

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELO JESUS DE FARIAS

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Physalis pubescens Linnaeus. (SOLANACEAE)



CURITIBA

2021

MARCELO JESUS DE FARIAS

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Physalis pubescens Linnaeus, (SOLANACEAE)

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Farmácia, no Curso de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador (a): Prof(a). Dr(a). Marilis Dallarmi Miguel
Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel
Coorientador: Prof. Dr. Ranieri Campos

CURITIBA

2021

Farias, Marcelo Jesus de
Estudo fitoquímico e atividades biológicas do óleo essencial de *Physalis pubescens* Linnaeus (Solanaceae) [recurso eletrônico] / Marcelo Jesus de Farias – Curitiba, 2021.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2021.

Orientadora: Profa. Dra. Marilis Dallarmi Miguel
Coorientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel
Coorientador: Prof. Dr. Ranieri Campos

1. Solanaceae. 2. *Physalis*. 3. Fitol. I. Miguel, Marilis Dallarmi. II. Miguel, Obdulio Gomes. III. Campos, Ranieri. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDD 583.9593



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **MARCELO JESUS DE FARIAS** intitulada: **Estudo Fitoquímico e Atividade Biológica do Óleo Essencial de *Physalis pubescens* Linnaeus, (*Solanaceae*)**, sob orientação da Profa. Dra. MARILIS DALLARMI MIGUEL, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 07 de Junho de 2021.

Assinatura Eletrônica
11/06/2021 10:22:44.0
MARILIS DALLARMI MIGUEL
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
14/06/2021 14:46:03.0
CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
15/06/2021 13:18:31.0
SAMANTA DALIANA GOLIN PACHECO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
11/06/2021 09:52:47.0
CAMILA FREITAS DE OLIVEIRA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE)

Avenida Prefeito Lothário Meissner, 632 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80210-170 - Tel: (41) 3360-4098 - E-mail: cfufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 96552

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaosignaturas.jsp>
e insira o código 96552

Dedico a Deus, que permite
sempre viver em plenitude.

A minha família que é razão de meu
existir.

Agradecimentos

A Deus por seu amor infinito.

Aos meus pais, Maria Helena e Josué, pelo amor, incentivo, compreensão e companhia.

A minha esposa e Filhos, por todo amor e carinho.

Aos amigos, irmãos do coração, por tornar a jornada mais leve.

A Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Aos Orientadores, Prof(a). Dr(a). Marilis Dallarmi Miguel, Prof(a). Dr(a). Obdulio Gomes Miguel e Prof(o). Titulação Dr. Ranieri Campos, pela confiança, paciência e orientação.

A Prof. (ª) Tomoe Nakashima pela atenção durante as aulas e acompanhamento no decorrer das atividades de licenciatura.

Aos Professores que compõem o NEPNF (Núcleo de Estudos em Produtos naturais e Farmacotécnica) que de forma direta ou indireta contribuíram no andamento do trabalho.

Aos Colegas de bancada Elisiane, Daniela, Paula, Letícia, Jean, Ana, Larissa, Fernando, Carol sete, Carol Grib, Solange, todos alunos do programa.

Aos técnicos, Paulo, Graça, Mauricio e Marcelo, pelo auxílio e cordialidade.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta e não foram mencionados.



“Na natureza nada se perde e nada se cria, tudo se transforma” – Lavoisier

RESUMO

A espécie vegetal denominada *Physalis pubescens* é amplamente utilizada na alimentação, seu fruto tem largo uso como suco da polpa e na ornamentação de pratos da confeitaria. Por tratar-se de uma espécie pertencente à família Solanaceae, reconhecida pela presença de alcaloides justifica-se uma investigação química e avaliação preliminar de sua toxicidade. As Folhas secas foram submetidas a hidrodestilação em aparato de Clevenger, sob aquecimento a 70°C pelo período de 24hs, para obtenção do óleo essencial. O óleo foi analisado por meio de Cromatografia em fase gasosa, verificou-se a presença de 7 principais compostos em ordem de abundância, com o predomínio de Hexahidrofarnesil acetona 26,23% Cetona, Fitol 67,41% um Álcool diterpeno. As folhas (Amostra 1) e o caule (Amostra 2) foram secos estabilizados e submetidos à extração continuada em aparelho de Soxhlet com etanol 95% a 72°C durante 48 horas, e então filtrado. A solução foi concentrada sob pressão reduzida para produzir o extrato bruto, que foi denominada como Extrato Bruto folha (EB1) e Extrato Bruto caule (EB2). Estes foram submetidos a partição (Líquido-Líquido) em aparelho Soxhlet modificado com solventes em ordem crescente de polaridade por 48 horas para cada solvente utilizado na partição. Este processo gerou 4 frações: Hexano (codificada como FH); Clorofórmio (codificada como FC); Acetato de etila (codificada como FA); e o remanescente (codificada como FR). As massas do (EB) e das frações foram submetidas aos cálculos de rendimento. As frações foram analisadas por CCD para detecção das classes de metabólitos secundários, cada fração foi observada individualmente de acordo com sua fase móvel em placa de folha de alumínio, revestida com uma fina camada de material adsorvente de sílica-gel. Nos testes de toxicidade preliminar, as frações dos extratos da folha e caule se destacam Hexano, Clorofórmio e Acetato de etila, sendo que os resultados da fração de Acetato de etila, com moderada tóxica ao microcrustáceo *Artemia salina*. Em relação aos ensaios citotóxicos com o óleo essencial de *Physalis pubescens* L., a atividade citotóxica constatou-se que o maior índice de morte celular ocorreu no período de 24 horas. Na avaliação do potencial hemolítico, observou-se que duas frações se destacaram, o Extrato Bruto e a Fração Hexano, com aproximadamente 40% para hemólise, tanto para as frações da folha quanto para as frações do caule. Por tratar-se de uma planta com exploração agrícola e de uso para nutrição humana, faz-se necessário mais estudos, para assim aprofundar o conhecimento sobre atividade biológica e química da espécie.

Palavras-chave: *Physalis*; solanaceae; fitol.

ABSTRACT

The vegetable species called *Physalis pubescens* is widely used in food, its fruits have wide use as pulp juice and in the decoration of confectionery dishes. As it is a species belonging to the solanaceae Family, recognized by the presence of alkaloids, a chemical investigation and preliminary evaluation of its toxicity is warranted. The dried leaves were subjected to hydrodistillation in Clevenger apparatus, under heating at 70°C for 24 hours, to obtain the essential oil. The oil was analyzed by means of gas chromatography, it was verified the presence of 7 main compounds was found in order of abundance, with the predominance of Hexahydropharnesyl acetone 26,23% ketone, Phytol 67,41% a diterpene alcohol. The leaves (samples 1) and the stem (sample 2) were dried, stabilized and subjected to continued extraction in a Soxhlet apparatus with 95% ethanol at 72°C for 48 hours, and then filtered. The solution was concentrated under reduced pressure to produce the crude extract, which was named as crude leaf extract (EB1) and Crude stem extract (EB2). These were subjected to partition (liquid-liquid) in a Soxhlet apparatus modified with solvents in increasing order of polarity for 48 hours for each solvent used in the partition. This process generated 4 fractions: Hexane (coded as FH); Chloroform (encoded as FC); Ethyl acetate (coded as FA); and the remainder (coded as FR). The masses of (EB) and fractions were subjected to yield calculations. The fractions were analyzed by CCD to detect the classes of secondary metabolites, each fraction was observed individually according to its mobile phase in aluminum foil plate, covered with a thin layer of silica gel adsorbent material. In preliminary toxicity tests, the fractions of the leaf and stem extracts stand out Hexane, Chloroform and Ethyl acetate, with the results of the Ethyl acetate fraction, with moderate toxicity to the microcrustacean *Artemia salina*. Regarding the cytotoxic assays with the essential oil of *Physalis pubescens* L., the cytotoxic activity was found to have the highest cell death occurred within 24-hour period. In the evaluation of the hemolytic potential, it was observed that two fractions stood out: the Crude Extract and the Hexane Fraction, with approximately 40% for hemolysis, both for leaf fractions and for stem fractions. As it is a plant with agricultural exploitation, and for use for human nutrition, further studies are necessary, in order to deepen the knowledge about biological and chemical activity of the species.

Key-words: *Physalis*, solanaceae, phytol.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESQUEMA DE ROTA METABÓLICA DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	20
FIGURA 2 - IMAGEM ADAPTADA DO LIVRO - SÉRIE FRUTICULTURA – PEQUENAS FRUTAS – A CULTURA DA PHYSALIS.....	24
FIGURA 3 - IMAGEM ADAPTADA DO LIVRO - <i>Physalis pubescens</i> L	25
FIGURA 4 - FOTOGRAFIA DA EXSICATA DE <i>Physalis pubescens</i> L, SOLANACEA	28
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL.....	29
FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM CLEVINGER	31
FIGURA 7 - REPRESENTAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM SOXHLET.....	32
FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM SOXHLET.....	32
FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	34
FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO DE CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Physalis pubescens</i> L. CG.	42
FIGURA 11 - ESTRUTURA QUÍMICA DO FITOL	43
FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DO FITOL	44
FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DA HEXAHIDRO FARNESIL	45

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - ANALISE DE CITOTÓXICA DE 24 E 48 HS DE TRATAMENTO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Physalis pubescens* L. E CONTROLE.....48
- GRÁFICO 2 - ANALISE DE CITOTÓXICA EM PORCENTAGEM APÓS 48 HS DE TRATAMENTO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Physalis pubescens* L. E CONTROLE.....48
- GRÁFICO 3 - ANALISE DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA COM EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA AMOSTRA DA FOLHA DE *Physalis pubescens* L.....50
- GRÁFICO 4 - ANALISE DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA COM EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA AMOSTRA DO CAULE DE *Physalis pubescens* L.....51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS FASES MÓVEIS E REVELADORES DA CROMATOGRÁFICA EM CAMADA DELGADA REALIZADA PARA EXTRATOS E FRAÇÕES.....	34
TABELA 2 - RENDIMENTO DE TEOR DE UMIDADE E DESVIO PADRÃO	37
TABELA 3 - RENDIMENTO DE TEOR DE CINZAS E DESVIO PADRÃO.....	38
TABELA 4 - RENDIMENTO DE SÓLIDOS TOTAIS FOLHA E DESVIO PADRÃO	38
TABELA 5 - RENDIMENTO DE FRAÇÕES FOLHA.....	39
TABELA 6 - RENDIMENTO DE SÓLIDOS TOTAIS CAULE E DESVIO PADRÃO	39
TABELA 7 - RENDIMENTO DE FRAÇÕES CAULE.....	40
TABELA 8 - REPRESENTAÇÃO DE ANÁLISE POR CCD DO EXTRATO E FRAÇÕES DA FOLHA	40
TABELA 9 - REPRESENTAÇÃO DE ANÁLISE POR CCD DO EXTRATO E FRAÇÕES DO CAULE	41
TABELA 10 - REPRESENTAÇÃO DE COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL ANALISADOS POR CG.....	43
TABELA 11 - RESULTADOS DE INTERPRETAÇÃO DO TESTE <i>Artemia salina</i>	46
TABELA 12 - POTENCIAL HEMOLÍTICO DO EXTRATO E FRAÇÕES DO FOLHA. <i>Physalis pubescens</i> L.....	50
TABELA 13 - POTENCIAL HEMOLÍTICO DO EXTRATO E FRAÇÕES DO CAULE <i>Physalis pubescens</i> L.	52

LISTA DE SIGLAS

CCD – Cromatografia Camada Delgada
CG – Cromatografia em Fase Gasosa
DMEM – Meio Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO – Dimetilsulfóxido
EB1 – Extrato bruto Folha
EB2 - Extrato Bruto Caule
FH – Fração Hexano
FC – Fração Clorofórmio
FA – Fração Acetato de etila
FR – Fração remanescente
FH1 – Fração Hexano folha
FC1 – Fração Clorofórmio folha
FA1 – Fração Acetato de etila folha
FR1 – Fração remanescente folha
FH2 – Fração Hexano caule
FC2 – Fração Clorofórmio caule
FA2 – Fração Acetato de etila caule
FR2 – Fração remanescente caule
MTT – Método Tetrazolium
SFB – Soro Fetal Bovino
PBS – Phosphate-buffered saline

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVO GERAL.....	18
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	FAMÍLIA SOLANACEAE	19
2.2	GÊNERO <i>PHYSALIS</i>	22
2.3	ESPÉCIE <i>Physalis pubescens L.</i>	23
2.4	ÓLEO ESSENCIAL.....	26
2.5	ATIVIDADE CITOTÓXICA.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	MATÉRIAL	27
3.1.1	Matéria Vegetal	27
3.1.2	Reagentes E Solventes utilizados.....	28
3.2	MÉTODOS.....	28
3.2.1	Perda por dessecação.....	30
3.2.2	Cinzas totais.....	30
3.2.3	Obtenção de Óleo Essencial a partir das folhas de <i>Physalis pubescens L. Solanaceae</i>	31
3.2.4	Obtenção do Extrato Bruto e Frações a partir da folha de <i>Physalis pubescens L., Solanaceae</i>	31
3.2.5	Obtenção do Extrato Bruto e Frações a partir do caule de <i>Physalis pubescens L., Solanaceae</i>	32
3.2.6	Teor de sólidos do extrato bruto.....	33
3.2.7	Perfil Fitoquímica.....	33
3.2.7.1	A análise de cromatografia em camada delgada.....	33
3.2.8	Avaliação do Potencial Biológico <i>in vitro</i>	34
3.2.8.1	Avaliação do Potencial de Letalidade a <i>Artemia salina</i>	35
3.2.8.2	Avaliação do Potencial citotóxico pelo método MTT.....	35
3.2.8.3	Avaliação do potencial de Atividade Hemolítica.....	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	PERDA POR DESSECAÇÃO.....	37
4.2	DETERMINAÇÃO DE CINZAS.....	38

4.3	RENDIMENTO DE SÓLIDOS TOTAIS FOLHA.....	38
4.3.1	Rendimento das Frações da Folha.....	39
4.4	RENDIMENTOS DE SÓLIDOS TOTAIS CAULE.....	39
4.4.1	Rendimento das Frações Caule.....	39
4.5	RESULTADOS DA ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.....	40
4.6	ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA DO ÓLEO ESSENCIAL OBTIDO DAS FOLHAS DE <i>PHYSALIS PUBESCENS</i> L.....	42
4.7	BIOENSAIOS.....	46
4.7.1	Avaliação preliminar da toxicidade dos extratos brutos e frações de folhas e caules.....	46
4.7.1.1	Avaliação do potencial de letalidade a <i>Artemia salina</i>	46
4.7.1.2	Avaliação do Potencial citotóxico pelo método Mtt.....	47
4.7.1.3	Avaliação do potencial Hemolítico.....	49
5	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXOS	66

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais e aromáticas pela população mundial é crescente. Como responsáveis por essa larga utilização, os princípios ativos representam o ponto de partida para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos, que movimentam milhões de dólares por ano (SOUZA, 2015).

