



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

FERNANDA PONTES NÓBREGA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E MODULADORA DA
RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE EXTRATOS DE *Physalis angulata* L.**

**Campina Grande – PB
2015**

FERNANDA PONTES NÓBREGA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E MODULADORA DA
RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE EXTRATOS DE *Physalis angulata* L.**

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

Orientador (a): Prof^o. Dr^o. Delcio de Castro Felismino

Campina Grande – PB
2015

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

N337a Fernanda Pontes Nóbrega

Avaliação das atividades antimicrobiana e moduladora da resistência a antibióticos de extratos de *Physalis Angulata* L. [manuscrito] / Fernanda Pontes Nóbrega. - 2015.

27 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2015.

"Orientação: Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino, Departamento de Farmácia".

1. Etnofarmacologia. 2. Citotoxicidade. 3. Resistência microbiana. 4. Atividade antimicrobiana. I. Título.

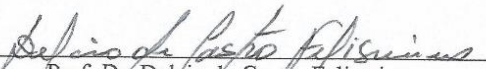
21. ed. CDD 615.32

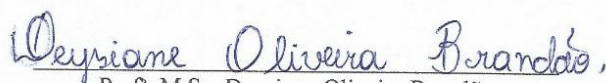
FERNANDA PONTES NÓBREGA

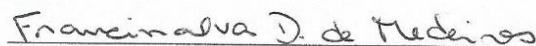
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E MODULADORA DA
RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE EXTRATOS DE *Physalis angulata* L.

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

Aprovada em: 03/12/2015.


Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino
Depto. de Biologia/CCBS/UEPB
Orientador


Prof.ª M.Sc. Deysiane Oliveira Brandão
Faculdade Maurício de Nassau
Examinadora


Prof.ª Dr.ª Francinalva Dantas de Medeiros
Depto. de Farmácia/CCBS/UEPB
Examinadora

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por guiar todos os meus passos, permitindo que eu chegasse até aqui.

Aos meus familiares, por todo amor e apoio durante a minha jornada. Ao meu Voinho, Luiz Pontes, que é um avô/pai/amigo e à ele dedico todas as minhas alegrias e realizações. À minha mãe, Ana Paula Pontes (*in memoriam*), que mesmo deixando este mundo tão cedo, me educou para vida, me ensinou o valor do meu estudo e esforço. Ao meu pai, Fernando Nóbrega, por seu amor e apoio em todos os momentos. À minha tia, Livia Pontes, por todo amor, dedicação e paciência ao assumir um papel tão difícil que é o de mãe. Ao meu irmão, Victor Pontes, pelo companheirismo e ajuda nas horas mais necessárias.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino, por toda atenção e ensinamentos cultivados durante esses anos de pesquisa. Aos membros da banca, Deysiane Oliveira Brandão e Francinalva Dantas de Medeiros por aceitarem o convite e contribuírem com o engrandecimento deste trabalho.

À professora Prof. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, pela oportunidade concedida de fazer parte do LABDEM durante todos esses anos, por ser exemplo de responsabilidade e dedicação ao trabalho, por toda atenção dada e conhecimento transmitido.

Ao professor Ivan Coelho Dantas (*in memoriam*) por sua colaboração neste estudo.

Aos colegas do LABDEM, em especial, Cleildo Santana, Karla Monik, Lianne Alencar, Deysiane Oliveira, Jôffyli Vandenberg, Ravelly Lucena, Francinalva Dantas, Pedro Sette, Jocimar Silva, com vocês aprendi muito e espero aprender ainda mais.

Aos meus amigos de universidade, em especial, Widson Santos, Maísa Oliveira, Alinne Barbosa, René Monteiro, Thaís Santiago, Márcia Almeida, Arthur Gouveia, César Dantas, Cheila Juvino, Gabriela Ferreira, Yargo Araújo, Danielly Kerlly, Alfredo Almeida, Jean Peres e Maria Leite, com vocês dividi os melhores cinco anos da minha vida.

Às minhas amigas/irmãs, Isabela Fernandes, Daniella Fernandes, Déborah Ribeiro, Raíssa Ribeiro e Carine Siqueira, pela amizade de anos e anos, por todo apoio, por todo amor, por dividirem comigo os momentos mais tristes e mais felizes.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Avaliação das atividades antimicrobiana e moduladora da resistência a antibióticos de extratos de *Physalis angulata* L.

NÓBREGA, Fernanda Pontes¹

RESUMO

A espécie *Physalis angulata* L. (Solanaceae), conhecida popularmente como camapu, é utilizada para o tratamento de diversas patologias, entre elas: icterícia, hepatite e infecção urinária. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano e modulador da resistência a antibióticos de extratos *P. angulata*. Foram utilizadas as partes aéreas de *P. angulata* para preparação do extrato hidroalcoólico e etanólico por maceração a frio. O *screening* fitoquímico de polifenóis totais, flavonoides e saponinas totais foram baseados em reações colorimétricas através de espectrofotometria. A atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico foi testada através do método de microdiluição em caldo frente as cepas ATCCs de: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii* e *Candida krusei*. Através deste mesmo método foi analisada a capacidade do extrato de modular a resistência à antibióticos avaliando-se a ação de antibióticos isolados e em combinação com o extrato frente a cepas multirresistentes de: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. mutans* e *S. oralis*. Foi determinada a citotoxicidade do extrato frente à uma suspensão de hemácias a 4%. O extrato hidroalcoólico apresentou atividade antimicrobiana frente à todos os micro-organismos testados. A capacidade de modulação do extrato foi considerada sinérgica quando associado aos antibióticos gentamicina, ceftriaxona, cefepima, clindamicina e cloranfenicol. O extrato apresentou indícios de baixa citotoxicidade. Os resultados indicam que *P. angulata* L. possui potencial antimicrobiano e modulador da resistência à antibióticos, novos estudos devem ser desenvolvidos para elucidar os mecanismos de ação responsáveis por essa propriedade e os futuros resultados poderão ser fontes para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos.

PALAVRAS-CHAVES: Etnofarmacologia. Citotoxicidade. Resistência microbiana. Camapu.

¹Departamento de Farmácia. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Estadual da Paraíba. fernandapnobrega@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A resistência microbiana surgiu como um mecanismo biológico natural, podendo ser atribuída a fatores como: prescrição inapropriada e/ou exagerada de antibióticos, utilização de antibióticos na medicina veterinária e adição às rações animais, ampla variedade de mecanismos de adaptação das células bacterianas (MELO; PERUSSI, 2012). Esse fenômeno, segundo Silveira (2006), impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, resultando em uma ameaça para a saúde pública, sendo esta, uma razão para os investimentos em pesquisas que favoreçam a formulação de novos antimicrobianos.

