

naturally occurring steroidal lactones, Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 1-106

<sup>9</sup>Kawai, M.; Makino, B.; Yamamura H.; Butsugari, Y. (1996) Upon "physalin L" isolated from *Physalis minima*, Phytochemistry, 43:3, 661-663

<sup>10</sup>Tomassini T. C. B.; Barbi, N.; Ribeiro, I.M.; Xavier, D. C. D. (2000) Gênero *Physalis* – uma revisão sobre vitaesteróides, Química Nova, 123: 1, 47–57

## Estudo botânico, fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de *Rubus rosaefolius* Sm. - Rosaceae

Claudia Mauro<sup>1</sup>; Caroly Mendonça Zanella Cardoso<sup>1,2</sup>; Carla Schultze<sup>1</sup>; Erika Yamamichi<sup>2</sup>; Patricia Santos Lopes<sup>1,2</sup>; Elda Maria Cecílio Marcondes<sup>1,2</sup>; Joana Paula Miranda<sup>2</sup>; Daniele Aparecida Oliveira Arruda<sup>1</sup>; Melissa Frota<sup>1</sup>; Andréa Lima Pacheco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas Oswaldo Cruz

<sup>2</sup> Oswaldo Cruz Labservice S/C Ltda.

Rua Brigadeiro Galvão, 540, 01151-000, São Paulo, SP, Brasil  
faculdades@oswaldocruz.br  
labserv@uol.com.br

### Abstract

*Rubus rosaefolius* Sm., Rosaceae, is a shrub with compound leaves, recurvate prickles, white flowers and aggregate fruit, popularly known as sylvan strawberry. The present research concerns its botany (macroscopic and microscopic studies), phytochemistry and antimicrobial properties. The presence of antraquinones, saponins, flavonoids, alkaloids and tannins on stem, root and leaves, were confirmed by specific phytochemical tests. Antimicrobial activity of aqueous and hydroalcoholic fractions were tested against *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. The hydroalcoholic fraction revealed antimicrobial activity against all species tested and the aqueous fraction inhibited the growth of *S. aureus* and *C. albicans*.

*Rubus rosaefolius* Smith (syn. *Rubus rosifolius* Smith<sup>7</sup>) é um arbusto escandente, com poucos acúleos desenvolvidos, frutos isolados, agregados, ocos, rubros na maturidade; cada frutículo drupáceo contém uma semente. As flores axilares e terminais, isoladas, brancas, pentâmeras, com simetria actinomorfa, apresentam cálice gamossépalo e corola dialipétala, com o pedúnculo floral cônico e protuberante, contendo um gineceu apocárpico dialicarpelar. O caule é ramificado, cilíndrico, de cor verde. A raiz primária é pivotante. As folhas são compostas, alternas, imparipenadas, com 3 a 7 folíolos, e estípulas. O limbo dos folíolos é membranáceo, ovado-oblongo, ápice acuminado, base arredondada, áspera ao tato e pubescente à visão. As margens são duplamente denteadas, com nervuras pinadas<sup>8</sup>. O folíolo não apresenta regiões de transparência, à vista desarmada. Acúleos recurvados estão presentes em toda a parte aérea da planta, sendo mais freqüentes nos caules e pecíolos. A espécie floresce o ano todo.

*Rubus rosaefolius* Sm. não tem sido objeto de estudos relevantes. No entanto, estudos farmacológicos têm mostrado que este gênero pode ser uma importante fonte de substâncias ativas. O presente trabalho teve como objetivo aliar o estudo botânico e histoquímico ao fitoquímico desta espécie, bem como avaliar uma possível atividade antimicrobiana do extrato aquoso e da tintura hidroalcoólica das folhas.

O estudo anatômico, através da análise de cortes transversais e paradermicos, revelou tricomas unicelulares e 2 tipos de tricomas glandulares pedicelados, ambos pluricelulares. Drusas de oxalato de cálcio, em idioblastos, são frequentes,

principalmente no limbo foliar e na raiz. A epiderme unisseriada, constituída por paredes delgadas, associada a uma cutícula fina, bem como o mesofilo foliar dorsiventral apontam para uma planta mesofítica.

Os resultados fitoquímicos dos extratos brutos dos órgãos estudados de *Rubus rosaefolius* Sm. são mostrados na tabela 1.

A Concentração Mínima Inibitória (CMI) da tintura hidroalcoólica das folhas de *Rubus rosaefolius* está entre 20 e 10%, e a CMI do extrato aquoso para *S. aureus* e *C. albicans* em torno de 20% (p/V) (tabelas 2 e 3).

