

Antifungal potential of *Punica granatum* Linn in dentistry

| Potencial antifúngico da *Punica granatum* Linn na odontologia

ABSTRACT | Introduction: *The evolving of infectious processes and the development of pathogen resistance to the existing pharmaceutical preparations have encouraged researchers from around the world to find out new alternatives for the treatment of infections. Punica granatum is considered to be a medicinal plant, which has tannins and polyphenols as major antimicrobial components.*

Objective: *To evaluate and summarize the information available in the scientific literature about the antifungal potential of Punica granatum Linn., as well as its use against Candida infections.* **Methods:** *Searches were carried out in the databases Pubmed and Bireme using the keywords "Candida" and "Punica granatum".* **Results:** *The crude extract and tannins isolated from Punica granatum extract were found to show in vitro and in vivo antimicrobial activity on Candida species.* **Conclusion:** *This medicinal plant can be considered a potential alternative for the treatment of oral infections associated with these infectious agents.*

Keywords | *Punicaceae; Candida albicans; Phytotherapy.*

RESUMO | Introdução: A contínua evolução dos processos infecciosos e o desenvolvimento de resistência dos patógenos às apresentações farmacêuticas existentes têm incentivado estudiosos, em todo o mundo, a pesquisar novas alternativas para o tratamento das infecções. A *Punica granatum* é uma planta medicinal que tem como principais componentes antimicrobianos os taninos e polifenóis. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo avaliar e sumarizar as informações disponíveis na literatura científica sobre o potencial antifúngico da *Punica granatum* Linn. e o seu uso na presença de infecção causada pelo gênero *Candida*. **Método:** Foram realizadas buscas nas bases de dados Pubmed e Bireme utilizando os descritores "candida" and "Punica granatum". **Resultados:** Foi verificado que o extrato bruto e os taninos isolados do extrato da *Punica granatum* apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* sobre espécies do gênero *Candida*. **Conclusão:** Essa planta medicinal pode ser considerada uma alternativa potencial para o tratamento de infecções bucais associadas aos agentes infecciosos do gênero *Candida*.

Palavras-Chave | Punicaceae; *Candida albicans*; Fitoterapia.

¹Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Brasil.

INTRODUÇÃO |

A candidíase é a infecção fúngica mais comum da cavidade bucal e pode se apresentar de diversas formas clínicas, sendo as mais comuns a candidíase pseudomembranosa e a eritematosa. Esta se apresenta com manchas vermelhas e sensação de queimação, e aquela com placas brancas, cremosas, destacáveis e com a presença de hálito fétido. A candidíase é comumente provocada por espécies do gênero *Candida albicans*, embora outras espécies, como *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida stellatoidea* e *Candida pseudotropicalis*, tenham sido identificadas. Esses microrganismos habitam normalmente as superfícies mucosas e convivem como organismos comensais na cavidade oral de pessoas saudáveis, podendo apresentar-se nas formas de leveduras e hifas. A apresentação na forma de hifas é usualmente associada à invasão dos tecidos do hospedeiro e é mais frequente em pacientes imunossuprimidos^{1,2}. As localizações mais frequentes das lesões são a mucosa jugal, a língua, o palato e os lábios³.

Embora já existam vários agentes antifúngicos de uso tópico e sistêmico para o tratamento da candidíase, o desenvolvimento da resistência dos agentes infecciosos aos medicamentos alopáticos, além dos efeitos colaterais e adversos relacionados às drogas existentes, tem incentivado pesquisadores a buscar novas opções de tratamento, sendo a fitoterapia uma delas. Esta se constitui de preparados tradicionais, padronizados, eficazes, com inocuidade e qualidade controladas, elaborados de plantas medicinais isoladas, purificadas e de estrutura molecular determinada⁴, sem a preconização do uso de substâncias quimicamente definidas. Os produtos de origem vegetal têm sido muito estudados devido à baixa toxicidade relacionada ao seu uso na medicina tradicional^{5,6}.