Paralelamente ao tratamento convencional, inúmeras espécies vegetais são utilizadas no combate a inúmeras patologias, entre elas as infecções microbianas, e estas atividades biológicas devem-se principalmente a presença de derivados do metabolismo secundário dos vegetais como saponinas, terpenos, alcaloides, flavonoides e taninos (SHER, 2009; LOGUERCIO et al, 2005).

Coutinho et al (2012) ressaltam que muitas destas espécies podem e são avaliadas não só por sua atividade antimicrobiana direta, mas também como agentes modificadores de resistência. A atividade moduladora de resistência a antibióticos pode ocorrer devido aos metabólitos secundários que podem interagir com antibióticos específicos aumentando sua atividade, invertendo a resistência natural de bactérias específicas aos antibióticos.

A *Physalis angulata* L. é popularmente conhecida como camapu, bucho-de-rã, joá-de-capote, camapum, camambu, camaru, mata-fome, balãozinho, balão-rajado, entre outros nomes dependentes da região encontrada (MAGALHÃES, 2005; BASTOS et al, 2006). Vários estudos descrevem as atuações terapêuticas da espécie, como por exemplo, atividade antinociceptiva do extrato aquoso obtidos das raízes (BASTOS et al, 2006), atividade anti-inflamatória de flores, raízes e substâncias isoladas (CHOI et al, 2003; BASTOS et al, 2008; PINTO et al, 2010), ação antitumoral do extrato de acetato de etila frente a células metastáticas de diferentes carcinomas (HSEU et al, 2011), atividade antibiótica de fisalinas isoladas (PIETRO et al, 2000; SILVA et al, 2005) e atividade imunossupressora de glicosídeos flavonoides (SUN, 2011).

Baseado em todos os aspectos abordados, viu-se a importância de estudos que demonstrem a atividade antimicrobiana direta ou indireta de espécies vegetais. A necessidade de avaliar as espécies que estão disponíveis na nossa região e são amplamente utilizada na medicina popular justificou a realização desse estudo, podendo representar uma alternativa ao combate as resistências bacterianas.

Portanto, o estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano e modulador da resistência a antibióticos de extratos de *Physalis angulata* L..

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 – Resistência bacteriana

O desenvolvimento da resistência é um processo evolutivo normal para os microorganismos, mas é acelerada pela pressão seletiva exercida pela utilização generalizada de medicamentos antimicrobianos (WHO, 2014). De acordo com Matias et al (2012), a multirresistência aos antimicrobianos tornou-se um sério problema de saúde pública, prejudicando não somente o paciente em tratamento, mas todo o ambiente em que ele está inserido, repercutindo em diversas situações como em infecções hospitalares. Para os pacientes, a resistência microbiana causa um aumento da morbidade e mortalidade, enquanto que há um aumento significativo dos custos com o tratamento desses doentes.

As bactérias utilizam diversos mecanismos de resistência aos antimicrobianos, sendo alguns dos principais: a redução da concentração do fármaco no interior da célula devido a diminuição na captação e aumento na atividade de bombas de efluxo, expressão de genes de resistência que alteram o substrato-alvo da droga, inibição enzimática, modificação covalente da molécula do fármaco e aumento da produção de inibidores competitivos (BROWN-ELLIOTT et al, 2012; PELGRIFT; FRIEDMAN, 2013).

2.2 – Plantas medicinais e a atividade antimicrobiana

O uso de plantas medicinais é uma cultura milenar, sendo fundamentado por inúmeras razões, como o baixo custo, o saber popular passado a cada geração e a principal delas: sua potencialidade terapêutica (SILVA et al, 2007; BADKE et al, 2012). Considera-se que o Brasil possui a maior diversidade do planeta. Essas espécies estão distribuídas entre os seis maiores biomas aqui existentes: Floresta Amazônica, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal e a Floresta Subtropical. Nesse sentido, nosso país ocupa uma posição privilegiada e importante, já que detém uma matéria-prima considerável para o fornecimento de produtos naturais (MATIAS, 2010; CAVALCANTE et al, 2013).

Diante da necessidade de se buscar novas alternativas terapêuticas, os pesquisadores fazem uso da medicina popular como possível fonte para o desenvolvimento de novos estudos farmacológicos visando a descoberta de novos medicamentos que possam combater diversas patologias, entre elas as infecções bacterianas.

O uso de plantas medicinais para fins antimicrobianos se justifica através da presença de combinações complexas de metabólitos secundários que possuem papel importante na adaptação das espécies em seus ambientes, aumentando a probabilidade de sua sobrevivência, com diversas propriedades biológicas de defesa, como por exemplo, atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos e vírus (FUMAGALI et al, 2008). Estes metabólitos representam uma

interface química entre as plantas e o ambiente circundante, tendo a sua síntese frequentemente afetada por condições ambientais, como a sazonalidade e disponibilidade de nutrientes (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Diversos estudos têm demonstrado o potencial antimicrobiano de plantas medicinais associados a metabólitos, como os taninos (RODRIGUES et al, 2014; PEREIRA et al, 2015), flavonoides (YANTI et al, 2009; YIM et al, 2010), terpenos (BOTELHO et al, 2007; CARNEIRO et al, 2011), saponinas (CHAPAGAIN et al, 2007; HASSAN et al, 2010), alcaloides (RABELO et al, 2014), entre outros.

2.3 – Atividade moduladora da resistência a antibióticos

Além da atividade antimicrobiana das plantas medicinais, diversos estudos estão avaliando o uso de extratos como potencial modulador da resistência a antibióticos utilizados frente a cepas multirresistentes (KOVAC et al, 2014; TAVARES et al, 2015; TINTINO et al, 2015).

Há uma grande variedade de compostos químicos presentes nas espécies vegetais que além de agirem como antimicrobianos, em contato com as bactérias dificultam sua adaptabilidade. Esses compostos podem atuar diretamente sobre esses micro-organismos invertendo sua resistência natural a determinados fármacos, provocando a eliminação de plasmídeos, inibindo bombas de efluxo, aumentando a permeabilidade da membrana celular externa e causando assim o aumento da atividade de um antimicrobiano específico (NOGUEIRA et al, 2014; SILVA et al, 2015).

De acordo com Coutinho et al (2015), espécies ou compostos isolados que promovem potencialização da atividade antibiótica ou a reversão da resistência aos antimicrobianos são classificados como modificadores de atividade antibiótica. Estudos que avaliam essa propriedade são promissores por demonstrarem que a interação extrato-antibiótico pode representar um novo caminho para produção de fármacos produzidos em associação mais eficazes contra cepas multirresistentes.

