



Atividades antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L.

Deise Cristina D.X.P. Lopes^{1*}, Zaida M.F. Freitas², Elisabete P. Santos²,
Therezinha C.B. Tomassini¹

¹Laboratório de Química de Produtos Naturais, Far-Manguinhos- Fiocruz, Av. Sizenando Nabuco, 100, Manguinhos, 21041-250, Rio de Janeiro, RJ, Brasil,

²Laboratório de Desenvolvimento Galênico, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Av Brigadeiro Trompowski s/n, Cidade Universitária, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO: Extratos e frações de frutos e raízes de *Physalis angulata* L. (Solanaceae) foram ensaiados para encontrar atividade antimicrobiana. Aplicando o método de difusão em agar, todas as amostras foram testadas contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. O extrato etanólico dos frutos apresentou atividade antibacteriana, a qual teve a atividade fototóxica estimada em cobaias quando expostas a luz ultravioleta, e não foram observados eritemas. Esses dados impulsionaram a pesquisar diferentes formas de obtenção de extratos da planta, com o objetivo de preparar formulações com atividade anti-séptica, que possam se apresentar mais eficazes e seguras, quando aplicadas no tratamento de doenças infecciosas.

Unitermos: *Physalis angulata*, Solanaceae, atividade antimicrobiana, atividade fototóxica.

ABSTRACT: "Antimicrobial and phototoxic activities of *Physalis angulata* L (Solanaceae) extracts, fruits and roots". Extracts and fractions of *Physalis angulata* L. prepared from fruits and roots were assayed to find out antimicrobial activity. Using the agar diffusion method all samples were tested against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. The ethanolic extract of the fruits displayed bacterial activity. Phototoxic property was estimated with guinea pigs when they were exposed to ultraviolet light, no erythemas were observed. These data encouraged us to look for different forms of extracts which could be applied as a safe and effective antiseptic product.

Keywords: *Physalis angulata*, Solanaceae, antimicrobial activity, phototoxic activity.

INTRODUÇÃO

Sobre o gênero *Physalis* as duas últimas décadas apresentam um amplo número de citações e referências que refletem desta maneira, sua importância no âmbito diferenciado e diversificado das ciências básicas como a Botânica, Química, Farmacologia, Toxicologia e Genética.

A procura de novos insumos (fitofármacos) ou medicamentos (fitomedicamentos) oriundos de vegetais superiores é vasta e visa atender ao tripé: eficácia, segurança e qualidade. No país, ela procura incrementar as pesquisas científicas com plantas, em especial aquelas de origem endógena, como no caso da *Physalis angulata* L (Silva; Agra, 2005).

As revisões publicadas por Purushothamam; Vasanth, 1988; Glotter, 1991; Ray; Gupta, 1994; Tomassini et al., 2000 apontam para algumas espécies de *Physalis* como fonte de substâncias derivadas do ergostano, substâncias estas atuantes nas respostas aos testes biológicos efetuados.

A literatura recente cita aqueles constituintes químicos como responsáveis pelas atividades: imunomoduladora (Soares et al., 2003 e 2006), antimicrobiana (Januário et al., 2002; Silva et al., 2005),

anticancerígena (Ribeiro et al., 2002), moluscicida (Santos et al., 2003) dentre outras, demonstrando assim a importância e o porque do real interesse dos pesquisadores e cientistas com esta espécie da família Solanaceae.

A procura de propriedades antimicrobianas em plantas vêm crescendo cada vez mais, como resultado à resistência dos microrganismos aos antibióticos comumente usados na terapêutica (Lima, 2001).

O gênero *Physalis* apresenta um importante papel por desempenhar atividades antibacteriana e anti-fúngica (Ogunlana; Ramstad, 1975; Zaki et al., 1987; Pietro et al., 2000).

Dados da literatura mencionam o extrato etanólico dos frutos de *P. phyladelphica* como ativo contra *S. aureus* (Cáceres et al., 1991) bem como Mullaca, 2001 descreve a atividade desinfetante da pele com seu decocto.