Um número satisfatório de produtos vegetais da Região Nordeste exibe substâncias com atividade antifúngica sobre leveduras do gênero *Candida*, podendo atuar seletivamente sobre esses microrganismos⁷. Queiroz⁸ demonstrou em estudo *in vitro* que os extratos do *Anacardium occidentale*, *Plectranthus amboinicus*, *Punica granatum* e *Pithecellobium avaremotemo* e o óleo essencial da *Lippia sidoides* revelaram boa atividade antifúngica sobre 14 cepas de leveduras do gênero *Candida*.

Um estudo etnobotânico realizado na Região Nordeste do Brasil identificou que a *Punica granatum* Linn é uma das plantas mais utilizadas na medicina tradicional para

tratamento de doenças bucais⁹. Estudos *in vitro* e *in vivo* realizados com a casca do fruto dessa planta sugerem que ela apresenta potente atividade antifúngica^{10,11,12}. A *Punica granatum* é rica em compostos bioativos, sendo a classe predominante de seus fitoquímicos os compostos fenólicos, entre os quais se destacam os taninos¹³. O efeito dos taninos sobre os fungos pode ser avaliado por sua ação sobre as membranas. Eles podem atravessar a parede celular, composta por polissacarídeos diversos e proteínas que se ligam à sua superfície, ocasionando alteração molecular^{12,14}. Por se tratar de uma planta de uso milenar e por seus frutos serem utilizados na dieta ou para tratamento de doenças, assim como pela existência de diversos estudos sobre suas propriedades farmacológicas¹⁵, a romã (*Punica granatum*) foi incluída em diversas pesquisas como objeto de estudo.

Quando analisado o extrato da romã, vários trabalhos mostraram atividade dessa planta na inibição de leveduras do gênero *Candida*^{11,12,16,17,18,19}. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar e sumarizar as informações disponíveis pela literatura científica sobre o potencial antifúngico da *Punica granatum* Linn, bem como seu uso na presença de infecção pelo gênero *Candida*.

MÉTODOS |

Foi realizada uma revisão sistematizada da literatura, buscando-se trabalhos sobre o potencial antifúngico da *Punica granatum* registrados nas bases de dados Pubmed e Bireme. Para a seleção das publicações foram utilizados os seguintes descritores: “*candida*” and “*Punica granatum*”. Para a análise dos trabalhos, como critérios de inclusão, foram selecionados estudos *in vitro* e *in vivo* publicados no período de 1992 a 2012 sobre o potencial antifúngico do extrato bruto ou dos compostos ativos da *Punica granatum*, redigidos em português ou inglês e publicados em periódicos.

Os artigos incluídos na revisão foram apresentados em uma tabela que destaca suas características principais, como: autor, tipo de extrato, estudo, gênero, ano e país onde a pesquisa foi desenvolvida. Na base de dados Bireme, foram encontrados 16 artigos, dos quais dois foram excluídos por se tratar de dissertação e tese. Já na Pubmed, foram encontrados 13 artigos. No total, foram incluídos no estudo 14 artigos, pois cinco artigos repetiram-se nas duas bases de dados.

RESULTADOS |

De acordo com os resultados, os trabalhos que confirmam o potencial antifúngico da *Punica granatum* estão contidos no Quadro 1.

