente) detectadas pela primeira vez no gênero *Apodanthera*.

Ensaio de toxicidade *in vitro* apontaram que a fase hexano (FHC-Ac) e FDC-Ac possuem baixa toxicidade em eritrócitos humanos, porém o ensaio de toxicidade aguda *in vivo* realizado apenas com a FDC-Ac apresentou mortalidade de um animal do grupo tratado no período de 24 horas, além de alterações bioquímicas, morfológicas (hepatomegalia) e comportamentais dos outros camundongos que indicam toxicidade, como aumento da micção e defecação, perda de reflexo, ataxia, ptose palpebral, taquicardia e alterações respiratórias, constatando assim que a FDC-Ac é tóxica na dose de 2000 mg kg⁻¹.

A atividade anti-inflamatória *in vivo* foi proposta para a FDC-Ac, que mostrou ser capaz de reduzir o edema de pata induzido por carragenina de forma contínua e sustentada nas 5 horas de observação, não havendo diferença estatística entre as doses testadas (30, 15 e 7,5 mg kg⁻¹). É importante salientar que a mistura de cucurbitacinas obtidas no processo fitoquímico pode sugerir que os efeitos tóxicos e anti-inflamatórios observados nos ensaios *in vivo* sejam fruto da ação destas substâncias.

REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H.; WAIBEL, R.; HEFTER-BUBL, H.; CONSTENLA, M. A. Constituents of *Fevillea cordifolia*: new norcucurbitacin and cucurbitacin glycosides. *Journal of Natural Products*, v. 56, n. 9, p. 1506-1519, 1993.
- AGYARE, C.; SPIEGLER, V.; ARASE, A.; SCHOLZ, M.; HEMPEL, G.; HENSEL, A. An ethnopharmacological survey of medicinal plants traditionally used for cancer treatment in the Ashanti region, Ghana. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 212, p. 137–152, 2018.
- ALI, T.; SHAH, Z.; BASHIR, R.; BADER, G. N. The traditional medicine and phytoconstituents from natural products for liver disease: A review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, v. 9, n. 2, p. 484-488, 2019.
- ALSAYARI, A.; HALAWEISH, F. T.; GURUSAMY, N. The role of cucurbitacins in combating cancers: A mechanistic review. *Pharmacognosy Reviews*, v. 12, n. 24, p. 157-165, 2018.
- AMARAL, P. A.; NEVES, G.; FARIAS, F.; EIFLER-LIMA, V. L. Química combinatória: moderna ferramenta para a obtenção de candidatos a protótipos de novos fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 351-356, 2003.
- ANTI, J.; CAÑIGUER, S.; HEINRICH, M. Uso de plantas medicinales por la comunidad boliviana en el área metropolitana de Barcelona. *Revista de Fitoterapia*, v. 16, n. 2, p. 141-152, 2016.
- BATISTA, L. P. A.; BRANDÃO, E. G.; ROSAS, L. V.; PINTO, M. N.; PANTOJA, T. M. A.; ARAÚJO, T. V. M.; Levantamento de plantas medicinais utilizadas contra parasitoses e verminoses intestinais no município de Atalaia do Norte-AM. *Biota Amazônia*, Macapá, v. 9, n. 2, p. 35-39, 2019.
- BELGRANO, M. J.; POZNER, R. Sinopsis del género *Apodanthera* (Cucurbitaceae, Coniandreae). *Darwiniana*, Buenos Aires, v. 5, n. 1, p. 5-55, 2017. Nueva Serie.
- BELTRESCHI, L.; LIMA, R. B.; CRUZ, D. D.; Traditional botanical knowledge of medicinal plants in a “quilombola” community in the Atlantic Forest of northeastern Brazil. *Environment, Development and Sustainability: A Multidisciplinary Approach to the Theory and Practice of Sustainable Development*, v. 21, n. 3, p. 1185-1203, 2019.
- BERLINCK, R. G. S.; BORGES, W. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. *Química Nova*, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.
- BIESKI, I. G. C.; LEONTI, M.; ARNASON, J. T.; FERRIER, J.; RAPINSKI, M.; VIOLANTE, I. M. P.; BALOGUM, S. O.; PEREIRA, J. F. C. A.; FIGUEIREDO, R. C. F.; LOPES, C. R. A. S.; SILVA, D. R.; PACINI, A.; ALBUQUERQUE, U. P.; MARTINS, D. T. O. Ethnobotanical study of medicinal plants by population of Valley of Juruena Region, Legal Amazon, Mato Grosso, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 173, p. 383–423, 2015.

