



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE**  
**CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA**

**IRANEIDE DA SILVA PEREIRA**

**CONTROLE DE QUALIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIMICROBIANA DA TINTURA DE JATOBÁ (*Hymenea spp.*).**

**CUITÉ – PB**

**2017**

**IRANEIDE DA SILVA PEREIRA**

**CONTROLE DE QUALIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIMICROBIANA DA TINTURA DE JATOBÁ (*Hymenea spp.*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Júlia Beatriz Pereira de Souza

**CUITÉ-PB**

**2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

P436c Pereira, Iraneide da Silva.

Controle de qualidade e avaliação da atividade antimicrobiana da tintura de jatobá (*Hymenea spp.*). / Iraneide da Silva Pereira. – Cuité: CES, 2017.

42 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2017.

Orientadora: Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza.

1. Plantas medicinais. 2. Controle de qualidade. 3. *Hymenea spp.* I. Título.

Biblioteca do CES – UFCG

CDU 633.88

**IRANEIDE DA SILVA PEREIRA**

**CONTROLE DE QUALIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIMICROBIANA DA TINTURA DE JATOBÁ (*Hymenea spp.*).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 13 / 12 / 2017

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Júlia Beatriz Pereira de Souza  
Orientadora – UFCG

---

Prof. Dr. Egberto Santos Carmo  
Examinador – UFCG

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Francinalva Dantas de Medeiros  
Examinadora - UFCG

Dedico este trabalho ao meu pai Antônio e minha mãe Maria (*in Memoriam*), por me ensinarem que o estudo é o melhor caminho pra se realizar sonhos. Ao meu marido Otávio Junior por me apoiar sempre. Em especial dedico a minha irmã Ivaneide que não mediu esforços para me ajudar nesta batalha.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que abriu portas e janelas para que eu conseguisse enfrentar todas as dificuldades vividas durante a graduação, sem sua ajuda não teria nem começado esse desafio, “Nunca foi sorte, sempre foi Deus”.

A meu pai Antônio Pereira e minha mãe Maria da Silva (*in memoriam*), que mesmo analfabetos por falta de condições e de oportunidades para estudar, sempre ensinaram para seus filhos o quanto é importante o conhecimento e fizeram vários sacrifícios para que eles pudessem estudar. Amo-os incondicionalmente e além da vida. Ao meu esposo Otávio Júnior, por sempre está ao meu lado me apoiando e ajudando ao longo desta jornada.

Aos meus irmãos José Ivo, Antônia Ires, Ivanete, Ivaneide e Evanir, vocês são meu estímulo diário, amo-os muito. A meus primos, tios, sobrinhos, cunhados, sogra, sogro e amigos. Obrigada por estarem na torcida sempre pela minha vitória.

A minha professora orientadora Dr.<sup>a</sup> Júlia Beatriz Pereira de Souza, pelo incentivo, compreensão, atenção e dedicação na realização deste trabalho. Como também pelo carinho a mim dispensado, ajudando em alguns momentos difíceis durante a graduação. És uma profissional exemplar.

Aos professores Dr. Egberto Santos Carmo e Dr.<sup>a</sup> Francinalva Dantas de Medeiros, por aceitar ao convite de compor a banca avaliadora deste trabalho.

Agradeço a todos meus amigos e colegas de turma, os quais levarei sempre no meu coração, por me ajudarem a viver esse momento, dividindo alegrias e tristezas. Em especial a Anelise Pinheiro, por estar sempre comigo compartilhando sonhos e tarefas acadêmicas, amo você. A Franncielly Simões, pelo cuidado que sempre teve comigo, obrigada por comprar tapioca quando meus bolsos e meu estômago estavam vazios.

Agradeço a todos os professores do curso de Farmácia do CES- UFCG, com os quais eu tive o privilégio de conviver, em especial citar o professor Dr. Egberto Santos Carmo, por sempre se mostrar disposto a me ajudar quando estava um pouco sem rumo. O professor Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon, por suas palavras de incentivo. A professora Dr.<sup>a</sup> Danielly Albuquerque da Costa, pelo carinho demonstrado dentro e fora da sala de aula.

Enfim agradeço a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente na realização desde trabalho.

“Não conto a quantidade de pessoas que me expõe sua admiração por minha força nas lutas, mas eu confesso que admirariam muito mais se soubessem às vezes em que luto sem forças.”

Autor desconhecido

## RESUMO

A utilização de plantas para fins terapêuticos é uma prática antiga e até hoje altamente difundida. Todavia, faz-se necessário determinar segurança e eficácia destes produtos a fim de assegurar a qualidade e evitar riscos à saúde do consumidor. A tintura de Jatobá é utilizada no tratamento de infecção urinária. O presente estudo objetivou determinar os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e investigar os grupos fitoquímicos, da tintura de Jatobá (*Hymenaea spp.*), bem como avaliar sua atividade antimicrobiana frente à *Escherichia coli*, em amostras produzidas na Oficina de Remédios Caseiros do CENEP – Nova Palmeira – PB. Para a avaliação físico-química foram realizados ensaios de pH, densidade e resíduo seco. Os grupos fitoquímicos foram identificados por reações químicas específicas. Para análise microbiológica utilizou-se o teste de contagem em placas em profundidade. Para a comprovação da eficácia antimicrobiana, foi utilizado o método de difusão em ágar. Os resultados apresentam a tintura de jatobá como uma solução turva, de cor castanho avermelhada, homogênea, pH =5,04; densidade relativa = 0,9237 mg/mL e resíduo seco = 3,66 %, ambos dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Do ponto de vista microbiológico, todas as amostras estavam dentro dos limites farmacopeicos. A tintura apresentou eficácia antimicrobiana frente a *E.coli*, com halos de inibição em média de 11,6 mm., apresentando assim, uma boa capacidade de inibição. As características avaliadas são importantes na determinação da qualidade do produto e para a realização de estudos posteriores de estabilidade, além de evidenciar o potencial antimicrobiano contra a *E. coli*, principal bactéria causadora de infecção urinária, servindo de incentivo para a realização de novos estudos com abordagens químicas e farmacológicas sobre o jatobá.

**Palavras-chave:** Plantas Medicinais, Controle de Qualidade, *Hymenaea spp.*

## ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes is an old practice and to this day highly widespread. However, it is necessary to determine the safety and efficacy of these products to ensure their quality and avoid risks to the consumer's health. Jatoba tincture is used in the treatment of urinary tract infection. The present study aimed to determine the physicochemical and microbiological parameters and to investigate the phytochemical groups of Jatobá tincture, as well as to evaluate its antimicrobial activity against *Escherichia coli*, in samples produced by CENEP - Nova Palmeira - PB. For the physico-chemical evaluation were performed pH, density and dry residue tests. Phytochemical groups were identified through specific chemical reactions, which characterize secondary metabolites. For the microbiological analysis, the pour plate count test was used. For the tincture antimicrobial efficacy proof, the agar diffusion method was used. The results show the jatobá tincture as a homogeneous, dark reddish brown, blurred solution pH (5.04), density (0.9234 mg/mL), dry residue (3.66 %), both within the Brazilian legislation standards. The tincture showed antimicrobial efficacy against *E. coli*, with inhibition halos averaging 11.6 mm. The evaluated characteristics are important to determine the product quality and to carry out further stability studies, besides showing the antimicrobial potential against *E. coli*, the main bacterium causing urinary infection, serving as an incentive for new studies with chemical and pharmacological approaches to jatobá.