O desenvolvimento científico proporcionou melhores condições para comprovar os conhecimentos milenares no uso das ervas e das plantas, e assim estabelecer uma medicina do futuro (LAMEIRA, 2008). Estabelecer o perfil fitoquímico das espécies vegetais é necessário para garantir a mínima segurança no uso humano ou animal. A análise fitoquímica preliminar pode indicar o grupo de metabólico secundário relevante das mesmas. Caso o interesse esteja restrito a uma classe específica de constituintes ou às substâncias responsáveis por certa atividade biológica, a investigação fitoquímica é sempre mais rápida quando pode ser direcionada por atividades biológicas facilitando o isolamento e respectivamente a elucidação estrutural (SIMÕES et al., 2010).

O reconhecimento da importância de plantas para o desenvolvimento de fármacos modernos e terapeuticamente mais eficazes foi finalmente e nacionalmente oficializado pelo lançamento da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto N° 5.813. Esta norma estabelece diretrizes para o desenvolvimento de ações voltadas à garantia do acesso seguro e uso racional de planta medicinal e fitoterápico, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, ao fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos e ao uso sustentável da Biodiversidade Brasileira (PEREIRA et al., 2015).

Segundo BRUNING et al., (2012), observa-se um crescimento na utilização de fitoterápicos pela população brasileira. Dois fatores poderiam explicar este aumento: O primeiro seriam os avanços ocorridos na área científica, que permitiram o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes. O segundo é a crescente tendência de busca pela população por terapias menos agressivas destinadas ao atendimento primário à saúde.

Dentre os grupos vegetais, a família Solanaceae possui aproximadamente 2700 espécies de plantas, adaptadas a ambientes muito diferentes, e cultivadas para alimento (tomate, batata, berinjela, pimenta), usos medicinais ou recreativos

(beladona, sobreiro, mandrágora, tabaco), além de ornamentais (petúnia, brunfelsia) (BARCHI et al., 2019).

O gênero *Physalis*, pertencente à família Solanaceae, inclui uma ampla variedade de plantas que são econômica e farmacologicamente importantes. Possui 75-90 espécies, predominantemente americanas com distribuição nos Estados Unidos, México, América Central, América do Sul e Antilhas, que tem se destacado na família devido ao elevado potencial alimentício, ornamental e medicinal (Silva et al., 2017).

Nas duas últimas décadas, o gênero *Physalis* apresentou um amplo número de citações e referências que refletem desta maneira, sua importância no âmbito 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 a segurança e qualidade (SILVA et al., 2017).

Segundo SILVA et al., (2014), este grupo de planta vem se destacando devido potencial fitoterápico e comestível, as espécies do gênero *Physalis*, denominan-se (*P. peruviana* L., *P. philadelphica* L., *P. pubescens* L. e *P. angulata* L.). Uma das características destas espécies é a produção de esteroides, denominados vitaesteroides (vitanólidos, vitafisalinas, acnistinas, ixocarpalactonas, perulactonas e fisalinas), os quais são originados da via do ácido mevalônico, possuindo grande interesse farmacológico.

A planta *Physalis* pode apresentar um crescimento de até 1,5 metros de altura. Com folhas largas e cresce rapidamente no solo. Todo o corpo da planta, da raiz até a parte aérea foi relatada na medicina tradicional. A decocção de toda planta é consumida como remédio para câncer pelos Malaios na comunidade da Malásia. A fruta apresenta vitamina C e é considerada como diurética, purgativa, usada para aliviar dor e cura de distúrbios do baço (USAIZAN, 2014)

O gênero *Physalis* possui valor etnobotânico, nutracêutico e medicinal, ao qual são atribuídas inúmeras propriedades medicinais como: como anticoagulante, diurético e anti-inflamatório, evitando a rejeição de órgãos transplantados, inclusive como espécie potencialmente anticarcinogênica (SILVA et al., 2014).

O presente estudo tem por objetivo a avaliação o Perfil fitoquímico, sendo, analisadas por meio de extrato bruto hidroalcoólico e frações das porções aéreas, das folhas e caule da espécie *Physalis pubescens* L. (Solanaceae), popularmente

conhecida como “balãozinho, bate-testa, bucho-de-rã, camapu, canapu, fisális, juá-de-capote, juá-poca, pipoco, tomate-de-capote, saco-de-bode, e que pode ser encontrada em todas as regiões do Brasil.

1.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir com estudo da espécie *Physalis pubescens* L. (SOLANACEAE)

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a coleta e identificação botânica das partes aéreas;
- Determinar os parâmetros físicos-químicos do teor de cinzas e umidade das folhas e caule.
- Realizar a identificação de compostos químicos presentes em *Physalis pubescens* L.
- Obter o extrato bruto hidroalcoólico de folha e caule de *Physalis pubescens* L.;
- Realizar o fracionamento das Amostras caule e folha (hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente);
- Avaliar toxicidade aguda dos extratos e frações utilizando microcrustáceos *Artemia salina* ..
- Avaliar o potencial citotóxico preliminar do óleo extrado da folha de *Physalis pubescens* L.
- Avaliar o potencial hemolítico do extrato bruto hidroalcoólico e fração das folhas e caule.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA SOLANACEAE

Esta família possui alguns dos maiores gêneros que incluem *Solanum*, *Cestrum*, *Lycium*, *Physalis*, *Nicotiana*. Espécies de Solanaceae distribuem-se por todo o mundo desde as zonas temperadas até as tropicais, especialmente na América do Sul. Esta última região é considerada o seu centro de origem, por ser muito rica em gêneros (38 endêmicos) e espécies (UIEDA et al., 1984).

A família Solanaceae predominantemente americana com distribuição nos Estados Unidos, México, América Central, América do Sul e Antilhas, tem se destacado na família devido ao elevado potencial alimentício, ornamental e medicinal. O potencial medicinal desse gênero é atribuído à presença de um grupo de substâncias derivadas do ergostano, denominadas fisalinas, com atividade biológica já comprovada (SILVA et al., 2017).

A família Solanaceae é uma das maiores e mais complexas famílias dentre as Angiospermas, tendo a América do Sul como um dos principais centros de diversidade e endemismo. É um grupo de grande importância econômica, possuindo espécies empregadas na alimentação humana, como a batatinha e o tomate (espécies de *Solanum*), produtoras de substâncias de uso farmacêutico, como atropina e a hiosciamina, isoladas de *Atropa belladonna* L. e *Hyocyamus niger* L., respectivamente, além de possuir espécies ornamentais (espécies de *Petunia*, *Brugmansia* e *Brunfelsia*) (SILVA et al., 2005).

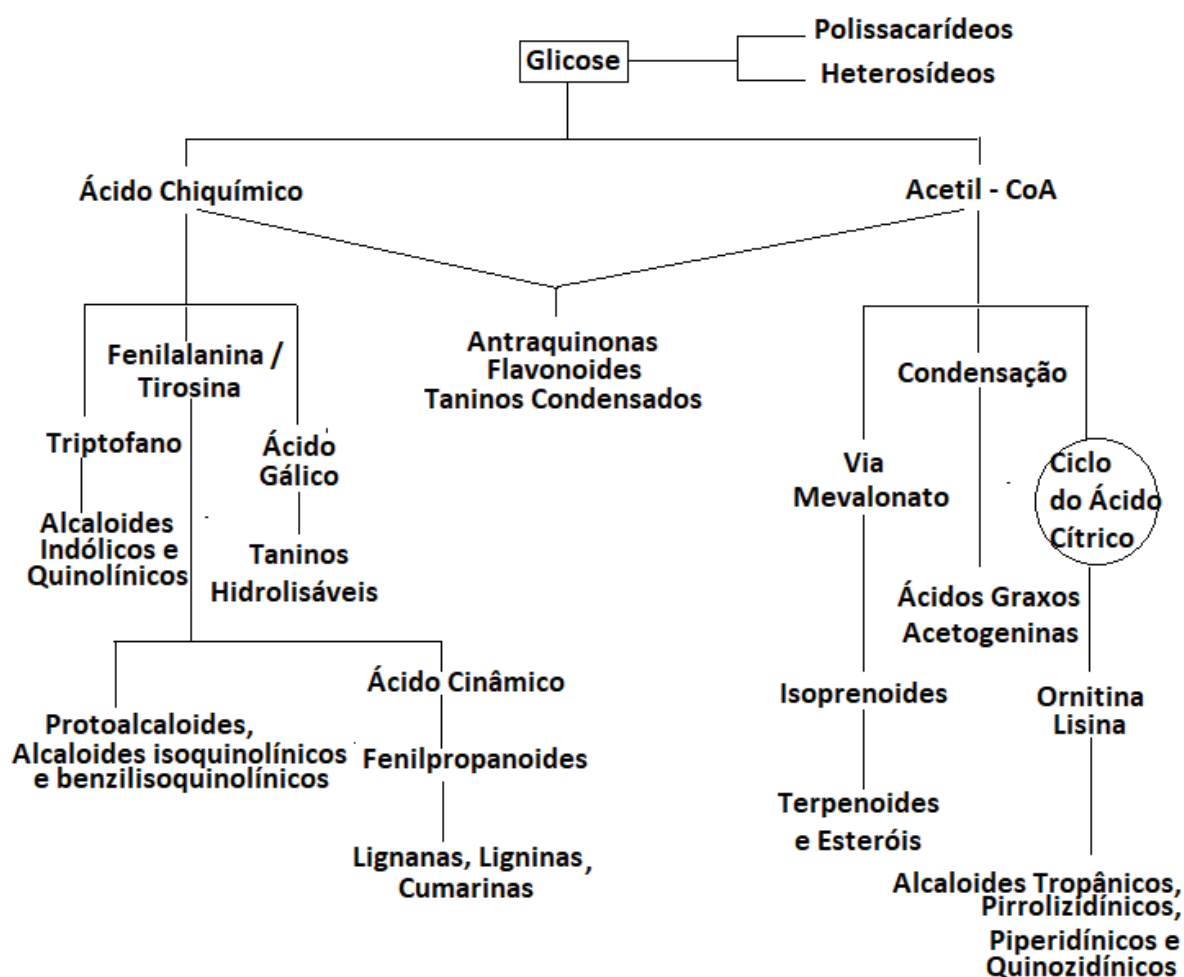
No Brasil, a população rural sempre fez uso de plantas medicinais dentre elas destacam-se as Piperaceae e Solanaceae ambas com ampla distribuição por todo território, muitas vezes, comercializadas em feiras e no comércio local, com expressiva importância econômica, e não raro, pelo baixo custo, representam, a única alternativa possível para esta parcela da população (PEREIRA et al., 2007).

As plantas durante seu período evolutivo, desenvolveram a capacidade de tornar os metabolitos secundários em substâncias fundamentais na defesa contra herbívoros, microrganismos, na atração de polinizadores ou dispersores de sementes. Estas características foram desenvolvidas ao longo do tempo, por fatores diversos da seleção natural. A capacidade de tornar as substâncias tóxicas em atóxicas, estocá-

las em locais inativos metabolicamente e emprega-las contra agentes externos (SANTOS et al., 2010).

As Solanaceas podem apresentar metabólitos secundários bioativos como alcaloides do tipo tropano, pirrol, piridínicos e esteroidais, witanolidas, ecdisteroides, sesquiterpenos, diterpenos, glicoalcaloides, flavonoides, esteroides, saponinas sapogeninas esteroidais e antraquinonas. Os metabólitos secundários permitem auxiliar na caracterização e classificação quimiotaxonômica dos membros da família Solanaceae (Vaz, 2008). Conforme exposto na (FIGURA 1) pode se verificar a rota metabólica dos metabólitos secundários.

FIGURA 1 - ESQUEMA DE ROTA METABÓLICA DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS



FONTE: ADAPTADO DE SANTOS (2010).

Estudos químicos com exemplares do gênero *Physalis* apontaram a existência de várias classes de compostos ativos que ocorrem naturalmente, incluindo flavonoides (3-o-neoesparidosedio-mirecitina); alcaloides (acetil colina, figrina; higrina; ornitina; tigloidina; N-Metilpirrolidinaligrina em folhas de *P. peruviana*; calisteginas em diferentes estruturas de *P. alkekengi* L. var. *francheti*, *P. philadelphica* Lam. , *P. ixocarpa* Brot e *P. peruviana* L.); triterpenoides (β -amirina em sementes de *P. alkekengi* L.); ceramidas (1,3,4-trihidroxi-2-2'- hidroxitetraacosanoilamino-9-octadecano em folhas e estames de *P. philadelphica*); fenilpropanoides (ácido clorogênico); inúmeras classes de ácidos graxos nas sementes e muitos tipos diferentes de esteroides (fitoequidizonas, além dos vitaesteroides) alguns dos quais sem precedentes (SU et al., 2002; EICH, 2008).

Evidências indicam que as solanáceas manifestam potencial terapêutico que deve ser investigado, sendo que algumas espécies desta família são utilizadas popularmente para tratamentos de algumas doenças. Por exemplo, a *Solanum melongena* L. (berinjela) para eliminar cálculos de bexiga, a *Cestrum nocturnum* (dama-da-noite) para gastroenterite, o *Nicotiana tabacum* (tabaco) para sarna e escabiose e as folhas de *Solanum lycopersicum* (tomate) como cicatrizante (GRANDI, 1989).

A literatura mostra alguns relatos sobre a avaliação de espécies da família Solanaceae quanto ao seu potencial medicinal (MAHMOOD et al., 2012). No entanto, algumas solanáceas têm propriedades tóxicas em determinadas dosagens, como a *Datura stramonium* L. (erva-do-diabo), *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) e *Brunfelsia uniflora* (pohl) D. Don (manacá-de-cheiro). Quando ingeridos em determinadas quantidades, os frutos verdes e folhas de tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) podem causar intoxicação extrema e levar à morte por falha respiratória (Lorenzi et al., 2008).

