



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

FELIPE FERREIRA MOURA RODRIGUES

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE
Punica granatum L. (ROMÃ) FRENTE AOS MICRORGANISMOS
Staphylococcus aureus E *Candida albicans***

CUITÉ – PB

2023

FELIPE FERREIRA MOURA RODRIGUES

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE
Punica granatum L. (ROMÃ) FRENTE AOS MICRORGANISMOS
Staphylococcus aureus E *Candida albicans***

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza

CUITÉ-PB

2023

R696a Rodrigues, Felipe Ferreira Moura.

Análise do potencial antimicrobiano do extrato de *Punica granatum* L. (Romã) frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. / Felipe Ferreira Moura Rodrigues. - Cuité, 2023.

41 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2023.

"Orientação: Profa. Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza".

Referências.

1. Plantas medicinais. 2. *Punica granatum* L. 3. Romã. 4. Agente antimicrobiano. 5. Medicina popular - plantas medicinais. 6. Plantas medicinais - compostos bioativos. 7. Romã. 8. Plantas medicinais - potencial antimicrobiano. 9. Plantas medicinais - fitoquímica. 10. *Staphylococcus aureus*. 11. *Candida albicans* I. Souza, Júlia Beatriz Pereira de. II. Título.

CDU 633.88(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE - CES
Sítio Olho D'água da Bica, - Bairro Zona Rural, Cuité/PB, CEP 58175-000
Telefone: (83) 3372-1900 - Email: uas.ces@setor.ufcg.edu.br

REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

FELIPE FERREIRA MOURA RODRIGUES

ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE *Punica granatum* L. (ROMÃ) FRENTE AOS MICRORGANISMOS *Staphylococcus aureus* E *Candida albicans*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 17/10/2023.

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Júlia Beatriz Pereira de Souza

Orientador(a)

Profª Drª Igara Oliveira Lima

Avaliador(a)

Me. Maria da Glória Batista de Azevedo

Avaliador(a)



Documento assinado eletronicamente por **JULIA BEATRIZ PEREIRA DE SOUZA, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 17/10/2023, às 17:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIA DA GLORIA BATISTA DE AZEVEDO, FARMACEUTICO-HABILITACAO**, em 17/10/2023, às 17:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **IGARA OLIVEIRA LIMA, PROFESSOR 3 GRAU**, em 17/10/2023, às 17:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **3883778** e o código CRC **DDBAF49B**.

À Deus, aos meus pais, esposa, filha, irmãs, e a todos que me apoiaram durante toda a minha vida, eu dedico esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pois sem ele não estaria onde estou hoje, que me fez conquistar a última vaga restante no curso de Farmácia e possibilitou que eu o concluísse da melhor forma possível.

A minha mãe Maria de Fátima Ferreira Moura que sempre fez de tudo por mim e sempre me apoiou em todos os momentos da minha vida, ao meu pai, Eirilson Azevedo Rodrigues e sua esposa Renata Lopes Almeida Rodrigues que me deram todo apoio e foram os incentivadores para eu ingressar no curso de Farmácia.

A minha esposa Daese Ribeiro Torres que esteve ao meu lado durante toda a graduação e que sem ela hoje certamente não estaria concluindo esse curso, a minha filha Valentina Torres Moura que mudou a minha vida, que me fez não desistir e me trouxe a responsabilidade que me faltava.

Aos meus avós Euvaldo Moura, Flordenice Azevedo e Prisco Azevedo, e em especial para minha avó e mãe, Edith Ferreira Moura, mulher forte que me deu toda a educação e que devo tudo que sou hoje, que mesmo sem nenhum estudo, aprendeu a ler e escrever com as cartilhas que o pai trazia da cidade para a roça, sempre me incentivou a estudar, infelizmente nos deixou em 2021, mas tenho certeza de que está muito orgulhosa de ver seu neto se formando em uma universidade federal.

A todos os meus tios e tias, Eduardo Moura, Raimunda Moura, Ana Meire Moura, Eudes Azevedo, Ersinho Azevedo, Edione Azevedo, Edilton Azevedo, em especial tia Edvalda Moura, que sempre esteve presente e me ajudou em toda a minha vida, as minhas irmãs Lanah Eloyse e Lunah Emanuely, aos meus primos Júnior Moura, Erik Moura, Ângela Moura, Romulo Moura, Ronald Moura, Vinicius Moura, Iago Rodrigues que estiveram presentes em toda minha infância, e aos parentes e amigos, Zé Carlos, Joana Darck, Tatiane, Alair Jr., Romero Lira, Wesley Santos, Pedro Rosal, Mariane Luiza, que fizeram e fazem parte da minha vida e tenho muito carinho.

À família que nos acolheu em cuité e que cuidou da minha filha como se fosse da família, Dona Joana Darc, seu Tata, Cris, Moisés Vagner, e que vou levar para a vida, aos amigos que aqui conheci e fizeram parte da minha trajetória na faculdade, Silvia Larissa, Raom Rartem, Pablo Mateus, e a todos os colegas de turma.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza, que é um exemplo de pessoa e de educadora, que se empenhou ao máximo durante toda a orientação desse trabalho e que tive a honra de ser monitor e aprender ainda mais durante a graduação.

A Prof.^a Dr.^a Igara Oliveira Lima e MSc. Maria da Glória Batista por terem aceitado ser avaliadoras desse trabalho, e que também ajudaram na pesquisa desenvolvida e a todos os professores que tive o prazer de ser aluno e absolver todo o conhecimento, professores, Egberto, Wylly, Carlos Leon, Yonara, Toshiyuki, Wellington, Renner, Maria Emília, Jacqueline, Francinalva, Camila, Denise, Andrezza e a todos os outros.

Agradeço também a Universidade Federal de Campina Grande e o Centro de Educação e Saúde (CES) pelo acolhimento, organização e comprometimento com a educação, aos programas de assistência estudantil, como a monitoria, que tive o prazer de participar durante 2 anos da graduação, e a todos os funcionários que fazem essa instituição um exemplo.

À farmácia Simões e aos amigos que construí nessa empresa, que me proporcionaram um maior aprendizado na área farmacêutica, me dando muito mais segurança e experiência para atuação como farmacêutico.

Por fim, a todos que de alguma forma me ajudaram e fizeram eu chegar até aqui, que fazem parte da minha vida ou trajetória acadêmica, fica o agradecimento e a certeza de que essa é só mais uma vitória das que ainda virão.

“Ainda que eu ande pelo vale da sombra da morte, não temerei mal algum, porque tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.” (Salmos 23:4)

RESUMO

Desde os primórdios, a civilização utiliza as plantas como terapêutica em razão dos seus compostos bioativos que são capazes de prevenir, curar e tratar doenças. No Brasil, o uso de terapias menos onerosas representa um ganho importante nos investimentos humanos e financeiros empregados na área da saúde. Nesse sentido, destaca-se a *Punica granatum* L. planta de grande uso popular no tratamento de vários sintomas e doenças como, infecções de garganta, rouquidão e febre. Nessa perspectiva, o presente trabalho se propôs a avaliar o potencial antimicrobiano dos extratos de *Punica granatum* L. frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, além de analisar parâmetros físico-químicos e fitoquímicos como, teor de água, cinzas totais, resíduo seco, densidade relativa, pH e caracterização fitoquímica. Os resultados obtidos foram comparados com a literatura existente a fim de observar o comportamento de cada tipo de extrato. Para teor de água as amostras obtiveram uma média e desvio padrão de $9,45\% \pm 0,24$; cinzas totais a variação foi de $3,43\% \pm 0,05$; para resíduo seco os resultados encontrados para extrato aquoso, infuso e tintura foram, respectivamente, $0,31\% \pm 0,002$; $0,35\% \pm 0,01$ e $5,45\% \pm 0,79$; densidade relativa, 1,0020; 1,0020 e 0,897 e pH, 4,56; 4,30 e 4,71. Quanto a caracterização fitoquímica, foi observado em todas as amostras forte presença de compostos fenólicos, assim como a ausência de saponinas, forte presença de taninos nas amostras A e B e moderada em C, para flavonoides, moderada presença em B e C, fortemente em A, alcaloides apresentaram-se moderados em B e C e levemente em A. Já em relação a atividade antimicrobiana todos os extratos obtiveram resultados positivos, com exceção dos produtos comerciais AR e M que não obtiveram ação antimicrobiana, com destaque para a tintura que apresentou uma média de halos de inibição de $12,0 \text{ mm} \pm 1,0$ para *Staphylococcus aureus* e $19,7 \text{ mm} \pm 3,8$ para *Candida albicans*; seguido do infuso, $10,3 \text{ mm} \pm 0,6$ para *S. aureus* e $17,7 \text{ mm} \pm 1,5$ para *C. albicans* e por fim, o extrato aquoso, $10,0 \text{ mm} \pm 0,0$ para *S. aureus* e $16,3 \text{ mm} \pm 0,6$ para *C. albicans*. Resultados esses que expressam que os extratos de *Punica granatum* L. apresentam atividade antimicrobiana contra as espécies pesquisadas, com destaque para a tintura, que apresentou maior potencial, necessitando assim de estudos complementares que evidenciem essa atividade *in vivo*, e padronizem a concentração e posologia mais adequada.