DISCUSSÃO |

Todos os estudos selecionados foram realizados com o fruto da *Punica granatum*. Os frutos contêm altos níveis de diversos fitoquímicos, como polifenóis, incluindo taninos hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos), taninos conden-

Quadro 1 – Relação dos autores que avaliaram a atividade antifúngica da Punica granatum Linn

AUTOR	TIPO DE EXTRATO	ESTUDO	GÊNERO	ANO	LOCAL	PORTAL
Navarro et al.	Extrato metanólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	1996	México	Pubmed/ Bireme
Holetz et al.	Extrato hidroetanólico	<i>In vitro</i>	<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i>	2002	Brasil	Pubmed/ Bireme
Vasconcelos et al.	Extrato hidroalcoólico	<i>In vivo</i>	<i>Candida albicans</i>	2003	Brasil	Pubmed/ Bireme
Duraipandiyar et al.	Extrato metanólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2006	Índia	Pubmed/ Bireme
Vasconcelos et al.	Extrato hidroalcoólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2006	Brasil	Pubmed/ Bireme
Reddy et al.	Frações isoladas de taninos, elagitaninos e ácidos fenólicos	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2007	EUA	Pubmed/ Bireme
Duman et al.	Não informado	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2009	Turquia	Pubmed/ Bireme
Hofling et al.	Extrato de diclorometano e metanólico	<i>In vitro</i>	<i>C.albicans</i> , <i>C.dublinskiensis</i> , <i>C.parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i> , <i>C.guilliermondii</i> , <i>C. utilis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitania</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. rugosa</i> .	2010	Brasil	Pubmed/ Bireme
Pai et al.	Extrato aquoso	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2010	Índia	Pubmed/ Bireme
Ponnusamy et al.	Extrato metanólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2010	Índia	Pubmed/ Bireme
Endo et al.	Extrato hidroalcoólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida parapsilosis</i>	2010	Brasil	Pubmed/ Bireme
Abdollahzadeh et al.	Extrato metanólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i>	2011	Irã	Pubmed/ Bireme
Hayouni et al.	Extrato hidroalcoólico	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i> , <i>C. glabrata</i>	2011	Tunísia	Pubmed/ Bireme
Almeida et al.	Tintura	<i>In vitro</i>	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida tropicalis</i>	2012	Brasil	Bireme

sáveis, antocianinas e flavonoides²⁰. Estudos *in vitro* realizados com extrato bruto ou com taninos isolados identificaram atividades biológicas dos fitoconstituintes. Entre elas, destaca-se a ação bactericida e fungicida do extrato bruto da romã ou de seus compostos isolados²¹.

A atividade antimicrobiana do extrato bruto ou de compostos isolados da *Punica granatum* foi identificada sobre cepas do gênero *Candida* nos estudos avaliados^{22,23,24,25,26,27}. A atividade antimicrobiana dessa planta medicinal está associada à ação dos taninos. Entre as hipóteses sobre os mecanismos da ação antimicrobiana destes fitoconstituintes, destacam-se a inibição de enzimas, a modificação do metabolismo celular pela atuação sobre as membranas e a complexação com íons metálicos com consequente diminuição da sua disponibilidade para o metabolismo dos microrganismos²⁸. O mecanismo de ação dos taninos sobre os microrganismos do gênero *Candida* é desconhecido^{8,11}, porém o estudo *in vitro* identificou através da microscopia eletrônica de varredura e transmissão que as leveduras têm sua morfologia alterada quando expostas à ação do extrato bruto ou de elagitaninos isolados da casca do fruto da *Punica granatum*. Os pesquisadores observaram que as células tratadas apresentavam uma parede celular espessa, com alterações no espaço entre a parede celular e a membrana plasmática, presença de vacúolos e uma redução do conteúdo citoplasmático²⁹.

Foi identificado um estudo¹¹ realizado em seres humanos em que se investigou o potencial terapêutico do gel da *Punica granatum* Linn. (romã) sobre as bactérias e leveduras. Como resultado, este estudo apresentou atividade inibitória sobre a adesão de diferentes cepas de bactérias e leveduras comumente encontradas na cavidade oral. Sendo assim, o gel da *Punica granatum* Linn pode ser usado no controle de bactérias e leveduras responsáveis por infecções orais, tais como cárie, doença periodontal e estomatite.