Espécies de *Nicandra* e *Physalis* são consideradas medicinais e tóxicas em vários países das Américas, África e Ásia, destacando-se pela presença de vitaesteroides, como nicandrenona, vitanolídeo, fisalinas e neofisalinas, com atividades antineoplásica e antitumoral, e pelos alcaloidestropânicos e pirrolidínicos, como higrina e tropinona (SILVA et al., 2005).

No cerrado brasileiro, uma fitoterapia obtida dos frutos de *Solanum lycocarpum* (*Solanaceae*) tem sido amplamente empregado para controle do diabetes,

obesidade e diminuição de nível de colesterol. As folhas são utilizadas para o tratamento de epilepsia, espasmos, dor abdominal e renal. As flores são empregadas para o tratamento hemorroidas e na preparação de um xarope caseiro para influenza e expectoração enquanto as raízes são usadas para hepatite (DALL'AGNOL et al., 2000).

2.2 GÊNERO PHYSALIS

Physalis L. (solanaceae) é um gênero facilmente reconhecido devido à morfologia peculiar, principalmente na frutificação, a qual é caracterizada pela presença de um cálice frutífero acrescente e inflado, que se expande envolvendo totalmente o fruto. As estimativas quanto ao número de espécies do gênero são distintas variando em torno de 2700 espécies, existindo citações recentes. O centro de diversidade do gênero se encontra no México, onde dois terços das espécies são endêmicas. Na América do Sul ocorrem cerca de 12 espécies do nível do mar até áreas de altitude, em ambientes nativos ou em solos modificados ou com vegetação secundária (SOARES et al., 2009).

A posição taxonômica de *Physalis* é diferente nas duas propostas recentes de classificação de Solanaceae, uma delas baseada em morfologia tradicional e a outra, na análise cladística de dados do DNA plastidial. Um estudo recente de biologia molecular abordando a filogenia de *Physalinae*, dá suporte para mudanças nomenclaturais relevantes na circunscrição de *Physalis*, resultando na redução do número de espécies (SOARES et al., 2009).

O gênero *Physalis* corresponde a um grupo com grande importância econômica. É utilizado na alimentação humana (*P. peruviana*), na produção de substâncias de uso farmacêutico (*P. angulata*) e em ornamentação (*P. alkekengi*). Além disso, estudos realizados com extratos das folhas de diferentes espécies de *Physalis* têm revelado importantes atividades biológicas, como ação antibiótica, antioxidante, anticancerígena e antiinflamatória (MUNIZ et al., 2015).

O gênero *Physalis* (Solanaceae), constitui uma excelente exemplificação da exploração de plantas endêmicas para desenvolvimento de produtos comerciais. Recentemente, aumentou a atenção sobre o efeito fitoquímico e farmacológico de

Physalis devido ao desenvolvimento de formulações comerciais de desodorantes, Shampoo e Sabonetes, cosméticos funcionais para produtos de aplicação a saúde (RIVERA et al., 2020).

Muitas espécies do gênero *Physalis* foram usadas como medicamentos tradicionais, para tratamento de doenças humanas em todo o mundo. Destaca-se um remédio popularmente conhecido como “Ku-Zhi” em chinês a partir da *Physalis angulata*, sendo este utilizado para tratar impaludismo, dermatite, traqueíte, reumatismo e hepatite, com uso semelhante no México, Indonésia, Peru e Brasil (HUANG et al., 2019).

Na medicina tradicional sul-americana, o fruto, cálices e folhas de *Physalis philadelphica* apresenta diversos efeitos terapêuticos contra várias doenças humanas: os frutos foram utilizados para o tratamento de febre, tosse e amigdalite; os cálices foram utilizados para tratamento de diabetes; e as folhas podem ser adotadas para tratamento de distúrbios gastrointestinais (HUANG et al., 2019).

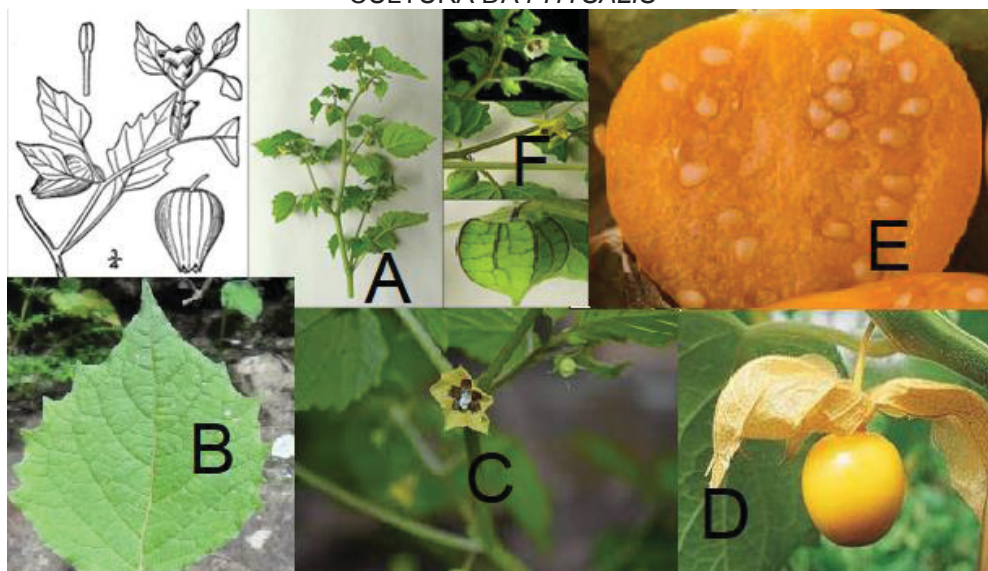
Para Huang et al., (2019) as investigações fitoquímicas e farmacológicas indicaram que os withanolides são os predominantes constituintes químicos do gênero *Physalis* e são as principais substâncias biológicas que sustentam o uso dessas plantas com potencial terapêutico contra doenças humanas. É um gênero herbáceo de plantas, a maioria das espécies do gênero são utilizadas há muito tempo nas tradições populares etnomédicas da Ásia e das Américas. Utilizados para tratar doenças epidemiológicas e crônicas, como malária, asma, hepatite, dermatite, distúrbios hepáticos e como antimicobacterianas, antitumoral, antileucêmica, antipirética, e agente imuno-modeladora (ZHANG et al., 2016).

2. 3. ESPÉCIE *Physalis pubescens* L

A *Physalis pubescens* L. é identificada pelo indumento formado por tricomas simples e glandulares, curtos a longos. A coloração azul das anteras se altera significativamente no material herborizado, não sendo um caráter prático para identificação. A espécie assemelha-se a *P. peruviana*, do qual diferem quanto ao hábito, indumento e morfologia do cálice frutífero (RUFATO et al., 2013). A (FIGURA

2) apresenta algumas estruturas superiores da planta *Physalis* como folha, caule, fruto, flor e semente.

FIGURA 2 - IMAGEM ADAPTADA DO LIVRO - SÉRIE FRUTICULTURA – PEQUENAS FRUTAS – A CULTURA DA *PHYSALIS*



FONTE: (RUFATO et al., 2009). Aspectos morfológicos de *Physalis pubescens* L., onde (A) Planta em estágio vegetativo; (B) folhas; (C) flores; (D) frutos; (E) sementes e (F) cálice inflado que envolve o fruto.

A espécie *Physalis pubescens* L., ocorre no Brasil nas regiões ressaltadas na (FIGURA 3) destacando ao Norte (Amazonas, Tocantins, Acre, Rondônia), Nordeste (Ceará, Paraíba, Pernambuco, Bahia e Alagoas), Centro Oeste (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito federal), Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro) e no Sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul). Encontrada nos biomas como da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Ocorrem em locais úmidos, como clareiras e bordas de florestas, próximos a cursos d'água, comportamento ruderal, sendo encontrada em beiras de estrada, em vegetação secundária e locais arenosos (MELO et al., 2018).

FIGURA 3 - IMAGEM ADAPTADA DO LIVRO - *Physalis pubescens L*

FONTE: (MELO et al, 2018).

Na china, *Physalis pubescens L.*, também conhecida como Deng-Long-Cao, tem sido utilizada como preparação popular tradicional para dores de garganta, tosse, uretrite, hematúria (XIA et al.,2016)

Physalis pubescens L. cultivada no interior da Mongólia e nas montanhas Higgnan em Heilongjiang província da China. É conhecida como cereja mopida peluda, pertencente à família Solanaceae. Atualmente, os estudos de *Physalis pubescens L* com finalidade na atividade citotóxica, atividades imunológicas e antioxidadente de seu pigmento amarelo natural (CHEN et al., 2019).

A *Physalis* é popularmente conhecida por purificar o sangue, fortalecer o sistema imunológico, aliviar dores de garganta, diminuir as taxas de colesterol e amenizar os sintomas do Mal de Parkinson. No Nordeste brasileiro, por exemplo, a planta é utilizada em tratamentos caseiros de reumatismo, problemas renais, de bexiga e do fígado, como também podem ser sedativos, antifebril e antiemética. Já na Colômbia, o maior produtor mundial, a planta é amplamente utilizada como anticarcinogênica, antibacteriana, antipirética, diurética e no tratamento de doenças como asma, hepatite, dermatite e artrite (MUNIZ et al., 2015).

A fruta *Physalis* e seus sucos são nutritivos, podem conter altos níveis de niacina, carotenoides e minerais. A utilização por meio de decocção, tem sido utilizada no tratamento de abscessos, tosse, febre ou dor de garganta (SHEIKHA et al., 2008).

2. 4. ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos essenciais são compostos de baixo peso molecular, alguns voláteis, caracterizado por um odor forte, capazes de gerar sabores e aromas. São formados no metabolismo secundário de plantas aromáticas, podendo ser extraídos de parte das plantas como folhas, frutos, flores, cascas, como ervas medicinais (EDRIS, 2007; BAKKALI ET AL., 2008).

Na constituição dos óleos essenciais, pode ser constatado uma mistura complexa de 20 – 60 compostos em sua composição, em concentrações diferentes, geralmente um, dois ou três deles são encontrados em proporções maiores, sendo descritos como majoritários (BAKKALI et al., 2008). Dentre os compostos encontrados na formação de óleo essencial, os hidrocarbonetos alifáticos de baixo peso molecular, ácidos, álcoois, aldeídos, ésteres acíclicos ou lactonas, destacando-se a presença de terpenos, isopropanoides, aromáticos são os componentes químico mais encontrados (DORMAN, 2000). Os aspectos de caracterização química dos óleos essenciais podem ser obtidos por cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massas (EDRIS, 2007).

Em relação as aplicações farmacológicas podem ser atribuídas aos óleos essenciais, atividade contra uma ampla variedade de microrganismos: vírus, fungos, protozoários e bactérias (SOLÓRZANO-SANTOS, 2011). São utilizados a muito tempo na preservação de alimentos, como analgésico, sedativo, anti-inflamatório, espasmolítico. (BAKKALI et al., 2008).

2.5 ATIVIDADE CITOTÓXICA

Durante as duas últimas décadas, houve um aumento considerável na utilização de dados de citotoxicidade para prever os efeitos agudos de compostos in vivo. Os ensaios de citotoxicidade são utilizados para definir a capacidade intrínseca de um composto em causar morte celular como consequência de danos às funções básicas da célula. Estes ensaios são também utilizados para definir o intervalo de concentração em ensaios in vitro para fornecer informações significativas em

parâmetros, tais como genotoxicidade, indução de mutações ou de morte celular programada. (MELO et al., 2000; PUTNAM; BOMBICK; DOOLITTLE, 2002).

Os ensaios de citotoxicidade permitem avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso como biomaterial. Através desse resultado preliminar, é possível observar a interação entre o material e o corpo biológico, de forma rápida e eficaz. Os estudos de citotoxicidade, que envolvem testes com culturas celulares, caracterizam-se por serem métodos rápidos, sensíveis, reprodutíveis e de baixo custo (PITHON et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Matéria Vegetal

O vegetal *Physalis pubescens* L., Solenaceae foi coletado nas proximidades da cidade de Mandirituba, nas coordenadas aproximadas 25°41'03``S, 49°18'46``W, e na altitude 925m, no estado do Paraná – Brasil. A porção do vegetal coletado foi de 12400g, o indivíduo inteiro estrutura superior, excluído a raiz, sendo este vegetal, após processo de secagem, folha (697,3g) e caule (1765,2g) fracionado em porções menores e processado em moinho de facas e martelos.

O material vegetal foi identificado e incorporado à coleção do Museu Botânico Municipal de Curitiba -PR, por meio de uma exsicata, nº 341047 e cadastrada no Sisgen sob o nº A86E36C.

FIGURA 4 - FOTOGRAFIA DA EXSICATA DE *Physalis pubescens* L, SOLANACEA

FONTE: O autor (2019).

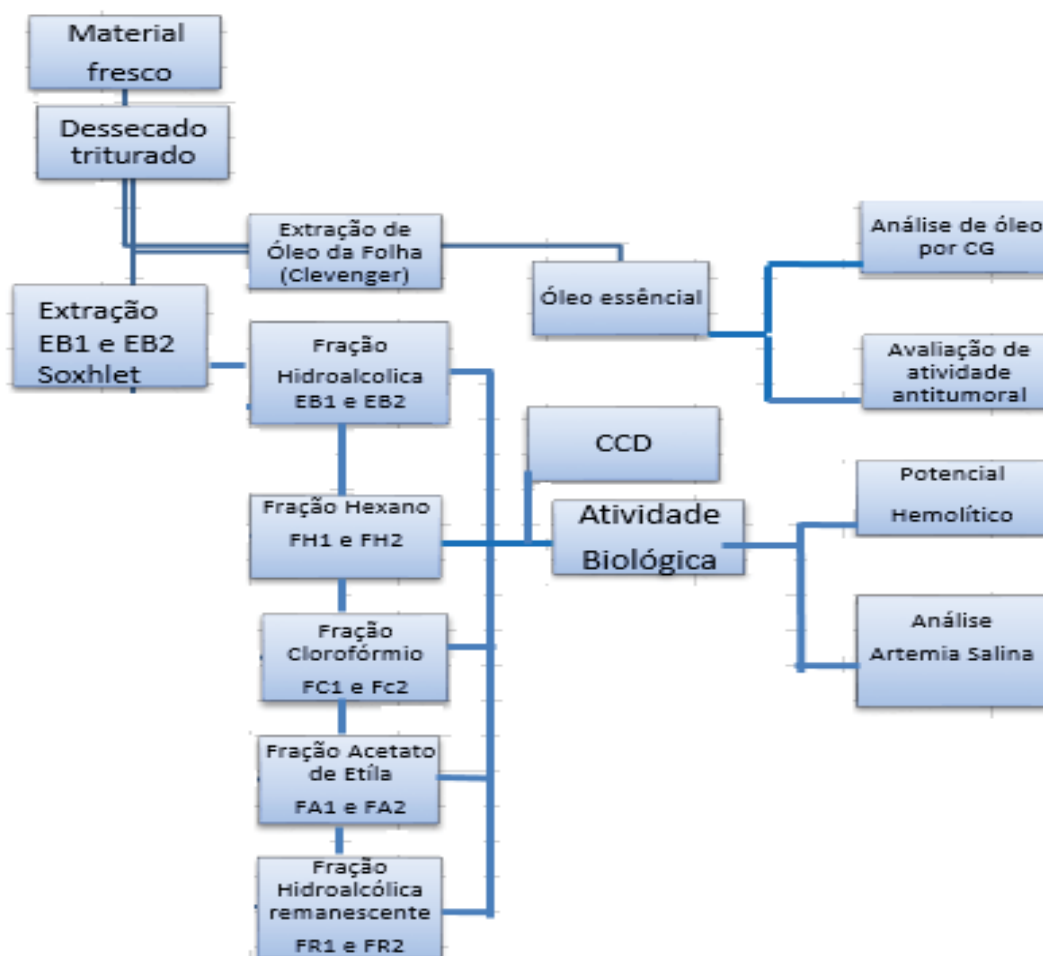
3. 1. 2 Reagentes e Solventes utilizados

Os reagentes e solventes utilizados foram de pureza analítica e de procedência Merck, Aldrich Chemical Company e Vetec. Foram utilizados reagentes e solventes comerciais sem prévia purificação.

