

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE *Punica granatum* L. (PUNICACEAE)

EDELTRUDES DE OLIVEIRA LIMA<sup>1</sup>; KRISTERSON REINALDO DE LUNA FREIRE<sup>2</sup>; NILMA MARIA PÔRTO DE FARIAS<sup>3</sup>

1. Farmacêutica-bioquímica pela Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, doutora em Ciências Farmacêuticas pela USP, São Paulo. Prof. adjunto de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, CCS - UFPB. - Campus I. Cidade Universitária. Castelo Branco. CEP: 58059-900. João Pessoa - PB, Brasil.
2. Acadêmico do curso de Farmácia na Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB.
3. Acadêmica do curso de Medicina na Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB.

## INTRODUÇÃO

*Punica granatum* L. (Figura I), família Punicaceae, é o nome científico, dado por Lineu, à romanzeira, conhecida como romeira, romanzeira, granado. É um pequeno arbusto, de origem africana, com folhas opostas, alternas ou fasciculadas. Suas flores são axilares, solitárias ou agrupadas, vermelhas vivas. A romã, fruto dessa espécie, é grande, de casca amarela ou vermelha, contendo manchas escuras. O referido arbusto prefere terras úmidas, sendo cultivada, em todo o Brasil, com maior frequência, no Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Braga, 1961; Moreira, 1985; Sangirard, 1991).

As cascas do fruto, do caule, da raiz e as flores são indicadas e usadas para o tratamento de um grande

número de doenças inflamatórias e infecciosas. Estão incluídas lesões e abscessos de pele e mucosas, aftas, amidalites, faringites, estomatite, gengivite, glossite, afecções febris, diarreias de origem bacteriana e parasitária, infecções das vias urinárias, vômitos, escabiose (Claisse, 1989; Caribé e Campos, 1991; Almeida, 1993; Matos, 1994; Longuefosse e Nossin, 1996; Navarro et al., 1996). A planta contém grande teor de taninos entre os fitoconstituintes, alcalóides, punicina, ácido gálico (Moreira, 1985; Batista et al., 1996). Mas as cascas do caule e das raízes contêm os alcalóides pelieterina, isopelieterina e pseudopelieterina (Almeida, 1993; Matos, 1994). Os mesmos possuem propriedades tóxicas para platelmintos, sendo responsáveis pela ação antihelmíntica (Velazquez, 1953).

Figura 1 - *Punica granatum* L. (Punicaceae)



## MATERIAL E MÉTODOS

**Produto testado:** extrato aquoso, nas concentrações de 5000 a 312mg/ml. Foi solubilizado em dimetil-sulfóxido (DMSO), na proporção de 4%.

**Microorganismos:** as cepas testadas foram *Escherichia coli* (LM 51), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *Candida albicans* (FCF 243), *C. tropicalis* (LM 9), *Cryptococcus neoformans* (ICB 59), *Epidermophyton floccosum* (LM 10), *Microsporium canis* (LM 819), *M. gypseum* (LM 8), *Trichophyton mentagrophytes* (LM 6) e *T. rubrum* (LM 104). Estes microrganismos

foram isolados e identificados no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas das Universidades Federais de São Paulo e da Paraíba, sendo mantidos em agar Müller-Hinton e agar Sabouraud dextrose a 4°C.

**Metodologia:** os ensaios foram realizados pelo método de difusão em meio sólido, processo cavidade-placa (Vincent e Vincent, 1944; Mc Ginnis, 1980; Odds, 1989; Mims et al., 1995).

Em placas esterilizadas, foi depositado 1ml de cada microrganismo em suspensão no soro fisiológico (0,85%), padronizado pelo tubo 0,5 da Escala Mc Farland e ajustado para 90% T (530nm), correspondendo a 10<sup>6</sup> UFC. A seguir, foi adicionado 21ml do meio sólido fundido a 50°C. Quando solidificado, foram feitas cavidades de 6x8mm de diâmetro, onde depositou-se 50ml do extrato em suas diversas concentrações.

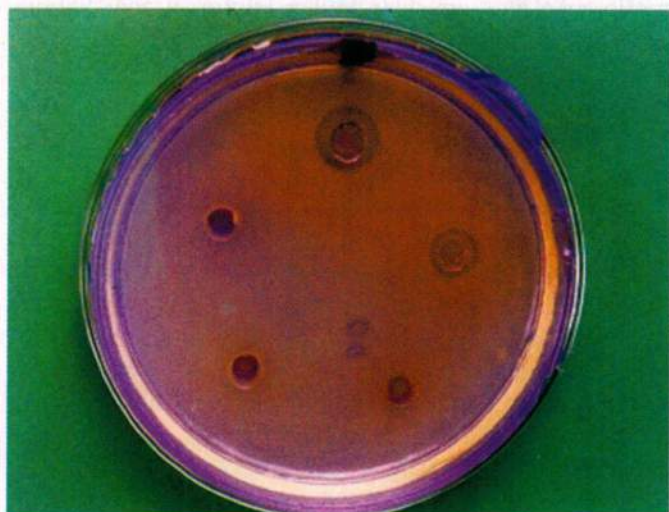
O controle negativo do microrganismo foi feito, semeando-o em meio isento de antimicrobiano, verificando o seu crescimento; e o positivo efetuou-se, por meio das drogas padrões: Cloranfenicol (30µg/ml) para bactérias e Cetoconazol (1000µg/ml) para fungos. Os ensaios foram incubados a 37°C, durante 48 horas (bactérias e leveduras), e a temperatura ambiente por 10-14 dias (fungos filamentosos) – **Tabela 1**.