BHOWMICK, B. K.; JHA, S. Dynamics of sex expression and chromosome diversity in Cucurbitaceae: a story in the making. *Journal of Genetics*, v. 94, n. 4, p. 793-808, 2015.

BLOCH, K. Sterol molecule: structure, biosynthesis and function. *Steroids*. v. 57, p. 378-382, 1992.

BITU, V. C. N.; MATIAS, E. F. F.; LIMA, W. P.; PORTELO, A. C.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Ethnopharmacological study of plants sold for therapeutic purposes in public markets in Northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 172, p.265-272, 2015.

BOURHIA, M.; SHAHAT, A. A.; ALMARFADI, O. M.; NASER, F. A.; ABDELMAGEED, W. M.; SAID, A. A. H.; GUEDDARI, F. E.; NAAMANE, A.; BENBACER, L.; KHLIL, N. Ethnopharmacological survey of herbal remedies used for the treatment of cancer in the greater Casablanca-Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2019, Article ID 1613457, 9 p., 2019. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/1613457>.

BRANDÃO, M. G. L. *Plantas medicinais e fitoterápicos*. Belo Horizonte: O Lutador, 2009. 44 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. *Caatinga*. Brasília, 2018. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>>. Acesso em: 06 jun. 2019.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. *Biodiversidade*. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/biodiversidade.html>> Acesso em: 27 mar. 2020.

BUSSMAN, R. W.; SHARON, D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. *Ethnobotany Research and Applications*, nov. 2015. doi: <https://doi.org/10.32859/era.15.1.001-293>.

CABRAL, I. L. O. *Avaliação toxicofarmacológica da espécie Apodanthera congestiflora Cogn. (Cucurbitaceae)*. 2017. 31 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia)—Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

CAI, Y. FANG, X.; HE, C.; LI, P.; XIAO, F.; WANG, Y.; CHEN, M. Cucurbitacins: A systematic review of the phytochemistry and anticancer activity. *American Journal of Chinese Medicine*, v. 43, n. 7, p. 1331–1350, 2015.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIELA, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 314-319, 2008.

CARVALHO, T. L. G. S. *Etnofarmacologia e fisiologia de plantas medicinais do quilombo Tiningú, Santarém, Pará, Brasil*. 2015. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia, Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2015.

CHAWECH, R.; JARRAYA, R.; GIRARDI, C.; VANSTEELANDT, M.; MARTI, G.; NASRI, I., et al. Cucurbitacins from the leaves of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. *Molecules*, v. 20, n. 10, p. 18001–18015, 2015.