Palavras-chave: *Punica granatum* L. Plantas medicinais. Agente antimicrobiano

ABSTRACT

Since the beginning, civilization has used plants as a therapeutic due to their bioactive compounds that are capable of preventing, curing and treating diseases. In Brazil, the use of less expensive therapies represents an important gain in human and financial investments used in the health sector. In this sense, *Punica granatum* L. stands out as a plant of great popular use in the treatment of various symptoms and diseases such as throat infections, hoarseness and fever. From this perspective, the present work proposed to evaluate the antimicrobial potential of *Punica granatum* L. extracts against the microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, in addition to analyzing physicochemical and phytochemical parameters such as water content, total ash, dry residue, relative density, pH and phytochemical characterization. The results obtained were compared with existing literature in order to observe the behavior of each type of extract. For water content, the samples obtained a mean and standard deviation of $9.45\% \pm 0.24$; total ash variation was $3.43\% \pm 0.05$; for dry residue, the results found for aqueous extract, infusion and tincture were, respectively, $0.31\% \pm 0.002$; $0.35\% \pm 0.01$ and $5.45\% \pm 0.79$; relative density, 1.0020; 1.0020 and 0.897 and pH, 4.56; 4.30 and 4.71. Regarding phytochemical characterization, a strong presence of phenolic compounds was observed in all samples, as well as the absence of saponins, a strong presence of tannins in samples A and B and a moderate presence in C, for flavonoids, a moderate presence in B and C, a strong presence in A, alkaloids were moderate in B and C and slightly in A. Regarding antimicrobial activity, all extracts obtained positive results, with the exception of commercial products AR and M that did not obtain antimicrobial action, with emphasis on the tincture that presented an average inhibition halo of $12.0 \text{ mm} \pm 1.0$ for *Staphylococcus aureus* and $19.7 \text{ mm} \pm 3.8$ for *Candida albicans*; followed by the infusion, $10.3 \text{ mm} \pm 0.6$ for *S. aureus* and $17.7 \text{ mm} \pm 1.5$ for *C. albicans* and finally, the aqueous extract, $10.0 \text{ mm} \pm 0.0$ for *S. aureus* and $16.3 \text{ mm} \pm 0.6$ for *C. albicans*. These results express that the extracts of *Punica granatum* L. present antimicrobial activity against the species researched, with emphasis on the tincture, which presented greater potential, thus requiring additional studies that demonstrate this activity *in vivo*, and standardize the concentration and dosage more proper.

Keywords: *Punica granatum* L. Medicinal plants. Antimicrobial agents

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aspectos botânicos de <i>Punica granatum</i>, espécime (A), ramo e filotaxia (B), folha em observação adaxial e abaxial (C), flores (D) e fruto (E)	20
Figura 2 - Aspecto visual do pericarpo de <i>Punica granatum</i> desidratado (A) e triturado (B)	27
Figura 3 - Aspecto visual do extrato aquoso (A), infuso (B) e tintura (C) obtidos do pericarpo de <i>Punica granatum</i>.....	28
Figura 4 - Testes para a identificação dos grupos fitoquímicos característicos do extrato aquoso (A), infuso (B) e tintura diluída à 10% (C) obtidos do pericarpo de <i>Punica granatum</i>.....	30
Figura 5 - Atividade antimicrobiana do extrato aquoso (E), infuso (I) e tintura (T) diluída à 10%, obtidos do pericarpo de <i>Punica granatum</i> e dois produtos comerciais indicados para afecções bucais (AR e M) frente à <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Candida albicans</i>	34

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Teor de umidade e cinzas totais da droga vegetal triturada obtida do pericarpo desidratado de <i>Punica granatum</i> (n=3)	27
Tabela 2 - Tabela 2 – Características físico-químicas dos extratos obtidos a partir pericarpo de <i>Punica granatum</i> L.	29
Tabela 3 - Atividade antimicrobiana dos extratos obtidos a partir pericarpo de <i>Punica granatum</i> frente à <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) e <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) (n=3)	33
Quadro 1 - Reação de identificação de metabólitos secundários.....	25
Quadro 2 - Resultados dos testes fitoquímicos do extrato aquoso (A), infuso (B) e tintura (C) obtidos do pericarpo de <i>Punica granatum</i>	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS – Organização Mundial da Saúde

SUS – Sistema Único de Saúde

PNPIC – Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

IVAS – Infecções das Vias Aéreas Superiores

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

ESBL – *Beta-lactamase* de Espectro Estendido

PNSSP - *Streptococcus pneumoniae* não susceptível à penicilina

VRE - *Enterococos* resistente à vancomicina

µL – Microlitro

mm – Milímetros

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FAE - Faringoamigdalite aguda estreptocócica

SBGA - *Streptococcus pyogenes* b-hemolítico do Grupo A

FRA - Febre reumática aguda

GNDA - Glomerulonefrite difusa aguda

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

µg/mL – Micrograma por mililitro

mg/mL – Miligrama por mililitro

CIM – Concentração Inibitória Mínima

% - Por cento

UFMG – Universidade Federal de Campina Grande

CES – Centro de Educação e Saúde

°C – Graus Celsius

PA - Peso da amostra

PU - Peso do cadinho contendo a amostra antes da dessecação

PS - Peso do cadinho contendo a amostra depois da dessecação

g – Grama

± - Mais ou menos

h – Hora

pH – Potencial de Hidrogênio

UFC – Unidades formadoras de colônia

DP – Desvio padrão

nm – Nanômetro

g/cm³ - Gramas por centímetros cúbicos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Infecções do trato respiratório superior	17
3.2 Fitoterapia	18
3.2.1 Plantas medicinais	18
3.2.2 <i>Punica granatum</i> L.....	19
3.2.2.1 Atividade antimicrobiana da <i>Punica granatum</i> L.....	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Coleta das amostras	22
4.2 Preparo das amostras	22
4.3 Preparo do extrato	22
4.4 Teste de pureza	22
4.4.1 Determinação do teor de água.....	22
4.4.2 Determinação de cinzas totais.....	23
4.5 Análise dos extratos	23
4.5.1 Resíduo seco	23
4.5.2 pH.....	24
4.5.3 Densidade	24
4.5.4 Caracterização fitoquímica	24
4.6 Análise do potencial antimicrobiano do extrato	25
4.6.1 Preparação dos meios de cultura.....	26
4.6.2 Preparação da suspensão microbiana	26
4.6.3 Semeadura.....	26
4.6.4 Análise de atividade antimicrobiana	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 Aspecto visual da droga vegetal	27
5.2 Pureza da droga vegetal	27
5.3 Aspectos organolépticos dos extratos	28
5.4 Características físico-químicas dos extratos	28
5.5 Características fitoquímicas	30
5.6 Atividade antimicrobiana	32
6 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios a civilização utiliza as plantas como terapêutica em razão dos seus compostos bioativos que são capazes de prevenir, curar e tratar doenças, de maneira que a saúde humana está atrelada à fitoterapia e aos recursos naturais, precedendo a farmácia moderna em muitos séculos (Oliveira; Silva; Duarte, 2022; Silva; Lima, 2023).

Conforme o Relatório Global da OMS sobre Medicina Tradicional e Complementar de 2019, as plantas medicinais exercem um papel chave na promoção da saúde da população mundial e o uso da medicina tradicional para resolver as necessidades primárias em saúde tende a crescer na maioria dos países, em especial nos em desenvolvimento (World Health Organization, 2019).

No Brasil, o uso de terapias menos onerosas representa um ganho importante nos investimentos humanos e financeiros empregados na área de saúde. Assim, as plantas medicinais podem atuar como forma opcional de terapêutica levando em consideração o menor custo, e cujos benefícios se somam aos da terapia convencional. Para tanto, são necessários maiores investimentos em estudos científicos nessa área de maneira a levar à comprovação da eficácia de espécies utilizadas na medicina popular e tradicional (Pedroso; Andrade; Pires, 2021)

Apesar do uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de determinadas doenças ser uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade e estar apoiada em um conhecimento consolidado por séculos de observação, planta medicinal não é sinônimo de inocuidade. Ao contrário do senso comum de que “medicamento natural se não fizer bem, mal não faz” a planta medicinal é um xenobiótico, ou seja, um produto estranho ao organismo com finalidades terapêuticas, que ao ser introduzido no organismo humano sofre biotransformação e pode, desta forma, gerar produtos tóxicos (Veiga Junior *et al.*, 2005; Nicolleti *et al.*, 2007).

Diante deste cenário, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), contempla o fortalecimento do uso racional das plantas medicinais e fitoterapia para o tratamento de agravos à saúde, e contribui para o desenvolvimento da prática terapêutica fitoterápica no país (Pedroso; Andrade; Pires, 2021).

Considerando que as infecções das vias aéreas superiores (IVAS) são responsáveis pelo maior uso de antibióticos, tanto em clínica médica como pediátrica em todo mundo e que o uso frequente dos antibióticos e a facilidade na disseminação de agentes bacterianos favorece o desenvolvimento da resistência microbiana, as várias opções terapêuticas no uso dos

antimicrobianos devem ser exploradas, considerando epidemiologia, microbiologia e dados clínicos, em conjunto, de maneira racional e cuidadosa (Araújo *et al.*, 2022).

Nesse contexto, as terapias alternativas com a *Punica granatum* L., planta popularmente conhecida como romã, emerge como um elemento de interesse. A espécie é amplamente utilizada na medicina tradicional para tratar uma variedade de sintomas e doenças, como infecções de garganta, rouquidão e febre. A romã, pertencente à família Punicaceae, tem origem no Oriente Médio e é encontrada de forma abrangente em todo o território brasileiro, conforme apontado por Martins e Casali (2019). Portanto, a exploração científica da *Punica granatum* L. mostra-se promissora, visando contribuir de maneira sistemática e embasada para o seu potencial aproveitamento terapêutico.

A farmacopeia brasileira é o compendio oficial que estabelece os parâmetros de qualidade para produtos farmacêuticos, sejam matérias-primas ou produtos acabados. Entretanto, no contexto das plantas medicinais, é possível identificar lacunas no que diz respeito à disponibilidade de diretrizes oficiais para a fabricação de fitoterápicos (Nunes; Bandeira, 2019).