**Keywords:** Medicinal Plants, Quality Control, *Hymenaea spp.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Jatobá ( <i>Hymenea, sp</i> ).....	18
<b>Figura 2.</b> Aspecto visual das amostras de tintura de jatobá analisadas.....	27
<b>Figura 3.</b> Testes para identificação de grupos fitoquímicos característicos do jatobá.....	28
<b>Figura 4.</b> Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i> em meio ágar manitol salgado (I) e ágar DNAse (II).....	32
<b>Figura 5.</b> Atividade antimicrobiana das amostras de tintura de jatobá contra <i>E. coli</i> pelo método de difusão em ágar.....	34

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Reações de identificação de grupos fitoquímicos característicos.....	23
<b>Quadro 2.</b> Condições de incubação dos placas semeadas com a amostra em profundidade.....	24
<b>Quadro 3.</b> Pesquisa de microrganismos patogênicos.....	25
<b>Quadro 4.</b> Resultado dos testes fitoquímicos da tintura de jatobá.....	28
<b>Quadro 5.</b> Valores dos ensaios físico-químicos da tintura de jatobá.....	30
<b>Quadro 6.</b> Contagem do número total de microrganismos viáveis das amostras de tintura do jatobá.....	31
<b>Quadro 7.</b> Resultado da pesquisa qualitativa de bactérias patogênicas.....	32
<b>Quadro 8.</b> Diâmetro dos halos de inibição (mm) da tintura do jatobá sobre linhagem de <i>Escherichia coli</i> (n=5).....	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS – Ágar Caseína-Soja

ASD – Ágar Sabouraud dextrose

CENEP – Centro de Educação Popular

CES – Centro de Educação e Saúde

CIM – Concentração Inibitória Mínima

DNase - Desoxirribonuclease

g - Gramas

L – Litros

mL – Mililitros

mm – Milímetros

nº - Número

nm – Nanômetro

°C – Graus Celsius

OMS – Organização Mundial da Saúde

PB – Paraíba

pH – Potencial Hidrogeniônico

SUS – Sistema Único de Saúde

spp - Várias Espécies de um Gênero

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFMG – Universidade Federal de Campina Grande

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
3.1 Plantas Medicinais.....	16
3.2 <i>Hymenea</i> spp.....	17
3.3 Tintura.....	19
3.4 Controle de qualidade.....	19
3.4.1 Controle de qualidade microbiológico.....	20
3.4.2 Ensaio físico-químico.....	20
3.4.3 Análise fitoquímica.....	21
3.5 Atividade Antimicrobiana.....	21
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
4.1 Amostras.....	23
4.2 Características organolépticas.....	23
4.3 Análise físico-química.....	23
4.3.1 Determinação de constituintes químicos.....	23
4.3.2 Determinação do pH.....	23
4.3.3 Determinação da densidade relativa.....	23
4.3.4 Determinação de resíduo seco.....	24
4.4 Análise microbiológica.....	24
4.4.1 Contagem do número total de microrganismos.....	24
4.4.2 Pesquisa de patógenos.....	25
4.5 Eficácia antimicrobiana da tintura.....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
5.1 Características organolépticas.....	27
5.2 Análise físico-química.....	27
5.2.1 Determinação de constituintes químicos característicos .....	27
5.2.2 Ensaio físico-químico.....	29

<b>5.3 Análise microbiológica.....</b>	<b>30</b>
5.3.1 Contagem do número total de microrganismos.....	31
5.3.2 Pesquisa de patógenos.....	31
<b>5.4 Eficácia antimicrobiana da tintura.....</b>	<b>33</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins terapêuticos é uma prática antiga realizada pela civilização humana no decorrer de séculos, baseada em descobertas ao acaso, onde eram empregados produtos de origem mineral, vegetal e animal, sendo estes as principais fontes de drogas (LAMEIRA; PINTO, 2008).

Há tempos a busca pela fitoterapia tem crescido por parte de pacientes, cientistas e serviços de saúde, e, de acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população dos países em desenvolvimento dependem da medicina tradicional para sua atenção primária, sendo que desta população que utiliza práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde, 85% faz uso de plantas ou preparações destas (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011).

No Brasil, com o propósito de melhorar o serviço de saúde prestado à população, o Sistema Único de Saúde (SUS) juntamente com a Organização Mundial de Saúde (OMS), reconhece o uso de plantas medicinais com fins terapêuticos, e assegura o emprego desses fitoterápicos na atenção básica de saúde (BRASIL, 2011a).

A produção, o controle e o uso das plantas medicinais, drogas e fitoterápicos no Brasil, e, até mesmo o direcionamento do ensino e da pesquisa nesta área da Farmácia, têm mostrado, recentemente, sinais de desenvolvimento no sentido de melhor atender aos interesses da população quanto ao aproveitamento correto das plantas medicinais brasileiras e seus derivados (CARRICONDE *in* MATOS, 2007).

Dentre as plantas medicinais, destaca-se a *Hymenaea* spp. da família Leguminosae, que tem como nome popular jatobá, jatobazeiro ou jatobá-verdadeiro. Uma espécie nativa, semi-decídua, pertencente ao bioma da Mata Atlântica e ocasionalmente também ao Cerrado, com ampla distribuição no Brasil, principalmente no Piauí e norte do Paraná (LORENZI *in* DUARTE et al., 2016). A literatura descreve o uso diversificado desta planta, relatados com base na experiência popular (CIPRIANO et al., 2014), uma das indicações populares é o uso da tintura de jatobá no tratamento de infecções urinárias, que tem como principal agente etiológico a *Escherichia coli*. Em diversos estudos observou-se atividade antimicrobiana de *H. courbaril* contra as bactérias *Salmonella thyphimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus haemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria* spp. e *Vibrio* spp (SPONCHIADO JÚNIOR, 2006; PEREIRA et al., 2007; SÁ et al., 2011).

Tinturas são preparações por maceração ou percolação com álcool, em proporções específicas entre as quantidades de planta, seca ou fresca, e álcool (MATOS, 2007). Por ser um produto natural à tintura é muito importante, uma vez que se apresenta com baixa toxicidade e

com valores acessíveis a sociedade (PINHEIRO et al, 2012). Para o controle de qualidade desse produto, devem ser aplicadas metodologias químicas e físico-químicas, com o objetivo de estabelecer as condições adequadas de estabilidade, bem como metodologias de controle de qualidade microbiológico, analisando a contaminação por microrganismos que podem ser patogênicos para o usuário ou que podem propiciar a degradação do produto diminuindo, assim, a sua eficácia e segurança. (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010). As especificações de qualidade têm por objetivo a segurança do consumidor e a estabilidade do produto. Evitam que o produto seja veículo de agravos à saúde do usuário, e que sofra deterioração, levando à perda de eficácia (CARDOSO, 2009).

Neste contexto, faz-se necessária a determinação da qualidade destes produtos, através de ensaios físico-químicos, microbiológicos e fitoquímicos para que seja assegurada a confiabilidade e a estabilidade dos mesmos, além de avaliar sua atividade contra a *E. coli*, garantindo segurança e eficácia a tintura de Jatobá, amplamente utilizada pela população de Nova palmeira - PB.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

- Caracterizar os parâmetros de controle de qualidade e avaliar a atividade antimicrobiana da tintura de jatobá (*Hymenaea spp.*);

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar os parâmetros físico-químicos da tintura (pH, densidade relativa, resíduo seco);
- identificar grupos químicos característicos (princípios ativos, classes de componentes ou marcadores).
- avaliar a qualidade microbiológica da tintura e
- avaliar a atividade antimicrobiana da tintura frente *Escherichia coli*.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Plantas Medicinais

Plantas têm sido tradicionalmente usadas por populações de todos os continentes no controle de diversas doenças e pragas (FRANÇA, *in* SIMÕES et al., 2010). A utilização de plantas para fins terapêuticos é uma prática antiga realizada pela civilização humana no decorrer de séculos, empregando-se produtos de origem vegetal, sendo estes, as principais fontes de drogas (LAMEIRA; PINTO, 2008). Para utilizarem as plantas como medicamentos, os homens antigos utilizavam suas próprias experiências empíricas de acerto e erro e da observação do uso de plantas pelos animais (OLIVEIRA, 2006).

A etnofarmacologia é muito importante, pois ela direciona os pesquisadores a definirem quais plantas tem maior potencial farmacológico visto que os vegetais possuem inúmeros compostos químicos com propriedades físico-químicas e biológicas distintas. Em virtude destas pesquisas a maioria dos compostos naturais puros empregados hoje na indústria farmacêutica foi isolada seguindo recomendações da medicina popular (SIMÕES et al., 2010).

As plantas na grande maioria das vezes são indicadas pelos efeitos que produzem, mesmo que não tenham ainda, seus componentes químicos elucidados. As observações feitas acerca do uso popular e da eficácia das plantas medicinais contribuem para a disseminação de suas ações curativas. Portanto, seus consumidores continuam mantendo a prática do uso, legitimando as informações terapêuticas acumuladas durante séculos (MACIEL et al., 2002). Mesmo com grandes avanços científicos na medicina alopática sintética, a grande maioria das populações dos países em desenvolvimento, faz uso de plantas medicinais na cura e prevenção de diversas doenças, seja pela fácil obtenção destes produtos ou pela tradição, ou ainda por motivos associados à dificuldade de acesso aos grandes centros hospitalares, a exames e medicamentos. O que se observa é que ao longo do tempo têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais (VEIGA JR; MACIEL; PINTO, 2005).