- CHEN, J. C.; CHIU, M. H.; NIE, R. L.; CORDELL, G. A.; QIUC, S. X. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. *Natural Products Reports*, v. 22, p. 386-399, 2005.
- CHEN, J. C.; LAU, C. B. S.; CHAN, J. Y. W.; FUNG, K. P.; LEUNG, P. C.; LIU, J. Q., et al. The antigluconeogenic activity of cucurbitacins from *Momordica charantia*. *Planta Medica*, v. 81, n. 4, p. 327–332, 2015.
- CLARK, D.; TUPA, M.; BAZÁN, A.; CHANG, L.; GONZÁLES, W. L. Chemical composition of *Apodanthera biflora*, a Cucurbit of the dry forest in northwestern Peru. *Revista Peruana de Biología*, v. 19, n. 2, p. 199-203, 2012.
- CORRÊA, J. B.; BERNARDI, F. N.; GEHRKE, I. T. S. Técnicas cromatográficas combinadas para investigação de moléculas bioativas com potencial biotecnológico. In: SALÃO DO CONHECIMENTO, 2016, [S.l.]. *Anais...* [S.l.]: UNIJUÍ, 2016. Disponível em: <<https://www.publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/salaconhecimento/article/view/6612>>. Acesso em: 25 jun. 2019.
- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.) *Biochemistry and molecular biology of plants*. 2000. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists. pp. 1250-1318.
- DEWICK, P. M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. 2a ed. John Wiley & Sons Ltd, p. 212 e 168, 2002.
- DINAN, L.; HARMATHA, J.; LAFONT, R. Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 935, p. 105-123, Nov. 2001. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00992-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00992-X).
- DOUHORÉ, G. Y. T.; ATTIOUA, K. B.; SORO, Y.; KABRAN, F. A.; KABLAN, L. C. A.; VEDRENNE, M., et al. Nor-cucurbitacins from the leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Fitoterapia*, v. 143, p. 104538, 2020.
- EISENREICH, W.; BACHER A.; ARIGONI, D.; ROHDICH, F. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 61, p. 1401-1426, 2004.
- FANG, C.; FERNIE, A. R.; LUO, J. Exploring the diversity of plant metabolism. *Trends in Plant Science*, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.09.006>
- FERREIRA, V.; FERRARI, A. L. S.; VIDAL, C. C.; COSTA, K. A., et al. Análise fitoquímica, atividades citotóxica e antibacteriana da casca de *Apodanthera smilacifolia* Cong. (cipó-azogue). *South American Journal of Basic Education, Technal and Technological*, Rio Branco, v. 6, n. 1, p. 2-14, 2019.
- FURLAN, M.; BALDOQUI, D. C.; KATO, M. J. Biossíntese de Produtos Naturais: Atualidades e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. (Org.). *Química dos produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia*. 2. ed. Itajaí: Editora UNIVALI, 2009. p. 83-102.

- GAMLATH, C. B.; GUNATILAKA, A. A. L.; ALVI, K. A.; ATTA-UR-RAHMAN; BALASUBRAMANIAM, S. Cucurbitacins of *Colocynthis vulgaris**. *Phytochemistry*, v. 27, n. 10, p. 3225–3229, 1988.
- GOMES-KLEIN, V. L.; HALL, C. F.; GIL, A. S. B. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Cucurbitaceae. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 67, n. 5, p. 1319-1327, 2016. Especial.
- GOMES-KLEIN, V. L.; LIMA, L. F. P. Cucurbitaceae. In: CATÁLOGO de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio; Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 896-901, v. 2.
- GONÇALVES, K. G.; PASA, M. C. A etnocategoria medicinal e a etnofarmacologia na comunidade Sucuri em Cuiabá - Mato Grosso. *FLOVET - Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica*, v. 1, n. 7, p. 80-104, 2015.
- HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature Reviews Drugs Discovery*, London, v. 14, p. 111-129, 2015. doi: <https://doi.org/10.1038/nrd4510>.
- HANSEN, M. L. *Utilização de variáveis quantitativas na definição da importância de plantas medicinais utilizadas no município de Cerro Largo*, RS. 2016. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2016.
- HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Studies of the constituents of the root of *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. III. Studies of cayaponosides 29-nor-1,2,3,4,5,10-hexadehydrocucurbit-6-ene glucosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 40, n.11, p. 2370 – 2372, 1994.
- HOUSSAIN, H.; SHAHID-UD-DAULA, A. F. M.; JAHAN, I. A.; NIMMI, I.; MARUF, K. M. R.; HASSAN, M. Evaluation of anti-inflammatory activity and determination of total flavonoids and tannin contents of *Lagenaria siceraria* root. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Pnackkula, v. 3, n. 8, p. 2679-2685, 2012.
- HYLANDS, P. J.; MANSOUR, E. S. S. A revision of the structure of cucurbitacin S from *Bryonia dioica*. *Phytochemistry*, v. 21, n. 11, p. 2703–2707, 1982.
- IQBAL, J.; ABBASI, B. A.; MAHMOOD, T.; KANWAL, S.; ALI, B.; SHAH, S. A.; KHALIL, A. T. Plant-derived anticancer agents: A green anticancer approach. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, n. 12, p. 1129–1150, 2017.
- JIANG, H. Z.; HU, S.; TAN, R. X.; TAN, R.; JIAO, R. H. Neocucurbitacin D, a novel lactone-type norcucurbitacin as xanthine oxidase inhibitor from *Herpetospermum pedunculosum*. *Natural Product Research*, 2018. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1528592>
- KAUSHIK, U.; AERI, V.; MIR, S. R. Cucurbitacins - An insight into medicinal leads from nature. *Pharmacognosy Reviews*, v. 9, n. 17, p. 12–18, 2015.