Diversos pesquisadores vêm avaliando essa nova possibilidade de associar extratos com antibióticos e obter maior eficácia frente a micro-organismos multirresistentes. Estudos como o de Alencar et al (2015) testaram a atividade de extratos etanólico de diferentes espécies do gênero *Spondias* sobre a resistência de *S. aureus* à eritromicina; Nascimento et al (2014) demonstram o sinergismo apresentado entre extratos da casca de *Anadenanthera colubrina* com antibióticos utilizados frente a *S. aureus* Resistentes à Meticilina (MRSA).

Outros estudos como os de Nunes et al (2014) demonstraram a interação sinérgica do óleos essencial de *Ocimum basilicum* L com antibióticos aminoglicosídeos utilizados frente a

cepas de *S. aureus* resistentes, já Coutinho et al (2015) avaliaram a interação de compostos fitoquímicos isolados de óleos essenciais, geraniol e cariofileno, com antibióticos aminoglicosídeos frente a *S. aureus* de linhagem MRSA.

Todos eles apontam a importância de se buscar novas alternativas para a produção de novos medicamentos que combatam infecções causadas por micro-organismos multirresistentes.

2.4 – *Physalis angulata* L.

Physalis é um gênero importante da família Solanaceae, contendo cerca de cento e vinte espécies distribuídas pelas zonas temperadas do mundo, principalmente nas Américas Central e do Sul. O nome *Physalis* origina-se do grego e vem de “*physis*” que significa bolha ou bexiga, referindo-se ao cálice que envolve os frutos dessas espécies, como observa-se na Figura 1 (MAGALHÃES, 2005).

Figura 1. Espécie *Physalis angulata* L.



Fonte: Department of Agriculture and Food of Curaçao. Disponível em: <http://www.bandabou.info>. Acesso em 28/06/2015.

A *Physalis* é atribuída a síntese de vitaesteroides, que são um grupo de compostos bioativos denominados de lactonas esteroidais. Um grupo desses compostos são as fisalinas que são encontradas majoritariamente no gênero, além de alcaloides, flavonoides, esteroides e ceramidas (ROW et al, 1978; ISMAIL; ALAM, 2001; MAGALHÃES et al, 2006).

Segundo Souza et al (2010), *Physalis angulata* L. é um espécie herbácea, ereta, medindo cerca de 30 – 70 cm de comprimento, possui folhas alternas, pubescentes com forma variando de oblonga a oval-lanceolada, sua flores são solitárias ou em cimeiras (Figura 2) com cálice soldado até a metade se estendendo até o fruto. Seus frutos são pequenos e redondos com coloração alaranjada, envolvidos por sépalas em formato de balão (SILVA; AGRA, 2005).

Figura 2. Espécie *Physalis angulata* L. com inflorescência.



Fonte: Forestry Images. Disponível em:
<http://www.forestryimages.org>. Acesso em 28/06/2015.

P. angulata L. é a espécie mais representativa do gênero, conhecida popularmente como camapu, sendo muito utilizada pela medicina popular através de decocções, infusões, massagens, como anti-inflamatório, antitérmico, sedativo, para tratamento de icterícia, hepatite, anemia, infecção urinária e pedra nos rins (RODRIGUES et al, 2010; SALGADO; ARANA, 2013).

Vários compostos presentes na *P. angulata* L. têm sido isolados e elucidados, apesar de considerados potencialmente citotóxicas como mostram alguns estudos com glicosídeos flavonoides e lactonas esteroidais isolados da espécie (ISMAIL; ALAM, 2001; LEE et al, 2008).

Inúmeros estudos apontam para o grande valor farmacológico atribuído a espécie e a essas substâncias, como por exemplo, atividade imunomoduladora de fisalinas (SOARES et al, 2003), atividade antitumoral de fisalinas B e D frente a diferentes células cancerígenas (MAGALHÃES et al, 2006; HSU et al, 2012), atividade leishmanicida do extrato etanólico concentrado do caule de *P. angulata* (NOGUEIRA et al, 2013), atividade antiparasitária do extrato etanólico concentrado frente a *Trypanosoma cruzi* (MEIRA et al, 2015); atividade anti-inflamatória da fisalina E (PINTO et al, 2010), atividade antimicrobiana de extratos aquosos, glicólicos e fluídos de frutos e raízes frente a *S. aureus* (LOPES et al, 2006) e de óleo essencial das partes aéreas frente a *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* (OSHO et al, 2010), entre outras.

3. REFERENCIAL METODOLÓGICO

3.1 – Local de Estudo

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

3.2 – Obtenção dos extratos de *P. angulata* L.

As partes aéreas de *P. angulata* L. foram coletadas na cidade de Lagoa Seca no estado da Paraíba (7°09'35.5"S 35°50'56.9"W), a partir de plantas adultas selecionadas, respeitando-se suas características fitossanitárias. Foram produzidas exsiccatas, identificadas e depositadas no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande, sob o número 5708.

O material vegetal foi seco, em estufa de ventilação forçada, à temperatura de 40 °C (\pm 1 °C) até estabilização da umidade. Em seguida, foi triturado em um moinho de facas com granulometria de 10 mesh. O extrato hidroalcoólico a 70% e o etanólico bruto foram obtidos pelo processo de maceração à frio, foram preparados 100 mL de cada extrato utilizando uma proporção fixa de planta:solvente (20:80, m/v). O extrato etanólico bruto foi, em seguida, concentrado utilizando um evaporador rotativo a 40°C.

3.3 – Screening Fitoquímico Quantitativo

3.3.1 – Determinação de Polifenóis Totais

Para determinação do conteúdo de polifenóis totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Fernandes et al (2015) utilizando como substância-padrão o ácido gálico. A amostra foi diluída em água destilada com 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) e deixada em repouso por 2 min, em seguida foi adicionado 1 mL de carbonato de sódio a 20% (p/v) e deixado em repouso durante 10 min. Construiu-se uma curva de calibração em espectrofotômetro no comprimento de onda de 757 nm, utilizando como substância-padrão o ácido gálico em diferentes concentrações.

O conteúdo total de polifenóis foi expresso em microgramas equivalentes de ácido gálico por grama do extrato ($\mu\text{g EAG.g}^{-1}$).

3.3.2 - Determinação de Saponinas Totais

Para a determinação das saponinas utilizou-se o método descrito por Makkar et al (2007). Foi adicionado 250 μL de uma solução de vanilina (8% em etanol) a 250 μL da solução do extrato diluído em metanol 80%, em seguida, adicionou-se 2,5 mL de ácido sulfúrico à 72%. Os tubos foram incubados a 60 °C em banho-maria por 10 minutos, sendo transferido para um

banho de gelo, onde permaneceram por 4 minutos. A curva de calibração foi construída em espectrofotômetro no comprimento de onda específico de 544 nm, usando-se amostras de soluções do padrão, disogenina, em diferentes concentrações.