Frequentemente, estas plantas são comercializadas, protegidas por afirmações de que plantas não causam efeitos colaterais e nem são tóxicas para o organismo. Estes produtos são encontrados em farmácias, lojas de produtos naturais, feiras livres ou mercados populares, contudo, nem sempre as propriedades farmacológicas anunciadas tem validade científica, por não terem sido pesquisadas e/ou comprovadas por testes científicos (VEIGA JR; MACIEL; PINTO, 2005). Todavia, vem crescendo bastante o interesse de pesquisadores em estudos sobre

o valor terapêutico de plantas medicinais, enriquecendo o legado popular por comprovar a eficácia destes produtos, aumentando assim, a utilização de plantas por recomendações de profissionais (ARNOUS; SANTOS; BEINNER, 2005).

No Brasil, com o propósito de melhorar o serviço de saúde prestado à população, o Sistema Único de Saúde (SUS) juntamente com a Organização Mundial de Saúde (OMS), reconhece o uso de plantas medicinais com fins terapêuticos, e assegura o emprego desses produtos na atenção básica a saúde (BRASIL, 2011a).

O uso de plantas medicinais é importante, por ser utilizado como critérios para pesquisas, com o intuito de desenvolver novos fitoterápicos (CRUZ; ALVIM, 2013). Essas plantas podem ser documentadas, e inseridas no setor de saúde pública, especialmente na Atenção Primária à Saúde, no âmbito do Sistema Único de Saúde (PIRES et al., 2014).

### **3.2 *Hymenaea* spp.**

Dentre as plantas medicinais, destaca-se o jatobá (*Hymenaea* spp. L.) da família Leguminosae. Uma espécie nativa, semi-decídua, pertencente ao bioma da Mata Atlântica e ocasionalmente também ao Cerrado, mesmo com ampla distribuição no Brasil, principalmente no Piauí e norte do Paraná (LORENZI *in* DUARTE et al., 2016), a espécie é considerada rara, ocorrendo naturalmente em baixas densidades, geralmente de uma a seis plantas por hectare (DUARTE et al., 2016). A denominação *Hymenaea* deriva do grego (Hymen), deus do matrimônio, e faz alusão aos dois folíolos pareados das folhas (CARVALHO, 2007). É considerado um gênero predominantemente neotropical com 16 espécies distribuídas desde o México até a América do Sul (DECHOUM, 2004; MATOS, 2007). As espécies deste gênero de maior importância econômica e medicinal são a *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa* e *Hymenaea martiana*, encontradas principalmente em vegetação de cerrado. Estas árvores são bastante utilizadas pela população, tanto na construção civil, como em ornamentações e principalmente para amenizar e curar vários tipos de doenças (CIPRIANO et al., 2014).

Os jatobás são árvores de troncos retos e cilíndricos, de súber liso e de coloração cinza (figura 1a). A floração e a frutificação tem início entre oito e doze anos de idade da planta, e não são necessariamente anuais. No Brasil, florescem durante os meses de dezembro a fevereiro e os frutos amadurecem entre os meses de agosto e setembro. As folhas (figura 1b) são

compostas, bifolioladas, de filotaxia alterna com estipulas e pecíolo livre do lado interno (BARROSO *in* CIPRIANO et al., 2014).

**Figura 1** – Jatobá (*Hymenea*, sp)



Fonte: Arquivos da pesquisa

A literatura descreve o uso diversificado desta planta, relatados com base na experiência popular (CIPRIANO et al., 2014), são aproveitadas medicinalmente partes como: resina, casca, raízes, polpa dos frutos e seiva, sendo utilizadas contra afecções pulmonares de modo geral, dores e cólicas estomacais, como vermífugo e anti-diarreico, antifúngico, antioxidante, diurético, expectorante, hepatoprotetor, carminativo, adstringente, estimulante e energético (LORENZI; MATOS, 2002; DECHOUM, 2004).

Diversos estudos descreveram atividade antimicrobiana do jatobá contra as bactérias *Salmonella thiphimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus haemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria spp.* e *Vibrio spp* (SPONCHIADO JÚNIOR, 2006; PEREIRA et al., 2007; SÁ et al., 2011). Barbosa et al. (2007) observaram que a fração orgânica apresentou, *in vitro*, atividade antifúngica para *Candida clodosporiodes* e *Candida spherospermum*.

Conforme o caso, as plantas medicinais podem ser usadas em preparações diversas, para uso interno, devendo ser ingeridas, ou para uso externo, sendo sua utilização feita através de aplicações sobre a pele ou em mucosas das cavidades naturais. Essas preparações são denominadas tecnicamente de formas farmacêuticas e a forma de fazê-las, requer obediência a

normas adequadas em cada caso. As formas mais comumente utilizadas nas mais variadas situações, são as seguintes: cataplasma, decocção, infusão, maceração, inalação, filtração, aluá, vinhos medicinais, tinturas, tisanas, xarope e pós (MATOS, 2007).

### **3.3 Tintura**

É a preparação alcoólica ou hidroalcoólica resultante da extração de drogas vegetais ou animais por maceração ou percolação ou da diluição dos respectivos extratos. É classificada em simples e composta, conforme preparada com uma ou mais matérias-primas. A menos que indicado de maneira diferente na monografia individual, 10 mL de tintura simples correspondem a 1 g de droga seca (MATOS, 2007; BRASIL, 2011b).

A tintura deve ser armazenada em recipiente protegido da ação da luz e do ar. É uma forma simples de se conservar por longo período os princípios ativos de muitas plantas medicinais. São utilizadas na forma de gotas dissolvidas em água para uso interno, ou em pomadas, unguentos e fricções em uso externo (DANTAS, 2007; MATOS, 2007).

### **3.4 Controle de qualidade**

As especificações de qualidade têm por objetivo a segurança do consumidor e a estabilidade do produto. Evitam que o produto seja veículo de agravos à saúde do usuário, e que sofra deterioração, levando à perda de eficácia. (CARDOSO, 2009).

O consumo de produtos fitoterápicos continua em ascensão como alternativa terapêutica, contudo, a qualidade destes produtos às vezes é questionável, por vários fatores, que vão desde as formas de cultivo, colheita, secagem, armazenamento do material vegetal até o processo de desenvolvimento farmacêutico para a obtenção do produto acabado (CARVALHO et al., 2006; NUNES et al., 2009).

De forma geral, a expansão do uso de produtos naturais deve-se a fatores relacionados aos efeitos adversos de fármacos sintéticos, à preferência dos consumidores por tratamentos “naturais”, crescente validação científica das propriedades farmacológicas de espécies vegetais, desenvolvimento de novos métodos analíticos para o controle de qualidade, desenvolvimento de novas formas de preparações e administração dos produtos e relativo baixo custo (CAÑIGUERAL; DELLACASSA; BANDONI, 2003; MELO et al., 2007).

Para o controle de qualidade desse produto, devem ser aplicadas metodologias químicas

e físico-químicas, com o objetivo de estabelecer as condições adequadas de estabilidade, bem como metodologias de controle de qualidade microbiológico, analisando a contaminação por microrganismos que podem ser patogênicos para o usuário ou que podem propiciar a degradação do produto diminuindo, assim, a sua eficácia e segurança. (SOUZA-MOREIRA, SALGADO; PIETRO, 2010).

#### 3.4.1 Controle de qualidade microbiológico

É estabelecido como conjunto de procedimentos que asseguram a realização de ensaios necessários e relevantes que garantem a qualidade dos produtos, antes de serem liberados para uso pela população. O controle da qualidade microbiológico é importante na obtenção de produtos de ótima qualidade, estabilidade e confiança (SILVA; SILVA, 2017).

Um fator primordial no controle de qualidade microbiológico é a carga microbiana, por que se estiver elevada pode comprometer a estabilidade do produto, levando a degradação do princípio ativo, com perda da eficácia (ANDRADE et al., 2005). Além disso, um produto farmacêutico contaminado com microrganismos patogênicos tais como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Salmonella spp* é muito perigoso, pois pode agravar ainda mais o quadro de saúde do paciente (BONFILIO et al., 2013).

Atualmente a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), estabelece as seguintes especificações para produtos não aquosos de uso oral, nos quais podemos enquadrar as tinturas: é tolerada a presença de  $10^3$  bactérias aeróbias/g ou mL,  $10^2$  fungos/g ou mL e ausência de *Salmonella spp*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. No entanto, a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) indica também a pesquisa de outros indicadores de maior risco para a via de administração oral, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter spp*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (BUGNO et al., 2005; ANDRADE et al., 2005; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

#### 3.4.2 Ensaio físico-químico

São operações técnicas que procuram determinar uma ou mais características de um produto ou serviço, de acordo com um procedimento específico (BRASIL, 2008).