- KAWAHARA, N.; KURATA, A.; HAKAMATSUKA, T.; SEKITA, S.; SATAKE, M. Two novel cucurbitacins, neocucurbitacins A and B, from the Brazilian folk medicine “Buchinha” (*Luffa operculata*) and their effect on PEBP2 α A and OCIF gene expression in a human osteoblast-like Saos-2 cell line. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 49, n. 10, p. 1377–1379, 2001.
- KIGEN, G.; MARITIM, A.; SOME, F.; KIBOSIA, J.; RONO, H.; CHEPKWONY, S.; KIPKORE, W.; WANJOH, B. Ethnopharmacological survey of the medicinal plants used in Tindiret, Nandi County, Kenya. *The African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, v. 13, n. 3, p. 156-168, 2016.
- KUMAR, R. P.; ROOPA, L.; NONGTHOMBA, U.; MOHAMMED, M. M. S.; KULKARNI, N. Docking, molecular dynamics and QM/MM studies to delineate the mode of binding of CucurbitacinE to F-actin. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, v. 63, p. 29–37, 2016.
- LEE, D. H.; IWANSKI, G. B.; THOENNISSSEN, N. H. Cucurbitacin: ancient compound shedding new light on cancer treatment. *The Scientific World Journal*, Cairo, v. 10, p. 413-418, 2010. doi: <https://doi.org/10.1155/8086>.
- LI, Y. D.; YI, S. R.; SUN, X. B.; ZHOU, X. Y.; ZHANG, H. Y.; WANG, Y. Q., et al. Bioactive cucurbitane triterpenoids from the tubers of *Hemsleya penxianensis*. *Phytochemistry Letters*, v. 18, p. 5–9, 2016.
- LI, Y.; WANG, W. X.; ZHENG, Z. F.; MU, Y. L.; LIU, Y. J.; WANG, H. Y., et al. Eight new cucurbitane triterpenoids from “Xue Dan,” the roots of *Hemsleya pengxianensis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, v. 20, n. 1, p. 36–48, 2017.
- LI, Y.; ZHENG, Z.; ZHOU, L.; LIU, Y.; WANG, H.; LI, L., et al. Five new cucurbitane triterpenoids with cytotoxic activity from *Hemsleya jinpushanensis*. *Phytochemistry Letters*, v. 14, p. 239–244, 2015.
- LIANG, J.; CHEN, D. Advances in research on the anticancer mechanism of the natural compound cucurbitacin from Cucurbitaceae plants: A review. *Traditional Medicine Research*, v. 4, n. 2, p. 68-81, 2019.
- LIMA, L. F. P. *Estudos taxonômicos e morfológicos em Cucurbitaceae brasileiras*. 2010. xiii, 232 p. Tese (Doutorado em Botânica)–Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- MACHADO, V. R.; LANG, K. L.; DURÁN, F. J.; CABRERA, G. M.; PALERMO, J. A.; SCHENKEL, E. P.; BERNARDES, L. S. C. Di-hidroocucurbitacina b: semi-síntese de novos derivados glicosilados. *Química Nova*, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 37-41, 2015.
- MADALENO, I. M. Plantas da medicina popular de São Luís, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Humanas*, Belém, v. 6, n. 2, p. 273-286, 2011.
- MARQUES, D. D. *Contribuição ao conhecimento químico da flora acreana: Protium hebetatum* Daly, *Protium heptaphyllum* (Aublet) Marchand subsp. *Ulei* (swat) Daly e *Protium*