3. 2 MÉTODOS

O estudo realizado descreve alguns aspectos do perfil fitoquímico do óleo essencial, do extrato bruto hidroalcoólico e frações, obtidas através de processo de extração a partir das folhas e caules de *Physalis pubescens* L., conforme representação esquemática da (FIGURA 5).

FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL



FONTE: O autor (2021).

De acordo com o que se observa na (FIGURA 5) este trabalho seguiu inicialmente pela extração em aparato Clevenger, com solvente água e porção das folhas para obtenção do óleo essencial, sendo o mesmo encaminhado para análise em cromatógrafo gasoso, e posteriormente teste citotóxico pelo método MTT.

A matéria vegetal das folhas após ser seca, foi direcionada para extração em aparato de Soxhlet, com sequencial partição deste extrato com solventes de polaridade crescente (Álcool Etílico, Hexano, Clorofórmio e Acetato de etila) em aparelho de Soxhlet modificado.

Envolveu também a caracterização química do extrato bruto com relação aos aspectos como rendimento de extração e rendimento de particionamento, e ainda a detecção compostos. Posteriormente a realização de bioensaios com a análise de toxicidade por meio de testes *Artemia salina* e Hemólise.

3. 2. 1 Perda por Dessecação

Para a verificação da perda por dessecação da *Physalis pubescens L*, foi utilizado 1g de material vegetal de folha em cadinho de porcelana e logo em seguida levado a estufa na temperatura de 100°C, por um período de 3 hs, até a obtenção de peso constante. Os cadinhos com as amostras foram retirados da estufa e colocados em dessecador para esfriar. Após este processo a amostra foi pesada e os resultados foram aplicados na fórmula (1) e expressos em porcentagem de umidade. Onde Pa é o peso do cadinho com a amostra, e Ps é o peso do cadinho com a amostra seca (FARIAS, 2010).

$$\% \text{ umidade} = \frac{Pa - Ps}{Pa} \times 100$$

3. 2. 2 Cinzas Totais

Para a determinação do teor de cinzas totais de *Physalis pubescens L*, foi adotado o método de gravimétrico descrito na Farmacopeia Brasileira VI (2019), incinerando-se o material até a eliminação do carvão, sem ultrapassar a temperatura de 600°C. Após resfriamento foi realizada a pesagem do resíduo. A análise foi feita em triplicata e o resultado foi calculado em porcentagem de cinzas em relação ao material vegetal seco à temperatura ambiente.

$$\% \text{ de cinzas} = \frac{P2 - P1}{P3} \times 100$$

P1= Peso do cadinho após a calcinação e esfriamento;

P2 = Peso do cadinho com amostra após a calcinação e esfriamento em dessecador;

P3 = Peso da amostra inicial.

3. 2. 3 Obtenção de óleo essencial a partir das folhas de *Physalis pubescens* L., Solanaceae

A porção vegetal de (697,3g de folhas) foi submetido à extração continuada em balão acoplado ao aparelho de Clevenger (FIGURA 6) com 3,2 lts água destilada a 72°C durante 24 horas, em seguida foi recolhido uma porção de óleo de 0,1013g corresponde a 0,017%, sendo o mesmo encaminhado para análise em cromatografia em fase gasosa.

FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM CLEVANGER



FONTE: O autor (2019)

3. 2. 4 Obtenção de Extrato Bruto a partir das folhas de *Physalis pubescens* L., Solanaceae

Amostra 1 material vegetal (697,3g de folhas) foi seco em ambiente, triturado em moinho de facas e martelos, submetido à extração continuada em aparelho de Soxhlet conforme (FIGURA 7) com etanol 95% a 70°C durante 48 horas, e filtrado gerando volume total de 1590mL. A solução foi concentrada sob pressão em rota-evaporador reduzido até 96,5g para produzir o extrato bruto folha com rendimento de a 13,83%, que foi nomeada como (EB1).

O (EB1) foi particionado (líquido-líquido) em aparelho Soxhlet modificado com solventes em ordem crescente de polaridade por 48 horas cada processo de partição. Este processo gerou 4 frações: Hexano (codificada como FH1); Clorofórmio

(codificada como FC1); Acetato de etila (codificada como FA1); e o remanescente (codificada como FR1). As massas do (EB1) e das frações foram medidas e os valores foram utilizados para os cálculos de rendimento.

FIGURA 7 - REPRESENTAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM SOXHLET.



FONTE: O autor (2019)

3. 2. 5 Obtenção do Extrato Bruto e frações a partir do caule de *Physalis pubescens* L., Solanaceae

Amostra 2 (1262,40g de caule) foi submetido à extração continuada em aparelho de Soxhlet com etanol 95% a 72°C durante 48 horas conforme (FIGURA 8), e então filtrado gerando volume total de 2980mL. A solução foi concentrada sob pressão reduzida até 195g para produzir o extrato bruto caule com rendimento de 15,44%, que foi nomeada como (EB2).

FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM SOXHLET.



FONTE: O autor (2019)

O (EB2) em seguida foi particionado (líquido-líquido) em aparelho Soxhlet modificado com solventes em ordem crescente de polaridade por 48 horas cada processo de partição. Este processo gerou 4 frações: Hexano (codificada como FH2); Clorofórmio (codificada como FC2); Acetato de etila (codificada como FA2); e o remanescente (codificada como FR2). As massas do (EB2) e das frações foram medidas e os valores foram utilizados para os cálculos de rendimento.

3. 2. 6 Teor de Sólidos do Extrato Bruto

A análise do teor de sólidos foi realizada segundo a Farmacopeia Brasileira VI (2019). Foram pipetados volumetricamente em três placas de petri previamente dessecadas, 1 mL de extrato bruto. A placa foi levada a secar total da alíquota de 1 mL em estufa a 105°C até peso constante. Após foram resfriadas em dessecador. A diferença entre o peso da placa com o resíduo do extrato e a placa vazia forneceu o teor de sólidos em 1mL o extrato. A partir de determinação dos sólidos totais foi calculado o rendimento do extrato bruto, utilizando-se a seguinte equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Teor de sólidos totais} \times 100}{\text{Material seco e estabilizado}}$$

3. 2. 7. Perfil Fitoquímica

3. 2. 7. 1. Análise De Cromatografia Em Camada Delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método considerado eficiente e de baixo custo. Consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de absorvente retido sobre uma superfície plana. Esta análise tem como objetivo avaliar as características qualitativas dos principais grupos químicos presentes no EB e nas frações, utilizando reações de coloração e fluorescência.

Para a realização do ensaio de CCD foram utilizadas cromatoplasmas de sílica gel 60 UV254, da marca Whatman®, de dimensões 10 por 50mm, onde foram

aplicados de 5 a 10 μ L de cada amostra utilizando-se microseringas. A (TABELA 1) apresenta os solventes da fase móvel e os reveladores utilizados neste experimento.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS FASES MÓVEIS E REVELADORES DA CROMATOGRÁFICA EM CAMADA DELGADA REALIZADA PARA EXTRATOS E FRAÇÕES

Componentes químicos	Fase Móvel	Revelador	Metodologia
Alcaloides	Clorofórmio, metanol (95:5) universo amônio	Dragendorf	VALENTE et al., (2006)
Cumarinas	Tolueno:Acetato de etila (80:20)	Reativo de NEU e NaOH 1N	VALENTE et al., (2006)
Esteroides / Triterpenos	Tolueno:Acetato de etila (93:7)	Vanilina(1%) ác. Sulfúrica (1%) (1:1)	Wagner (1996)
Flavonoides	Acetato de etila, ác. fórmico, ác. cético glacial, água (100:11:11:26)	Reativo de NEU	Wagner (1996)
Taninos	Clorofórmio: metanol (80:20)	Cloreto férrico	Wagner (1996)

FONTE: O AUTOR (2021) Nota: Reativo de NEU – Difenoilboriloxietilamino a 1% em metanol; Dragendorff – Tetraiodeto bismuto de potássio.

FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA



FONTE: O autor (2019)

3. 2. 8 Avaliação do Potencial Biológico *in vitro*

Os ensaios de potencial biológico *in vitro* são descritos como métodos adequados para a avaliação preliminar de atividade biológica. Tratam-se de métodos clássicos de baixo custo, e que racionalizam a pesquisa de novas substâncias com

interesse terapêutico. Os métodos propostos para este trabalho estão apresentados a seguir.

3. 2. 8. 1 Avaliação Do Potencial De Letalidade A *Artemia salina*

Para a realização deste ensaio foi utilizada a metodologia descrita por Meyer et al., (1982) com modificações. Os ovos de *Artemia salina* foram adicionados a uma solução salina 3,5% para atingir a concentração de 0,5g/mL. A eclosão dos náuplios foi realizada com iluminação artificial, aeração constante da solução e pH mantido em 9 por 48 horas. As amostras foram testadas nas concentrações de 50µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL e 1000µg/mL.

Após a eclosão, 10 indivíduos foram submetidos durante 24 horas frente a cada concentração em quintuplicata, e então foram contabilizados os indivíduos mortos. Soluções de Dodecilsulfato de sódio (SDS) nas mesmas concentrações foram utilizadas como controle positivo e metanol como controle negativo. Os dados foram analisados por regressão linear e expressos como a dose letal para 50% dos indivíduos (CL_{50%}). As amostras foram consideradas potencialmente capaz de causar letalidade quando a CL_{50%} se apresenta menor que 1000µg/mL.

3. 2. 8. 2 Avaliação Do Potencial Citotóxico Pelo Método Mtt

Atividade de succinato desidrogenase (ensaio MTT), tem sido amplamente utilizado para avaliar a viabilidade celular. No entanto, deve-se considerar que a redução enzimática do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio (MTT) para MTT- formazan é catalisada pela succinato desidrogenase mitocondrial. Portanto, o ensaio MTT depende da respiração mitocondrial e indiretamente serve para avaliar a capacidade de energia celular de uma célula (CHACON et al, 1997).

Para os ensaios citotóxicos com o óleo essencial de *Physalis pubescens* L. foram utilizadas células de melanoma B16-F10 (ATCC CRL-6475). As células foram cultivadas em meio DMEM (meio Eagle modificado por Dulbecco) contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), foram tripsinizadas utilizando uma solução tripsina-EDTA, sendo inativada por 10 mL de meio DMEM (20% SFB). O valor médio da contagem foi de 58.10⁴ células/mL. Considerando o volume do meio necessário para cada poço

de 500 μL , foi preparada uma diluição utilizando 2,5 mL da suspensão celular e completado para 25 mL de meio DMEM (10% SFB), a partir de então foi realizado o plaqueamento pipetando-se 500 μL da suspensão em cada poço. As concentrações testadas foram entre 5×10^{-4} , 1×10^{-4} , 5×10^{-5} , 1×10^{-5} , 5×10^{-6} , 1×10^{-6} , 5×10^{-7} e 1×10^{-7} $\mu\text{g/mL}$.

Após 24 horas, tempo necessário para a adesão das células, as duas placas (leitura em 24 e 48 horas) foram tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial de *Physalis pubescens* L., obtidas através de diluições da solução estoque.

A viabilidade celular foi analisada pelo método do MTT, este ensaio baseia-se na medida do dano induzido pelo composto em estudo no metabolismo celular usualmente através da avaliação da atividade das desidrogenases mitocondriais. Para isso foi preparado uma solução estoque de MTT a 0,5 mg/mL. A cada poço foi adicionado 100 μL da solução de MTT (0,5 $\mu\text{g/mL}$) com posterior incubação das placas por 2 horas, a leitura foi feita por espectrofotometria a 540 nm (LIMA et al, 2006);

3. 2. 8. 3 Avaliação do Potencial Hemolítico

A avaliação do potencial hemolítico foi realizada conforme a metodologia descrita por (WHO, 1998) com adaptações. Para o preparo da suspensão de eritrócitos foram utilizados 15mL de sangue de carneiro comercial (NEWPROV[®]) que foram centrifugados a 3000 rpm por 3 minutos.

O sobrenadante foi descartado e os eritrócitos lavados com solução tampão fosfato (pH 7,4) por 3 vezes. As células foram ressuspendidas em solução tampão fosfato (pH 7,4) para alcançar a concentração de 15%.

As amostras foram diluídas em solução a 500 $\mu\text{g/mL}$ em dimetil-sulfóxido (DMSO) 1% e solução tampão NaCl 0,9%. Foram utilizadas 5 concentrações em recipiente de eppendorf nas concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 750 $\mu\text{g/mL}$ e 1000 $\mu\text{g/mL}$ dos extratos e frações de folha e caule de *Physalis pubescens* L., em seguida solubilizadas em tampão fosfato 7,4pH em quintuplicata. Então foram incubadas em estufa a 37°C por 3 horas e as absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro a 540nm.