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi obter extratos de *P. granatum* L. por diferentes metodologias de preparo, analisando-os quanto aos aspectos fitoquímicos e físicoquímicos, e investigar a atividade microbiológica frente a microorganismos causadores de IVAS.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o potencial antimicrobiano dos extratos de *Punica granatum* L. frente à bactéria *Staphylococcus aureus* e ao fungo *Candida albicans*.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Realizar a preparação da droga vegetal do fruto da romã (coleta, secagem, trituração e análise da pureza);
- ✓ padronizar a metodologia de preparo de extratos de romã, utilizando diferentes solventes extratores e formas de preparo.
- ✓ realizar a análise físico-química e fitoquímica dos extratos; e
- ✓ verificar a possível ação terapêutica dos extratos sobre os microrganismos testados.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Infecções do trato respiratório superior

As infecções do trato respiratório são as mais comuns que ocorrem no ser humano. A maioria de natureza autolimitada, de etiologia viral, porém, outras são provocadas por bactérias e exigem tratamento antimicrobiano. São consideradas IVAS (infecções de vias aéreas superiores) infecções de laringe, nasofaringe, orofaringe, nariz, seios paranasais e ouvido médio (Brasil, 2010).

As IVAS em crianças e adultos são os motivos mais frequentes de consulta médica e os que mais demandam uso de antibióticos. A crescente resistência bacteriana causada pela produção das beta-lactamases constitui um dos mais sérios problemas atuais (Ferreira *et al.*, 2006).

As faringoamigdalites agudas são extremamente frequentes na população pediátrica, e as tonsilas palatinas apresentam colonização bacteriana composta por uma flora polimicrobiana, incluindo anaeróbios e aeróbios (e.g. *S. mutans* e *S. pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Prevotella* sp., *Bacteroides fragilis* e *Fusobacterium* sp. (Vieira *et al.*, 2006).

A faringoamigdalite aguda estreptocócica (FAE) é uma infecção aguda da orofaringe, na maioria das vezes, produzida por um estreptococo beta-hemolítico, o *Streptococcus pyogenes* do grupo A. Fora de períodos epidêmicos, a FAE é responsável por aproximadamente 15% dos casos de faringite aguda (Pitrez *et al.*, 2003). Segundo (Pereira *et al.*, 2008), em pesquisa realizada a partir de 360 amígdalas, foram isolados *Streptococcus* spp. (51,3%), *Staphylococcus* spp. (42,3%) e Gram-Negativos (6,4%).

Segundo Maciel *et al.* (2003) o *Streptococcus pyogenes*, b-hemolítico do Grupo A (SBGA), é de relevante importância em relação aos grupos B, C e G, não somente por ser o agente etiológico das faringites estreptocócicas, mas também pela sua associação com sequelas pós-estreptocócicas como a febre reumática aguda (FRA) e a glomerulonefrite difusa aguda (GNDA).

Quanto ao tratamento farmacológico, os antimicrobianos de primeira escolha são a penicilina V e a amoxicilina, em casos de sensibilidade a penicilina pode ser usada a eritromicina ou outros macrolídeos como azitromicina, claritromicina e clindamicina em doses adequadas a cada paciente (Anvisa, 2008). Para os pacientes alérgicos à penicilina podem ser usados estolato de eritromicina por 10 dias ou azitromicina por 5 dias. Como cepas de *S.*

pyogenes desenvolvem resistência aos macrolídeos rapidamente, a literatura não recomenda a azitromicina como primeira opção terapêutica (Balbani *et al.*, 2009).

As leveduras do gênero *Candida* sp. são agentes comensais que colonizam a cavidade bucal de cerca de 30% a 35% da população adulta sem evidência de infecção. A candidíase da mucosa oral apresenta formas clínicas variadas, como a candidíase pseudomembranosa, popularmente conhecida como sapinho, além das formas eritematosa, hiperplásica e mucocutânea (Dalazen *et al.*, 2011).

A candidíase oral é uma infecção fúngica, que afeta principalmente recém-nascidos e pacientes imunocomprometidos, como pacientes portadores de HIV, pacientes transplantados ou em tratamento quimioterápico. A principal espécie causadora de candidíase oral é a *Candida albicans*. Nesse cenário, a crescente resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* frente aos antifúngicos sintéticos disponíveis atualmente no comércio, impulsiona a busca por novos compostos antifúngicos de origem vegetal (Freire *et al.*, 2014).

3.2 Fitoterapia

3.2.1 Plantas medicinais

Muito antes da ciência moderna, os povos dispunham de saberes e práticas passados de geração para geração, nas comunidades e por curadores, benzedeiras, xamãs e outros, que geralmente incluíam o uso de plantas medicinais. Com o crescente desenvolvimento científico e tecnológico, esses saberes e práticas vêm sendo gradativamente substituídos por outros baseados na ciência moderna (Feijó *et al.*, 2021).

As plantas medicinais são aquelas capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso como remédio em uma população ou comunidade. Quando a planta medicinal é industrializada para se obter um medicamento, tem-se como resultado o fitoterápico. Os fitoterápicos industrializados devem ser regularizados na Anvisa antes de serem comercializados (Brasil, 2020).

Em 1978, com a declaração de Alma-Ata, a Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a reconhecer o uso de Plantas medicinais e fitoterápicos como estratégias efetivas em saúde, validando suas propriedades curativas, profiláticas e paliativas. No Brasil, a temática foi abordada na 8ª Conferência Nacional, em 1986, definindo-se que práticas alternativas de assistência à saúde deveriam ser parte do Sistema Único de Saúde (SUS), ainda em construção, permitindo ao usuário escolher a terapêutica desejada (Patrício *et al.*, 2022).

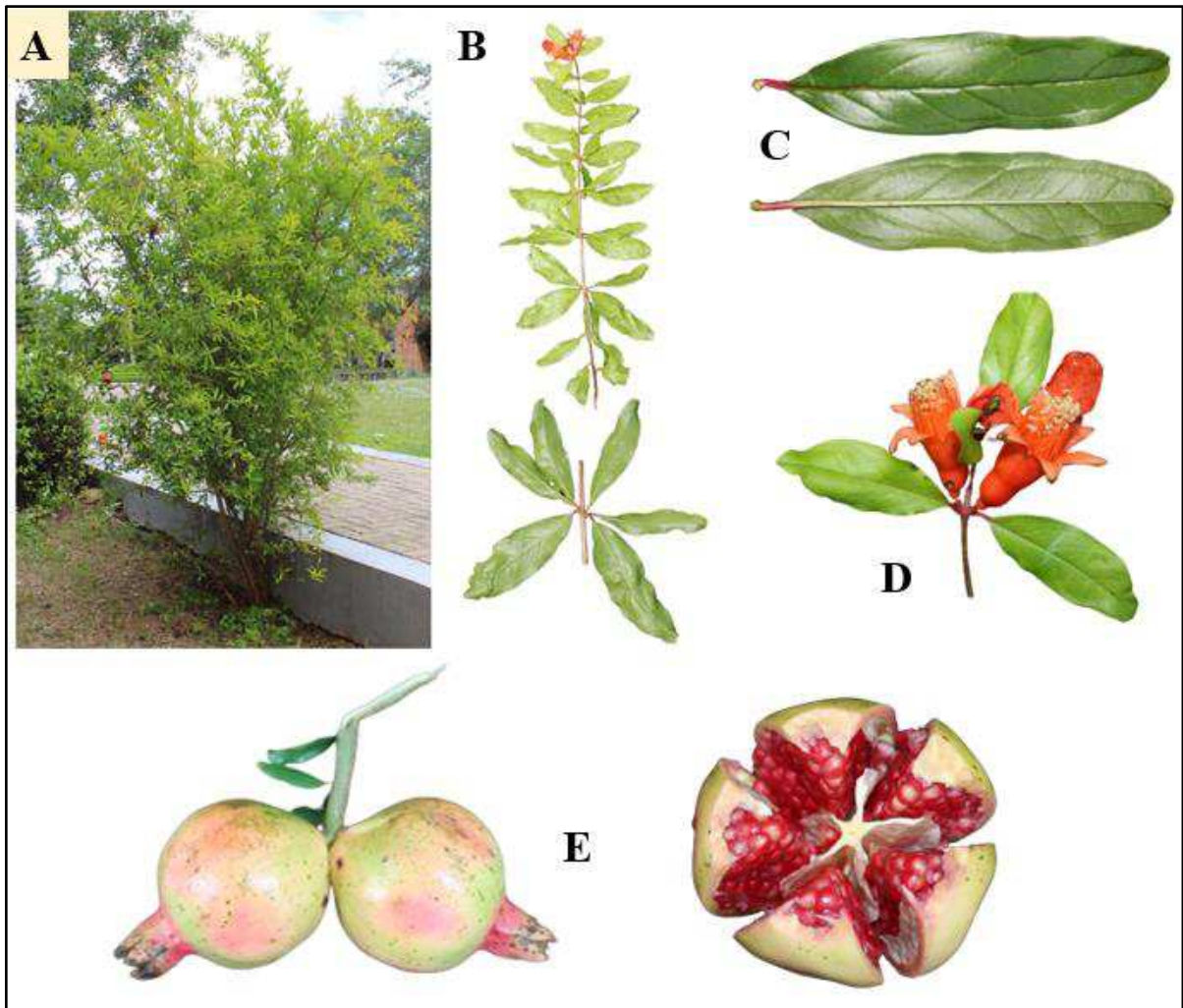
A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos foi criada em 2006, pelo Decreto nº 5.813. As diretrizes da política foram detalhadas como ações no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos – Portaria Interministerial nº 2.960/2008. O objetivo da Política e do Programa é “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (Brasil, 2006).