A estabilidade de um produto depende de fatores intrínsecos, como as propriedades físico-químicas do princípio ativo e excipientes, do pH, das impurezas presentes, entre outros, e também de fatores extrínsecos, que são aqueles relacionados ao meio ambiente, como temperatura, umidade, luz e etc.. A perda da estabilidade química pode levar a alterações na

formulação que vão desde a deformação do princípio ativo, até o surgimento de alta toxicidade, trazendo riscos ao paciente (BRASIL, 2012).

A estabilidade física também é importante, visto que é necessária para manter as propriedades físicas de um produto, incluindo aparência, palatabilidade, uniformidade, dissolução e suspensibilidade. Portanto, alterações físicas podem mudar a cor, odor, sabor e reduzir o tempo de uso do medicamento (BRASIL, 2012).

São utilizados vários métodos para estabelecer as características físico-químicas de um produto, as mais usuais são; pH; viscosidade; densidade; determinação de materiais voláteis e resíduo seco e determinação do teor de água/umidade (BRASIL, 2008).

### 3.4.3 Análise fitoquímicas

A pesquisa fitoquímica tem por objetivo conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar sua presença (SIMÕES et al., 2010).

A análise fitoquímica preliminar pode indicar o grupo de metabolito secundário relevante da espécie de interesse, quando não se dispõe de estudos fitoquímicos sobre a planta analisada. Se a investigação for restrita a uma classe específica de constituinte ou sobre uma substância responsável por alguma atividade biológica, devera ser feito o isolamento e a elucidação estrutural da mesma (SIMÕES et al., 2010).

O isolamento e a elucidação estrutural de metabolitos secundários são utilizados como marcadores químicos na identificação da espécie vegetal e em estudos de estabilidade. A pesquisa inicia-se com ensaios de prospecção fitoquímica para o extrato em estudo (BRAGA et al., 2003).

O jatobá é composto por óleos essenciais, taninos, substâncias amargas, matérias resinosas e pécnicas, amido e açúcares (PINTO; SANTIAGO; LAMEIRA, 2000). As folhas e a casca possuem compostos terpênicos e fenólicos agindo como anti-microbianos, anti-fúngicos, anti-bacterianos, moluscicidas, comprovados em vários estudos, o que valida sua longa história de uso contra vários males ( LORENZI; MATOS, 2002).

## 3.5 Atividade antimicrobiana

Nas últimas décadas tem se intensificado a resistência de bactérias patogênicas aos antibióticos existentes, constituindo em um grave problema de saúde pública no mundo, surgindo à necessidade do desenvolvimento de novos antimicrobianos (KUREK et al., 2012).

A resistência aos antibióticos acontece como consequência natural da capacidade das bactérias de se adaptar ao uso desses medicamentos. A exposição excessiva aos antimicrobianos, pelo uso indiscriminado destes, facilita a aquisição de mecanismos de resistência (SANTOS, 2004). A crescente demanda por novos antibióticos tem levado a pesquisas fitoquímicas e farmacológica de plantas guiadas por informações sobre o uso tradicional-etnobotânico (FILOCHE; SOMA; SISSONS, 2005). Uma das indicações populares é o uso da tintura de jatobá no tratamento de infecções urinárias.

As infecções do trato urinário (ITUs) situam-se entre as mais frequentes infecções bacterianas do ser humano, figurando como a segunda infecção mais comum na população em geral, perdendo apenas para as infecções respiratórias. Ela pode atingir pessoas de qualquer sexo e idade e acomete principalmente mulheres (SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA E SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA, 2004). As ITUs correspondem ao crescimento e a multiplicação de bactérias dentro do trato urinário provocando lesões de graus variáveis. Estas infecções podem ser agrupadas em quatro entidades clínicas diferentes, de acordo com a localização anatômica do agravo e sítio de proliferação bacteriana, mantendo, todavia, relações entre elas: bexiga (urina), uretrite (uretra), cistite (bexiga) e pielonefrite (rim) (DUARTE et al., 2008; MITTAL; WING, 2005). Os microrganismos mais habituais nestas infecções são bactérias aeróbias Gram negativas, sendo o agente etiológico mais frequente a *Escherichia coli* (MARTINS; VITORINO; ABREU, 2010; LOPES, et al., 2010).

A *E. coli* vem apresentando resistência adquirida aos principais medicamentos utilizados na terapêutica empírica deste tipo de infecção, como as fluoroquinolonas (MENEZES et al., 2009). O problema dramático da resistência aos antibióticos faz com que possamos enfrentar um problema de Saúde Pública, uma vez que patologias anteriormente com fácil solução em nível de tratamento, estão rapidamente a tornar-se complicadas sob o ponto de vista terapêutico (OLIVEIRA, 2010).

Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais. Os mais conhecidos incluem método de difusão em ágar, método de macrodiluição e microdiluição (OSTROSKY et al., 2008). O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada (PINTO; KANEKO; OHARA, 2010).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada nos laboratórios J10, J11 e no de microbiologia, do Curso de Bacharelado em Farmácia da UFCG-CES, os quais dispõem de infraestrutura adequada para tal.

### 4.1 Amostras

Foram analisadas três amostras de tintura de jatobá produzidas na Oficina de Remédios Caseiros do Centro de Educação Popular (CENEP) na cidade de Nova Palmeira, no estado da Paraíba.

### 4.2 Características Organolépticas

As características organolépticas (cor e odor) forma baseadas nos métodos de controle de qualidade para materiais oriundos de plantas medicinais (WHO, 1998).

### 4.3 Análise Físico-Química

#### 4.3.1 Determinação de grupos químicos característicos

Foram realizados testes para identificação química através de reações de caracterização de metabólitos secundários característicos da espécie, por meio de reações químicas (CARDOSO, 2009). De acordo com o quadro 1.

**Quadro 1** – Reações de identificação de grupos fitoquímicos características

Teste Fitoquímico	Grupo de Substância	Resultados
<b>Cloreto Férrico</b>	Compostos Fenólicos	Coloração azul
<b>Gelatina</b>	Taninos	Turvação da cor
<b>Dragendorff</b>	Alcalóides	Precipitado Vermelho-tijolo
<b>Shinoda</b>	Flavonóides	Coloração rósea

Fonte: adaptado de Matos (2007)

#### 4.3.2 Determinação de pH

O pH foi determinado por meio direto, em pHmetro calibrado. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010)

#### 4.3.3 Determinação da densidade relativa

A densidade relativa foi determinada utilizando o picnômetro, um pequeno frasco de

vidro construído cuidadosamente de forma que o volume de fluido que o preencher seja sempre o mesmo (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Pesou-se um picnômetro vazio (calibrado) de 5 mL e anotou-se a massa. Transferiu-se a amostra para o picnômetro, removeu-se excesso da substância e pesou. Obteve-se o peso da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. Calculou-se a densidade relativa ( $d = m/v$ ) determinando a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água.

#### 4.3.4 Determinação de resíduo seco

Foi transferido 2 mL ou 2 g de extrato para pesa-filtros ou placa de Petri, medindo, aproximadamente, 50 mm em diâmetro e 30 mm de altura. Evaporado até secura em banho-maria e dessecado em estufa a 100 – 105°C, por 3 horas. Deixou-se esfriar em dessecador, sobre pentóxido de fósforo e pesou-se. Calculou-se o resíduo seco em porcentagem sobre a massa ou sobre o volume (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

### 4.4 Análise Microbiológica

#### 4.4.1 Contagem do número total de microrganismos

Para a avaliação microbiológica foi realizado o teste por método de contagem em placa em profundidade, conforme FARMACOPÉIA BRASILEIRA (2010).

Foi feita assepsia da bancada com álcool à 70%. A partir de 10 mL da amostra prepararam-se diluições seriadas, utilizando 90 mL de caldo caseína soja, foram feitas diluições 1:10, 1:100 e 1:1000. Distribuíram-se 12 placas de petri nas dimensões 20 x 100 mm identificadas. Alíquotas de 1mL das diluições obtidas foram inoculadas no centro de placas estéreis, procedendo a análise em duplicata. Em cada placa, foram vertidos 18 mL de meio de cultura esterilizado, fundido e resfriado a cerca de 48°C, sendo em seguida, homogeneizados em movimentos de “8 ou S” e incubados conforme as condições descritas no quadro 2.

**Quadro 2.** Condições de incubação das placas semeadas com a amostra em profundidade

<b>Microrganismo</b>	<b>Meio de cultura</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>
<b>Bactérias</b>	Ágar Caseína-soja (ACS)	30 a 35°C	3 a 5 dias
<b>Fungos</b>	Ágar Sabouraud dextrose (SDA)	20 a 25°C	5 a 7 dias

Fonte: Farmacopeia Brasileira V, 2010.