Como controle positivo foi utilizada uma solução de Triton 1% e como controle negativo foi utilizado um tubo-teste sem tratamento. O resultado foi expresso em porcentagem de hemólise baseado em 100% de hemólise normalizado para o controle positivo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PERDA POR DESSECAÇÃO

A determinação da perda de umidade verifica se na (TABELA 2) que a secagem do material foi eficiente. A presença de umidade pode causar a degradação do material por contaminação microbológica e a secagem excessiva a degradação de compostos por hidrólise (SIMÕES et al., 2010).

Os valores obtidos na determinação de umidade de folha e caule de *Physalis pubescens* L. estão expressos em porcentagem em relação ao material ambiente.

TABELA 2 - RENDIMENTO DE TEOR DE UMIDADE E DESVIO PADRÃO

Amostra	Umidade (g%) – Média / DP
Folha	9,89 ± 0,38
Caule	7,45 ± 0,21

FONTE: O AUTOR (2021)

O teor de umidade detectado para espécie vegetal *Physalis pubescens* L., encontra-se dentro dos limites (8 a 14%) estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira VI (2019). Assim verificou-se um resultado inferior ao limite máximo de 14%, demonstrando que houve eficiência durante o processo de secagem do material botânico e que o mesmo é estável, a presença excessiva de água pode interferir na contaminação. Esse resultado pode contribuir para estabelecimento de padrões de qualidade e caracterização da espécie vegetal.

4.2. DETERMINAÇÃO DE CINZAS

O teor de cinzas totais é um parâmetro físico-químico que estabelece a quantidade de substâncias residuais não voláteis presentes na amostra. É a soma da matéria inorgânica intrínseca mais as substâncias de origem externa ou matéria inorgânica extrínseca. (SIMÕES et al., 2010). Esse parâmetro de limite entre (8 a 14%) está presente na Farmacopeia Brasileira VI, e é utilizado pela indústria farmacêutica no controle de qualidade da matéria-prima utilizada na produção de fitoterápicos.

Valores que acima do estabelecido para uma determinada matéria-prima vegetal indica a presença de impureza inorgânica extrínsecas (SIMÕES et al., 2010).

Os valores obtidos na determinação de cinzas de folha e caule de *Physalis pubescens* L. estão expressos em porcentagem em relação ao material vegetal seco à temperatura ambiente.

TABELA 3 - RENDIMENTO DE TEOR DE CINZAS E DESVIO PADRÃO

Amostra	Cinzas Totais (g%) - Média/DP
Folha	7,88 ± 0,42
Caule	7,25 ± 0,36

FONTE: O AUTOR (2021)

4.3 RENDIMENTO DE SÓLIDOS TOTAIS FOLHA

Após a realização de extração hidroalcoólica, o EB1 folha, foi reduzido de volume por meio de rota-evaporador e em banho-maria para redução volume dos compostos voláteis. A porção de extrato bruto obtido foi de 96,5g, sendo realizado o cálculo de rendimento de sólidos totais e desvio padrão.

TABELA 4 - RENDIMENTO DE SÓLIDOS TOTAIS FOLHA E DESVIO PADRÃO

Amostra Folha	Rendimento sólidos Totais / DP
EB1	0,409 ± 0,009

FONTE: O AUTOR (2021)

4.3.1 Rendimento das Frações da Folha

Para as frações obteve-se, os seguintes rendimentos.

TABELA 5 - RENDIMENTO DE FRAÇÕES FOLHA

Amostra Folha	Massa obtida (g)	Rendimento (%) média / DP
FH1	0,1482	0,0841 % ± 0,145
FC1	2,0335	1,1520 % ± 0,713
FA1	0,9974	0,5660 % ± 0,499
FR1	23,6123	13,4008 % ± 1,830

FONTE: O AUTOR (2021)

4.4 RENDIMENTOS DE SÓLIDOS TOTAIS CAULE

Após a realização de extração hidroalcoólica, o EB2 caule, foi reduzido de volume por meio de rota-evaporador e em banho-maria para redução volume dos compostos voláteis. A porção de extrato bruto obtido foi de 195g, sendo realizado o cálculo de rendimento de sólidos totais e desvio padrão.

TABELA 6 - RENDIMENTO DE SÓLIDOS TOTAIS CAULE E DESVIO PADRÃO

Amostra Caule	Rendimento Sólidos Totais / DP
EB2	0,412 ± 0,009

FONTE: O AUTOR (2021)

4.4.1 Rendimento das Frações Caule

Após realizada a extração por meio solventes de polaridade crescente, cada produto da extração foi deixado em repouso para volatilização de resíduos dos solventes em capela de exaustão, as frações resultantes foram pesadas identificadas em recipientes distintos, para em sequência ser realizado o cálculo de porcentagem.

Para as frações que foram particionadas obteve-se, os seguintes rendimentos.

TABELA 7 - RENDIMENTO DE FRAÇÕES CAULE

Amostra Caule	Massa Obtida (g)	Rendimento (%) Média / DP
FH2	0,1302	0,07% ± 0,180
FC2	2,0163	1,05% ± 0,709
FA2	4,1108	2,14% ± 1,013
FR2	66,3017	34,46% ± 4,072

FONTE: O AUTOR (2021)

4.5 ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Para as leituras em CCD as frações revelaram os seguintes compostos.

TABELA 8 - REPRESENTAÇÃO DE ANÁLISE POR CCD DO EXTRATO E FRAÇÕES DA FOLHA

Grupo de Compostos	FH1	FC1	FA1	FR1
Esteroides	+	+	-	-
Triterpenos	+	+	-	-
Flavonoides	+	+	-	-
Taninos	-	-	+	-
Alcaloides	-	+	-	-
Cumarinas	+	-	-	-

FONTE: O Autor (2021). Nota: Fração Hexano (FH1), Fração clorofórmio (FC1), Fração acetato de etila (FA1), Fração Remanescente (FR1) correspondente a Frações da folha.

TABELA 9 - REPRESENTAÇÃO DE ANÁLISE POR CCD DO EXTRATO E FRAÇÕES DO CAULE

Grupo de Compostos	FH2	FC2	FA2	FR2
Esteroides	+	+	-	-
Triterpenos	+	+	-	-
Flavonoides	-	+	-	-
Taninos	-	-	+	-
Alcaloides	-	+	-	-
Cumarinas	-	+	-	-

FONTE: O Autor (2021). Nota: Fração Hexano (FH2), Fração Clorofórmio (FC2), Fração Acetato de etila (FA2), Fração Remanescente (FR2) correspondente a frações do caule.

Estudos fitoquímicos preliminares, por meio de extração em análises de Clorofórmio, Éter dietílico, etanol, Etil extrato de Acetato e Metanol de caule, folhas. Sugeriu a presença de Alcaloides, Flavonoides, glicósidos cardíacos, fenóis, saponinas, Esteroides, taninos e Terpenoides que podem estar presentes em todas as partes da planta, independentemente do solvente utilizado no processo de extração (DORCUS et al., 2012).

A presença deste composto em espécies da família Solanaceae foi evidenciada por Lôbo et al. (2010) ao realizarem a prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam., por Cornelius et al. (2004), os quais isolaram a solasonina de *Solanum crinitum* Lam., e por Griffin et al. (2000) ao avaliarem a presença de alcalóides tropânicos nas famílias Solanaceae, Erythroxylaceae, Proteacea, Convolvulaceae, entre outras.

Em espécies do gênero *Physalis* a presença de alcaloides de diferentes grupos foram encontrados por Edeoga et al. (2005) para *Physalis angulata*, os quais constataram também a presença de saponinas, esteroides, glicosídeos, taninos e flavonoides, e por Drost-Karbowska et al. (1993), em *Physalis ixocarpa*, que encontraram, além de alcaloides, os vitanólidos, saponinas, e flavonoides.

O valor medicinal das plantas reside nos constituintes fitoquímicos bioativos, que produzem efeitos fisiológicos definidos no corpo humano. Muitas plantas medicinais possuem propriedades antibacterianas, propriedades antifúngicas e inseticidas contra amplos espectros de organismos. Muitos ativos fitoquímicos, como flavonoides, terpenoides, vitaminas, alcaloides, etc, responsáveis por essas atividades (DORCUS, 2012).

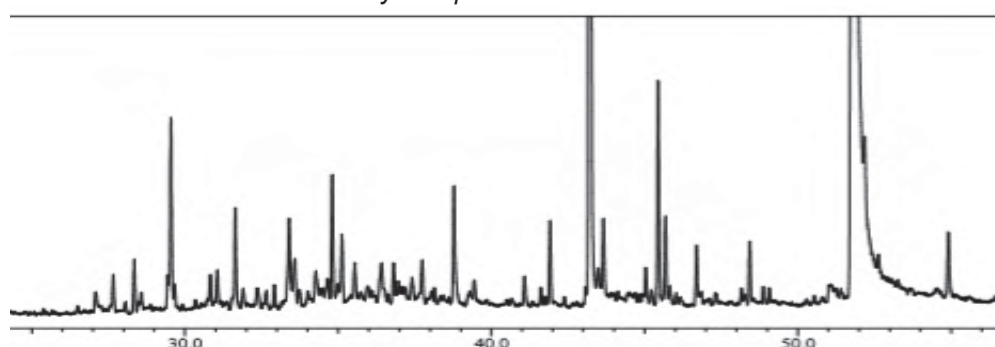
4.6 ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA DO ÓLEO ESSENCIAL OBTIDO DAS FOLHAS DE *Physalis pubescens* L.

A porção vegetal de (600g de folhas) foi submetido à extração continuada em aparelho de Clevenger com água a 70°C durante 24 horas, em seguida foi recolhido uma porção de óleo de 0,1013g corresponde a 0,017%, sendo o mesmo encaminhado para análise em cromatografia em fase gasosa.

Antes de serem injetadas no cromatógrafo a gás, a amostra foi filtrada em filtro de seringa Millipore (poros de 0,45 µm), e em seguida acondicionada em frasco “vial” (2 mL) para injeção automática no aparelho.

A descrição de compostos foi feita por comparação com a biblioteca de dados do livro “*Identification of essential oil components by gás chromatography / mass spectrometry*” (ADANS, 2007).

FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO DE CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Physalis pubescens* L. CG.



FONTE: O autor (2019).

A análise do óleo essencial de folhas de *Physalis pubescens* L. (TABELA 10) permitiu o reconhecimento da predominância de álcool diterpenoide Fitol (67,41%), seguidos por cetonas, aldeídos e furano diterpeno (32,59%), em menor quantidade. Foi possível identificar 7 constituintes, totalizando 98,1%, cujos tempos de retenção, índices e porcentagens estão resumidos na Tabela a seguir.

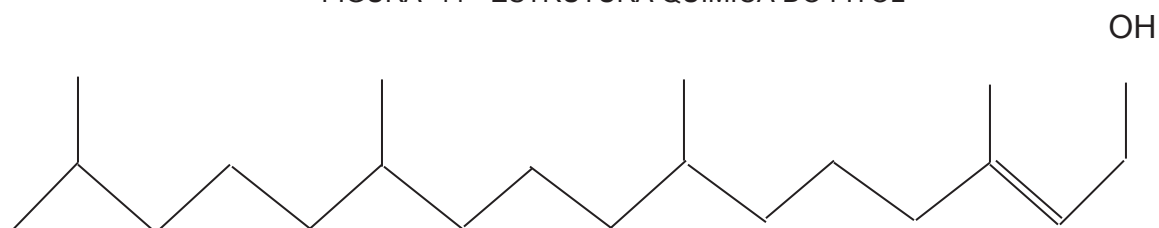
TABELA 10 - REPRESENTAÇÃO DE COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL ANALISADOS POR CG.

Nº	Identidade	Classificação	T.R.	A.I.	A.I.	(%)
1	(E)- β -Ionona	Cetona	29,544	1474	1487	1,12
2	Isômero de Megastigmatrienona	Cetona	31,643	1526	15,48	0,62
3	Isômero de Megastigmatrienona	Cetona	35,121	1615	16,45	0,55
4	Pentadecanal	Aldeído	38,781	1713	1710	0,91
5	Hexa-hidrofarnesil	Cetona	43,221	1839	1840	26,23
6	(5E, 9E)-Farnesil acetona	Cetona	45,441	1905	1913	1,25
7	3- Metil-2-(3,7,11-trimetildodocil) furano	Furano diterpenoide	45,682	1913	1931	0,56
8	Fitol	Álcool diterpenoide	51,779	2106	2111	67,41
9	Compostos não identificados	N.i.	13,623	865	874	1,35

FONTE: O autor (2020). Nota: Não identificado (N.i.), Cromatografia Gasosa (C.G.), Índice de Retenção (T. R.), Índice Aritmético (A.I.)

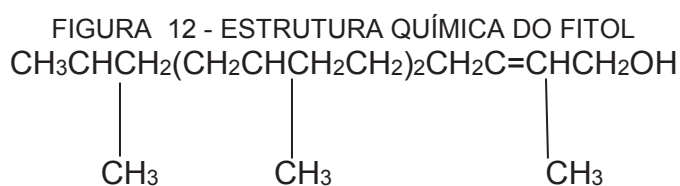
As plantas medicinais contêm uma variedade de compostos bioativos, incluído os constituintes dos óleos essenciais, estes óleos em sua maioria de derivados terpenoides (SANTOS et al., 2011). O fitol é um diterpeno membro do grupo dos alcoóis alifáticos insaturados de cadeia ramificada longa (FIGURA 11 e 12).

FIGURA 11 - ESTRUTURA QUÍMICA DO FITOL



FONTE: ADAPTADO DE (SANTOS, 2011).

O fitol, é um importante componente da molécula de clorofila, da qual é obtida no tratamento com solução alcalina. O arranjo das unidades de isopreno no fitol é idêntico ao da vitamina A, um derivado monocíclico do diterpeno, e é típico do arranjo cabeça a cauda das unidades de isopreno encontradas na maioria dos terpenos (EASTMAN et al., 2020).



FONTE: ADAPTADO DE (EASTMAN, 2020).

Fitol, um composto orgânico usado na fabricação de vitaminas sintéticas E e K1. O fitol foi obtido pela hidrólise (decomposição em água) da clorofila em 1909, pelo químico alemão Richard Wilstätter. Sua estrutura foi determinada em 1928 pelo químico alemão F. G. Fischer. O fitol pode ser obtido no processo de separação da clorofila da alfafa (MAGGI *et al* 2006; EASTMAN, 2020). A conversão de fitol em α -tocoferol, a mais potente das vitaminas E, sendo essencial para a reprodução em ratos, foi relatada em três laboratórios em 1938 e foi aplicada em fabricação comercial. Uma síntese da vitamina K1 a partir do fitol foi desenvolvida em 1939 (EASTMAN et al, 2020).