Os testes foram feitos em duplicata e o resultado final foi determinado pela média dos halos de inibição, sendo considerados aqueles com diâmetro igual ou superior a 10mm.

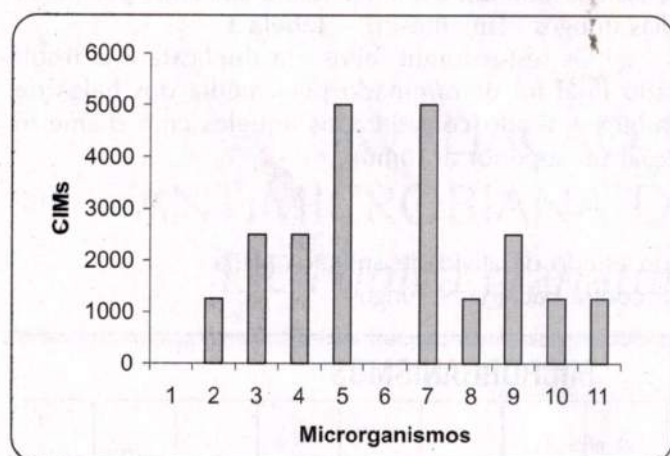
**Tabela 1** – Média dos resultados (em mm) do estudo da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *P. granatum* contra bactérias e fungos

Extrato aquoso (mg/ml)	MICROORGANISMOS											
	<i>Escherichia coli</i> - LM 51	<i>Staphylococcus aureus</i> - ATCC 6538	<i>S. epidermidis</i> - ATCC 12228	<i>Candida albicans</i> - FCF 243	<i>C. tropicalis</i> - LM 9	<i>Cryptococcus neoformans</i> - ICB 59	<i>Epidermophyton floccosum</i> - LM 10	<i>Microsporium canis</i> - LM 819	<i>M. gypseum</i> - LM 8	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> - LM 6	<i>T. rubrum</i> - LM 104	
5000	6	14	13	12	10	7	10	14	12	13	15	
2500	0	12	10	10	8	0	7	12	10	11	13	
1250	0	10	8	7	6	0	0	10	8	10	11	
625	0	8	6	0	0	0	0	8	0	7	9	
312	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Controle do microrganismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Controle com Cloranfenicol (30mg/ml)	16	20	18	-	-	-	-	-	-	-	-	
Controle com Cetoconazol (1000mg/ml)	-	-	-	18	14	15	20	23	21	21	23	

**Figura 2** – Atividade antimicrobiana de extrato aquoso de *P. granatum* contra *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.



**Gráfico 1** - Análise da distribuição das CIMs do extrato aquoso de *P. granatum* frente ao perfil de sensibilidade de bactérias e fungos



**LEGENDA**

Número	Microrganismo
1	<i>Escherichia coli</i> - LM 51
2	<i>Staphylococcus aureus</i> - ATCC 6537
3	<i>S. epidermidis</i> - ATCC 12228
4	<i>Candida albicans</i> - FCF 243
5	<i>C. tropicalis</i> - LM 9
6	<i>Cryptococcus neoformans</i> - ICB 59
7	<i>Epidermophyton floccosum</i> - LM 10
8	<i>Microsporium canis</i> - LM 819
9	<i>M. gypseum</i> - LM 8
10	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> - LM 6

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foi avaliado o extrato aquoso de *P. granatum*, o qual exibiu atividade antibacteriana e antifúngica (Tabela 1 e Gráfico 1), com resultados expressivos, conforme cada grupo de microrganismos. O extrato aquoso de *P. granatum* (5.000µg/ml) produziu inibição sobre o cresci-

mento de nove (81%) cepas das 11 usadas nos ensaios microbiológicos. Os halos formados possuíam uma variabilidade de 10 a 15mm de diâmetro. Mas, até na concentração de 1.250µg/ml, as espécies *S. aureus*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. canis*, apresentaram sensibilidade ao referido produto.