A contagem nas placas foi realizada apenas naquelas que apresentaram no máximo 300 colônias de bactérias e 100 de fungos. E foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$N = \frac{(P1 + P2)}{2} \times D$$

N = N ° de UFC/ g ou mL

P1 = n ° de colônias na placa 1

P2 = n ° de colônias na placa 2

D = Diluição utilizada

Quando não houve crescimento, a contagem foi registrada como sendo menor que uma vez a menor diluição.

#### 4.4.2 Pesquisa de patógenos

Uma vez verificada a presença de contaminação microbiana, foram aplicados os testes confirmatórios para identificação de coliformes e *salmonella*. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010)

Transferiu-se com alça, para placa de meio seletivo, o material enriquecido em meio não seletivo, usando o método de estrias em superfície. Incubaram-se as placas por 24-48h à 35°C. Utilizou-se os meios seletivos descritos no quadro 3 para os respectivos microrganismos. Colônias típicas desenvolvidas em cada um dos meios seletivos foram selecionadas para realização de provas bioquímicas, com o intuito da confirmação de cada patógeno em análise.

**Quadro 3** - Pesquisa de microrganismos patogênicos.

<b>Microrganismo</b>	<b>Meio Seletivo</b>	<b>Características das colônias</b>
<i>Escherichia coli</i>	MacConkey	Cor vermelha-tijolo
<i>Salmonella</i>	Ágar Verde Brilhante	Razoavelmente grande e produzem zona avermelhada ao redor
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar Manitol	Alteração da coloração do meio para a cor amarela.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ágar Cetrimida	Pigmento verde – azulado

Fonte: Adaptado da Farmacopeia Brasileira V(2010)

Para confirmação de *S. aureus* realizou-se o teste de desoxirribonuclease (DNase). Não houve desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella spp.* dispensando as provas bioquímicas para tal.

#### 4.5 Eficácia antimicrobiana da tintura

Para a realização dos testes de comprovação da eficácia antimicrobiana da tintura, foi utilizado o método de difusão em ágar. O ensaio foi realizado utilizando-se placas de Petri (20 mm x 100 mm) e cilindros de aço inoxidável (8 mm x 6 mm x 10 mm). Todos os materiais, assim como vidraria não volumétrica, utilizados no ensaio microbiológico foram esterilizados em estufa à temperatura de 180° C, durante duas horas.

Foi utilizada *Escherichia coli*, microrganismo considerado um dos principais causadores de infecções do trato urinário causada por bactérias, em suspensão padronizada a 25% de transmitância a 580 nm, para a obtenção de uma concentração final de aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/mL, e os halos de inibição foram medidos com auxílio de um paquímetro e documentados de acordo com as amostras utilizadas na placa de Petri.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

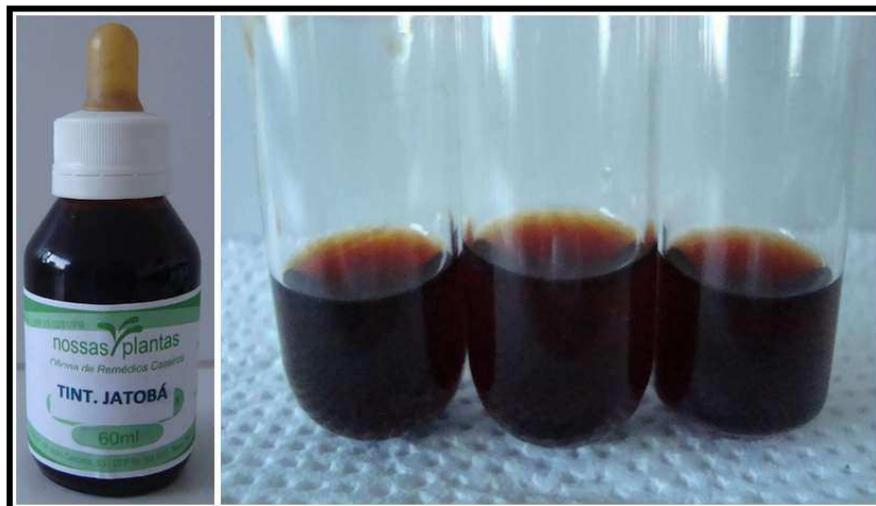
O conceito de qualidade é entendido como um conjunto de atributos que assegurem o cumprimento de aspectos técnicos e legais, e adicionalmente atendam as expectativas do cliente. Neste sentido, o controle de qualidade visa garantir o atendimento de requisitos qualitativos e quantitativos de qualidade na produção de artigos farmacêuticos (GIL, 2010).

### 5.1 Características organolépticas

As características organolépticas são avaliadas em um produto, através da detecção pelos órgãos dos sentidos: aspecto, cor, odor, sabor e tato. Assim, permite avaliar, de imediato, o estado da amostra, verificando alterações, como turvação, precipitação, separação de fases, possibilitando o reconhecimento primário do produto (BRASIL, 2008).

A tintura do jatobá apresentou-se como uma solução turva, castanha avermelhada escura, homogênea, com odor e sabor característicos da planta (Figura 2).

**Figura 2** – Aspecto visual das amostras de tintura de jatobá analisadas



Fonte: Arquivos da pesquisa

### 5.2 Análise Físico-Química

#### 5.2.1 Determinação de grupos químicos característicos

Foram realizados testes fitoquímicos para a identificação de metabólicos secundários, como flavonoides, alcaloides, compostos fenólicos e taninos. Os resultados foram considerados positivos pela formação de precipitados e surgimento de coloração e espuma, sendo classificado

em levemente positivo, moderadamente positivo, positivo e fortemente positivo, pela a intensificação destes e negativo pela a ausência dos mesmos, como mostra o quadro 4.

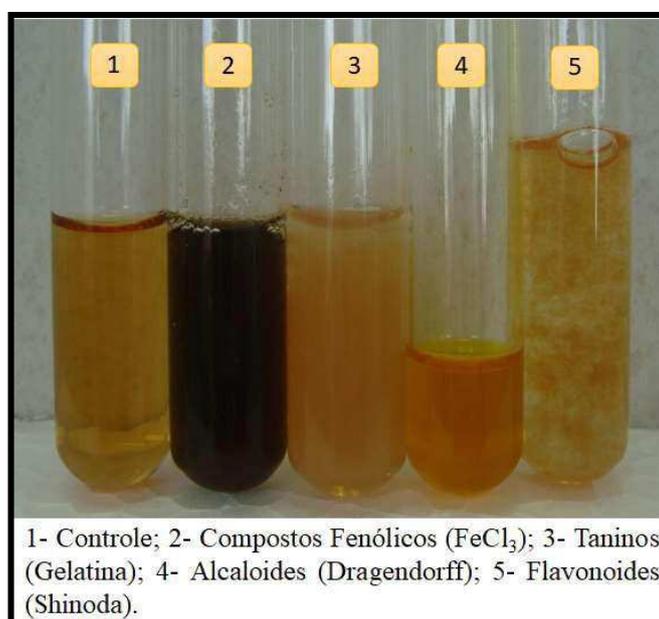
**Quadro 4** – Resultado dos testes fitoquímicos da tintura de jatobá

Testes fitoquímicos	Amostras		
	A	B	C
<b>Compostos fenólicos (FeCl<sub>3</sub>)</b>	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Tanino (Gelatina)</b>	Fortemente positivo	Fortemente positivo	Fortemente positivo
<b>Alcaloides (Dragendorff)</b>	Levemente positivo	Levemente positivo	Levemente positivo
<b>Flavonoides (Shinoda)</b>	Negativo	Negativo	Negativo

Fonte: dados da pesquisa

Os testes fitoquímicos evidenciaram reação fortemente positiva para a presença de taninos, levemente positivo para alcaloides e positivo para compostos fenólicos, não foi detectada presença de flavonoides, como pode ser visto na figura 3.

**Figura 3** – Testes para a Identificação de grupos fitoquímicos caraterísticos do jatobá



Fonte: Arquivos da pesquisa

As análises fitoquímicas buscam conhecer os constituintes químicos das plantas ou fornecer informações importantes sobre a presença de metabólitos secundários nas mesmas, para que assim possa chegar ao isolamento de princípios ativos, que poderá ser utilizado na

produção de novos fármacos (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010). O estudo feito por Barbosa et al (2013), utilizando a metodologia de prospecção preliminar com o extrato hidroalcoólico da casca do jatobá não obteve resultados positivos para alcaloide, o que difere do presente estudo. No entanto Silva, Miranda, Conceição (2010) mostrou resultados positivos para alcaloides, em análises feitas tanto no extrato hidroalcoólico da casca, como no extrato obtido da folha do jatobá.