heptaphyllum (Aublet) Marchand subsp. *heptaphyllum*. 56f. 2010. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

MÉNDEZ-CUESTA, C. A.; CAMPOS, A. L. E.; SÁNCHEZ, D. S.; GONZÁLEZ, C. P.; GUTIÉRREZ, S. P. Cytotoxic and antitumoral activities of compounds isolated from Cucurbitaceae plants. In: *Pharmacognosy - Medicinal Plants*, London: IntechOpen. 2018. doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82213>.

MORALES-VELA, K.; PÉREZ-SÁNCHEZ, F. C.; PADRÓN, J. M. Antiproliferative activity of Cucurbitaceae species extracts from Southeast of Mexico. Preprints, ago. 2019. doi: <https://doi.org/10.20944/preprints201908.0127.v1>.

MORIKAWA, T.; INOUE, N.; NAKANISHI, Y.; MANSE, Y.; MATSUURA, H.; OKINO, K. et al. Collagen synthesis-promoting and collagenase inhibitory activities of constituents isolated from the rhizomes of *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. *Fitoterapia*, v. 143, n. March, p. 104584, 2020.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, Washington, v. 83, p. 770-803, 2020.

OLIVEIRA, L. A. R.; MACHADO, R. D.; RODRIGUES, J. R. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.16, n.1, p.32-40, 2014.

OTONI, T. C. O. *Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas com fins medicinais e cosméticos em comunidades tradicionais do município de Araçuaí, Minas Gerais*. 2018. 195 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

PATIAS, I. S.; FAUSTO, V. P.; HOMRICK, S. S.; VAUCHER, R. A.; RECH, V. C.; GIONGO, J. L. Estabilidade e Atividade Antifúngica de Nanoemulsão Contendo Óleo de Gerânio Incorporada em Hidrogel. *Disciplinarum Scientia. Série: Naturais e Tecnológicas*, v. 17, n. 2, p. 269-283, 2016.

PATRIDGE, E.; GAREISS, P.; KINCH, M. S.; HOYER, D. An analysis of FDA-approved drugs: natural products and their derivatives. *Drug Discovery Today*, v. 21, n. 2, p. 204-207, 2016.

PAULI, P.T.; RIOS, R. S.; BIERKI, I. G. C.; SILVA, J. S. Estudo etnobotânico de plantas medicinais em bairros de Juína, Mato Grosso, Brasil. *Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES*, v. 1, n. 1, p. 117-156, 2018.

PEREIRA, H. N.; GUIMARÃES, G. P.; MELO TROVÃO, D. M.; ALVES, H. S. Physicochemical characterization of the vegetal drug and nebulized extract of the roots from *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 137, n. 2, p. 361-368, 2018.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, Gurupi, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

POZER, G. L.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. cap. 4, p. 75-89.

RIVERA, D.; VERDE, A.; FAJARDO, J.; OBÓN, C.; CONSUEGRA, V.; GARCÍA-BOTÍA, J.; RÍOS, S.; ALCARAZ, F.; VALDÉZ, A.; MORAL, A.; LAGUNA, E. Ethnopharmacology in the Upper Guadiana River area (Castile-La Mancha, Spain). *Journal of Ethnopharmacology* v. 241, n. 1, p. 1-70, 2019.