O conteúdo total de saponinas foi expresso em microgramas equivalentes de disogenina por grama do extrato ($\mu\text{g EDI.g}^{-1}$).

3.3.3 - Determinação de Flavonoides

O conteúdo de flavonoides foi realizado conforme o método colorimétrico que utiliza solução de AlCl_3 a 2% em metanol (p/v) utilizando um padrão de quercetina. Para determinação, uma alíquota da amostra foi dissolvida em metanol e misturada com a solução de cloreto de alumínio (2% em metanol) em proporção 1:1, seguido de repouso por 10 min. A curva de calibração foi construída em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 415 nm, utilizando como substância-padrão a quercetina em diferentes concentrações.

O total de flavonoides foi expresso em microgramas equivalentes de quercetina para 1 g do extrato ($\mu\text{g EQU.E.g}^{-1}$) (FERNANDES et al, 2015).

Para a realização de todas as determinações mencionadas utilizou-se o extrato etanólico concentrado de *P. angulata* e as leituras espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu® (UV mini-1240).

3.4 - Atividade Antimicrobiana

3.4.1 – Cepas Microbianas

Para determinação da atividade antimicrobiana do extrato, utilizou-se cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de: *Staphylococcus aureus* (25923), *Streptococcus mutans* (25175), *Streptococcus oralis* (10557), *Streptococcus salivarius* (7073), *Escherichia coli* (25922), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Klebsiella pneumoniae* (4352), *Candida albicans* (10231), *Candida guilliermondii* (6260) e *Candida krusei* (34135) disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

3.4.2 – Teste de Susceptibilidade Microbiana

A susceptibilidade microbiana ao extrato hidroalcoólico foi determinada através do método de microdiluição em caldo utilizando microplacas estéreis como descrito pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2003), com adaptações. Para os micro-organismos, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* utilizou-se caldo Mueller Hinton, para *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, caldo Brain Heart Infusion (BHI) e para as cepas de *Candida*, caldo Saboraud dextrose.

Para a preparação das suspensões destes micro-organismos, transferiu-se a culturas crescidas sobre o meio de cultura, com alça estéril, para um tubo de ensaio contendo solução salina 0,9% estéril. As suspensões foram padronizadas de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005), em espectrofotômetro com comprimento de onda de 625 nm para as cepas de bactérias e de 530 nm para as cepas de fungos, com absorvância entre 0,08 e 0,10 e transmitância de 83 a 87%. As referidas suspensões foram diluídas de modo a obter-se uma preparação microbiana com concentração final próxima a 10^5 UFC.ml⁻¹. As concentrações finais do extrato variaram de 1,0 a 0,008 mg.ml⁻¹.

As microplacas contendo bactérias foram incubadas a 37 ± 1 °C por 24h e as com fungos a 25 ± 1 °C durante 48h, após esse período o crescimento microbiano foi indicado pela adição de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01% em cada poço, seguido de incubação de 2h. A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano, foi feita por leitura visual. A redução do corante resazurina promove a mudança de coloração de azul para rosa, indicando a presença de células viáveis. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.5 – Avaliação da Modulação da Resistência à Antibióticos

Inicialmente, foram isoladas e identificadas cepas de bactérias clínicas resistentes de: *Escherichia coli* (401, 505, 603); *Pseudomonas aeruginosa* (106, 207, 308); *Klebsiella pneumoniae* 110; *Staphylococcus aureus* 109; *Streptococcus mutans* 112; *Streptococcus oralis* 113. As quais foram submetidas à antibiogramas a fim de evidenciar à quais antibióticos apresentavam-se resistentes.

Para a determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) do extrato etanólico e dos antibióticos isolados, utilizou-se microplacas estéreis contendo 96 poços, e a cada poço adicionou-se um inóculo de 100 µL de cada cepa suspensas em caldo BHI com concentração de 10^5 UFC.ml⁻¹, a cada um dos primeiros poços de cada coluna foi adicionado 100 µL da solução de cada amostra (extrato ou antibiótico) seguidas de diluições em série até o ultimo poço. Os extratos foram diluídos em solução de dimetilsulfóxido 10% (DMSO) e os antibióticos diluídos em água destilada. As concentrações finais variaram de 1024 a 1 µg.ml⁻¹.

Para a avaliação dos extratos vegetais como modulador da resistência aos antibióticos, uma nova CIM do antibiótico foi determinada na presença do extrato vegetal em concentração subinibitória (CIM/8), pelo método de microdiluição descrito anteriormente.

As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, após esse período, realizou-se a leitura sendo evidenciada pelo uso do corante resazurina, como citado anteriormente no teste de susceptibilidade microbiana.

3.5.1 – Determinação da Concentração Inibitória Fracionada (CIF)

A CIF foi calculada para determinar se a associação do extrato com o antibiótico produziu um efeito sinérgico ($CIF \leq 0,5$), indiferente ($0,5 < CIF < 4$) ou antagônico ($CIF > 4$) de acordo com a seguinte fórmula (MACKAY, 2000):

$$CIF \text{ do antibiótico} = \frac{\text{CIM do antibiótico em combinação com o extrato}}{\text{CIM do antibiótico sozinho}}$$

3.6 - Avaliação da Citotoxicidade

Para a avaliação da citotoxicidade do extrato, através da atividade hemolítica, foi utilizado o método descrito por Luize et al (2005), com adaptações. Foi preparada uma suspensão de hemácias 4% em solução salina a 0,9%, em seguida, 1 mL desta suspensão foi distribuído em tubos de ensaio e homogeneizados com 1 mL do extrato diluído em diferentes concentrações (1000, 500 e 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Após 1 hora, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm, durante 10 minutos. Foi utilizado como controle negativo a suspensão de hemácias 4% e controle positivo uma solução de ácido acético à 2% (Líquido de Turk). A avaliação da atividade citotóxica do extrato foi determinada, através da leitura em espectrofotômetro (540 nm) do sobrenadante contendo a hemoglobina liberada, utilizando como branco a solução salina a 0,9%, e os dados foram expressos em porcentagem, utilizando o controle positivo como 100%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Screening Fitoquímico

Com relação ao *screening* fitoquímico, pesquisou-se a presença e quantificação, de polifenóis totais, flavonoides e saponinas no extrato etanólico de *P. angulata* (Tabela 2). Os dados foram expressos em equivalente do padrão utilizado e nos trazem informações acerca da composição química de *P. angulata*. Diversas atividades biológicas são atribuídas a esses compostos, entre elas a atividade antimicrobiana, cada um deles agindo em diferentes mecanismos do micro-organismo.