Diversos estudos apresentam reações positivas para taninos e compostos fenólicos nos extratos hidroalcoólico da casca da *Hymenaea spp.* (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010; BARBOSA et al., 2013; BEZERRA et al., 2013 e VECATO et al., 2016), estando de acordo com os resultados encontrados neste estudo. Estes mesmos estudos apresentaram reação positiva para a presença de flavonoides na casca do jatobá, diferente dos resultados encontrados nas amostras de tintura utilizadas neste estudo, que não apresentou reação positiva para flavonoides.

Um importante fator a ser considerado quando se realiza qualquer pesquisa envolvendo plantas medicinais, principalmente no tocante a constituintes químicos, é quanto a fatores ambientais envolvidos no momento da coleta da planta, como sazonalidade, clima, tipo de solo, temperatura do ar (ANSELMO; LIMA, 2014).

A produção de metabólitos secundários pela planta ocorre em função da interação planta versus ambiente em resposta a fatores químicos e biológicos. Portanto, extratos da mesma espécie, mas coletados em locais e períodos diferentes pode apresentar resultados divergentes (COSTA, 2017).

### 5.2.2 Ensaio físico-químico

Os ensaios físico-químicos são importantes para pesquisar alterações na estrutura da formulação que nem sempre podem ser perceptíveis visualmente. Estas análises podem indicar problemas de estabilidade entre os ingredientes ou decorrentes do processo de fabricação (BRASIL, 2008).

Em produtos acabados análises físico-químicas são úteis na determinação da identidade, pureza ou potência do produto (GIL, 2010).

As amostras foram submetidas à análise de pH, densidade e resíduo seco. O quadro 5 apresenta os resultados obtidos.

**Quadro 5** – Valores dos ensaios físico-químicos da tintura do jatobá

<b>Amostras</b>	<b>pH</b>	<b>Densidade (mg/mL)</b>	<b>Resíduo Seco</b>
<b>A</b>	5,10	0,9111	3,36%
<b>B</b>	5,01	0,9259	3,68%
<b>C</b>	5,01	0,9342	3,95%
<b>Média ±DP</b>	5,04 ± 0,05	0,9237 ± 0,01	3,66 ± 0,2

Fonte: Dados da pesquisa

A determinação do pH tem como objetivo identificar se uma amostra é ácida, básica ou neutra. Não há na Farmacopeia Brasileira ou qualquer outro compêndio oficial nacional, especificações de valores de pH para preparações como as tinturas, mas em estudos realizados por Borella (2011) e Ueta, Santana, Oliveira (2015), com tinturas vegetais, preparadas de forma semelhante, foram encontrados valores de pH variando entre 5,19 a 5,76, tais valores são próximos ao encontrado no presente estudo.

Do ponto de vista da qualidade o pH é um parâmetro importante em produtos acabados, uma vez que se relaciona à eficácia e segurança, em atributos como estabilidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade (GIL, 2010).

Segundo Borella (2011) a densidade de tinturas é considerada padrão no intervalo de 0,87 a 0,98 g/mL, se esses valores forem adotados, todas as amostras analisadas estão dentro da normalidade.

As tinturas ao ser preparadas segundo padrões farmacopeicos, o teor de resíduos seco deve ser superior a 1% (m/m) (CARDOSO, 2009), logo, as amostras analisadas atenderam as recomendações, apresentando resíduo seco médio de 3,66 %.

O estudo de estabilidade é um indicativo de que não ocorrerão problemas na tintura no decorrer do tempo de armazenamento e durante o uso do produto pelo consumidor. As características físico-químicas (Densidade, pH e resíduo seco), são parâmetros importantes para se determinar a qualidade da tintura, bem como para se detectar possíveis fraudes, nas preparações destes produtos.

### **5.3 Análises Microbiológicas**

O objetivo do controle microbiológico é determinar o número total de microrganismos, além da identificação daqueles indesejáveis, em produtos comercializados e utilizados pela

população, assegurando produtos de boa qualidade, para o consumidor (CARDOSO; BAUAB; VARANDE, 2015).

### 5.3.1 Contagem do número total de microrganismos mesofílicos

Os resultados obtidos na contagem microbiológica das amostras de tintura de jatobá estão demonstrados no quadro 6. Das três amostras analisadas, apenas a amostra B apresentou crescimento fúngico, as amostras B e C apresentaram crescimento bacteriano. Observou-se, assim, que todas as amostras se encontram dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira V (2010) para contagem de bactérias ( $<10^4$  UFC/mL) e fungos ( $<10^2$  UFC/mL) em produtos não estéreis.

**Quadro 6** - Contagem do número total de microrganismos viáveis das amostras de tintura de jatobá

Amostras	Bactérias UFC/mL	Fungos UFC/mL
A	–	–
B	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^2$
C	$1 \times 10^3$	–

Fonte: Dados da pesquisa

### 5.3.2 Pesquisa de patógenos

De acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira (2010), em produtos de origem vegetal em preparação para uso oral, não deve ocorrer à presença de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.*

Após o isolamento das colônias em meios diferenciais, os microrganismos suspeitos foram submetidos a provas bioquímicas para confirmação.

O quadro 7 apresenta os resultados das provas bioquímicas realizadas para identificação de patógenos. Apenas na amostra C foi confirmada a presença de *Staphylococcus aureus* (colônia C3), evidenciada pelo resultado positivo na prova de DNase .

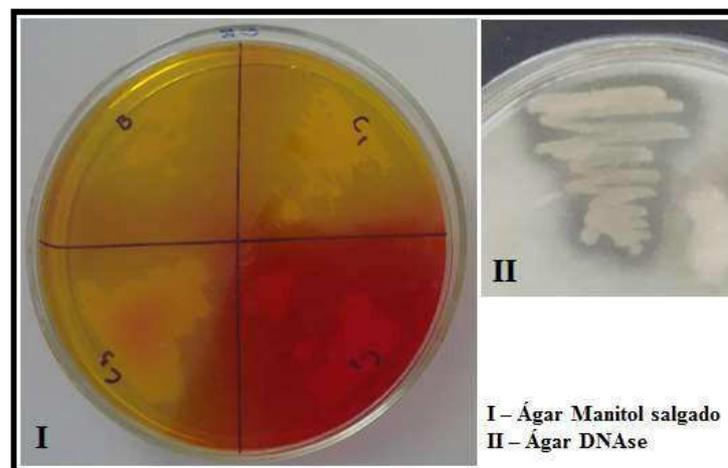
**Quadro 7** - Resultado da Pesquisa Qualitativa de Bactérias Patogênicas

Amostras	Citrato	Uréia	Lisina	TSI	DNase
<b>B</b>	N	P	N	P	N
<b>C<sub>1</sub></b>	P	P	N	P	N
<b>C<sub>3</sub></b>	P	N	P	P	<b>P</b>

Fonte: Dados da pesquisa

O crescimento de colônias amarelas ou brancas rodeada por uma zona amarela (Figura 4 (I), em ágar manitol salgado, indica presença provável de *S. aureus* que deve ser confirmada por testes de identificação microbiana. A figura 4 (II) confirma a presença de *S. aureus* pela formação de halo transparente em torno de crescimento bacteriano em ágar DNase (II).

**Figura 4** - Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em meio ágar manitol salgado (I) e ágar DNase (II).



Fonte: Arquivos da pesquisa

Esse microrganismo pode ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório, além de estar presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele (OLIVEIRA et al., 2012). Podendo provar infecções simples, como espinhas, furúnculos e celulites, como também infecções graves, como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras (SANTOS et al., 2007).

*S.aureus* é a bactéria mais frequente na mucosa nasal, a partir das quais contamina as mãos (ALMEIDA et al., 2016). A contaminação derivada dos operadores é normalmente

significante. A perda de escamas da pele é da ordem de 104 por minuto, durante as atividades normais, podendo estar presente nestas escamas o *S. aureus* como parte da flora normal (PINTO; KANEKO; OHARA, 2010).

Os contaminantes microbianos podem ser oriundos da matéria-prima, dos equipamentos e ambiente produtivos, dos operadores envolvidos e dos materiais de embalagem. A utilização de vestimentas adequadas, sapatos/ botas, luvas, como também a limpeza e desinfecção de áreas e equipamentos, evitam a contaminação por microrganismos patogênicos (PINTO; KANEKO; OHARA, 2010).