RODAL, M. J. N.; SAMPAIO, E. V. S. B. A vegetação do bioma Caatinga. In: SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L. (Ed.). *Vegetação e flora da Caatinga*. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2002. p. 11-24.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

ROQUE, A. A.; LOIOLA, M. I. B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. *Revista Caatinga*, Mossoró. v. 26, n. 4, p. 88-98, 2013.

RYAN, N. J. Ataluren: First global approval. *Drugs*, v. 74, p. 1709-1714, 2014. doi: <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0287-4>.

SAMOUH, Y.; LEMRANI, A.; MIMOUNI, H.; MOHAMAD, J.; SAID, A. A. H. Ethnopharmacological Study of Herbal Medicines used to treat Cancer in Morocco. *The Journal of Phytopharmacology*, v. 8, n. 3, p. 135-141, 2019.

SAMPAIO, E. V. S. B. Caracterização da Caatinga e fatores ambientais que afetam a ecologia das plantas lenhosas. In: CLAUDINO-SALES, V. (Org.). *Ecosistemas brasileiros: manejo e conservação*. Fortaleza: Expressão Gráfica, 2003. p. 129-142.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Cucurbitaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). *The families and genera of vascular plants*. Heidelberg: Springer, 2011. p. 112-174. (Flowering plants eudicots: Sapindales, Cucurbitaceae, Myrtaceae, v. 10).

SIBB – SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA. *Apodanthera congestiflora* Cogn. Disponível em: <<https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/287784>> Acesso em: 23 ago. 2020.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, Santa Maria, v. 20, n. 1, p. 381-388, 2016.

SILVA, A. P. *Uso de espécies nativas da flora da caatinga em uma comunidade rural no semiárido potiguar*. 2018. 41 f. Trabalho de conclusão de curso (Pós-Graduação em Gestão dos Recursos Ambientais do Semiárido) Instituto Federal da Paraíba, Picuí, 2018.

SILVA, C. G.; MARINHO, M. G. V.; LUCENA, M. F. A.; COSTA, J. G. M. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.

SILVA, F. J.; SILVEIRA, A. P.; GOMES, V. S.; Plantas medicinais e suas indicações ginecológicas: estudo de caso com moradoras de Quixadá, CE, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 14, n. 3, p. 193-201, 2016.

SILVA, G. T. M. A.; RIBEIRO, R. M. P.; BARROS JÚNIOR, A. P.; SILVEIRA, L. M.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; ALBUQUERQUE, N. R. C. Characterization of cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 29, n. 3, p. 774 – 779, 2016.

SILVA, L. A. *Atividade Antioxidante e Antimicrobiana do Fracionamento Bioguiado do Extrato Etanólico do Caule e Atividade Leishmanicida e Citotóxica do Óleo Essencial das Folhas da Espécie Banisteriopsis oxyclada (A. Juss.) B. Gates*. 2017. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

SILVA, M. P.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Farmacopeia natural de comunidades rurais no estado do Piauí, Nordeste do Brasil. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, v. 33, p. 193-207, 2015.

SIMÕES, C. M. O. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102 p., 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102 p., 2007. cap. 18, p. 467-495.

SINGH, S.; SHARMA, B.; KANWAR, S. S.; KUMAR, A. Lead phytochemicals for anticancer drug development. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, article 1667, 2016. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01667>.

SINGH, T.T.; DEVI, A. R.; SHARMA, H. M. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Andro village in Manipur (India). *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences*, v. 4, n. 5, 2018. doi: <https://doi.org/10.26479/2018.0405.49>.

SONG, F. DAI, B.; ZHANG, H. Y.; XIE, J. W.; GU, C. Z.; ZHANG, J., et al. Two new cucurbitane-type triterpenoid saponins isolated from ethyl acetate extract of *Citrullus colocynthis* fruit. *Journal of Asian Natural Products Research*, v. 17, n. 8, p. 813–818, 2015.