3.2.2 *Punica granatum* L.

A *Punica granatum* L. uma árvore de pequeno porte oriunda da África boreal, facilmente cultivada nas regiões quentes e temperadas do mundo inteiro (Colares *et al.*, 2017). Planta frutífera da família Punicaceae, popularmente conhecida como romãzeira, que reúne propriedades terapêuticas e tem seu uso enraizado na medicina popular de diversas regiões. seus frutos são do tipo baga e apresentam sabor doce, ligeiramente ácido. A romã apresenta uma diversidade de substâncias como ácido elágico, e flavonoides, que conferem ação antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e estimulam a síntese de colágeno. É ainda rica em compostos fenólicos, como antocianinas e taninos (Andrade *et al.*, 2018).

É um tipo de planta arbustiva que cresce entre 3 e 5 metros, as suas folhas são opostas e fasciculadas, brilhantes, alternadas e obtusas. As suas flores emergem agrupadas em florescências nas extremidades e possuem um cálice tubular e suculento. Os seus frutos têm forma arredondada, com uma casca dura de cor amarelo avermelhado, quando maduros, rebentam expondo as suas sementes (Myers *et al.*, 2000).

Figura 1- Aspectos botânicos de *Punica granatum*, espécime (A), ramo e filotaxia (B), folha em observação adaxial e abaxial (C), flores (D) e fruto (E)



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2023.

Os componentes da planta *P. granatum* L. incluem suco, folhas, óleo da semente, casca, casca (pericarpo), cascas, raízes e flores. Os constituintes de *P. granatum* L. incluem ácido ascórbico, antocianina, aminoácidos, glicose, ácido cafeico, ácido gálico, catequina, ácido elágico, minerais e ferro. As folhas contêm taninos (punicalina e a punicalina) e glicosídeos flavonas (incluem a apigenina e a luteolina). O óleo da semente possui ácido elágico, esteróis, ácidos graxos e ácido punícico. Os componentes da casca incluem ácido gálico, punicalinas fenólicas, rutina, flavonóis (flavononas, flavonas e antocianidinas), quercetina e ácidos graxos (catequina). Cascas e raízes possuem alcaloides piperídnicos e elagitaninos (punicalina e punicalina) (Mahmood *et al.*, 2023).

3.2.2.1 Atividade antimicrobiana da *Punica granatum* L.

Em trabalho realizado por Moreira *et al.* (2014), utilizando a técnica de difusão em discos, o extrato hidroalcoólico de romã a 10% apresentou atividade antibacteriana contra 13 isolados de *Staphylococcus aureus*, 2 isolados de *S. coagulase negativa* e 3 isolados de *S. saprophyticus*. Todos os isolados e as bactérias de referência apresentaram halo de inibição superior que 15 mm a partir da concentração de 0,125mg/mL.

Para Michelin *et al.* (2005) o extrato de *P. granatum* mostrou-se eficaz, apresentando CIM entre as concentrações 25 e 40 mg/mL; no entanto quando se utilizou a técnica de difusão em ágar, a atividade inibitória ocorreu em concentrações mais elevadas. Segundo Teles e Costa (2014), o extrato de *P. granatum* apresentou indícios de atividade antimicrobiana contra a *E. coli* nas concentrações 50,0%, 25,0% e 12,5%, pois, observou-se crescimento bacteriano menos intenso e com colônias bem pequenas próximo dos discos, o que sugere atividade antimicrobiana contra a *E. coli* em concentrações mais altas do extrato.

Os resultados desses estudos revelam o potencial antimicrobiano da *P. granatum*, destacando-a como uma promissora opção no tratamento de infecções causadas por diversos microrganismos. Para assegurar o máximo benefício terapêutico dessa espécie, é de suma importância estabelecer uma posologia adequada, bem como um processo de preparação padronizado que garanta eficácia e segurança no tratamento.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta das amostras

As amostras foram coletadas na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), no Centro de Educação e Saúde (CES), campus Cuité-Paraíba, e analisadas no Laboratório de Controle de Qualidade do Curso de Bacharelado em Farmácia. Foram coletados cerca de 10 frutos de *Punica granatum* L., dos quais foram utilizadas as cascas para produção dos extratos.

4.2 Preparo das amostras

As amostras coletadas (cascas dos frutos) foram levadas a estufa de secagem e monitoradas diariamente até atingirem uma concentração mínima de água; após o processo de secagem, foram trituradas em moinho de facas para aumentar a superfície de contato e consequentemente facilitar a extração dos compostos presentes.

4.3 Preparo do extrato

Os extratos foram produzidos a partir da casca triturada, onde foram utilizados cerca de 2 gramas de droga vegetal para 300 mL de água destilada para os extratos aquosos e 60 gramas da droga vegetal para 300 mL de álcool 70%. Foram utilizadas 3 metodologias diferentes de preparo para cada extrato:

Extrato 1: Foram adicionadas 2 gramas da droga vegetal em um recipiente com 300 mL de água destilada e mantido em repouso por 24 horas a temperatura ambiente para a extração dos compostos presentes na amostra;

Extrato 2: A droga vegetal foi submetida ao mesmo processo do extrato 1, porém, sofreu um processo de aquecimento de cerca de 10 minutos para a extração mais rápida dos compostos;

Extrato 3: Foram adicionadas 60 gramas da droga vegetal em um recipiente contendo 300 mL de álcool a 70%, permanecendo em repouso durante 24 horas à temperatura ambiente.

4.4 Teste de pureza

4.4.1 Determinação do teor de água

Foi pesado, com exatidão, 5 gramas da amostra previamente triturada, transferida para pesa-filtro exatamente pesado, previamente dessecado nas mesmas condições adotadas para a amostra, durante 30 minutos. Em seguida, a amostra foi submetida a um processo de dessecação em estufa a temperatura entre 100-105 °C, durante 5 horas, até peso constante, ou seja, até que a diferença entre duas pesagens sucessivas corresponda a, no máximo, 0,25% de amostra. Para

o cálculo da porcentagem de água em relação à massa da droga seca ao ar foi utilizada a equação 1 (Farmacopeia Brasileira, 2019). A análise foi realizada em triplicata.

$$\% = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

Pa = peso da amostra

Pu = peso do cadinho contendo a amostra antes da dessecação

Ps = peso do cadinho contendo a amostra depois da dessecação

4.4.2 Determinação de cinzas totais

Foi pesado 3 g da amostra pulverizada e transferida para um cadinho, previamente tarado, de maneira uniforme. Logo depois, foi incinerada em manta aquecedora em capela de fluxo laminar. Posteriormente, foi transferida para o forno mufla, onde permaneceu por 3 horas em temperatura à 600°C. Ao término, aguardou-se 12 horas para o resfriamento antes de levar a amostra a um dessecador de sílica. Finalmente a amostra foi pesada e o teor de cinzas totais calculado utilizando a equação 2 (Farmacopeia Brasileira, 2019). A análise foi realizada em triplicata.

$$\% = \frac{P_u - P_i}{P_a} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

Pa = Peso da amostra

Pu = Peso do cadinho contendo a amostra antes da incineração

Pi = Peso do cadinho contendo a amostra depois da incineração

4.5 Análise dos extratos

4.5.1 Resíduo seco

O cadinho de porcelana foi previamente calcinado, resfriado e pesado; em seguida, foram transferidos 2,0 mL de extrato com auxílio de uma pipeta automática para o cadinho. Posteriormente, o cadinho foi levado a banho-maria até a evaporação total do extrato. Em seguida, o cadinho foi levado à estufa em temperatura de 105 °C durante 3 horas, seguido de

resfriamento em dessecador e pesado. Dessa forma, o resíduo seco foi calculado em porcentagem em relação à massa inicial do extrato (Farmacopeia Brasileira, 2019).

4.5.2 pH

O pH foi determinado em triplicata por meio direto em pHmetro calibrado (Farmacopeia Brasileira, 2019).

4.5.3 Densidade

A densidade foi realizada em triplicata por meio direto em densímetro calibrado.

4.5.4 Caracterização fitoquímica

A determinação de grupos químicos de metabolitos secundários foi determinada conforme metodologia descrita por Cardoso (2009):

- Identificação de Compostos Fenólicos

A reação com cloreto férrico é fundamentada na capacidade dos fenóis formarem complexos coloridos com íon Fe^{3+} . A coloração varia do azul ao vermelho.

Procedimento: em 2 mL de extrato, foi adicionado 5 gotas da solução de cloreto férrico a 3% e observado o desenvolvimento de mudança na coloração (azul, verde, marrom ou vermelho).

- Identificação de Taninos

A reação com gelatina fundamenta-se na formação de precipitados, pela reação com proteínas, provenientes da gelatina.

Procedimento: Em 2 mL da amostra, adicionou-se 5 gotas de solução de gelatina 2,5%. Foi observado se ocorreu turvação ou a formação de precipitado.

- Identificação de Alcalóides –Reação de Dragendorff

A reação de precipitação é fundamentada na capacidade dos alcalóides de se combinar com metais pesados (Bismuto, Mercúrio, tungstênio e Iodo).

Procedimento: Em um tubo de ensaio, foram adicionados 1 mL do extrato e 3 gotas de ácido clorídrico a 1%, com subsequente agitação. Posteriormente, foram inseridas 2 gotas do reativo de Dragendorff (iodo bismutato de potássio). Após agitação, foi observado o aparecimento de precipitados e/ou mudança de coloração da solução.

- Identificação de Flavonoides

A reação de Shinoda (Magnésio e ácido clorídrico) baseia-se no fato de que os derivados flavônicos que são de cor amarela reduzem-se adquirindo coloração de rósea a vermelha.