É importante a manutenção da qualidade dos produtos não estéreis, visto que o desvio de qualidade pode acarretar em grande prejuízo ao usuário, incluindo o desenvolvimento de patologias severas, dependendo do estado de saúde do mesmo.

#### 5.4 Eficácia antimicrobiana da tintura

De acordo com ensaios realizados, todas as amostras ensaiadas foram capazes de inibir o crescimento microbiano de *E.coli*. Os resultados (Média e Desvio padrão), estão apresentados no Quadro 8. Observaram-se halos de inibição variando de 11 a 13 mm. Segundo Silva et al. (2007) são considerados ativos os extratos que mostram halos de inibição igual ou superior a 10 mm.

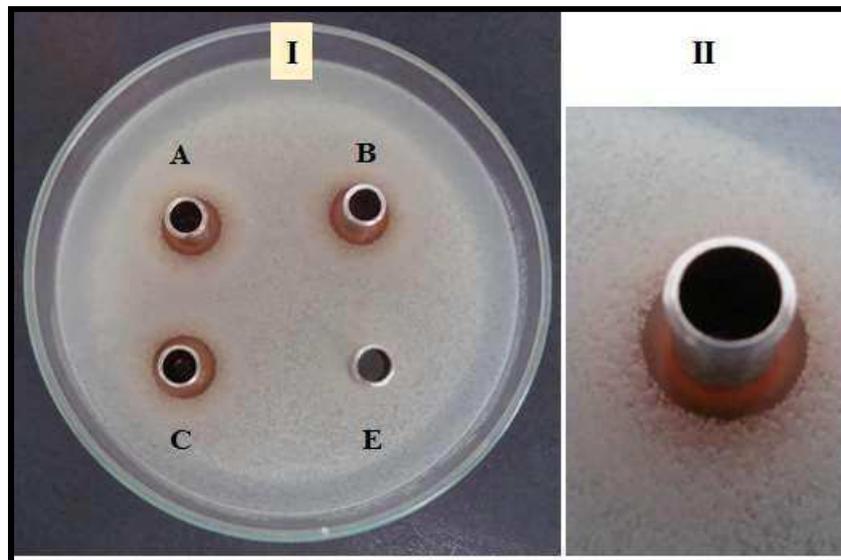
**Quadro 8** - Diâmetro dos halos de inibição (mm) da tintura do jatobá sobre linhagem de *Escherichia coli* (n=5).

Amostras	Diâmetro dos halos (mm)	
	Média	Desvio Padrão
<b>A</b>	11,7	0,7
<b>B</b>	11,7	0,4
<b>C</b>	11,6	0,9
<b>ETANOL 70%</b>	-	-

Fonte: Dados da pesquisa

Na figura 05 observa-se a capacidade de inibição das amostras analisadas, representadas como A, B e C. O cilindro E, contendo etanol 70 %, não apresentou formação de halo, confirmando que a atividade antimicrobiana é devida aos componentes do jatobá na tintura, e não do solvente utilizado na preparação. O detalhe II, da figura revela a formação de halos nítido e bem delimitados.

**Figura 5** – Atividade antimicrobiana das amostras de tintura de jatobá contra *E. coli* pelo método de difusão em ágar.



Fonte: Arquivos da pesquisa

De acordo com a literatura o jatobá é rico em taninos (SIMÕES et al, 2010; BESSA et al, 2013), que apresenta atividade bactericida e fungicida e segundo Simões et al. (2010), esse tipo de atividade pode estar associado a três características gerais comuns aos taninos: complexação com íons metálicos; atividades antioxidante e sequestradora de radicais livres; habilidade de complexar com outras moléculas como proteínas e polissacarídeos.

Os resultados aqui apresentados também corroboram com estudo feito por Fernandes; Santos e Pimenta (2005), em que o extrato hidroalcoólico da entrecasca do caule da *Hymenaea courbaril* apresentou halos de inibição de até 12 mm frente à *Escherichia coli*. O óleo essencial extraído da resina do jatobá apresentou atividade frente às bactérias: *Salmonella thiphimurium*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, pelo método de difusão de disco em ágar (PEREIRA, et al., 2007).

Resultados contrários foram encontrados por Martins et al. (2010), em que o extrato bruto etanólico da casca do jatobá não foi capaz de inibir a *Escherichia coli* e outros patógenos testados, pela técnica de difusão em ágar, porém, o mesmo extrato apresentou atividade antibacteriana com Concentração Inibitória Mínima (CIM) na concentração de 350µg/mL, utilizando a técnica de microdiluição em caldo. Esses resultados talvez possam ser explicados pela dificuldade de difusão do extrato em meio de cultura. Sá et al (2011), observou atividade do extrato frente a *Salmonella spp*, em concentração de 83,33 µL.

Em outro estudo feito por Alves et al (2016), o extrato vegetal da espécie *H. stigonocarpa*, foi considerado inativo frente às bactérias testadas, entre elas a *E. coli*.

## 6. CONCLUSÃO

As características avaliadas no presente estudo são importantes para se determinar a qualidade do produto, para se detectar possíveis falhas ou fraudes nas preparações da tintura de jatobá, bem como para a realização de estudos posteriores de estabilidade. Servindo, portanto, para acompanhamento da produção de lotes do produto estudado, no que se refere à qualidade, segurança e eficácia. Os dados obtidos permitiram determinar os seguintes parâmetros de qualidade:

- A tintura apresentou-se como uma solução turva, castanho avermelhado escuro, homogêneo, com odor e sabor característicos da planta;
- Os parâmetros físico-químicos da tintura foram: pH =5,04; densidade relativa = 0,9237 mg/mL e resíduo seco = 3,66 % ;
- Foram identificados compostos fenólicos, alcaloides e taninos como grupos de constituintes químicos característicos;
- A qualidade microbiológica das amostras estava dentro dos limites farmacopeicos, para contagem de bactérias (inferiores a  $10^4$  UFC/mL) e fungos (inferior a  $10^2$  UFC/mL) em produtos não estéreis.
- Apresentou eficácia microbiana frente a *E.coli*, com halos de inibição em média de 11,6 mm.

Considerando a riqueza de constituintes presentes nesta planta, os resultados obtidos neste, e em outros estudos, é de grande importância por servir de incentivo para a realização de novos estudos com abordagens químicas e farmacológicas sobre o jatobá, já que extratos dessa planta demonstraram possuir algum potencial antimicrobiano contra a *E. coli*, principal bactéria causadora de infecção urinária.

Após os estudos de controle de qualidade da tintura de jatobá produzida pelo CENEP, também é possível concluir que este local apresenta boas condições de produção, uma vez que a tintura apresentou baixa contagem de microrganismos totais.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. S. C.; MENDONÇA, R. L.; FREITAS, M. Z. C.; VANDESMET, L. C. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. **Mostra Científica em Biomedicina**, v. 1, 2017.

ALVES, J. E.; SOUZA, T. A.; LACERDA, G. A.; PRINCE, P. M. A. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) e barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville). **Revista Bionorte**, v. 5, n.1, fev. 2016.

ANDRADE, F. R. O. et al. Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, 2005.

ANSELMO, J. S.; LIMA, R. A. Identificação de metabólitos secundários no extrato etanólico das folhas de *Solanum jamaicense* (Solanaceae) e seu potencial fungicida sobre *Candida albicans in vitro*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 11, n. 1, p. 10, 2014.

ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**. Londrina, v.6, n.2, p.1-6, jun.2005.

BARBOSA M. P. C. et al. **Estudo químico e avaliação de atividade biológica de folhas de *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Heyne) Lee & Lang**. In: 30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.

BARBOSA, A. P. et al. Leguminosas Florestais da Amazônia Central. I. Prospecção das Classes de Compostos Presentes na Casca de Espécies Arbóreas. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 1, n. 03, p. 47-57, 2013.

BESSA, N. G. F. et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista brasileira de plantas medicinais**. vol.15 n.4. Botucatu, 2013.

BEZERRA, G. P. et al. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of ethnopharmacology**. v. 149, p. 62-69, 2013.

BORELLA, J. C.; CARVALHO, D. M. A. Avaliação comparativa da qualidade de extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) comercializados em farmácias de manipulação em Ribeirão Preto – SP. **Rev. Bras. Farm.** 92(1): 13-18, 2011

BRAGA, F. C. et al. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 28-31, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos – Uma Abordagem Sobre os Ensaio Físicos e Químicos**. 2ª edição, revista – Brasília: Anvisa. p. 20 a 26, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2º ed., 2012. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/arquivos/2012/FNFB%202\\_Revisao\\_2\\_COFAR\\_setembro\\_2012\\_atual.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/arquivos/2012/FNFB%202_Revisao_2_COFAR_setembro_2012_atual.pdf)> Acesso em: 01 outubro de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Acolhimento à demanda espontânea**. 56 p. Série A. Normas e Manuais técnicos - Cadernos de Atenção Básica n. 28, v I. Brasília, 2011a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 2011b.