Tabela 2. Teor de polifenóis, flavonoides e saponinas presentes no extrato etanólico de *P. angulata* L.

Metabólito	Teor
Polifenóis totais	0,500 ($\mu\text{g EAG.g}^{-1}$)
Flavonoides	2,880 ($\mu\text{g EQU.E.g}^{-1}$)
Saponinas	40,230 ($\mu\text{g EDI.g}^{-1}$)

Legenda: EAG – equivalentes de ácido gálico; EQU – equivalentes de quercetina; EDI – equivalentes de disogenina;

Esses resultados foram reforçados por Medina-Medrano et al (2015) e Wahua e Sam (2013), entretanto, constatou-se variações em relação as quantidades encontradas. Essas diferenças na concentração de metabólitos podem ser atribuídas a mudança do solvente utilizado na extração, bem como variação no local e época de coleta.

4.2 – Atividade antimicrobiana

Na Tabela 3, observam-se os resultados das concentrações inibitórias mínimas (CIMs) do extrato hidroalcoólico a 70% de *P. angulata* frente aos micro-organismos testados. Verifica-se que foram obtidas diferentes CIMs frente as cepas testadas, sendo a menor de $0,250 \text{ mg.mL}^{-1}$ frente a diferentes micro-organismos, e a maior, de $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ frente a *Streptococcus oralis*.

Tabela 3. Médias das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do extrato hidroalcoólico das partes aéreas de *P. angulata* L.

Micro-organismo	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
<i>S. aureus</i>	500,00
<i>E. coli</i>	500,00
<i>K. pneumoniae</i>	250,00
<i>P. aeruginosa</i>	250,00
<i>S. mutans</i>	500,00
<i>S. oralis</i>	1000,00
<i>S. salivarius</i>	250,00
<i>C. albicans</i>	250,00
<i>C. krusei</i>	500,00
<i>C. guilliermondii</i>	250,00

Observa-se que o extrato foi eficaz frente a vários micro-organismos patogênicos, com espectro tanto para bactérias gram-negativas e gram-positivas, além das leveduras do gênero *Candida*, resultados reforçados por Hwang et al (2004), Lopes et al (2006), Osho et al (2010), Donkor et al (2012), que demonstraram o potencial antimicrobiano de *P. angulata* L., ao utilizarem diferentes metodologias. Muitos desses estudos apontam a presença de compostos esteroides como responsáveis pela atividade antimicrobiana, sendo o principal deles a fisalina (Silva et al, 2005).

Alves et al (2014) consideram clinicamente significativa quando um extrato possui CIM $\leq 256 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Isto sugere a necessidade de novos testes que permitam uma melhor extração dos compostos de *P. angulata* L., ou até mesmo estudos que possibilitem a identificação e isolamento das substâncias responsáveis pela atividade farmacológica, podendo assim termos um aumento de sua eficácia.

4.3 – Modulação da resistência microbiana à antibióticos

Inicialmente, todas as bactérias utilizadas foram submetidas à antibiograma para determinação do seu perfil de resistência, como mostra o Quadro 1. Através desse perfil foi possível selecionar os antibióticos utilizados na avaliação da atividade moduladora.

Quadro 1. Perfil de resistência a antibióticos das cepas clínicas multirresistentes utilizadas.

BACTÉRIA	PERFIL DE RESISTÊNCIA
<i>E. coli</i> 401	AMOX + AC; CFL; AZT; CFT; NIT; CFP; SZT; NOR;
<i>E. coli</i> 505	CIP; CLO; NOR; SZT; TRC; AMP;
<i>E. coli</i> 603	CFT; AZT; CFL; CAZ; CFP; AMP; GEN; NOR; CLI; TRC; SZT;
<i>P. aeruginosa</i> 106	TOB; CFL; AZT; AMC; CFP; CFT; AMOX+AC; CEF;
<i>P. aeruginosa</i> 207	CEF; AMOX + AC; CFL; CFT; CAZ; STZ; NOR; GEN; CIP; TRC; CFP;
<i>P. aeruginosa</i> 308	TOB; AMC; STZ; AMP; GEN; NOR; CLI; TRC;
<i>K. pneumoniae</i> 110	AMOX+AC; CFT; CFL; NIT; CAZ; AZT; CEF; TRC; NOR; CLI; STZ; AMP; GEN;
<i>S. aureus</i> 109	OXC; PEN; ATM; STZ; CEF; NOR;
<i>S. mutans</i> 112	CFX; PEN; CLO; CFT; CLI; CFP;
<i>S. oralis</i> 113	CFX; PEN; CLI; CFP; CLO; CFT;

AMOX + AC – amoxicilina + ácido clavulânico; CFL – cefalotina; AZT – aztreonam; CFT – ceftriaxona; NIT – nitrofurantoína; CFP – cefepime; STZ – sulfametoxazol + trimetoprima; NOR – norfloxacino; CIP – ciprofloxacino; CLO – clorafenicol; TRC – tetraciclina; AMP – ampicilina; CAZ – ceftazidima; CFP – cefepima; GEN – gentamicina; CLI – clindamicina; TOB – tobramicina; AMC – amicacina; CEF – ceftoxitima; OXC – oxacilina; PEN – penicilina; ATM – azitromicina; CFX – cefatoxima;

Além da avaliação da atividade antimicrobiana direta, *P. angulata* foi testada como agente modificador da resistência a antibióticos, os resultados obtidos utilizando bactérias gram-positivas (Tabela 4) mostram que apesar de ter ocorrido alterações na CIM de vários antibióticos, nem todos produziram um efeito considerado sinérgico.

Tabela 4. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) obtidas do extrato e antibióticos isolados e efeito do extrato sobre a resistência de bactérias gram-positivas.

ANTIBIÓTICO	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				E
	ANT	EXT	A + E	CIF	
<i>S. aureus</i> 109					
Azitromicina	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
Ampicilina	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
Gentamicina	853,33	1024,00	256,00	0,30	S
Oxacilina	597,33	1024,00	512,00	0,86	I
<i>S. oralis</i> 112					
Cefepima	106,66	1024,00	85,33	0,80	I
Clindamicina	181,33	1024,00	74,66	0,41	S
Ceftriaxona	512,00	1024,00	1024,00	2,00	I
Cloranfenicol	21,33	1024,00	26,66	1,25	I
<i>S. mutans</i> 113					
Cefepima	256,00	1024,00	128,00	0,50	S
Clindamicina	32,00	1024,00	42,66	1,33	I
Ceftriaxona	512,00	1024,00	1024,00	2,00	I
Cloranfenicol	16,00	1024,00	16,00	1,00	I

Legenda: **ANT** - CIM do antibiótico isolado; **EXT** - CIM do extrato isolado; **A+E** - CIM do antibiótico em associação com o extrato; **CIF** - Concentração inibitória fracionada; **E** - Efeito; **S** - Sinérgico; **I** - Indiferente;

O extrato de *P. angulata* foi capaz de interagir sinergicamente com os antibióticos: gentamicina, clindamicina e cefepima, pelo menos um representante de cada cepa testada.