Procedimento: 2 mL da amostra, uma pequena alíquota de magnésio metálico e 1 mL de ácido clorídrico concentrado. Observou-se se ocorreu mudança de coloração.

- Identificação de Saponinas

Em um tubo de ensaio adicionou-se 2 mL de extrato, permanecendo sob agitação vigorosa por 1 min. A formação de espuma persistente indica uma reação positiva.

As reações supracitadas estão resumidas no quadro 1.

Quadro 1 - Reação de identificação de metabólitos secundários

Grupo de substâncias	Teste	Reação característica
Alcaloides	Dragendorff	Formação de precipitado floculoso ou turvação
Compostos fenólicos	Cloreto férrico	Coloração azul indica presença de grupos fenóis hidrolisáveis ou gálicos e coloração verde indica presença de grupos fenóis condensados ou catéquicos
Flavonoides	Shinoda	Coloração vermelha foi indicativo da presença de flavonoides
Taninos	Gelatina	Formação de precipitado ou turvação
Saponinas	Índice de espuma	Formação de espuma persistente e abundante.

Fonte: Cardoso, 2009.

4.6 Análise do potencial antimicrobiano do extrato

O método utilizado para a análise do potencial antimicrobiano foi o de difusão em ágar, utilizando cilindros de aço inoxidável para a perfuração do meio e adição dos extratos, nos quais foram adicionados 200 µL de cada extrato, além do uso de produtos comerciais para comparação nomeados M e AR. Para cada microrganismo foi utilizado um meio de cultura específico: meio ágar Nutriente para a espécie *Staphylococcus aureus* e meio ágar Sabouraud Dextrose para a espécie *Candida albicans*.

4.6.1 Preparação dos meios de cultura

Os meios de cultura foram preparados a partir de uma base desidratada disponível comercialmente e conforme as instruções do fabricante. Imediatamente após passar pela autoclave, foram resfriados em banho-maria entre 45 e 50°C. Em seguida, os meios recém preparados e resfriados foram despejados em placas de Petri de fundo chato, em vidro, numa superfície horizontal, garantindo uma profundidade uniforme de aproximadamente 4 mm. Isso corresponde a 60-70 mL de meio para placas com 150 mm de diâmetro e 25-30 mL, para placas com diâmetro de 100 mm. O meio ágar foi esfriado a temperatura ambiente e armazenado em geladeira (de 2 a 8°C).

4.6.2 Preparação da suspensão microbiana

Para o preparo do inóculo bacteriano, foi selecionado 4 a 6 colônias morfológicamente semelhantes de um cultivo recente (24h) e suspendidas com alça bacteriológica esterilizada em 2 a 3 mL de solução salina esterilizada a 0,85%. A turbidez foi ajustada com auxílio de um espectrofotômetro (absorbância de 625 nm, faixa de 0,08 a 0,13). Essa turvação corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC por mililitro). Para facilitar a comparação visual, recomenda-se a utilização de um fundo branco com linhas pretas (Anvisa, 2020).

4.6.3 Semeadura

A semeadura foi realizada com o auxílio de um swab, inserido na suspensão bacteriana previamente preparada e, em seguida, foi repassada para a placa de Petri com o meio específico para cada bactéria. A técnica utilizada foi a específica para antibiograma, onde se buscou preencher a placa homogeneamente com as bactérias.

4.6.4 Análise de atividade antimicrobiana

A análise da atividade foi realizada por meio da medição dos halos de inibição em cada placa, utilizando um paquímetro ou régua.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Aspecto visual da droga vegetal

A amostras foram coletadas nas imediações do Centro de Educação e Saúde (CES). A partir do fruto foram retirados o pericarpo e levados para estufa para secagem durante o período de 72 horas, e obtido a droga vegetal desidratada (A) e em seguida trituradas em moinho de facas (B).

Figura 2 - Aspecto visual do pericarpo de *Punica granatum* desidratado (A) e triturado (B)



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2023.

A droga vegetal após secagem (A) apresentou uma coloração amarelo-vermelho, com uma resistência elevada e inodoro. Enquanto a droga vegetal triturada (B) apresentou uma coloração amarelo-marrom, com aspecto grosseiro e inodoro.

Apesar da farmacopeia brasileira não apresentar monografia específica e nem descrever as características organolépticas da *Punica granatum*, a literatura corrobora os resultados encontrados na pesquisa. Como no trabalho realizado por Maphetu *et al.* (2022) em que as cascas dos frutos da romã são identificadas pelo seu rígido escudo de pericarpo que mantém uma cor laranja e esverdeada quando maduro. A casca cobre os arilos que são divididos por uma leve membrana na parte interna. As cascas da romã representam 43% do fruto inteiro.

5.2 Pureza da droga vegetal

Na tabela 1, observa-se os valores encontrados para teor de umidade e cinzas totais, expressos como média e desvio padrão.

Tabela 1 - Teor de umidade e cinzas totais da droga vegetal triturada obtida do pericarpo desidratado de *Punica granatum* (n=3)

Umidade (%)		Cinzas Totais (%)	
Média	DP	Média	DP
9,45	0,24	3,43	0,05

Fonte: Dados da pesquisa, 2023.

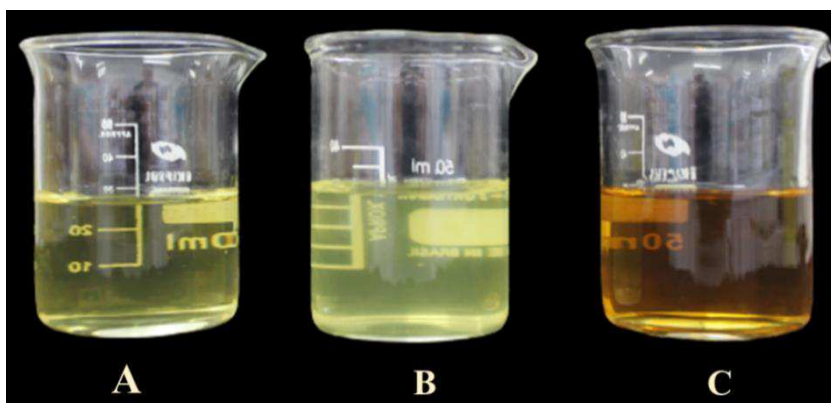
A determinação do teor de cinzas totais é um ensaio utilizado para verificar impurezas inorgânicas não voláteis que podem estar presentes como contaminantes. Essa análise foi feita com o material seco triturado do vegetal (Andre *et al.*, 2013).

Em trabalho realizado por Krause (2021), foram analisadas 2 amostras em duplicata, sendo que as duplicatas da amostra A tiveram em média 6,04% de cinzas e da amostra B apresentou 7,15% de cinzas. Para teor de umidade foi obtida uma média de 3,58% de umidade.

5.3 Aspectos organolépticos dos extratos

Na figura 3 pode-se observar as características organolépticas dos extratos obtidos do pericarpo de *Punica granatum*. O extrato aquoso (A) apresentou um aspecto límpido e coloração amarelo-claro. O infuso (B), apresentou aspecto turvo e coloração idêntica ao extrato (A). A tintura (C), por sua vez, não apresentou turvação, mas exibiu uma coloração amarelo-escuro, em contraste com os outros extratos. Isso provavelmente se deve à uma maior concentração de extrativos.

Figura 3 - Aspecto visual do extrato aquoso (A), infuso (B) e tintura (C) obtidos do pericarpo de *Punica granatum*



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2023.

5.4 Características físico-químicas dos extratos

Com relação às características físico-químicas, foram avaliados três parâmetros: Teor de extrativos, densidade relativa e potencial de hidrogênio (pH), cujos resultados estão expressos na tabela 2. Na análise do teor de extrativos, a tintura obteve a maior média e desvio padrão, com $5,45 \pm 0,79$, devido à sua maior concentração em comparação com os extratos (A) e (B). O extrato aquoso e o infuso apresentaram valores semelhantes, com $0,31 \pm 0,02$ e $0,35 \pm 0,01$, respectivamente.

Tabela 2 Características físico-químicas dos extratos obtidos a partir pericarpo de *Punica granatum* L.

Amostra	Teor de Extrativos (%) Média ± DP (n=3)	Densidade Relativa	pH
Extrato Aquoso (A)	0,31 ± 0,02	1,0020	4,56
Infuso (B)	0,35 ± 0,01	1,0020	4,30
Tintura (C)	5,45 ± 0,79	0,8970	4,71

Fonte: Dados da pesquisa, 2023.

A determinação do resíduo seco faz parte das diretrizes da OMS e ANVISA para o controle de qualidade de plantas medicinais e é essencial para garantir a autenticidade, a estabilidade e a segurança tanto de plantas medicinais como de seus preparados (Andre *et al.*, 2013).

O resíduo seco está relacionado à solubilidade da amostra em um determinado solvente. Desta forma, quanto maior o "resíduo seco" obtido a partir de um extrato, mais solúvel é a amostra bruta no solvente utilizado (Funari; Ferro, 2006).

Não foram encontrados na literatura resultados e/ou descrição de resíduo seco para *P. granatum* L., sugerindo que mais estudos sejam realizados para determinação desse parâmetro, a fim de comparar e padronizar as melhores estratégias de extração.

Os valores de densidade relativa foram idênticos para os extratos A e B, ambos registrando 1,0020, enquanto a tintura (C) apresentou um valor de 0,8970, devido a densidade do líquido extrator.

Densidade relativa é a razão da massa específica (densidade absoluta) de uma substância pela massa específica de outra substância tomada como referência. Dessa forma, a densidade relativa é um número puro (grandeza adimensional). Adota-se comumente como padrão a água pura a 4°C, cuja densidade é 1,0 g/cm³ (Imbelloni; Gouveia; Nunes, 2007).