Entretanto, verificou-se a existência de apenas esse estudo clínico, sendo o restante deles laboratoriais, de forma que mais estudos *in vivo* devem ser realizados para confirmar o potencial antifúngico da *Punica granatum*. Embora os estudos laboratoriais tenham grande contribuição, eles possuem baixo potencial de gerar evidência científica, já que sua principal limitação refere-se a extrapolação de resultados para seres humanos³⁰.

Dos 14 trabalhos identificados, seis foram realizados no Brasil. Provavelmente, o interesse de pesquisadores bra-

sileiros em realizar estudos com a *Punica granatum* ocorre devido ao seu intenso uso na medicina tradicional para tratamento de infecções de garganta, febre e tosse e processos inflamatórios^{31,32}, por ser uma planta cultivada no país e por seus frutos serem facilmente encontrados em feiras livres e utilizados na dieta alimentar.

Visto que o Brasil apresenta uma grande diversidade na sua flora, o uso de plantas na medicina popular é amplamente observado. Dessa forma, espera-se que os pesquisadores brasileiros tenham amplo conhecimento sobre as propriedades farmacológicas de plantas medicinais que contém grandes quantidades de agentes ativos, podendo ser utilizadas para o tratamento de doenças crônicas e de origem infecciosa³³. As pesquisas analisadas neste estudo corroboram a crença popular que utiliza a *Punica granatum* para o tratamento de infecções.

CONCLUSÃO |

O extrato da *Punica granatum* Linn apresenta atividade antimicrobiana comprovada por estudos *in vitro* e *in vivo* sobre diversas espécies do gênero *Candida*, devido à ação dos seus fitoconstituintes, principalmente os taninos. Dessa forma, essa planta medicinal pode ser considerada uma alternativa para tratamento das infecções bucais associadas a microrganismos do gênero *Candida*.

REFERÊNCIAS |

1. Farah CS, Lynch N, McCullough MJ. Oral fungal infections: an update for the general practitioner. Aust Dent J. 2011; 55(Suppl):48-4.
2. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, et al. Candida-associated denture stomatitis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2011; 16(2):139-3.
3. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Patologia oral e maxilofacial. 3 ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2009.
4. Pereira MS, Pereira JV, Albuquerque AC, Araújo CR, Diniz DN, Macêdo-Costa MR, et al. Plantas medicinais na odontologia: potencial antimicrobiano. João Pessoa: Universitária/UFPB; 2009.

5. Höfling J, Anibal PC, Obando-Pereda GA, Peixoto IAT, Furletti VF, Foglio M, et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Braz J Biol*. 2010; 70(4):1065-8.
6. Cavaleiro C, Pinto E, Gonçalves MJ, Salgueiro L. Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains. *J Appl Microbiol*. 2006; 100(1):1333-8.
7. Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Rev Bras Farmacogn*. 2005; 15(1):316-20.
8. Queiroz MVF. Atividade antifúngica *in vitro* de plantas medicinais frente a leveduras do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal [dissertação]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 1998.
9. Santos EB, Dantas GS, Santos HB, Diniz MFF, Melo SFC. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. *Rev Bras Farmacogn*. 2009; 19(1b):321-4.
10. Pereira JV, Pereira MSV, Sampaio FC, Sampaio MCC, Alves PM, Araújo CRF et al. Efeito antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato da *Punica granatum* Linn. sobre microorganismos do biofilme dental. *Braz J Farmacogn*. 2006; 16(1):88-3.
11. Vasconcelos LCS, Sampaio MCC, Sampaio FC, Higino JS. Uso de *Punica granatum* Linn como um agente antifúngico contra candidose associada à dentadura estomatite. *Mycoses*. 2003; 46(1):192-6.
12. Vasconcelos LCS, Sampaio FC, Sampaio MCC, Pereira MSV, Higino JS, Peixoto, MHP. Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. *Braz Dent J*. 2006; 17(3):223-6.
13. Fischer UA, Carle R, Kammerer DR. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS. *Food Chem*. 2011; 127(2):807-21.
14. Cordeiro CHG, Sacramento LVS, Corrêa MA, Pizzolitto AC, Bauab TM. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. *Rev Bras Ciênc Farm*. 2006; 42(3):395-403.
15. Viuda-Martos M, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2010; 9(6):635-54.
16. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DA, Nakamura CV, Filho BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97(7):1027-31.
17. Duman AD, Ozgen M, Dayisoylu KS, Erbil N, Durgac C. Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules*. 2009; 14(5):1808-17.
18. Duraipandiyar V, Ayyanar M, Ignacimuthu S. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complement Altern Med*. 2006; 6(1):1-7.
19. Navarro V, Villarreal ML, Rojas G, Lozoya X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *J Ethnopharmacol*. 1996; 53(3):143-7.
20. Seeram NP, Adams LS, Henning SM, Niu Y, Zhang Y, Nair MG, et al. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J Nutr Biochem*. 2005; 16(6):360-7.
21. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 1991; 30(12):3875-83.
22. Reddy MK, Gupta SK, Jacob MR, Khan SI, Ferreira D. Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta Med*. 2007; 73(1):461-7.
23. Pai MB, Prashant GM, Murlikrishna KS, Shivakumar KM, Chandu GN. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* e *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans* : na *in vitro* study. *Indian J Dent Res*. 2010; 21(3):334-6.