Em sua rota de degradação, o fitol pode ser convertido a ácido fitânico, o que pode ser associado com uma desordem metabólica dos lipídeos, de caráter recessivo, denominada de “Síndrome de Refsum” um distúrbio, que interfere no metabolismo das gorduras, se acumula nos tecidos. Alguns indivíduos são incapazes de metabolizar o ácido fitânico, o que favorece seu acúmulo no sangue e em diversos órgãos, incluindo fígado e rins (COSTA et al.,2011).

Esse terpeno está disponível em abundância na natureza, sendo um produto do metabolismo da clorofila nas plantas. A quantidade de fitol livre em numerosas plantas, algas e alimentos (CARVALHO et al.,2019)

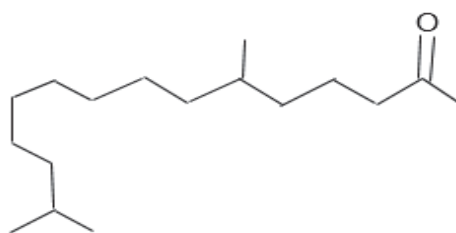
Segundo Carvalho *et al.*, (2019), o fitol tem várias propriedades farmacológicas, como efeitos antinociceptivos, anti-inflamatórios e antioxidação. Além disso, também foi relatado ter efeitos antitumorais e efeitos anticarcinogênico.

O uso terapêutico do fitol e seus análogos, demonstram potencial na atividade antimicrobacteriana e antituberculose. Além disso, pode apresentar efeito anti-inflamatório e antinociceptivo em modelos de artrite reumatoide (COSTA *et al.*,2011).

Para SILVA *et al.*, (2015), o fitol tem se mostrado um promissor agente antiparasitário. O fitol pode inibir o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* por indução de estresse oxidativo e apresentar atividade antimicrobacteriana (CIANFAGLIONE *et al.*, 2017).

O segundo componente encontrado em maior quantidade no óleo é a hexahidro farnesil acetona (6,10,14-trimetil-2-pentadecanona) é um composto carbonílico derivado do álcool diterpen-fitol e muito comum na fração volátil de plantas. Notavelmente, a hexahidro farnesil acetona é produzida por várias orquídeas como um composto semelhante ao feromônio, capaz de atrair abelhas (CIANFAGLIONE *et al.*, 2017).

FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DA HEXAHIDRO FARNESIL



FONTE: ADAPTADO DE (FERNANDES, 2016)

Para atividade da hexahidro farnesil acetona, sendo um bioativo em óleos essenciais presente em cascas, folhas, caules, pode ser esta substância de interesse terapêutico. Pois apresenta, uma potente atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivos e negativas (BALGON *et al.*, 2017).

O composto hexahidro farnesil acetona pode apresentar potencial atividade fitotóxica nas folhas da planta *Ecballium elaterium*. Como também sendo classificado como bioativo capaz de indicar atividade antifúngica, antibacteriana e citotóxica. Segundo (RAZAVI *et al* 2010).

4.7 BIOENSAIOS

4.7.1 Avaliação preliminar da Toxicidade dos Extratos Brutos e Frações de folhas e caules.

4.7.1.1 Avaliação do Potencial de Letalidade a *Artemia salina*

Os resultados do teste de toxicidade analisados pelo método *Artemia salina* estão apresentados na tabela 11.

TABELA 11 - RESULTADOS DE INTERPRETAÇÃO DO TESTE *Artemia salina*.

Amostras	CL50 ($\mu\text{g/mL}$)	Intervalo de Confiança 95%
Período em 24 horas	24h	24h
EB1	> 1000	-
FH1	561,19	508,38 - 619,67
FC1	544,28	492,28 - 601,90
FA1	542,10	484,12 - 584,45
FR1	> 1000	-
EB2	> 1000	-
FH2	512,97	464,95 - 565,32
FC2	544,00	493,03 - 600,10
FA2	487,79	440,62 - 539,30
FR2	> 1000	-

FONTE: O AUTOR (2019). *controle positivo SDS: $\text{CL}_{50\ 24\text{h}} = 63,15\mu\text{g/mL}$

Como demonstrado em Petrobrás (1996), a concentração efetiva (CL50) do dodecilsulfato de sódio (SDS) está em torno de $13\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, o que foi verificado nos resultados obtidos: $\text{CL}_{50\ \text{SDS}\ 24\text{h}} = 13,88\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $\text{CL}_{50\ \text{SDS}\ 48\text{h}} = 13,57\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Esta constatação demonstra que os náuplios estão como a sensibilidade padronizada, evitando resultados falsamente exacerbados ou atenuados. Os resultados para toxicidade aguda em *Artemia salina* servem como parâmetro para a espécie, uma vez

que ensaios ecotoxicológicos nunca haviam sido realizados para se estabelecer comparações.

Para Lhullier et al (2006), a presença de compostos bioativos em doses elevadas quase sempre é tóxica. Assim, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo, pode resultar em monitoramento viável durante o fracionamento de extratos.

O teste de toxicidade contra a *Artemia salina* é um ensaio biológico considerado como uma das ferramentas mais utilizadas para a avaliação preliminar de toxicidade. Desta forma, *A. salina* tem sido usada como um organismo alvo para detectar compostos bioativos em extratos de plantas (AMARANTE et al, 2011).

A toxicidade para este crustáceo tem demonstrado uma boa correlação com a atividade citotóxica, contra tumores humanos e atividade contra o *Trypanosoma cruzi* protozoário causador da doença de Chagas (AMARANTE et al., 2011).

Em *Physalis pubescens* L. a atividade tóxica ocorreu nas frações Hexano, Clorofórmio e acetato de etila, sendo os resultados da fração de acetato de etila do caule a mais tóxica. Esta fração foi a mais tóxica para *Artemia salina*, com $CL_{50} = 487,79 \mu\text{g/mL}$ (em 24hs de exposição) dentro do parâmetro de moderada toxicidade.

Baseando-se em Meyer (1982), podemos considerar tóxicas amostras que demonstram $CL_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Entretanto, em Amarante et al., (2011), foi estabelecida uma nova relação entre grau de toxicidade e CL_{50} :

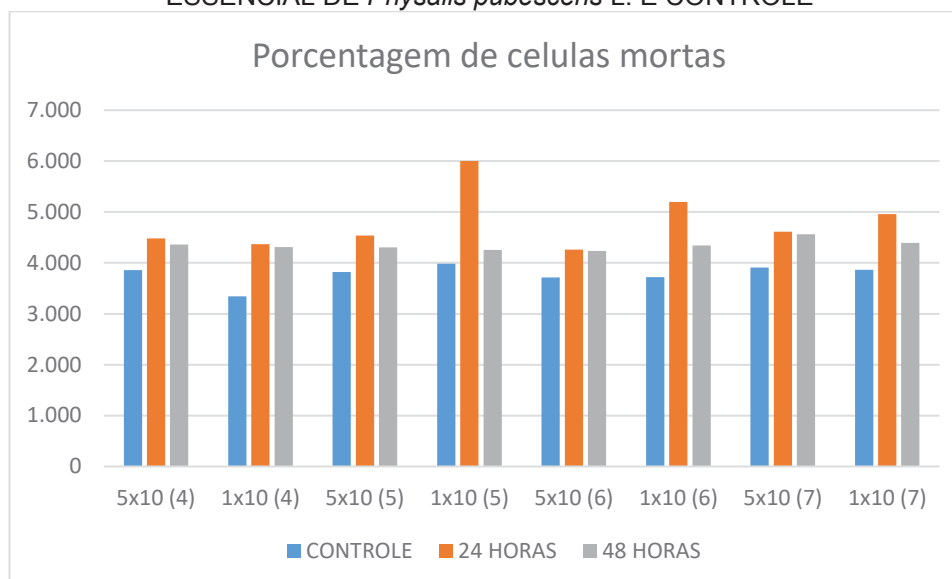
- Baixa toxicidade: $CL_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$
- Moderada toxicidade: $100 \mu\text{g/mL} < CL_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$
- Alta toxicidade: $CL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$

Portanto, as frações Hexano e clorofórmio estão caracterizadas com baixa toxicidade, a fração Acetato de Etila do caule é considerada de moderada toxicidade.

4.7.1.2 Avaliação do Potencial citotóxico pelo método MTT

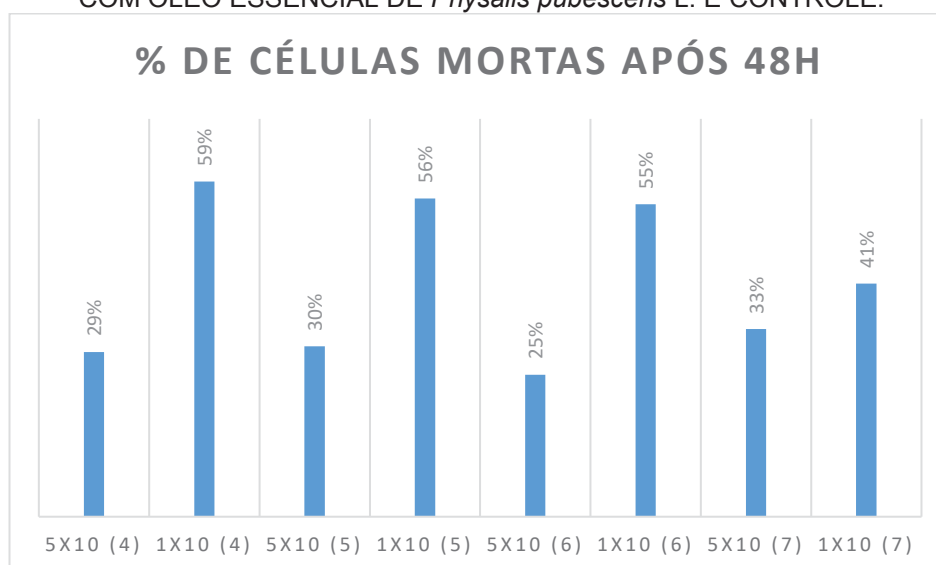
O resultado é expresso em absorbância, representando um índice de morte celular, como pode ser visto no ensaio MTT da viabilidade celular, na contagem de 24 horas verifica-se a redução expressiva, permanecendo continua em 48 horas de tratamento.

GRÁFICO 1 - ANÁLISE DE CITOTÓXICA DE 24 E 48 HS DE TRATAMENTO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Physalis pubescens* L. E CONTROLE



FONTE: O autor (2019).

GRÁFICO 2 - ANÁLISE DE CITOTÓXICA EM PORCENTAGEM APÓS 48 HS DE TRATAMENTO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Physalis pubescens* L. E CONTROLE.



FONTE: O autor (2019).

O método MTT é um dos métodos utilizados para analisar a proliferação e viabilidade celular. Por meio de ensaio colorimétrico para atividade metabólica celular (KUIITE et al., 2017).

As vantagens do ensaio MTT incluem facilidade e rapidez de desempenho, reprodutibilidade dos resultados e correlação clínica observada entre testes in vitro e

in vivo. O ensaio também permite ser aplicado na avaliação da terapia medicamentosa citotóxica (WINIKOFF et al., 2005).

As células saudáveis e de rápido crescimento exibem altas taxas de redução de MTT para formazan, enquanto as células mortas ou inativas não conseguem fazê-lo. A viabilidade no ensaio MTT está relacionada à quantificação de formazan a 540nm, que está associado à atividade enzimática e indiretamente ao número de células viáveis (BAHUGUNA et al., 2017).

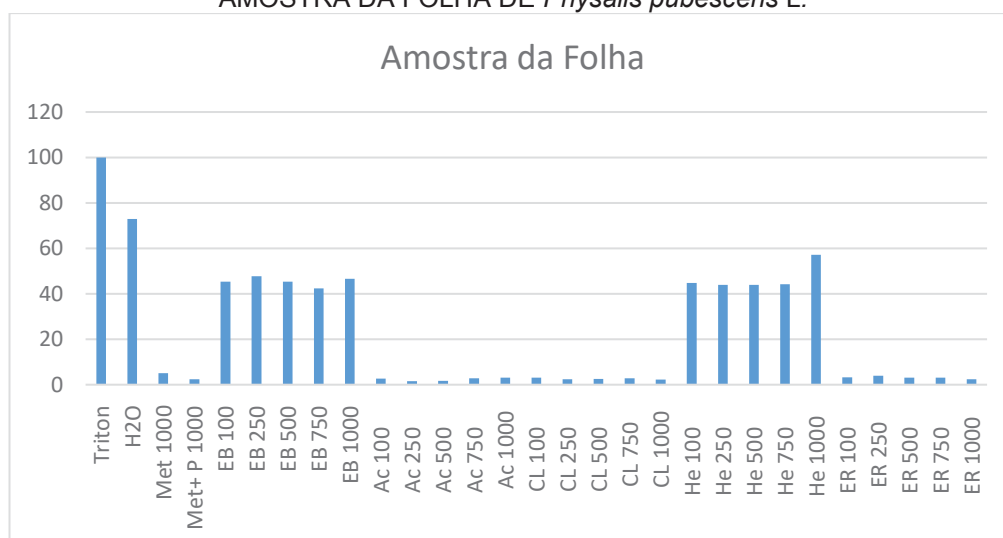
Experimentos de citotoxicidade são projetados para avaliar a concentração máxima não tóxica de um composto, fornecendo meios para avaliação de segurança, para rotular e classificar os compostos (TOLOSA et al., 2015).

4.7.1.3 Avaliação do Potencial Hemolítico

A hemólise caracteriza-se pela análise da membrana dos eritrócitos, promovendo a liberação de hemoglobina no plasma, fator este que pode ocasionar danos a atividade fisiológica dos rins (nefrotoxicidade). Processos hemolíticos liberam íons potássio no meio extracelular e um aumento de K⁺ que pode levar à parada cardíaca e morte em casos extremos (CARVALHO et al., 2007). Desta forma, faz-se necessário avaliar o potencial de desenvolvimento de processos hemolíticos.