Apesar de não encontrar valores de densidade relativa para o extrato da casca de *P. granatum* na literatura, Santos *et al.* (2010) analisaram a densidade absoluta dos frutos e das sementes de romã, para os frutos a densidade foi de 0,952 g/cm³ e para as sementes 0,45 g/cm³.

Ao analisar o pH dos extratos de *Punica granatum*, todas as amostras obtiveram um caráter ácido, com menor valor para o infuso (B) pH 4,30, seguido do extrato aquoso (A) 4,56 e por fim, da tintura (C) 4,71.

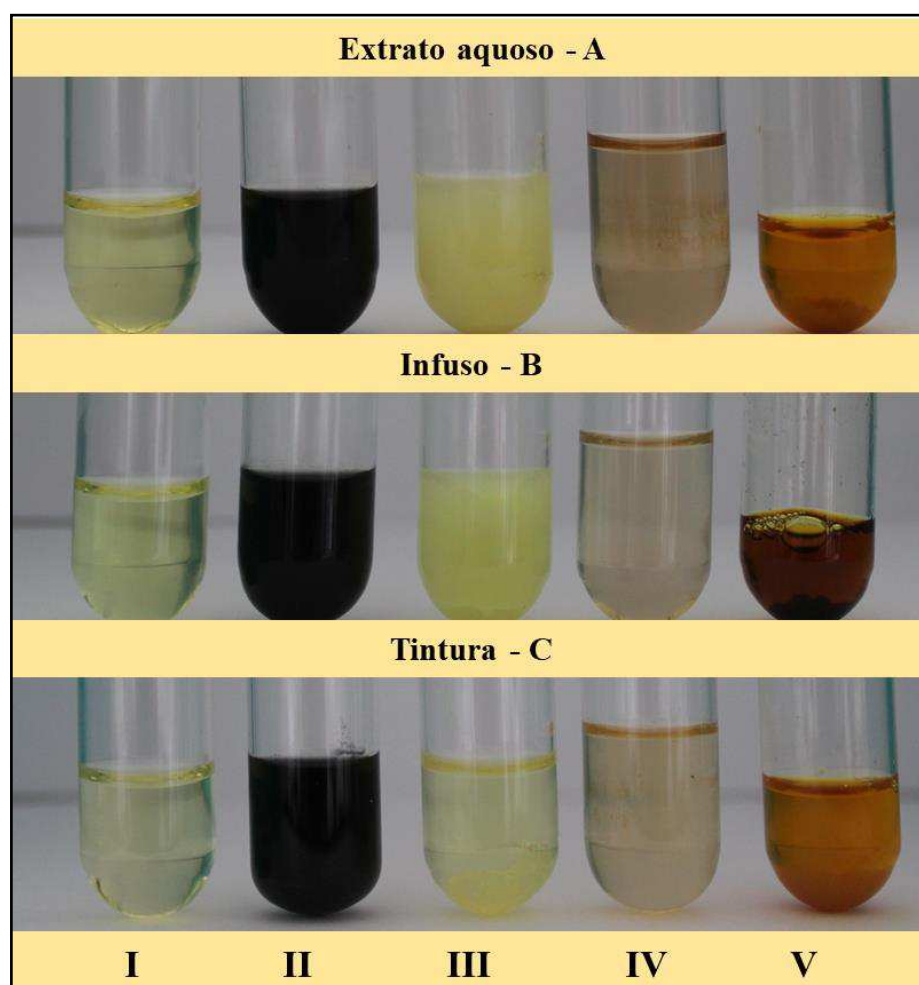
Santos (2013) analisou o pH da polpa in natura do fruto da romã, e obteve uma média de 4,15 ± 0,02. Enquanto Santos *et al.* (2022) obtiveram o valor de pH = 2,94 para a polpa do fruto de *P. granatum*.

Os valores de pH são usados para determinar a concentração do íon H^+ na solução extrativa, embora os resultados encontrados na literatura sejam distintos, a grande maioria aponta um caráter ácido aos componentes na *Punica granatum*.

5.5 Características fitoquímicas

A prospecção fitoquímica indicou a presença de diversos grupos de constituintes químicos provenientes do metabolismo secundário. Conforme observado na figura 4, todos os extratos (A, B e C) apresentaram reações positivas para compostos fenólicos, taninos, flavonoides e alcaloides; o que diferenciou cada extrato foi a intensidade da reação em cada uma das categorias. Além disso, obteve-se resultado negativo para a presença de saponinas em todas as amostras analisadas.

Figura 4 - Testes para a identificação dos grupos fitoquímicos característicos do extrato aquoso (A), infuso (B) e tintura diluída à 10% (C) obtidos do pericarpo de *Punica granatum*



Legenda: I – Branco; II – Compostos fenólicos; III – Taninos; IV – Flavonoides; V – Alcaloides

Fonte: Arquivos da pesquisa, 2023.

No que se refere a presença de compostos fenólicos, todos os extratos apresentaram uma reação fortemente positiva (+++). No caso dos taninos, as amostras A e B demonstraram uma reação fortemente positiva (+++), enquanto a amostra C mostrou uma reação moderadamente positiva (++) . Em relação aos flavonoides, a amostra A obteve um resultado fortemente positivo (+++), enquanto as amostras B e C alcançaram uma reação moderadamente positiva. Por fim, no teste de alcaloides, as amostras B e C demonstraram uma reação moderadamente positiva, enquanto a amostra A obteve uma reação levemente positiva. Adicionalmente, não se detectou a presença de saponinas em nenhuma das amostras analisadas, conforme apresentado no Quadro 2.

Quadro 2 - Resultados dos testes fitoquímicos do extrato aquoso (A), infuso (B) e tintura (C) obtidos do pericarpo de *Punica granatum*

Classes de metabólitos secundários pesquisados	Amostras		
	A	B	C
Compostos fenólicos (FeCl ₃)	+++	+++	+++
Taninos (Gelatina)	+++	+++	++
Flavonoides (Shinoda)	+++	++	++
Alcaloides (Dragendorff)	+	++	++
Saponinas (Índice de espuma)	-	-	-

Legenda: +++ = reação fortemente positiva; ++ = reação moderadamente positiva; + = reação levemente positiva; - = reação negativa

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Os autores Ko, Younas e Alireza (2021) apontam que a *P. granatum* contém diversos fitoquímicos. Por exemplo, a casca da planta foi extraída com metanol e revelou a presença de fenólicos como polifenóis, flavonóides, esteróis, politerpenos, sendo os fenólicos e flavonóides os compostos químicos mais presentes com $(272,82 \pm 32,05 \mu\text{g/mL})$ e $(387,25 \pm 1,75 \mu\text{g/mL})$, respectivamente. No entanto, o estudo evidenciou a ausência de alcaloides fitoquímicos na porção da casca analisada.

No estudo conduzido por Oliveira et al. (2015), os resultados foram positivos para taninos condensados e hidrolisáveis, flavonoides, derivados cinâmicos, saponinas, terpenos e esteroides. Notavelmente, a presença de saponinas foi detectada, o que difere dos resultados obtidos nessa pesquisa

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas. Entre os compostos fenólicos, os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis se destacam como os antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural (Angelo; Jorge, 2007).

Os taninos da romã são capazes de atravessar a parede celular composta por diversos polissacarídeos e proteínas, e se ligar à sua superfície. Os polifenóis podem afetar a parede celular bacteriana, inibir enzimas por agentes oxidados, interagir com proteínas e perturbar a coagregação de microrganismos (Qabaha, 2013; Vasconcelos *et al.*, 2006).

Embora não tenham sido evidenciadas nesse estudo, as saponinas estão presentes em muitas espécies vegetais e são consideradas como parte do seu sistema de defesa. Estudos anteriores mostram que diversas saponinas apresentam ação antimicrobiana, antifúngica e ação protetora contra ataques de insetos (Santos, 2009).

A composição dos metabólitos secundários nas plantas é resultado do balanço entre sua formação e sua transformação, que ocorre durante o crescimento, em decorrência principalmente de três fatores: genéticos, ambientais e técnicas de cultivo (Castro *et al.*, 2002).

A forma como uma droga é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano. Neste sentido, variações sazonais influenciam no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários, como óleos essenciais, lactonas sesquiterpênicas, ácidos fenólicos, flavonóides, cumarinas, saponinas, alcalóides, taninos, graxas epicuticulares, iridóides, glucosinolatos e glicosídeos cianogênicos (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

5.6 Atividade antimicrobiana

Os três extratos foram avaliados quanto a atividade antimicrobiana e comparados a dois produtos comerciais, nomeados com os códigos AR e M, comumente utilizados como enxaguantes bucais e com presença de produtos naturais, inclusive a própria romã. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados da média e desvio padrão dos halos de inibição estão retratados na tabela 3.