O objetivo desta pesquisa é ratificar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto de *P. angulata* contra *S. aureus* dada a variedade de doenças que este é capaz de proporcionar e obter resultados com outras formas farmacêuticas de extratos a partir da mencionada planta, bem como avaliar a atividade fototóxica do extrato que apresentar melhor atividade antimicrobiana.

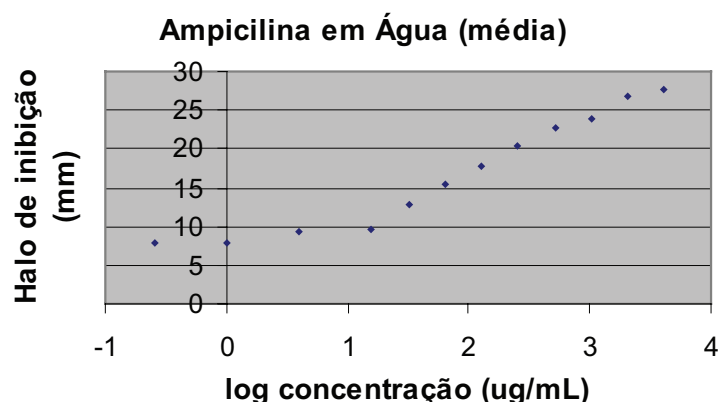


Figura 1. Halos de inibição (em mm) para ampicilina em solução aquosa frente à *S. aureus* ATCC 6538.

Tabela 1. Média dos halos de inibição para extratos aquosos, glicólicos e fluidos dos frutos e raízes de *P. angulata* L. frente a *S. aureus* ATCC 6538

Extratos / Solventes	Média dos Halos de Inibição (mm) ± DP
Aquoso dos frutos (decocto)	8,73 ± 0,15
Aquoso dos frutos (à frio)	9,23 ± 0,43
Aquoso das raízes (decocto)	7,22 ± 0,00
Etanólico dos frutos (Soxhlet)	11,17 ± 0,00
Etanólico das raízes (Soxhlet)	7,88 ± 0,00
Etanol	8,24 ± 0,01
Propilenoglicólico dos frutos (à frio)	11,74 ± 0,00
Propilenoglicol	12,16 ± 0,00
Etilenoglicólico das raízes (à frio)	8,17 ± 0,00
Etilenoglicol	8,17 ± 0,00

Tabela 2. Média dos halos de inibição para ampicilina solubilizada em água, frente a *S. aureus* ATCC 6538

Concentração (µg/mL)	Ampicilina (mm)
0,25	7,91
1,00	8,00
4,00	9,22
16,00	9,56
32,00	12,86
64,00	15,44
128,00	17,85
256,00	20,33
512,00	22,59
1024,00	23,94
2048,00	26,72
4096,00	27,67

Tabela 3. Média dos halos de inibição nas diferentes concentrações do extrato etanólico dos frutos de *P. angulata*

Concentração (%)	Média dos halos de inibição (mm)
5	10,37
10	9,95
25	11,02
50	10,60
70	10,69
100	11,17



Figura 2. Esquema de divisão do dorso da cobaia em quatro áreas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e preparação dos extratos

Physalis angulata L. foi coletada em Belém, Pará, norte do Brasil. Uma amostra representativa foi classificada e depositada no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob o número RFA# 23907.

As raízes (50 g) foram extraídas com água destilada à quente (decocto), durante quatro horas, sendo posteriormente liofilizado, levando à massa de 2 g (4% p/p).

Da mesma forma 100 g dos frutos foram extraídos sob a forma de decocto e 50 g em água fria (em blender), ambos foram liofilizados, levando a massas de 4,50 g (4,5% p/p) e 2 g (4,0% p/p), respectivamente.

Extratos fluidos foram obtidos, com etanol, à quente sob refluxo, a partir de 40 g de raízes e 100 g de frutos frescos e evaporados. A partir de 50 g de frutos e 50 g de raízes, foram preparados extratos glicólicos.

Os extratos foram assim testados nas seguintes concentrações:

Raízes- aquoso a 16 mg/mL; etilenoglicólico a 125 mg/mL

Frutos- aquosos decocto a 27 mg/mL e a frio a 16 mg/mL; propilenoglicólico a 53,10 mg/mL; etanólico a 1 mg/mL.