Os nossos resultados podem ser considerados bem mais sensíveis do que aqueles apresentados por Navarro et al., 1996. Estes autores estudaram várias plantas utilizadas na medicina tradicional do México para o tratamento das doenças infecciosas e, entre elas, *P. granatum*; porém o extrato foi testado em concentrações bem mais altas, de 20.000 até 620µg/ml. *S. aureus* foi sensível até concentração de 620µg/ml, enquanto que a concentração inibitória mínima (CIM) do produto sobre as bactérias Gram-negativas, como *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, e *C. albicans* foi 10.000µg/ml. Resultados idênticos, também, foram observados no trabalho de Naqvi et al. (1991), quando estudou a atividade biológica de extratos aquoso e etanólico de *P. granatum* contra microrganismos Gram-positivos e -negativos.

A atividade microbicida de extratos de *P. granatum* certamente está associada à presença do alto teor de taninos que a planta contém, como também de alcalóides, punicina, ácido gálico, entre outros. Tais constituintes químicos estão muito bem relatados na literatura, confirmando-se suas propriedades farmacológicas - como antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, adstringente e antineoplásica - em estudos com plantas consumidas pelas populações para a terapêutica das mais variadas doenças (Claisse, 1989; Chhabra e Uiso, 1990; Handa et al., 1992; Lutete et al., 1994; Jaffer et al., 1998), dentre elas as do sistema gastrointestinal, infecciosas, hemorrágicas, localizadas na pele e mucosas, vias urinárias, neoplásicas, etc.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, E.R. *Plantas Medicinais Brasileiras*. São Paulo: Hemus Editora Ltda., 1993.

BATISTA, L.M.; BARBOSA FILHO, J.M.; ARAÚJO, R.Q.; MORAIS, P.C.; ARAÚJO, J.E.ª; SOARES, M.C. Triagem fitoquímica das plantas medicinais citadas em estudo etnofarmacológico em Campina Grande-PB. In: XIV SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 17-20 de setembro de 1996. Florianópolis, 1996. Resumo: B-048.

BOTSARIS, A.S. *Fitoterapia Chinesa e Plantas Brasileiras*. São Paulo: Ed. Cone, 1995.

BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará*. 4a ed., Natal: Editora Universitária/UFRN, 1961.

CARIBÉ, J.; CAMPOS, J.M. *Plantas que Ajudam o Homem*. São Paulo: Editora Pensamento Ltda., 1991.

CHHABRA, S.C.; UIISO, I.C. A survey of the medicinae plants of Eastern Tanzania for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. *Fitoterapia*, v.61, n.4, p.307-317, 1990.

CLAISSE, R. Drogues de la Pharmacopée traditionnelle de la région de Rabat-Salé II. Dicotylédones. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, v.4, p.315-331, 1989.

HANDA, S.S.; CHAWLA, A.S.; SHARMA, A.K. Plants with

- antiinflammatory activity. *Fitoterapia*, v.63, n.1, p.3-31, 1992.
- JAFFER, H.J.; MAHMOUD, M.J.; JAWAD, A.M.; NAJI, A.; AL-NAIB, A. Phytochemical and biological screening of some Iraq plants. *Fitoterapia*, v.59, n.3, p.229-233, 1998.
- LONGUEFOSSE, J.L.; NOSSIN, E. Medical ethnobotany survey in Martinique. *Journal of Ethnopharmacology*, v.53, p.117-142, 1996.
- LUTETE, T.; KAMBU, K.; NTONDELE, D.; CIMANGA, K.; LUKI, N. Antimicrobial activity of tannins. *Fitoterapia*, v.65, n.3, p.276-278, 1994.
- MATOS, F.J.A. *Farmácias Vivas*. 2a ed., Fortaleza: EUFC, 1994.
- Mc GINNIS, M.R. *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. New York: Academic Press, 1980.
- MIMN, C.A., WILLIAMS, D., PFAIFER, J. *Microbiologia Médica*. São Paulo: Editora Manole, 1995.
- MOREIRA, F. *As Plantas que Curam*. São Paulo: Hemus Editora Ltda., 1985.
- NAQVI, S.H.; KHAN, M.S.Y.; VOHORA, S.B. Anti-bacterial, anti-fungal and anthelmintic investigations on Indian plants. *Fitoterapia*, v.62, n.3, p.221-228, 1991.
- NAVARRO, V.; VILLAREAL, M.L.; ROJAS, G.; LOZOYA, X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, v.53, p.143-147, 1996.
- ODDS, F.C. Antifungal activity of saperconazole (R, 66905) *in vitro*. *J. Antimicrob. Chemother.* v.24, p.533-537, 1989.
- SANGIRARD, J. *Plantas Eróticas*. São Paulo: Editora Nórdica, 1991.
- VELAZQUEZ, B.L. *Terapeutica com sus Fundamentos de Farmacologia Experimental*. 6a ed., Barcelona: Científica Médica, 1953.
- VINCENT, J.G., VINCENT, H.M. Filter paper disc modification of the Oxford cup penicillin determination. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* v.25, p.162-164, 1944.