Tabela 2 - Atividade antimicrobiana dos extratos obtidos a partir pericarpo de *Punica granatum* frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Candida albicans* (ATCC 10231) (n=3)

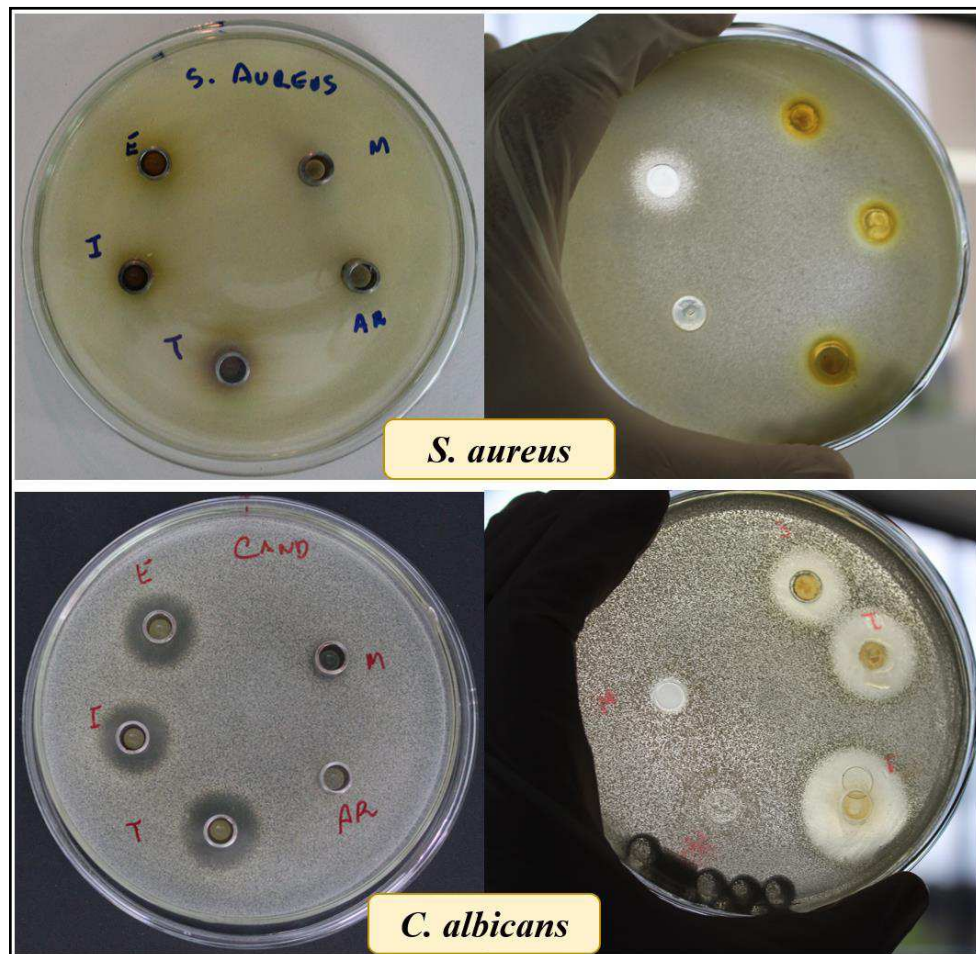
Amostra	Halos de Inibição (mm)	
	Média ± DP (n=3)	
	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
Extrato Aquoso (A)	10,0 ± 0,0	16,3 ± 0,6
Infuso (B)	10,3 ± 0,6	17,7 ± 1,5
Tintura (C)	12,0 ± 1,0	19,7 ± 3,8
Prod. comercial AR	-	-
Prod. comercial M	-	-

Fonte: Dados da pesquisa, 2023.

Os resultados encontrados demonstraram que a tintura obteve uma maior ação antimicrobiana para ambos os microrganismos, com uma média de halos de inibição e desvio padrão de 12,00 mm ± 1,0 para *S. aureus* e 19,7 mm ± 3,8 para *C. albicans*, seguido pelo infuso, que apresentou valores de média e desvio padrão de 10,3 mm ± 0,6 para *S. aureus* e 17,7 mm ± 1,5 pra *C. albicans*. O extrato aquoso apresentou valores de 10,0 mm ± 0,0 para *S. aureus* e 16,3 mm ± 0,6 para *C. albicans*. Quanto aos produtos comerciais, ambos não demonstraram inibição do crescimento dos microrganismos utilizados na pesquisa.

Na figura 5 estão retratados os resultados para as 5 amostras utilizados contra a bactéria *S. aureus* e ao fungo *C. albicans*.

Figura 5 - Atividade antimicrobiana do extrato aquoso (E), infuso (I) e tintura (T) diluída à 10%, obtidos do pericarpo de *Punica granatum* e dois produtos comerciais indicados para afecções bucais (AR e M) frente à *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2023.

Os dados da pesquisa corroboram as análises feitas por Teles *et al.* (2014), em que se observou halos de inibição de 15,3 mm com o extrato puro da *Punica granatum* L. Assim como Trindade *et al.*, (2009), observaram sensibilidade positiva de *S. aureus* à tintura hidroalcoólica da casca do fruto da romã, apresentando medidas de halo de inibição nas concentrações de 1:2 (13 mm), 1:4 (12 mm), 1:8 (10 mm).

Da mesma forma, Silva *et al.* (2008) testou o extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* L. sobre 38 cepas de *Staphylococcus aureus* e todas apresentaram sensibilidade ao extrato, obtendo zonas de inibição que variaram de 10 a 36 mm.

Os resultados apontados por Höfling *et al.* (2010) demonstram que os extratos de *Punica granatum* a partir dos solventes diclorometano e metanol apresentaram ação antimicrobiana contra *Candida albicans* nas concentrações de 0,001 mg/mL e 0,003 mg/mL.

Já para Anibal *et al.* (2013) o extrato etanólico do pericarpo de romã apresentou atividade na concentração de 250 µg/mL para *C. albicans*, além de apresentar atividade contra outras 9 espécies de *Candida*. Outro estudo realizado com o suco da polpa de Romã e chá das cascas do fruto em uma concentração de 50%, em tratamento *in vivo* de úlceras bucais e aftas, demonstrou que ambos os derivados apresentaram bons resultados no tratamento e cicatrização dessas enfermidades (Nascimento Júnior *et al.*, 2016).

De acordo com o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (2021), a infusão e a tintura do pericarpo da *Punica granatum* L. são indicadas como auxiliar no tratamento sintomático decorrente de afecções da cavidade oral como anti-inflamatório e antisséptico. Os resultados obtidos nesta pesquisa fortalecem e validam essas indicações, destacando a importância desse tipo de estudo na promoção de um uso baseado em evidências científicas para as espécies vegetais. Isso demonstra a relevância de conduzir pesquisas que possam respaldar o conhecimento empírico tradicional com dados e resultados científicos sólidos, proporcionando assim uma base mais confiável para a utilização terapêutica de plantas medicinais.

6 CONCLUSÃO

Os testes de pureza demonstraram que a droga vegetal possuía baixo teor de água ($9,45 \pm 0,24$) e baixa quantidade de cinzas totais ($3,43 \pm 0,05$), estando de acordo com as monografias de plantas medicinais existentes nos compêndios oficiais.

Dentre os extratos produzidos, a tintura (C) apresentou um maior teor de extrativos ($5,45 \pm 0,79$), devido não somente a sua maior concentração, mas também pelo solvente utilizado no preparo, densidade (0,8970) compatível com a densidade do álcool etílico e maior pH (4,71). Os demais extratos apresentaram características semelhantes entre si.

Além disso, a prospecção fitoquímica indicou a forte presença de compostos fenólicos em todas as amostras, com uma variação de taninos, flavonoides e alcaloides entre elas, o que pode influenciar na capacidade de inibir o crescimento dos microrganismos.

Os resultados obtidos nessa pesquisa possibilitam concluir que os extratos de *P. granatum* L. testados, apresentam atividade antimicrobiana contra as espécies *S. aureus* e *Candida albicans*, com destaque para o extrato hidroalcoólico (tintura) que obteve os melhores resultados de inibição ($12,0 \pm 1,0$ e $19,7 \pm 3,8$), respectivamente.

Portanto, as amostras de *P. granatum* L. obtiveram resultados satisfatórios quanto a sua ação antimicrobiana contra os microrganismos *S. aureus* e *C. albicans*, apontando a tintura como a melhor opção entre os extratos testados, necessitando de mais estudos que estabeleçam parâmetros de concentração e posologia que apresentem a melhor resposta terapêutica.

REFERÊNCIAS

- ABÍLIO, V. F. M.; MESQUITA, B. S.; SILVA, E. D.; CARVALHO, F. V. Q.; MACÊDO, L. L. A.; CASTRO, R. D. "Atividade antifúngica de produtos naturais indicados por raizeiros para tratamento de candidíase oral." **Revista Cubana de Estomatologia** 51.3, p. 259-69, 2014.
- ANDRADE, J. O.; LACERDA, M. A. G.; ANDRADE, V. O.; MORAIS, L. K.; FREIRES, J. D.; PEREIRA, F. F. L.; SILVA, A. M.; PONTES, E. D. S.; LIMA, M. W. S.; DE MEDEIROS, F. D. "Utilização Fitoterápica Da Romã (*Punica granatum* L.): Uma Revisão Literária. **International Journal of Nutrology**, Vol.11 (S 01), 2018.
- ANDRE, A. C. G. M.; SILVA, A. P. F.; VASCONCELOS, E. M. Caracterização físico-química do material vegetal e dos extratos de *cestrum laevigatum* schldl (solanaceae). **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde Fits**, v. 1, n.2, p. 11-19, maio, 2013.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ANIBAL, P. C.; PEIXOTO, I. T. A.; FOGLIO, M. A.; HÖFLING, J. F. Atividade antifúngica dos extratos etanólicos de *Punica granatum* L. e avaliação das modificações morfológicas e estruturais de seus compostos sobre células de *Candida* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, julho, 2013.
- ARAÚJO, R. S. Infecção respiratória alta em crianças (IVAS). **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 5, p. 509-521, 2022.
- BALBANI, A. P. S.; MONTOVANI, J. C.; CARVALHO, L. R. Faringotonsilites em crianças: visão de uma amostra de pediatras e otorrinolaringologistas. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 75, n. 1, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais**. 2020.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde**. 2010.
- BRASIL. Formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 6ª ed. Brasília, 2019.
- BRASIL. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia brasileira. 2ª Edição. 2021. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/formulario-fitoterapico/arquivos/2021-fffb2-final-c-capa2.pdf>>. Acesso em 17 out 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília-DF, 2006.
- CARDOSO, C. M. Z. Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral. **Pharmabooks**, São Paulo, 2009.