SUN, Z.; HU, M.; ZHU, N.; HUO, X.; ZHOU, X.; SUN, Z., et al. Polyhydroxy cucurbitane triterpenes from *Hemsleya penxianensis* tubers. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

TELLI, A.; ESNAULT, M-A.; KHELIL, A. O. E. H. An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of Arid Environments*, v. 127, p. 82-92, 2016.

TEUGWA, C. M.; BOUDJEKO, T.; TCHINDA, B. T.; MEJIATO, P. C.; ZOFOU, D. Anti-hyperglycaemic globulins from selected Cucurbitaceae seeds used as antidiabetic medicinal plants in Africa. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, London, v. 13, p. e63, 2013. doi: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-63>.

THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURNE, A. Triterpene biosynthesis in plants. *Annual Reviews Further*, v. 65, p. 225-257, 2014.

TROPICOS.org. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>> Acesso em: 08 Nov 2019.

TSUKUI, A.; OIGMAN, S. S.; REZENDE, C. M. Óleo de Grãos de Café Cru: Diterpenos Cafestol e Caveol. *Revista Virtual de Química*, v. 6, n. 1, p. 16-33, 2013

VALENTE, I. L. P. *Terpenoides de Euphoria mellifera Ait. – Pesquisa de moduladores do fenómeno de multirresistência em células tumorais*. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Química Farmacêutica e Terapêutica) Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 944-948, 2004.

VEIGA, J. B.; SCUDELLER, V. V. Etnobotânica e medicina popular no tratamento de malária e males associados na comunidade ribeirinha Julião – baixo Rio Negro (Amazônia Central). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v. 17, n. 4, supl. I, p. 737-747, 2015.

VIDERES, L. C. C. *Apodanthera congestiflora e Myracrodruon urundeuva: Investigação das propriedades biológicas em preparações brutas e produtos isolados*. 2017. 206 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

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

VILLARREAL-IBARRA, E. C.; LAGUNES-ESPINOZA, L. C.; LÓPEZ, P. A.; GARCÍA-LÓPEZ, E.; PALMA-LÓPEZ, D. J.; ORTIZ-GARCÍA, C. F.; ORANDAY-CÁRDENAS, M. A. Evaluación etnofarmacológica de plantas com propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 14, n. 2, p. 99-112, 2015.

VILAR, J. C.; CARVALHO, C. M.; FURTADO, M. F. D. Effects of the aqueous extracts of plants of the genera *Apodanthera* (Cucurbitaceae) and *Jatropha* (Euphorbiaceae) on the lethality of the venom of *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae). *Biologia Geral e Experimental*, v. 7, n. 2, p. 32-39, 2007.

WANG, S.; ALSEEKH, S.; FERNIE, A. R.; LUO, J. The structure and function of major plant metabolite modifications. *Molecular Plant*, v. 12, p. 899-919, jul. 2019.

WANG, W.; YANG, H.; LI, Y.; ZHENG, Z.; LIU, Y.; WANG, H., et al. Identification of 16,25-O-diacetyl-cucurbitane F and 25-O-acetyl-23,24-dihydrocucurbitacin F as novel anti-cancer chemicals. *Royal Society Open Science*, v. 5, n. 8, 2018.

WANGCHUKA, P.; YESHIB, K.; JAMPHELC, K. Pharmacological, ethnopharmacological, and botanical evaluation of subtropical medicinal plants of Lower Kheng region in Bhutan. *Integrative Medicine Research*, v. 6, p. 372–387, 2017.

WILLIS, K. J. *State of the World's Plants 2017*. Kew: Royal Botanic Gardens. 96 p. 2017.

XU, J.; CHEN, Y.; YANG, R.; ZHOU, T.; KE, W.; SI, Y., et al. Cucurbitacin B inhibits gastric cancer progression by suppressing STAT3 activity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 684, p. 108314, 2020.

XU, Z.; CHANG, L. Cucurbitaceae. In: *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3*, Cingapura: Springer, 2017. cap 18. p. 417-432.