Foi observado atividade hemolítica ocasionada pelo Extrato Bruto e nas frações da folha de *Physalis pubescens* L. em diferentes proporções. Considerando que a hemólise total pelo controle positivo Triton (1000 µg/mL) seja 100%, pode-se relatar que hemólise basal (aquela que ocorre naturalmente em solução tampão) apresentou 6,85%. Ao analisar os resultados, verificou-se que o EB1 (Extrato Bruto) e a fração He1 (Hexano) apresentaram uma porcentagem em torno de 40 a 50% para atividade hemolítica. Conforme estão apresentados os resultados nos gráficos 3 e tabela 12 segue os resultados encontrados pelo teste de Tukey.

GRÁFICO 3 - ANÁLISE DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA COM EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA AMOSTRA DA FOLHA DE *Physalis pubescens* L.



FONTE: O autor (2019).

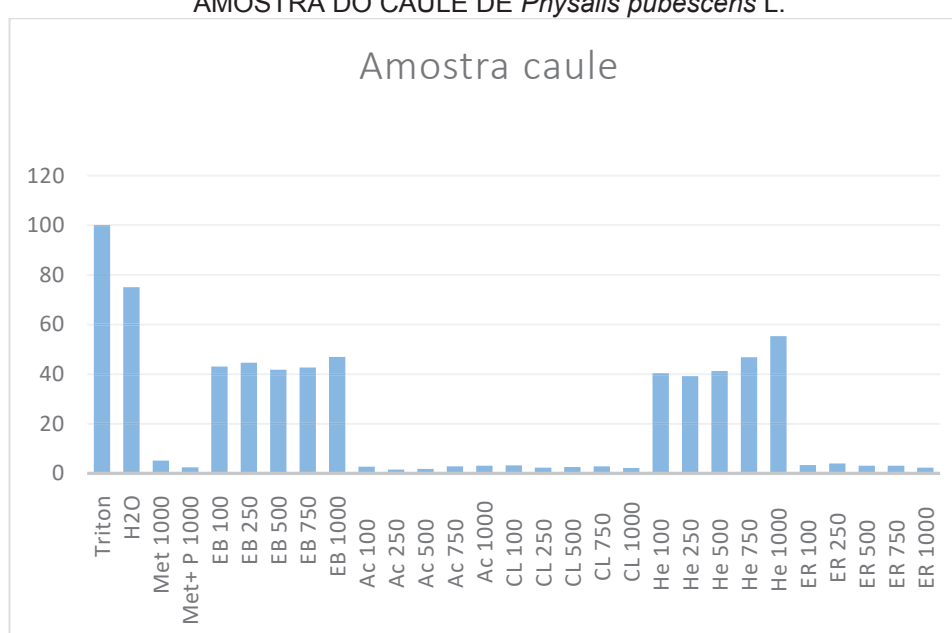
TABELA 12 - POTENCIAL HEMOLÍTICO DO EXTRATO E FRAÇÕES DO FOLHA DE *Physalis pubescens* L.

Amostra (µg/mL)	Hemólise (%)	Classificação do teste de tukey
Ac 250	1.500000	a1
Ac 500	1.730000	a2
CL 1000	2.190000	a3
CL 250	2.360000	a4
ER 1000	2.360000	a4
Met + P 1000	2.420000	a5
CL 500	2.540000	a6
Ac 100	2.710000	a7
CL 750	2.770000	a8
Ac 750	2.830000	a9
ER 750	3.050000	a10
ER 500	3.060000	a11
Ac 1000	3.120000	a12
CL 100	3.170000	a13
ER 100	3.290000	a14
ER 250	3.930000	a15
Met 1000	5.060000	a16
EB 750	42.430000	a17
He 250	43.870000	a18
He 500	43.930000	a19
He 750	44.160000	a20
He 100	44.730000	a21
EB 500	45.310000	a22
EB 100	45.370000	a23
EB 1000	46.640000	a24
EB 250	47.740000	a25
He 1000	57.220000	a26
H2O	73.000000	a27
Triton	100.000000	a28

FONTE: O autor (2021)

Para a atividade hemolítica no extrato e nas frações do caule de *Physalis pubescens* L. em diferentes proporções. Ao analisar os resultados, verificou-se que as frações de EB2 (Extrato Bruto) e He2 (Hexano) apresentaram uma porcentagem em torno de 40 a 50% para atividade hemolítica. Conforme estão apresentados os resultados nos gráficos 4 e tabela 13 segue os resultados encontrados pelo teste de Tukey.

GRÁFICO 4 - ANÁLISE DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA COM EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA AMOSTRA DO CAULE DE *Physalis pubescens* L.



FONTE: O autor (2019).

TABELA 13 - POTENCIAL HEMOLÍTICO DOS EXTRATO E FRAÇÕES DO CAULE *Physalis pubescens* L.

Amostra (µg/mL)	Hemólise (%)	Classificação do teste de tukey
Ac 250	1.500000	a1
Ac 500	1.730000	a2
CL 1000	2.190000	a3
CL 250	2.360000	a4
ER 1000	2.360000	a4
Met + P 1000	2.420000	a5
CL 500	2.540000	a6
Ac 100	2.710000	a7
CL 750	2.770000	a8
Ac 750	2.830000	a9
ER 750	3.050000	a10
ER 500	3.060000	a11
Ac 1000	3.120000	a12
CL 100	3.170000	a13
ER 100	3.290000	a14
ER 250	3.930000	a15
Met 1000	5.150000	a16
He 250	39.250000	a17
He 100	40.320000	a18
He 500	41.200000	a19
EB 500	41.800000	a20
EB 750	42.710000	a21
EB 100	43.120000	a22
EB 250	44.620000	a23
He 750	46.800000	a24
EB 1000	46.700000	a25
He 1000	55.250000	a26
H2O	75.000000	a27
Triton	100.000000	a28

FONTE: o autor (2021)

5. CONCLUSÃO

Considerando o objetivo proposto para este trabalho o estudo de composto químicos da *Physalis pubescens* L. e avaliação Biológica, pode-se fazer algumas conclusões.

Para a composição do óleo essencial, verificou se a presença de 7 principais compostos em ordem de abundância, 3-Metil-2- (3,7,11-trimetildodocil) 0,56% Furano diterpeno, Isômero de Megastigmatrienona 0,62% cetona, Pentadecanal 0,91% Aldeído, (E)- β -Ionona 1,12% cetona, (5E, 9E) - Farnesil acetona 1,25% Cetona, Hexahidrofarnesil acetona 26,23% Cetona, Fitol 67,41% um Álcool diterpeno. Com predominância de Fitol em sua composição.

Em pesquisa preliminar por CCD, em extratos foi possível a detecção da presença das seguintes classes metabólicas secundárias: alcaloides, flavonoides, esteroides, terpenos e Cumarinas.

A bioatividade sobre microcrustáceo *Artemia salina* evidenciou níveis de toxicidade nas frações Hexano, Clorofórmio e Acetato de etila, sendo que os resultados da fração de acetato de etila com moderada tóxica. Esta fração foi a que se destacou com $CL_{50} = 487,79 \mu\text{g/mL}$ (em 24hs de exposição) dentro do parâmetro de moderada toxicidade.

Para a atividade citotóxica constatou-se que o maior índice de morte celular ocorreu no período de 24 horas. Assim permitindo sugerir que no ensaio de MTT com os compostos presentes no óleo, atuam na redução de células vivas, dentro do período de 24h de análise do óleo.

Em relação a atividade hemolítica, observou-se que quatro amostras se destacaram sendo o Extrato bruto (EB1 e EB2) e frações Hexano (He1 e He2) com aproximadamente 40% para hemólise, tanto para as frações da folha quanto para as frações do caule.

Considerando os resultados obtidos sobre o óleo e extratos, em relação a atividade biológica positivos. Faz-se necessário novas avaliações futuras para outras condições, referente a outras partes da planta e períodos de sazonalidade. Para assim, analisar outros parâmetros de influência quanto a sua composição. Como também outros testes biológicos Antioxidante, Antibacteriano, Atividade Alelopática.

REFERÊNCIA

ADAMS, R. P.; Identification of Essential oil Componentes by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. **Biology Department – Baylor University** 4Th edition.

AGRA, M. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R.; Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). **Acta Bot. Bras.** vol.23 nº.3 São Paulo July/Sept. 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-33062009000300024&script=sci_artt_ext. Acesso em: 01 de Outubro de 2019.

AMARANTE, C. B.; MÜLLER, A. H.; PÓVOA, M. M.; DOLABEA, M. F.; Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **ACTA AMAZONICA**. vol. 41(3) 2011: 431 - 434 Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/aa/v41n3/a15v41n3.pdf>>. Acesso em 09 de Fevereiro de 2020.

ANTUNES, F. A. J.; Estudo da capacidade antioxidante da *Physalis* e revisão da sua aplicação na área da saúde. **Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz**, 2016. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/15324/1/Antunes_Filipa_Alexandra_Jorge.pdf>. Acesso em: 09 de Fevereiro de 2020.

BALOGUN, S. O.; AJAVI O. S.; ADELEKE, A. J.; Hexahydrofarnesyl Acetone-Rich Extractives from *Hildegardia barteri*. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants** 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10496475.2017.1350614?journalCode=whsm20>>. Acesso em: 12 de Abril de 2020.

BAKKALI, F. Et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BAHUGUNA, A.; Khan, I.; BAJPAI, V.; Kang, S. C.; MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. **Bangladesh J Pharmacol.** 2017; **12:115-118**. Disponível

em: < https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-2074-7_26>. Acesso em 28 de Abril de 2020.

BARCHI, I.; PIETRELLA, M.; VENTURINE, L.; MINIO, A.; TOPPINO, L.; ACQUADRO, A.; ANDOLFO, G.; APREA, G.; AVANZATO, C.; BASSOLINO, L.; COMINO, C.; MOLIN, A. D.; FERRARINI, A.; MAOR, L. C.; PORTIS, E.; REYES-CHIN-WO, S.; RINALDI, R.; SALA, T.; SCAGLIONE, D.; SONAWANE, P.; TONONI, P.; ALMEKIAS-SIEGL, E.; ZAGO, E.; ERCOLANO, M. R.; AHARONI, E.; DELLEDONNE, M.; GIULIANO, G.; LAMTERI, S.; ROTINO, G. L.; **A Chromosome-Archored Eggplant genome sequence reveals key events in Solanacea evolution.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6692341/>>. Acesso em 29 de Setembro de 2019.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M.; A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & saúde**, 2012 - SciELO Public Health. Disponível em: <<https://www.scielo.org/article/csc/2012.v17n10/2675-2685/pt/>>. Acesso em: 22 de Setembro de 2019.

CARVALHO, A. M. S.; HEIMFARTH, L.; PEREIRA, E. W. M.; OLIVEIRA, F. S.; MENESES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; PICOT, L. ANTONIOLLI, A. R.; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; Phytol, a Chlorophyll Component, Produces Antihyperalgesic, Antiinflammatory, and Antiarthritic Effects: Possible NFκB Pathway Involvement and Reduced Levels of the Proinflammatory Cytokines TNF-α and IL-6. **Jornal of natural products.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31953226>>. Acesso em 02 de abril de 2020.

CARVALHO, E. B.; BORGES, E. L.; CARLOS, L. M. B.; SILVA, M. A. M.; MAGALHÃES, S. M. M.; GOMES, F. V. B. A. F.; CARVALHO, M. J. C.; QUIXADÁ, A. T. S.; MARIA H. S. PITOMBEIRA, M. H. S.; Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.** V. 29, n. 2. 149-152, 2007. Disponível em:

http://www.hemoce.ce.gov.br/images/Artigos/efeitodabombadeinfusao_eunice.pdf
Acesso em 28 de maio de 2020.

CIANFAGLIONE, K.; PAPA, F.; MAGGI, F.; Volatile components of horsetail (*hippuris vulgaris* L.) growing in central Italy. **Natural Product Research**, 2017 VOL. 31, NO. 19, 2316–2320. Disponível em: <[HTTPS://DOI.ORG/10.1080/14786419.2017.1297936](https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1297936)>. Acesso em 16 de abril de 2020.

CHACON, E.; ACOSTA, D.; LEMASTERS, J. J.; PRIMARY CULTURES OF CARDIAC MYOCYTES AS IN VITRO MODELS FOR PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL ASSESSMENTS. **IN VITRO METHODS IN PHARMACEUTICAL RESEARCH**, 1997 p. 518. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/mtt-assay>>. Acesso em 06 de abril de 2020.

CHEN, X.; LI, X.; ZHANG, X.; Lijun YOU, L.; CHEUNG, P. C.; HUANG, R.; XIAO, J.; Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of a polysaccharide from *Physalis pubescens* L. in streptozotocin (STZ)- induced diabetic mice. **Food Funct.** 2019 Aug 1; 10(8):4868-4876. doi: 10.1039/c9fo00687g. Epub 2019 Jul 23. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31334540>>. Acesso em: 03 de setembro de 2019.

CORNELIUS, M. T. F., et al. Solasonina e flavonóides isolados de *Solanum crinitum* Lam. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 85, n. 2, p. 57-59, 2004.

COSTA, J. P.; LOURENÇO, N. V.; SANTOS, C. C. M. P.; TOMÉ, A. R.; SOUSA, G. F.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; FREITAS, R. M.; Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, 2012;33(3):421-428. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/view/2036/1266>. Acesso em 02 de março de 2020.

CURTAS, YAMILETH E CASTÃO, Elmer. Descripción Botânica y fitoquímica del azmin de noche (*Cestrum nocturnum* L.) **Boletín científico do museo de história natural**. Vol. 12. Manizales, 2008.

DALL'AGNOL, R.; VON POSER, G. L.; The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of ethnopharmacology**, v. 71, n1-2, 337-341, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874100001653>>. Acesso em 05 de fevereiro de 2020.

DORCUS, D.; NATHIYA, M.; Preliminary phytochemical and anti-bacterial studies on *Physalis minima* Linn. Department of Plant Biology and Plant Biotechnology, Quaid-e-Millath Govt. **College for Women (Autonomous)** Chennai-600 002, India. 2012. Disponível:<<https://pdfs.semanticscholar.org/800c/6799067a6a4a28b4258c63177211d6dd8408.pdf>>. Acesso em: 09 de Fevereiro de 2020.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G.; Antimicrobial agentes from plants: antibacterial activity of plant volative oils. **Journal of applied Microbiology**, v. 88, p. 308 – 316, 2000.

DROST-KARBOWSKA, K., et al. Phytochemical investigation of the tomatillo fruit (*Physalis ixocarpa* Brot. Solanaceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 62 (3-4), p. 155-159, 1993.