**Tabela 1.** Resultados fitoquímicos dos extratos brutos dos órgãos estudados de *Rubus rosaefolius* Sm

TESTES QUÍMICOS	FOLHA	CAULE	RAIZ
Heterosídeos antraquinônicos (C-heterosídeo)	+	+	+
Heterosídeos antraquinônicos (O-heterosídeo)	-	-	-
Antraquinonas livres	++	++	++
Saponinas	+++	+	-
Taninos	++	+	+
Flavonóides	+	++	++
Heterosídeos cianogênicos	-	-	-
Cumarinas	-	-	-
Alcalóides	+	+++	+++
Açúcares redutores	+	+	+
Açúcares não redutores	-	-	-
Heterosídeos cardioativos: Núcleo esteroidal Lactona Desoxiaçúcares	+++++	+++	+++

**Tabela 2.** Atividade antimicrobiana do extrato aquoso do *Rubus rosaefolius*. O padrão testado para as bactérias foi ampicilina anidra e para a levedura anfotericina B (- = ausência de turvação; + = presença de turvação)

Microrganismos	Extrato aquoso		
	20% (v/v)	10% (v/v)	5% (v/v)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	41-/31+	1-/71+	72+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	72+	72+	72+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	72+	72+	72+
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	70-/2+	72+	72+

**Tabela 3.** Atividade antimicrobiana da tintura hidroalcoólica do *Rubus rosaefolius*. O padrão testado para as bactérias foi ampicilina anidra e para a levedura anfotericina B (- = ausência de turvação ; + = presença de turvação)

Microrganismos	Tintura hidroalcoólica		
	20% (v/v)	10% (v/v)	5% (v/v)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	72-	70-/2+	12-/60+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	72-	17-/55+	72+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	70-/2+	20-/52+	1-/71+
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	53-/19+	22-/50+	8-/64+

## Material e Métodos

O material foi coletado no Horto Medicinal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas "Oswaldo Cruz", procedente de mudas obtidas na Serra da Cantareira, em São Paulo, S/P. Uma exsiccata do material foi depositada no Herbário do Instituto de Botânica (Secretaria de Agricultura, São Paulo), sob o número SP 259063.

Cortes transversais de raiz, caule e folha e paradérmicos de limbo foliar, feitos a mão livre, foram clarificados em solução de hipoclorito de sódio 50% (V/V), corados com azul de alcian e fucsina básica e montados em lâminas semi-permanentes, com glicerina 50% (V/V). Os desenhos foram elaborados em câmara clara modelo 109, acoplada a microscópio Coleman binocular, modelo XSZ – 107 BN.

Testes histoquímicos foram realizados em lâminas em todos os órgãos, utilizando-se cloreto férrico 2% (p/V) para taninos, Bouchardat e Dragendorff para alcalóides e hidróxido de amônio 10% (V/V) para antraquinonas<sup>1,2</sup>.

Foram realizados testes químicos para identificar heterosídeos antraquinônicos<sup>1,3</sup>, saponinas<sup>3</sup>, taninos<sup>1</sup>, heterosídeos flavonoidicos<sup>1</sup>, heterosídeos cianogênicos<sup>3,4</sup>, cumarinas<sup>1</sup>, açúcares redutores e não redutores<sup>3</sup>, heterosídeos cardiotônicos<sup>1</sup> e alcalóides<sup>1</sup>, e também o índice de espuma<sup>1</sup>. Os resultados positivos obtidos para antraquinonas, saponinas, taninos, flavonoides e alcalóides foram complementados por cromatografia em camada delgada<sup>5</sup>.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizado o método de diluição em microplacas determinando a concentração mínima inibitória (CMI) frente a *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 9027 e *Candida albicans* ATCC 10231<sup>6</sup>.

O procedimento do teste para determinação da concentração mínima inibitória pela técnica de diluição em meio líquido em microplacas é uma adaptação do procedimento que utiliza tubos, adaptando-se os volumes de inóculo, amostra e meio de cultura para 230 ml.

## Referências

- <sup>1</sup> Costa, A.F. Farmacognosia. V. 3. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994
- <sup>2</sup> Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrowick, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 1999. 821p
- <sup>3</sup> Duarte, M. R., Yassumoto, Y., Cecy, C. Guia de Farmacognosia Aplicada. São Paulo: Ibrasa Champagnat, 1991
- <sup>4</sup> Matos, F.J.A. Introdução à fitoquímica experimental. Editora da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza: UFC, 1988
- <sup>5</sup> Wagner, H. & Bladt, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. New York: Springer-Verlag, 1996
- <sup>6</sup> Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. Microbiology: an

introduction. 7. ed. Longman: Benjamin Cummings, 2001. cap.20, p.568

<sup>7</sup> Kissmann, K.G. Groth, D. Plantas infestantes e nocivas Editora BASF, 1995, III

<sup>8</sup> Jorge, L.I.F., Markman, B.E.O. Caracterização histológica das folhas e dos frutos de *Rubus rosaefolius* Smith (amora-domato). Rev. Inst. Adolfo Lutz, v.53, p.1-4, 1993