Determinação da atividade antimicrobiana

A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada através do método de difusão em ágar (WHO, 1998) também chamado de Kirby-Bauer modificado (Pelczar et al., 1980).

Uma suspensão de *S. aureus* ATCC 6538 foi preparada em solução salina estéril e padronizada utilizando a escala de Mc Farland 0.5 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993), correspondendo à concentração de 10^8 Unidades Formadoras de Colônias, por mililitro (UFC/mL). Utilizando swab estéril, alíquotas dessa suspensão foram colocadas em placas de Petri, contendo ágar Müller-Hinton (MH), previamente preparado.

Das concentrações citadas no item anterior foram ensaiadas alíquotas de 200 μ L, em triplicata e colocadas em cilindros, onde foi realizada também uma curva padrão com a ampicilina.

Avaliação da fototoxicidade com o extrato etanólico dos frutos

Para estimar a atividade fototóxica do extrato etanólico foram utilizadas cobaias depiladas. O dorso dos animais foi dividido em quatro áreas (Figura 2). A amostra (extrato etanólico dos frutos) foi aplicada em duas delas; nas demais o padrão de fototoxicidade, 8-metoxipsoraleno a 0,1% foi usado. Uma área contendo amostra e outra contendo padrão foram ocluídas e os animais expostos à luz UVA, por 2 horas (Ramos, 1995).

Após aquele período, as cobaias foram deixadas em observação por 24 e 48 horas, sendo avaliado o grau de eritema formado. A seguinte ordem de classificação foi adotada para os eritemas: 0 = nenhuma reação; 1 = eritema fraco; 2 = eritema moderado e 3 = eritema forte.

O protocolo experimental está de acordo com a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-FioCruz).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da média dos halos de inibição, bem como o desvio padrão (DP \pm) apresentados pelos extratos, são expressos em milímetros. Estes foram analisados estatisticamente, através do teste “t” de Student, com nível de significância de 5% (p<0,05) (Tabela 1).

O extrato etanólico dos frutos apresentou resposta significativa, quando comparado à ampicilina, a qual foi preparada em água nas concentrações que variaram de 0,25 a 4090 μ g/mL (Figura 1 e tabela 2). O extrato apresentou halo de inibição de 11,17 mm, se enquadrando

na faixa de linearidade da curva do antibiótico, que variou de 9,60 a 20,30 mm (Tabela 2).

O extrato glicólico dos frutos mostrou zona de inibição muito próxima àquela relatada para o extrato etanólico (Tabela 1) provavelmente ocasionada pelo efeito do solvente. No caso do propilenoglicol (controle) a zona de inibição apresentou valor de 12,16 mm a qual é superior aquela do extrato etanólico.

Para avaliar o potencial inibitório do extrato etanólico dos frutos em função da concentração, foram feitas diluições percentuais a 70, 50, 25, 10 e 5%. A concentração de 25% (11,02 mm) apresentou valor semelhante a 100% (11,17 mm), estando dentro da faixa de linearidade da curva de ampicilina em água, sendo a primeira escolhida para análise quanto à fototoxicidade, apresentando resultado negativo. O ensaio de resposta *versus* dose, para o extrato etanólico dos frutos, está demonstrado na Tabela 3.

O extrato etanólico, dos frutos de *P. angulata* não exibiu efeito fototóxico sobre os quatro animais testados, nas condições de ensaio. As respostas foram avaliadas em comparação ao padrão, o qual, em 24 horas apresentou eritema de grau um (leve rosado) e, em 48 horas, eritema de grau 2 (rosado mais intenso).

Essa discussão enfatiza os dados considerados relevantes obtidos com os resultados acima mencionados.

Dados etnofarmacológicos sobre o gênero *Physalis* nos levou a procurar propriedades dermato-antimicrobianas para a espécie *Physalis angulata*.

O extrato etanólico, dos frutos, ensaiado contra *Staphylococcus aureus* exibiu atividade bacteriostática na concentração de 25% frente ao antibiótico padrão.

Os resultados inibitórios foram comparados à curva de ampicilina em água, a qual apresentou melhor faixa de linearidade.