EASTMAN, R.; KLUGER, R.; **ISOPRENOID COMPOUNDS** – Disponível em: <<https://www.britannica.com/science/isoprenoid/isoprenoidcompounds#ref1002686>>. Acesso em 11 de fevereiro de 2020.

EICH, E. Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites Biosynthesis, Chemotaxonomy, **Biological and Economic Significance** (A Handbook), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 644 p., 2008.

EDEOGA, H.O., et al. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v.4, p. 685-688, 2005.

EDRIS, A. E.; Pharmaceutical and therapic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy research**, v. 21, p. 308-323, 2007.

FARIAS, M. R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Capítulo 12, Avaliação da Qualidade de matérias-primas vegetais. Editora UFSC e UFRGS, 6ª Edição. Florianópolis e Porto Alegre, 2010.

Farmacopéia Brasileira Volume VI - Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/farmacopeia-brasileira>>. Acesso em 10 de Fevereiro de 2019.

FERNANDES, D. N. M.; Composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de *Croton tetradenius* Baill (EUPHORBIACEAE). **UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS** Itapetinga – Bahia Maio – 2016. Disponível em: <http://www2.uesb.br/ppg/ppgca/wp-content/uploads/2017/11/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Daiana-Maio-2016_Vers%C3%A3o-Final-corrigida.pdf>. Acesso em 16 de Abril de 2020.

GRANDI, T. S. M. E.; Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil. **Acta bot. Bras. V. 3. N. 2 supl. 1**. Feira de Santana, 1989.

GRIFFIN, W.J., et al. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. **Phytochemistry**, v.53, n. 6, p. 623 – 637, 2000.

HUANG, M.; HEA, J.; HUB, H.; ZHANGB, K.; WANGB, X.; ZHAOB, B.; LOUB, H.; RENB, D.; SHEN, T.; Withanolides from the genus *Physalis*: a review on their phytochemical and pharmacological aspects. **Royal Pharmaceutical Society**,

Journal of Pharmacy and Pharmacology, (2019). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31826333>> Acesso em: 04 de Abril de 2020.

KUETE, V.; KARAOSMANOGLU, O.; SIVAS, H.; Anticancer activities of african medicinal spices and vegetables. **Medicinal spices and vegetables from Africa** capitulo 10 p. 271 Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128092866000108?via%3Dihub>>. Acesso em: 06 de Abril de 2020.

LAMEIRA, O. A.; PINTO, J. E. B. P.; Plantas medicinais: cultivo, manipulação e uso à recomendação popular. **Embrapa Amazônia Oriental**: Belém do Pará, 1º ed. v. 1 p 19 – 23, 2008.

LÔBO, K.M.S., et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

LHULLIER, C.; HORTA, A.; FALKENBERG, M.; Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 158-163, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.; Plantas ornamentais no Brasil: nativas e exóticas. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**, 4ª edição. São Paulo, 2008.

MAGGI, F.; TIRILLINI, B.; VITTORI, S.; SAGRATINI G, PAPA F. 2009. Analysis of the volatile components of *Onosma echioides* (L.) L. var. *columnae* Lacaita growing in central Italy. **J Essent Oil Res.** 21:441–447. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/235746460_Analysis_of_the_Volatile_Components_of_Onosma_echioides_L_L_var_columnae_Lacaita_Growing_in_Central_Italy>. Acesso em 18 de abril de 2020.

MAHMOOD, A.; MAHMOOD, A.; MAHMOOD, M.; In vitro Biological Activities of Most Common Medicinal Plants of Family Solanaceae. **World Applied Sciences Journal** 17 (8): 1026-1032, 2012. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/71f4/1a67e5e09d2f59341fb56cd985eacba4b278.pdf>>. Acesso em: 02 de Outubro de 2019.

MELO, R. A. C.; ASSIS, J. G. A.; MADEIRA, N. R.; BOTREL, N.; *Physalis pubescens*: fisális. **Portal da Embrapa**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1103_081/Physalis-pubescens-fisalis>. acesso em: 03 de outubro de 2019.

MEYER, B. N., Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Plantas Médica**. 1982; 45: 31-34.

MUNIZ, J.; MOLINA, A. R.; MUNIZ, J.; *Physalis*: panorama produtivo e econômico no Brasil. **Hortic. Bras**. vol.33 no.2 Vitória da Conquista Apr./June 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010205362015000200023>. Acesso em 18 de outubro de 2019.

PEREIRA, J. B. A.; RODRIGUES, M. M.; MORAIS, I. R.; VIEIRA, C. R. S.; SAMPAIO, J. P. M.; MOURA, M. G.; DAMASCENO, M. F. M.; SILVA, J. N.; CALOU, I. B. F.; DEUS, F. A.; PERON, A. P.; ABREU, M. C.; MILITÃO, G. C. G.; FERREIRA, P. M. P.; O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais. **Rev. bras. plantas med. vol.17 no.4 Botucatu Oct./Dec. 2015**. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000400_550>. Acesso em: 22 de setembro de 2019.

PEREIRA, L. A. P.; SILVA, R. B. L.; GUIMARÃES, E. F.; ALMEIDA, M. Z.; MONTEIRO, E. D. C. Q.; SOBRINHO, F. A. P.; Plantas medicinais de uma comunidade quilombola na amazônia oriental: aspectos utilitários de espécies das famílias Piperaceae e Solanaceae. **Rev. Bras. de Agroecologia** /out. 2007 Vol.2 No.2. Disponível em: <<http://revistas.abaagroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/7128/0>>. Acesso em: 02 de setembro de 2019.

PETROBRAS. Normas técnicas. **Norma técnica N-2588**. Determinação da toxicidade aguda de agentes tóxicos em relação à *Artemia sp.* 1996.

PITHON, M. M., SANTOS, R. L., RUELLAS, A. C. O., *et al*, “Citotoxicidade in vitro de elásticos ortodônticos: comparação entre duas metodologias”, **Revista Saúde.Com**, v. 4, pp. 19 – 26, 2008.

RAZAVI, S. M.; NEJAD-EBRAHIMI, S.; Phytochemical analysis and allelopathic activity of essential oils of *Ecballium elaterium* A. Richard growing in Iran. **Natural Product Research** Vol. 24, No. 18, 10 November 2010, 1704–1709. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19606384>>. Acesso em: 29 de abril de 2020.

RIVERA, D.; OCAMPO, Y.; FRANCO, L. A.; *Physalis angulata* Calyces Modulate Macrophage Polarization and Alleviate Chemically Induced Intestinal Inflammation in Mice. **Biological Evaluation of Promising Substances Group, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Cartagena, Carrera 50 No. 29-11, Cartagena 130014, Colombia**; Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32033338>>. Acesso em: 04 de abril de 2020.

RUFATO, A. de R.; RUFATO, L.; LIMA, C. S. M.; MUNIZ, J. A.; A CULTURA DA PHYSALIS. **EMBRAPA** 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/995307/a-cultura-da-Physalis>>. Acesso em 23 de outubro de 2019.

RUFATO, L.; RUFATO, A.R.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C.S.M.; KRETZSCHMAR, **A. A. Aspectos técnicos da cultura da *Physalis***. Lages: CAV/UEDESC; Pelotas: UFPel, 2008. 100 p.

SANTOS, R. I. *et al.*; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Capítulo 16, Metabolismo básico e origem de metabólitos secundários. Editora UFSC e UFRGS, 6º edição. Florianópolis e Porto Alegre, 2010.

SHEIKHA, A. F. E.; PIOMBO, G.; GOLI, T.; MONTET, D.; Main composition of *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) fruit juice from egypt. published online by cambridge university press: 05 august 2010. disponível em :<[https://doi.org/ 10.1051/ fruits /2010021](https://doi.org/10.1051/fruits/2010021)>. acesso em 03 de outubro de 2019.

SHEIKHA, A. F. E.; ZAKI, M. S.; BAKR, A. A.; HABASHY, M. M. E.; MONTET, D.; **Biochemical and sensory quality of *physalis* (*Physalis pubescens* L.) juice.** 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1745-4549.2009.00382.x>>. Acesso em: 04 de Outubro de 2019.

SILVA, N. K.; AGRA, M. F.; Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandraphysalodes* e *Physalisangulata* (Solanaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 15(4): 344-351, Out./Dez. 2005. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/MARIA_DE_FATIMA_Agra/publication/262627118_Comparative_pharmacobotanical_study_on_Nicandra_physalodes_and_Physalis_angulata_Solanaceae/links/0c9605203c10fc7525000000.pdf>. Acesso em: 02 de outubro de 2019.

SILVA, D. F.; STRASSBURG, R. C.; VILLA, F.; Morfoanatomia do caule de espécies do gênero *Physalis*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.14, n.1, p.38-45, 2015. Disponível em: <<http://revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5737>>. Acesso em: 27 de fevereiro de 2020.

SILVA, J. M.; ANTINARELLI, L. M. R.; RIBEIRO, A.; COIMBRA, E.S.; The effect of the phytol-rich fraction from *Lacistema pubescens* against *Leishmania amazonensis* is mediated by mitochondrial dysfunction. **Experimental Parasitology** Scio E. 2015. Exp Parasitol. 159:143–150. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424529>> Acesso em 19 de abril de 2020.

SILVA, S. S.; ESPELETA, A. F.; SILVA, G. C.; PAULO, I. M. M.; Composição química e atividade fotoprotetora de extratos de espécies de *Physalis* (solanaceae). **XXI**

Seminário de iniciação científica Universidade Estadual de Campo do Santana
N. 21 2017. Disponível em: <<http://periodicos.uefs.br/index.php/semic/article/view/2481>>. Acesso em: 21 abril de 2019.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS?UFSC, 2010.

SOARES, E. L. C.; VENDRUSCOLO, G. S.; VIGNOLI-SILVA, M.; THODE, V. A.; SILVA, J. G.; MENTZ, L. A.; **O gênero *Physalis l.* (solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/323735063_o_genero_physalis_l_solanaceae_no_rio_grande_do_sul_brasil>. Acesso em: 03 de outubro de 2019.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALOES, M. G.; Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agentes. **Current Opinion in Biotechnology**, v 23, p. 1 -6, 2011.

SOUZA, D. C. L.; Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Rev. bras. plantas med.** vol.17 no.3 Botucatu July/Sept. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-057220150003004_95#_aff01> . Acesso em: 28 Setembro de 2019.

SU B. N., et al. Isolation and characterization of bioactive principles of the leaves and stems of *Physalis philadelphica*. *Tetrahedron*, v. 58, p. 3453 – 3466, 2002.

TOLOSA, L.; DONATO, M. T.; GÓMEZ-LECHÓN, M. J.; General Cytotoxicity Assessment by Means of the MTT Assay. **Protocols in In Vitro Hepatocyte Research, Methods in Molecular Biology**, vol. 1250, DOI 10.1007/978-1-4939-2074-7_26, © Springer Science+Business Media New York 2015. Disponível em: <

https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-2074-7_26>. Acesso em: 29 de abril de 2020.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L.; Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapeuta. **Texto contexto - enferm. vol.15 no.1 Florianópolis Jan./Mar. 2006**. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-07072006000100014>. Acesso em: 22 de setembro de 2019.

UIEDA, W.; VASCONCELLOS-NETO, J.; Dispersão de *Solanum spp. (Solanaceae)* por morcegos, na região de Manaus, AM, Brasil. **Rev. Bras. Zool. vol.2 no.7 Curitiba 1984**. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-81751984000300006&script=sci_arttext>. Acesso em: 02 de outubro de 2019.

USAIZAN, N.; ABDULLAH, N. A. P.; SALEH, G.; AHMAD, S. H.; Preliminary Phytochemical Screening and GCMS Analysis of Ethanol Extract of *Physalis Minima* L. (Solanaceae). **Journal of Advanced Agricultural Technologies** Vol. 1, No. 2, December 2014. Disponível em: <<http://www.joaat.com/uploadfile/2014/1014/20141014033023697.pdf>>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2020.

VALETENTE, L. M. M. et al. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcaloides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero UNCARIA. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 2, p. 216-223, 2006.

VAZ, N. P. **Alcalóides esteroidais dos frutos maduros de *Solanum caavurana* Vell.** 101f. Dissertação (Mestrado em Química) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba 2008. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/16162>>. Acesso em: 28 maio de 2021.

XIA, G.; LI, Y.; SUN, J.; WANG, L.; TANG, X.; LIN, B.; KANG, N.; HUANG, J.; CHEN, L.; QIU, F.; Withanolides from the stems and leaves of *Physalis pubescens* L. and their cytotoxic activity. **JOURNAL HOMEPAGE**: [www.elsevier.com/ LOCATE/STEROIDS](http://www.elsevier.com/LOCATE/STEROIDS). Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X16301179? via%3Dihub](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X16301179?via%3Dihub)>. acesso em: 03 de outubro de 2019.

WAGNER, H.; **Plant Drugs Analysis**. 2ed. Berlin: Springer, p. 298-299 e 319-319, 1966.

WINIKOFF, S. E.; JEH. H. J.; DMARCO, R.; LOTZE, M. T.; Cytolytic Assays. Measuring Immunity. **Basic Biology and Clinical Assessment**. 2005 . p. 343-349 Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/B978-012455900-4/50291-9>>. Acesso em: 06 de Abril de 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva, Switzerland, 1998. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=ZjizDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT3&dq=WORLD+HEALTH+ORGANIZATION.+Quality+control+methods+for+medicinal+plant+materials.+Geneva,+Switzerland,+1998.&ots=yRrUDdaNFe&sig=ER73dUARfdmzR53g4pjqAFmjPxs#v=onepage&q=WORLD%20HEALTH%20ORGANIZATION.%20Quality%20control%20methods%20for%20medicinal%20plant%20materials.%20Geneva%2C%20Switzerland%2C%201998.&f=false>. Acesso em: 03 de outubro de 2019.

ZHANG, W.; TONG, W.; Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Physalis*. **School of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230601, P. R. China**. Disponível em <[https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs /10.1002/cbdv.201400435](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201400435)>. Acesso em: 05 de abril de 2020.

ANEXO 1

Anexo 1 – Comprovante de cadastro do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A86E36C

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A86E36C**
 Usuário: **Universidade Federal do Paraná**
 CPF/CNPJ: **75.095.879/0001-49**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Physalis pubescens

Título da Atividade: **Estudo fitoquímico de Physalis pubescens**

Equipe

Obdulio Gomes Miguel	Universidade Federal do Paraná
Marcelo Jesus de Farias	UFPR
Marília Dallami Miguel	UFPR

Data do Cadastro: **22/05/2021 17:23:32**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 17:24 de 22/05/2021.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - SISGEN