Em relação as bactérias gram-negativas (Tabela 5), observou-se que o extrato interagiu sinergicamente com: cloranfenicol, gentamicina, ceftriaxona, cefepima e clindamicina.

Tabela 5. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) obtidas do extrato e antibióticos isolados e efeito do extrato sobre a resistência de bactérias gram-negativas.

ANTIBIÓTICO	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				E
	ANT	EXT	A + E	CIF	
<i>E. coli</i> 401					
Cefalotina	853,33	1024,00	693,33	0,81	I
Ceftriaxona	16,00	1024,00	29,33	1,83	I
Gentamicina	26,66	1024,00	16,00	0,60	I
Nitrofurantoína	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
<i>E. coli</i> 505					
Ciprofloxacino	213,33	1024,00	170,66	0,80	I
Ampicilina	512,00	1024,00	512,00	1,00	I
Cloranfenicol	26,66	1024,00	10,66	0,40	S
Norfloxacino	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
<i>E. coli</i> 603					
Clindamicina	512,00	1024,00	512,00	1,00	I
Ampicilina	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
Gentamicina	1024,00	1024,00	512,00	0,50	S
Norfloxacino	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I

Continua

Continuação

ANTIBIÓTICO	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				E
	ANT	EXT	A + E	CIF	
<i>P. aeruginosa</i> 106					
Cefalotina	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
Ceftriaxona	1024,00	1024,00	426,66	0,42	S
Gentamicina	512,00	1024,00	256,00	0,50	S
Ciprofloxacino	64,00	1024,00	37,33	0,58	I
<i>P. aeruginosa</i> 207					
Ceftriaxona	256,00	1024,00	62,00	0,25	S
Cefepima	1024,00	1024,00	256,00	0,25	S
Gentamicina	853,33	1024,00	853,33	1,00	I
Ciprofloxacino	32,00	1024,00	42,66	1,33	I
<i>P. aeruginosa</i> 308					
Clindamicina	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
Ampicilina	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
Norfloxacino	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I
<i>K. pneumoniae</i> 110					
Clindamicina	1024,00	1024,00	341,33	0,33	S
Gentamicina	1024,00	1024,00	512,00	0,50	S
Norfloxacino	1024,00	1024,00	1024,00	1,00	I

Legenda: **ANT** - CIM do antibiótico isolado; **EXT** - CIM do extrato isolado; **A+E** - CIM do antibiótico em associação com o extrato; **CIF** - Concentração inibitória fracionada; **E** - Efeito; **S** - Sinérgico; **I** - Indiferente;

Tanto em relação as bactérias gram-positivas, como gram-negativas, tem-se uma modulação de antibióticos de diferentes classes e mecanismos de ação (Tabela 4 e 5), todos utilizados exaustivamente na clínica médica e apresentando ineficácia frente à inúmeras cepas clínicas. Assim, a combinação de produtos naturais com antibióticos vem apresentando-se como alternativa relevante para a diminuição das CIMs desses medicamentos, resultando em maior eficácia (CUSHNIE et al, 2003; COUTINHO et al, 2012; FIGUEREDO et al, 2013; ALVES et al, 2014).

Segundo Matias et al (2010), as resistências bacterianas podem surgir através de mutações ou por incorporação de elementos genéticos móveis entre a mesma espécie ou até entre espécie diferentes de bactérias. Esses mecanismos de resistência são complexos e como citado anteriormente, podem envolver, por exemplo: sistemas de efluxo ativos que expulsam o antibiótico do meio intracelular, modificações do sítio alvo da substância por mutação espontânea e/ou por alteração estrutural ou através de sistemas de inativação enzimática (WHO, 2014).

Observações corroboradas por diversos estudos, os quais relatam que os diversos compostos presentes no extratos vegetais, estão relacionados a capacidade de modificar a resistência de um micro-organismo. Por exemplo, flavonoides podem formar complexos com proteínas solúveis presentes na parede celular podendo facilitar a entrada do antibiótico na célula (OLIVEIRA et al, 2015). Flavonoides lipofílicos podem inclusive causar ruptura da membrana plasmática do micro-organismos causando uma ação bactericida (ALENCAR et al, 2015). Em relação aos taninos, esses podem causar a inativação de enzimas e proteínas transportadoras, afetando a cadeia respiratória e produção de energia, levando a diminuição da atividade vital. Quanto as saponinas, também vão afetar a membrana plasmática da célula do micro-organismos agindo como surfactante (FABRI; COSTA, 2012; COUTINHO et al, 2014; LUCENA et al, 2015).

Portanto, a combinação desses e de outros compostos do metabolismo secundário vegetal são capazes de promover assim uma ação antimicrobiana direta e indireta, auxiliando na ação dos antibióticos. Estes resultados promissores devem ser levados em conta para o desenvolvimento de novos estudos de bioprospecção que permitam contribuir com o combate a infecções causadas por micro-organismos resistentes.

4.4 – Citotoxicidade

Na tabela 6, observa-se os resultados da citotoxicidade das diferentes concentrações do extrato.

Tabela 6. Citotoxicidade do extrato de *P. angulata* L. frente as hemácias.

Concentração do extrato ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Hemólise (%)
1000,00	7,42
500,00	4,11
250,00	2,78

Utilizando como parâmetro Rangel et al (1997) que preconizam que o percentual de hemólise entre 0 – 40% é considerado baixo, 40 – 80% moderado e acima de 80% alto, o extrato de *P. angulata* apresentou baixo potencial hemolítico.

A hemólise apresentada pode estar relacionada entre outros fatores, a presença de saponinas no extrato, pois esses metabólitos possuem uma ação surfactante, atuando assim, como um detergente, desestabilizando a camada fosfolipídica da membrana celular, causando a lise das hemácias e vários estudos demonstram o potencial citotóxico desse composto (GAUTHIER et al, 2009; KAISER et al, 2009; HASSAN et al, 2010; PY et al, 2011).

Não foi possível determinar a concentração hemolítica 50% ou concentração efetiva (EC_{50}) neste estudo, uma vez que nenhuma das concentrações testadas foi capaz de hemolisar pelo menos 50% das hemácias.