- CASTRO, D. M.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas da *Lippia alba* (Mill). NEBr em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 2, pág. 75-79, 2002.
- COLARES, L. F.; SANTOS NETO, A. R.; CORDEIRO, I. H.; DE CASTRO, S. B. R.; VERLY, R. M.; ALVES, C. C. De S.; CARLI, A. De P. "Detecção de inibidores de proteases em sementes de *Punica granatum*." **Química Nova** 40.3: 270-74, 2017.
- DALZEN, D.; ZANROSSO, D.; WANDERLEY, L.; SILVA, N. L.; FUENTEFRIA, A. M. Comparação do perfil de suscetibilidade entre isolados clínicos de *Candida* spp. Orais e vulvovaginais no sul do Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 47(1), 33-38, 2011.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 6ª Ed. v.6, Brasília, 2019.
- FEIJÓ, A. J. L.; LOPES, M. A. L.; SIMIONATO, C. P.; BIAVATTI, M. W.; MARCOS, M. L.; SANTOS, A. P.; TESSER, C. D. Construção do guia de plantas medicinais de Florianópolis, SC, Brasil. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**, v. 25, 2021.
- FERREIRA, J. B.; RAPOPORT, P. B.; SAKANO, E.; KÓS, A. O. A.; PILTCHER O. B.; PIGNATARI, S. S. N.; PINHEIRO, S. D.; MOCELIN, M. "Eficácia e segurança de sultamicilina (ampicilina/sulbactam) e amoxicilina/clavulanato no tratamento das infecções de via aéreas superiores em adultos: Um Estudo Multicêntrico, Aberto E Randomizado." **Revista Brasileira De Otorrinolaringologia** 72.1, 104-11, 2006.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Food Science Technology**, v. 26, n. 1, p. 171-178, Jan, 2006.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- HÖFLING, J.; ANIBAL, P.; OBANDI-PEREDA, G.; FURLETTI, V.; FOGGIO, M.; GONÇALVES, R. Potencial antimicrobiano de alguns extratos vegetais contra espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 70, novembro, 2010.
- IMBELLONI, L. E.; GOUVEIA, M. A.; NUNES, R. R. Densidade relativa de uma solução: desmistificando conceitos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, n. 3, p. 331-332, maio, 2007.
- KO, K.; YOUNAS, D.; ALIREZA, A. "Componentes nutricionais e bioativos de resíduos de romã usados em aplicações alimentícias e cosméticas: uma revisão. **Departamento de Ciência Alimentar, Faculdade de Agricultura e Ciências da Vida**. 2021.
- KRAUSE, M. Identificação e controle de qualidade das propriedades físico-químicas da casca da romã. **Repositório Institucional UniGuairaca**. Guarapuava, 2021.
- MACIEL, A.; ACA, L. de S.; LOPES, A. C. S.; MALAGUEÑO, E.; SEKIGUCHI, T.; DE ANDRADE, G. P. Portadores assintomáticos de infecções por *Streptococcus pyogenes* em duas escolas públicas na cidade do Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 3, n. 2, 2003.

- MAHMOOD, MS; ASHRAF, A.; ALI, S.; SIDDIQUE, AB.; ASAD, F.; ABBAS, RZ.; SIDDIQUE, F.; ASLAM, A.; ASLAM, R.; RAFIQUE, A. Retração do extrato da casca de *Punica granatum* L. por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e avaliação da atividade antimicrobiana. **Revista brasileira de biologia**, 83, 2023.
- MAPHETU, N.; UNUOFIN, J. O.; MASUKU, N. P.; OLISAH, C.; LEBELO, S. L. Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review. **Biomed Pharmacother**. Julho, 2022.
- MARTINS, F. W. P.; CASALI, A. K. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos etanólicos de Romã (*Punica granatum* L.) sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 22970-22980, 2019.
- MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Rev. Bras. Farmacogn**, 15 (4), dez. 2005.
- MOREIRA, G. M. B.; MATSUMOTO, L. S.; SILVA, R. M. G.; DOMINGUES, P. F.; MELLO-PEIXOTO, E. C. T. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* Linn. Sobre *Staphylococcus* spp. Isolados de leite bovino. **Animais de Produção Pesq. Vet. Bras.** 34, jul. 2014.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, fevereiro, 2000.
- NASCIMENTO JÚNIOR, B. J.; SANTOS, A. M. T.; SOUZA, A. T.; SANTOS, E. O.; XAVIER, M. R.; MENDES, R. L.; AMORIM, E. L. C. Estudo da ação da Romã (*Punica granatum* L.) na cicatrização de úlceras induzidos por queimadura em dorso de língua de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 423-432, 2016.
- NICOLETTI, M. A. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. **Infarma**, v.19, n. 1/2, p. 32-40, 2007.
- NUNES, P. L.; BANDEIRA, V. A. C. Disponibilidade de informações para o controle de qualidade de fitoterápicos presentes em referências oficiais. **Congresso Internacional em Saúde**. 2019.
- OLIVEIRA, A. S.; RAMOS, R.; FERREIRA, M.; SOARES, L. ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE *Punica granatum* LINN (PUNICACEAE) POR CROMATOGRÁFIA EM CAMADA DELGADA. **Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica**, 2015.
- OLIVEIRA, T. G. M.; SILVA, G. F.; O.; DUARTE, A. C. O. Fitoterápicos utilizados no tratamento de parasitoses no Brasil: uma revisão sistemática. **Revista Scientia Vitae**, v. 13, n. 37, p. 42-59, 2023.
- PARRON, M. C., FRACASSO, J. A. R., DA COSTA, L. T. S., BARBOSA, D. B., GUIOTTI, A. M., de CAMARGO BITTENCOURT, R. A., DOS SANTOS, L. Perfil toxicológico e efeito antioxidante e antiglicante in vitro de um extrato glicólico do resíduo do fruto da *Punica granatum*. **Brazilian Journal of Development**, 2022.

- PATRICIO, K. P.; MINATO, A. C. S.; BROLIO, A. F.; LOPES, M. A.; BARROS, G. R.; MORAES, V.; BARBOSA, G. C. O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, n, 2022.
- PEDROSO, R. S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, 2021.
- PEREIRA, L. M. P.; JUMAN, S.; BEKELE, I.; SEEPERSADSINGH, N.; ADESIYUN, A. A. Achado de bactérias selecionadas em crianças de Trinidad com doença amigdaliana crônica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 74, n. 6, 2008.
- PITREZ, P. M. C.; PITREZ, J. L. B. Infecções agudas das vias aéreas superiores: diagnóstico e tratamento ambulatorial. **Jornal de Pediatria**. v. 79, S77-S86, maio, 2003.
- QABAHA, K. I. Atividades antimicrobianas e de eliminação de radicais livres de cinco plantas medicinais palestinas. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, maio, 2013.
- ROCHA, T. O.; WERKMAN, C.; SANTOS, H. F. S.; OLIVEIRA, W.; RODE, S. M. Os efeitos da *Punica granatum* L. em diferentes concentrações sobre duas linhagens celulares: estudo *in vitro*. **Revista de Odontologia da UNESP**. V. 49, p. e20200005, 2020.
- SANTOS, E. H. B.; BATISTA, F. P. R.; PEREIRA, L. M.; CAMPOS, L. M. A.; CASTRO, M. S.; AZEVÊDO, L. C. Composição físico-química dos frutos da romã (*Punica granatum* L.). **IF Sertão-PE**. 2010.
- SANTOS, G. G. D. Análise físico-química da romã (*punica granatum* l.) in natura oriunda da cidade de Cacaúlândia-RO. **Faculdade de educação e meio ambiente**, 2013.
- SANTOS, J. A.; ACEVEDO, A. F. G.; LACERDA, V. R.; VIEITES, R. L. Caracterização físico-química, nutricional e compostos bioativos de romã. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, e18511222777, 2022.
- SANTOS, J. D. G. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos e caracterização parcial de saponinas obtidas do resíduo de *Agave sisalana* Perrine (SISAL). **Universidade Estadual de Feira de Santana**, 2009.
- SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto – Enfermagem**, v. 13, n. spe, 2004.
- SILVA, J. J. C.; LIMA, M. J. S. Potenciais efeitos de plantas medicinais do Brasil no tratamento de Diabetes mellitus. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 2, p. 7450-7465, 2023.
- TELES, D. G.; COSTA, M. M. Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) e Romã (*Punica granatum* L., puniceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina *in vitro*. **Rev. Bras. plantas med.** 16 (2 supl. 1) • 2014.
- TRINDADE, M. P.; FONSECA, L.; JUIZ, P. J. L. Atividade antimicrobiana da tintura da casca de romã (*Punica granatum*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*: estudo *in vitro*. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**. v. 11, n. 4, 2009.

VASCONCELOS, L. C.; SAMPAIO, F. C.; SAMPAIO, M. C, Pereira M. S.; HIGINO, J. S.; PEIXOTO, M. H.; PEREIRA, M. S.; HIGINO, J. S.; PEIXOTO, M. H. Concentração inibitória mínima de aderência do gel *Punica granatum* Linn (romã) contra *S. mutans*, *S. mitis* e *C. albicans*. **Braz Dent J.** 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n.3, p. 519-528, 2005.

VIEIRA, F. M. J.; FIGUEIREDO, C. R.; SOARES, M. C.; WECKX, L. Y.; SANTOS, O.; MAGALHÃES, G.; ORLANDI, P.; WECKC, L. L. M.; PIGNATARI, S. Prevalência de *Streptococcus pyogenes* em orofaringe de crianças que frequentam creches: estudo comparativo entre diferentes regiões do país. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, 2006.