Nos experimentos dermatológicos utilizando cobaias como matriz, o extrato etanólico dos frutos a 25%, apresentou melhor resultado frente padrão positivo.

Esses dados podem contribuir não só para a etnofarmacologia, como também para estudos sobre fitomedicamentos à base de *Physalis angulata*.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem à Far-Manguinhos pelo apoio técnico e suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Caceres A, Alvarez AV, Ovando AE, Samayoa BE 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. Screening of 68 plants against gram -positive bacteria. *J Ethnopharmacol* 31:193-208.
- Glotter E 1991. Withanolides and related ergostane-type steroids. *Nat Prod Rep* 8: 415-440.
- Januário AH, Rodrigues-Filho E, Pietro RCLR, Kashima S, Sato DN, França SC 2002. Antimycobacterial physalins from *Physalis angulata* L. (Solanaceae). *Phytother Res* 16: 445-448.
- Lima EO 2001. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. In: Yunes, RA; Calixto JB. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Santa Catarina: Argos Editora Universitária, p. 481-501.
- Mullaca. Em <http://www.raintreenutrition.com>, acessada em junho de 2001.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards 1993. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial that grow aerobically*. Pennsylvania: NCCLS, p. 1-13 e 31.
- Ogunlana EO, Ramstad E 1975. Investigation into the antibacterial activities of local plants. *Planta Med* 27: 354-360.
- Pelczar M, Reid R, Chan ECS 1980. *Microbiologia*. São Paulo: Mc Graw-Hill do Brasil, p. 510-545.
- Pietro RCLR, Kashima S, Sato DN, Januário AH, França SC 2000. *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine* 7: 335-338.
- Purushothaman KK, Vasanth S 1988. Chemistry and pharmacology of steroids derivatives from *Physalis*. *J Sci Ind Res* 47: 326-334.
- Ramos MF 1995. *Perspectivas da utilização dos extratos de própolis, Aloe spp e Hamamelis virginiana*. Rio de Janeiro, 179 p. Tese de Mestrado- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Ray AB, Gupta M 1994. Withasteroids a growing group of naturally occurring steroidal lactones. In: *Progress in the chemistry of organic natural products*. New York: Springer Verlag, p. 1.
- Ribeiro IM, Silva MTG, Soares RDA, Stutz CM, Bozza M, Tomassini TCB 2002. *Physalis angulata* L. antineoplastic activity, *in vitro*, evaluation from it's stems and fruit capsules. *Rev Bras Farmacogn* 12(Supl. 1): 21-23.
- Santos JAA, Tomassini TCB, Xavier DCD, Ribeiro IM, Silva MTG, Morais-Filho ZB 2003. Molluscicidal activity of *Physalis angulata* L. extracts and fractions on *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) under laboratory conditions. *Mem I Oswaldo Cruz* 98: 425-428.
- Silva KN, Agra MF 2005. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). *Rev Bras Farmacogn* 15: 344-351.
- Silva MTG, Simas SM, Batista TGF, Cardarelli P, Tomassini TCB 2005. Studies on antimicrobial activity, *in vitro*, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. *Mem I Oswaldo Cruz* 100: 779-782.
- Soares MBP, Bellintani MC, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Santos RR 2003. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. *Europ J Pharmacol* 459: 107-112.
- Soares MBP, Brustolim D, Santos LA, Bellintani MC, Paiva FP, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Santos RR 2006. Physalins B, F and G, seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., inhibit lymphocyte function and allogeneic transplant rejection. *Int Immunopharmacol*

- 6: 408-414.
- Tomassini TCB, Barbi N, Ribeiro IM, Xavier DCD 2000. Gênero *Physalis*- uma revisão sobre vitaesteróides. *Quim Nova* 12: 47-57.
- World Health Organization 1998. *Quality control methods for medicinal plant material*, Geneva : p. 64-73.
- Zaki AY, El-Alfy TSM, El-Gohary HMA 1987. Study of withanolides, physalins, antitumor and antimicrobial activity of *Physalis peruviana* L. *Egypt J Pharm Sci* 28: 235-245.