5. CONCLUSÃO

O extrato de *P. angulata*, apresentou atividade antimicrobiana frente a todas as cepas ATCCs testadas, bem como foi capaz de modificar a ação de vários antibióticos frente as cepas resistentes de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. oralis* e *S. mutans*. Índícios de baixa citotoxicidade foram apresentados no estudo podendo contribuir com um esclarecimento da segurança na utilização da espécie. Portanto, os resultados sugerem que estudos devem ser ampliados para elucidar os mecanismos de ação responsáveis por essas propriedades e poderão ser fonte para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos.

6. ABSTRACT

The specie *Physalis angulata* L. (Solanaceae), popularly known as "camapu", is popularly used for the treatment of various pathologies, including: jaundice, hepatitis, and urinary tract infection. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial potential and the antibiotic resistance modulation of extracts *P. angulata*. Were used the aerial parts of *P. angulata* for the preparation of the hydroalcoholic and ethanolic extract by cold maceration. The phytochemical screening of total polyphenols, flavonoids and total saponins were based on colorimetric reaction by spectrophotometry. The antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract was tested by broth microdilution method front the ATCCs strains of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii* and *Candida krusei*. Through this same method was analyzed the extract ability to modulate the resistance to antibiotics evaluating the action of isolated antibiotics and in combination with the extract in front of multiresistant strains of *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. mutans* and *S. oralis*. The cytotoxicity of the front extract one red blood cell suspension at 4% was determined. The hydroalcoholic extract showed an antimicrobial activity against all the tested microorganisms. The extract modulation capability was considered synergistic when combined antibiotic gentamicin, ceftriaxone, cefepime, clindamycin and chloramphenicol. The extract presented evidences of low cytotoxicity. The results indicate that *P. angulata* L. has antimicrobial potential and modulator of the antibiotic resistance, new studies should be developed to elucidate the mechanisms of action responsible for this property and future results may be sources for the development of new herbal medicines.

KEYWORDS: Ethnopharmacology. Cytotoxicity. Microbial resistance. Camapu.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, L. C. B. et al. Efeito modulador do extrato de plantas medicinais do gênero *Spondias* sobre a resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* à Eritromicina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, p. 11-116, 2015.
- ALVES, F. E. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória da fração hexânica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 5, 2014.
- BADKE, M. R. et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 21, n. 2, p. 363-370, 2012.
- BASTOS, G. N. T. et al. *Physalis angulata* extract exerts anti-inflammatory effects in rats by inhibiting different pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, n. 1, p.246- 251, 2008.
- BASTOS, G. N. T. et al. Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulate* L. on mices. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 1, p. 241- 245, 2006.
- BOTELHO, M. A. et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p.349-356, 2007.
- BROWN-ELLIOTT, B. A. et al. Antimicrobial Susceptibility Testing, Drug Resistance Mechanisms, and Therapy of Infections with Nontuberculous Mycobacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 4, p. 545-721, 2012.
- CARNEIRO, V. A. et al. Casbane Diterpene as a Promising Natural Antimicrobial Agent against Biofilm-Associated Infections. **Molecules**, v. 16, p. 190-201, 2011.
- CAVALCANTE, G.M. et al. Atividade antimicrobiana de *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) sobre o desenvolvimento de *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*. **Scientia Plena**, v. 9, n. 2, 2013.
- CHAPAGAIN, B. P. et al. *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 26, n. 2, p. 109-115, 2007.
- CHOI, E. M. et al. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, n. 1, p. 171- 175, 2003.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. USA: Sixth Edition, 2003.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo**, v. 25 n. 1, 2005.
- COUTINHO, H. D. M. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de Geraniol e Cariofileno sobre *Staphylococcus aureus*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 20, n. 1, 2015.
- COUTINHO, H. D. M. et al. Modulação da atividade antibacteriana do tecido adiposo da *Gallus gallus domesticus* (Linnaeus, 1758). **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 4, p. 380-385, 2014.

- COUTINHO, H. D. M. et al. Fruits to potentiate the antibiotic activity: the effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. against MRSA. **Acta Alimentaria**, v. 41, n. 1, p. 67–72, 2012.
- CUSHNIE, T. P. T. et al. Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. **Microbiological Research**, v. 158, p. 281-289, 2003.
- DONKOR, A. M. et al. Antibacterial activity of the fruit extract of *Physalis angulata* and its formulation. **Journal of Medical and Biomedical Sciences**, v. 1, n. 4, p. 21-26, 2012.
- FABRI, R. L.; COSTA, J. A. B. M. Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de *Bromelia antiacantha* Bertol. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 2, p. 37-48, 2012.
- FERNANDES, F. H. A. et al. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 208-211, 2015.
- FIGUEREDO, F. G. et al. Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from *Amburana cearensis* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, 2013.
- FUMAGALI, E. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista brasileira de farmacognosia**. v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.
- GAUTHIER, C. Haemolytic activity, cytotoxicity and membrane cell permeabilization of semi-synthetic and natural lupane- and oleanane-type saponins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 5, p. 2002-2008, 2009.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.
- HASSAN, S. M. et al. Hemolytic and antimicrobial activities differ among saponin-rich extracts from Guar, Quillaja, Yucca, and Soybean. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 1008-1017, 2010.
- HSEU, Y. C. et al. Inhibitory effects of *Physalis angulata* on tumor metastasis and angiogenesis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 1, p. 762- 771, 2011.
- HSU, C. C. et al. Physalin B from *Physalis angulata* triggers the NOXA-related apoptosis pathway of human melanoma A375 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 1, p. 619-624, 2012.
- HWANG, J. et al. Anticariogenic activity of some tropical medicinal plants against *Streptococcus mutans*. **Fitoterapia**, v. 75, n. 6, p. 59-598, 2004.
- ISMAIL, N; ALAM, M. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 1, p. 676- 679, 2001.
- KAISER, S. et al. Estudo da relação estrutura-atividade de saponinas hemolíticas e/ou imunoadjuvantes mediante uso de análise multivariada. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 300-309, 2010.

KOVAC, J. et al. Antimicrobial and resistance modulatory activity of *Alpinia katsumadai* seed phenolic extract, essential oil and post-distillation extract. **Food Technology and Biotechnology**, v. 52, n. 2, p. 248-254, 2014.

LEE, S. W. et al. Withangulatin I, a New Cytotoxic Withanolide from *Physalis angulata*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 56, n. 2, p. 234-236, 2008.

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

LOPES, D. C. D. X. P. et al. Atividades antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n.2, p.206-210, 2006.

LUCENA, B. F. F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 1, p. 39-45, 2015

LUIZE, P. S. et al. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania* (L.) *amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, 2005.