YAZBEK, P. B.; MATTA, P.; PASSERO, L. F.; SANTOS, G.; BRAGA, S.; ASSUNÇÃO, L.; SAUINI, T.; CASSAS, F.; GARCIA, R. J. F.; HONDA, S.; BARRETO, E. H. P.; RODRIGUES, E. Plants utilized as medicines by residents of Quilombo da Fazenda, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, São Paulo, Brazil: A participatory survey. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 244, p. 112-123, 2019.

ZWENGER, S.; BASU, C. Plant terpenoids: Applications and future potentials. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2008.

ANEXOS

ANEXO 1 – Certificado de aprovação da pesquisa com animais pela CEUA/UEPB



Universidade Estadual da Paraíba

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Campus I – Campina Grande - PB.

e-mail: ceuauepb@gmail.com

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **ESTUDO FITOQUÍMICO E FARMACOLÓGICO DO CAULE DE *Apodanthera congestiflora* (CUCURBITACEAE) VISANDO A OBTENÇÃO DE BIOPRODUTOS**, protocolado sob o CEUA nº 002/2020, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Harley da Silva Alves envolve o uso de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o decreto 6.899 de 5 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual da Paraíba, em reunião de 13/10/2020.

Vigência da Proposta: de 10/2020 a 12/2020

Procedência dos animais: Centro de Bioterismo da UEPB

Espécie: *Mus musculus* (camundongos)

Linhagem: Swiss

Sexo: Machos e Fêmeas

Idade: 60 dias

Número de animais autorizados: 75 (60 machos e 15 fêmeas)

Peso: 25 a 35 g

Informação ao pesquisador:

Lembramos que o pesquisador responsável deverá encaminhar à CEUA-UEPB o **Relatório Final** baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. **O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para conclusão em 12/2020.**

Campina Grande, 14 de outubro de 2020

Doula Rêvia dos Santos

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais/UEPB

ANEXO 2 – Comprovante de submissão de artigo no periódico Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (JTAC)

29/10/2020

Email – Geovana Guedes – Outlook

JTAC-D-20-02919 - Submission Notification to co-author

Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (JTAC) <em@editorialmanager.com>

Sáb, 05/09/2020 12:06

Para: Geovana Silvestre <geovana_guedes@hotmail.com>

Re: "Quality control design from Apodanthera congestiflora Cogn. plant drug: a Cucurbitaceae from Northeast Brazil"

Full author list: Harley Alves; Geovana Silvestre; Renally Lucena; Sara Araújo; Genil Oliveira; Geovani Guimarães

Dear Miss Silvestre,

We have received the submission entitled: "Quality control design from Apodanthera congestiflora Cogn. plant drug: a Cucurbitaceae from Northeast Brazil" for possible publication in Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Dr. Harley Alves who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry

****Our flexible approach during the COVID-19 pandemic****

If you need more time at any stage of the peer-review process, please do let us know. While our systems will continue to remind you of the original timelines, we aim to be as flexible as possible during the current pandemic.

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://eur02.safelinks.protection.outlook.com/?url=https%3A%2F%2Fwww.springernature.com%2Fproduction-privacy-policy&data=02%7C01%7C%7C8811dd911f064c0a03bf08d851ad53ff%7C84df9e7fe9f640afb435aaaaaaaaaaaa%7C1%7C0%7C637349152158627822&sd=OTaHeKjIFqQWqSdai25RAg19ZIDfbCxwmQjAaGGrNzM%3D&reserved=0>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://eur02.safelinks.protection.outlook.com/?url=https%3A%2F%2Fwww.editorialmanager.com%2Fjtac%2Flogin.asp%3Fa%3Dr&data=02%7C01%7C%7C8811dd911f064c0a03bf08d851ad53ff%7C84df9e7fe9f640afb435aaaaaaaaaaaa%7C1%7C0%7C637349152158637818&sd=wJ4xwQNuKryv%2BebOses0BdhQ2GDp49M03THeCaBKwdM%3D&reserved=0>). Please contact the publication office if you have any questions.