BONFILIO, R. et al. Controle de qualidade físico-químico e microbiológico em 2347 amostras manipuladas em 2010 e 2011. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 4, p. 527-535, 2013.

BUGNO, A. et al. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 4, p. 491-497, 2005.

CAÑIGUERAL, S.; DELLACASSA, E.; BANDONI, A. L. Plantas Medicinales y Fitoterapia: indicadores de dependencia o factores de desarrollo. **Acta Farm Bonaerense** 22: 265-278, 2003.

CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para**

**farmácia magistral.** São Paulo: Pharmabooks, 2009.

CARDOSO, C. R. P.; BAUAB, T. M.; VARANDE, E. A. Controle de qualidade e avaliação da atividade farmacológica do extrato de *Byrsonima intermedia* e da amentoflavona. **Revista de Saúde e Biologia**, v.10, n.3, p.35-42, set./dez., 2015.

CARVALHO C. M. G. et al. Avaliação da Qualidade de Extratos Vegetais. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Vol. 3 (2), 53-62, 2006.

CARVALHO, P. E. R. Jatobá-do-cerrado – *Hymenaea stigonocarpa*. 1.ed. Colombo, PR: **Circular técnica 133**, EMBRAPA, 2007.

CIPRIANO, J.; MARTINS, L.; DEUS, M.S.M.; PERON, A.P. O Gênero *Hymenaea* e suas espécies mais importantes do ponto de vista econômico e medicinal para o Brasil. **Caderno de Pesquisa, série Biologia**, v. 26, n. 2, pp 41-51, 2014.

COSTA, F. V. **Influência de fatores ambientais na produção de metabólitos secundários de *Calea pinnatifida* (R. Br.) Less.(Asteraceae).** Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Criciúma, SC, 2017.

CRUZ, M. T.; ALVIM, M. N. Fitoterápicos: estudos com plantas para fins terapêutico e medicinal. **Acervo da Iniciação Científica**, n. 1, 2013.

DANTAS, I.C. **O raizeiro.** EDUEPB. Campina Grande, 2007.

DECHOUM, M. S. **Crescimento Inicial, Alocação de Recursos e fotossíntese em Plântulas das Espécies Vicariantes *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (Hayne) Lee & Lang. (jatobá) e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (jatobá-do-cerrado) (Leguminosae Caesalpinioideae).** [tese de doutorado]. Campinas (SP): Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas; 2004.

DUARTE, G.; MARCOLIN, A. C.; QUINTANA, S. M.; CAVALLI, R. C. Infecção urinária na gravidez. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 30, n. 2, p. 93- 100, 2008.

DUARTE, M.M.; PAULA, S.R.P.; FERREIRA, F.R.L.; NOGUEIRA, A.C. Morphological characterization of fruit, seed and seedling and germination of *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) ('Jatobá'). **Journal of Seed Science**, v.38 n.3, p.204-211, Epub, 2016.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5ª Edição. Brasília, 2010.

FERNANDES, T. T.; SANTOS, A. T. F.; PIMENTA, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas: *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. **Revista de patologia tropical**. Vol. 34 (2): 113-122. maio-ago. 2005.

FILOCHE, S. K.; SOMA, K.; SISSONS, C. H. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. **Molecular Oral Microbiology**, v. 20, n. 4, p. 221-225, 2005.

GIL, E. S. et al. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. São Paulo: Pharmabooks, 3 ed. 2010.

KUREK, A. et al. Modulation of antibiotic resistance in bacterial pathogens by oleanolic acid and ursolic acid. **Phytomedicine**, v. 19, n. 6, p. 515-519, 2012.

LAMEIRA, O. A; PINTO, J. E. B. P. **Plantas Medicinais: do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém PA, 2008.

LOPES, P. M.; QUEIROZ, T. F. F.; RODRIGUES, F. C.; CASTRO, A. S. B. Análise da frequência e do perfil de sensibilidade da *Escherichia coli* como agente causador de infecções do trato urinário na microrregião de viçosa, MG. **Anais SIMPAC**, v. 2, n. 1, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA.: São Paulo, 2002. 512p.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, p. 429- 438, 2002.

MARTINS, F.; VITORINO, J.; ABREU, A. Avaliação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de microrganismos isolados em urinas. **Acta Med Port**, v. 23, p. 641-6, 2010.

MARTINS, C. H. G. et al. Determinação in vitro da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L. **Investigação**. 10:37-43, 2010.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 3. Ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2007.

- MENEZES, K.M.P. et al. Avaliação da resistência da *Escherichia coli* frente a Ciprofloxacina em uroculturas de três laboratórios clínicos de Aracaju-SE. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 41, n. 3, p. 239-42, 2009.
- MELO, J.G.; MARTINS, J.D.G.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Bot Bras** 21: 27-36, 2007.
- MITTAL, P.; WING, D. A. Urinary tract infections in pregnancy. **Clin Perinatol**, v. 32, p. 749-64, 2005.
- NUNES, K. M.; BARBOSA, W. L. R.; OZELA, E. F.; SILVA JÚNIOR, J. O. C. Padronização da Tintura de *Calendula officinalis* L. para seu Emprego em Formulações Semi-sólidas Fitoterápicas. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 3, p. 344-50, 2009.
- OLIVEIRA, M.; SIMOES, M.; SASSI, C. Fitoterapia no sistema de saúde pública (SUS) no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 39-41, 2006.
- OLIVEIRA, M. J. C. P. **Estudo de resistência da bactéria *Escherichia Coli* a antibióticos em infecções urinárias na população da Região Autónoma da Madeira**. Dissertação de Mestrado. Funchal - Portugal, 2010.
- OLIVEIRA, V. L. S.; CAETANO, R. M.; GOMES, F. C. O. Avaliação da qualidade de saneantes clandestinos comercializados em Belo Horizonte, Minas Gerais. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**. v. 33, n. 4, p. 577-582, 2012.
- OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.
- PEREIRA, C. K. B. et al. **Composição química, atividade antimicrobiana e toxicidade do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* (jatobá)**. In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
- PINHEIRO, M. A. et al. Efeito antimicrobiano de tinturas de produtos naturais sobre bactérias da cárie dentária. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 25, n. 2, 2012.

PINTO, J. E. B. P.; SANTIAGO, E. J. A.; LAMEIRA, O. A. **Compêndio de plantas medicinais**. Lavras, MG: UFLA/FAEPE, 208p, 2000.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 3.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325 p, 2010.

PIRES, I. F. B.; SOUZA, A. A.; FEITOSA, M. H. A.; COSTA, S. M. Plantas medicinais como opção terapêutica em comunidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Rev. bras. plantas med.** vol.16, n. 2, supl. 1, p. 426-433, 2014.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciênc Saúde Coletiva**, 2011.

SÁ, M. C. A. et al. Antimicrobial activity of Caatinga biome ethanolic plant extracts against gram negative and positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 18, n. 2/3, p. 62-66. 2011.

SANTOS, N. de Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 13, no. spe, 2004.

SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SILVA, J. G. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 17(4): 572-577, Out./Dez. 2007.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.

SILVA, M. F.; SILVA, L. L. Análise microbiológica de três formulações magistrais. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 2, n. 6, 2017.

SIMÕES, C. M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. **Infecção do trato urinário: diagnóstico**. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina: Projeto Diretrizes; 2004.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 435-440, 2010.

SPONCHIADO JÚNIOR, E.C. **Atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* de uma medicação intracanal contendo ativos fitoterápicos de *Pothomorphe umbellata*** [tese de doutorado]. Manaus (AM): Universidade Federal do Amazonas; 2006.

UETA, B. M.; SANTANA, L. O.; OLIVEIRA, A. C. Análise comparativa entre métodos de extração da tintura-mãe de camomila 10% (*Matricaria chamomilla*). **III Simpósio de Assistência Farmacêutica**. São Paulo-SP, 2015.

VENCATO, S. B. et al. Avaliação do perfil fitoquímico e potencial antioxidante do extrato aquoso de *HYMENAEA COURBARIL*. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 14, 2016.

VEIGA JR, V. F.; MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Quim. Nova**, v. 28, p. 519 – 528, 2005.