MACKAY, M. L. et al. Comparison of methods for assessing synergic antibiotic interactions. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 15, n. 1, p. 125- 129, 2000.

MAGALHÃES, H. I. F. **Atividade Antitumoral (in vitro e in vivo) das fisalinas isoladas de *Physalis angulata* L.** Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará – UFC. Fortaleza, CE - 2005.

MAGALHÃES, H. I. F. et al. *In-vitro* and *in-vivo* antitumour activity of physalins B and D from *Physalis angulata*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, p. 235-241, 2006.

MAKKAR, H. P. S. et al. **Plant Secondary Metabolites**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007.

MATIAS, E. F. F. et al. Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociência**, v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010.

MATIAS, E. F. F. **Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora da resistência bacteriana à aminoglicosídeos de extratos polares e apolares de *Croton campestris* A. (velame), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) e *Cordia verbanacea* DC. (erva-baleeira).** Dissertação (Mestrado em Bioprospeção Molecular). Universidade Regional do Cariri – URCA. Crato, CE – 2010.

MATIAS, E. F. F. et al. Screening the *in vitro* modulation of antibiotic activity of the extracts and fractions of *Ocimum gratissimum* L. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 9, p. 1902-1907, 2012.

MEDINA-MEDRANO, J. R. et al. Phenolic constituents and antioxidante properties of five wild species of *Physalis* (Solanaceae). **Botanical Studies**, v. 56, n. 24, 2015.

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

- MEIRA, C. S. et al. *In vitro* and *in vivo* antiparasitic activity of *Physalis angulata* L. concentrated ethanolic extract against *Trypanosoma cruzi*. **Phytomedicine**, v. 22, p. 969-974, 2015.
- NASCIMENTO, P. P. S. et al. Avaliação do Sinergismo Entre Extratos de *Anadenanthera colubrina* (Angico) e Antibióticos de Referência Frente a Isolados Clínicos de *Staphylococcus aureus* Resistente À Meticilina (MRSA). **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, n. 1, 2014.
- NOGUEIRA, L. F. B. et al. Evaluation of antibacterial, antifungal and modulatory activity of methanol and ethanol extracts of *Padina sanctae-crucis*. **African Health Sciences**, v. 14, n. 2, 2014.
- NOGUEIRA, R. C. et al. Genotoxicity and antileishmanial activity evaluation of *Physalis angulata* concentrated ethanolic extract. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, p. 1304-1311, 2013.
- NUNES, A. S. F. et al. Efeito do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. na resistência aos aminoglicosídeos em *Staphylococcus aureus*. **Boletim Informativo Geum**, v. 5, n. 4, p. 31-37, 2014.
- OLIVEIRA, D. R. et al. *In Vitro* Antimicrobial and Modulatory Activity of the Natural Products Silymarin and Silibinin. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.
- OSHO, A. et al. Antimicrobial activity of essential oils of *Physalis angulata* L. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 7, n. 4, p. 303-306, 2010.
- PELGRIFT, R. Y.; FRIEDMAN, A. J. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, p. 1803-1815, 2013.
- PEREIRA, A. V. et al. Análise da atividade antimicrobiana de taninos totais de plantas aromáticas do Nordeste brasileiro. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 1, p. 109-114, 2015.
- PIETRO, R. C. L. R. et al. *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. **Phytomedicine**, v. 7, n. 4, p. 335- 338, 2000.
- PINTO, N. B. et al. Topical anti-inflammatory potential of physalin E from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice. **Phytomedicine**, v. 17, n. 1, p. 740- 743, 2010.
- PY, C. et al. Cytotoxic steroidal saponins from *Agave sisalana*. **Planta Medica**, v. 77, n. 9, p. 929-933, 2011.
- RABELO, D. M. et al. Alcaloides isoquinolinicos e investigação das atividades antiplasmódica e antibacteriana de *Guatteria citriodora* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 37, n. 9, p. 1453-1458, 2014.
- RANGEL, M. et al. Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. **Toxicon**, v. 35, n. 2, p. 305-309, 1997.
- ROCHA, D. P. et al. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, vol. 34, n. 1, pag. 111-118, 2011.
- RODRIGUES, C. G. et al. Antibacterial activity of tannins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 8, n. 35, p. 1095-1100, 2014.

- RODRIGUES, E. et al. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 981-991, 2010.
- ROW, L. R. et al. Phisalins E and H, new phisalins from *Physalis angulata* and *P. lancifolia*. **Phytochemistry**, v. 17, n. 1, p. 1641- 1645, 1978.
- SALGADO, E. R.; ARANA, G. V. *Physalis angulata* L. (Bolsa Mullaca): A Review of its Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 12, n. 5, p. 431 – 445, 2013.
- SHER, A. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. **Gomal Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 1, 2009.
- SILVA, K. M. A. et al. Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 14, n. 2, p. 92- 98, 2015.
- SILVA, J. G. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n.4, p. 572-577, 2007.
- SILVA, K. N.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 344-351, 2005.
- SILVA, M. T. G. et al. Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 779- 782, 2005.
- SILVEIRA, G. P. et al. Estratégias Utilizadas no Combate a Resistência Bacteriana, **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.
- SOARES, M. B. P. et al. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. **European Journal of Pharmacology**, v. 459, p. 107– 112, 2003.
- SOUZA, C. L. M. et al. Morfologia de sementes e desenvolvimento pós-seminal de *Physalis angulata* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 4, p. 1082-1085, 2010.
- SUN, L. et al. Immunosuppression effect of Withangulatin A from *Physalis angulata* via heme oxygenase 1-dependent pathways. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 1, p. 482- 488, 2011.
- TAVARES, E. N. et al. *In vitro* evaluation of the antibacterial and modulatory activities of corn and soy fixed oils. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 1, p. 27-30, 2015.
- TINTINO, S. R. et al. Antimicrobial activity and combined effects on antifungal and antibacterial drugs the fruit of *Morinda citrifolia* L. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 3, p. 193-200, 2015.
- WAHUA, C.; SAM, S. M. Comparative Chemotaxonomic Investigations on *Physalis angulata* Linn. and *Physalis micrantha* Linn. (Solanaceae). **Asian Journal of Applied Sciences**, v. 1, n. 5, 2013.

World Health Organization (WHO). **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. Junho, 2014. Disponível em:

<<http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>> . Acesso em: 15 de junho de 2015.

YANTI, Y. R. et al. Activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* Roxb. Against multi-species oral biofilms in vitro. **Journal of Oral Science**, v. 51, n. 9, p. 87-95, 2009.

YIM, N. et al. The antimicrobial activity of compounds from the leaf and stem of *Vitis amurensis* against two oral pathogens. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 3, p. 1165-1168, 2010.