24. Ponnusamy K, Petchiammal C, Mohankumar R, Hopper W. In vitro antifungal activity of indirubin isolated from a South Indian ethnomedicinal plant *Wrightia tinctoria*. R. Br. J Ethnopharmacol. 2010; 132(1):349-54.
25. Abdollahzadeh SH, Mashouf RY, MortazavI H, Moghaddam MH, Roozbahani N, Vahedi M. Antibacterial and antifungal activities of *Punica granatum* peel extracts against oral pathogens. J Dent (Tehran). 2011; 8(1):1-6.
26. Hayouni EA, Miled K, Boubaker S, Bellasfar Z, Abedrabba M, Iwaski H, et al. Hydroalcoholic extract based ointment from *Punica granatum* L. peels with enhanced in vivo healing potential on dermal wounds. Phytomedicine. 2011; 18(11):976-84.
27. Almeida LFD, Cavalcanti, YW, Lira Júnior R, Lima EO, Castro RD. Efeito antifúngico de tinturas de própolis e romã sobre espécies de *Candida*. Revista Cubana de Estomatologia. 2012; 26(2):99-106.
28. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4 ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora Universitária / UFRGS / Ed. da UFSC; 2002.
29. Endo EH, Cortez DA, Ueda-Nakamura T, Nakamura C, Dias Filho BP. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. Res Microbiol. 2010; 161(7):534-40.
30. Primo BT, Grazziotin-Soares R, Bertuzzi D, Claudy MP, Hernandez PAG, Fontanella VRC. Produção científica da ULBRA: análise do número e do delineamento das pesquisas publicadas nos suplementos da Brazilian Oral Research (SBPqO). Stomatos. 2010; 16(31):69-76.
31. Machado TB, Leal ICR, Amaral ACF, Santos KRN, Silva MG, Kuster RM. Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* Fruits. J Braz Chem Soc. 2002; 13(5):606-10.
32. Menezes SM, Cordeiro LN, Viana GS. *Punica granatum* (pomegranate) extract is active against dental plaque. J Herb Pharmacother. 2006; 6(2):79-82.
33. Duraipandiyar V, Ayyanar M, Ignacimuthu S. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. BMC Complement Altern Med. 2006; 6(35):1-7.

Correspondência para/ Reprint request to:

Manuela Gouvêa Campêlo dos Santos

R. Baraúnas, 351, Bodocongó,
Campina Grande – Paraíba, Brasil
Cep.: 58.429-500.

Universidade Estadual da Paraíba,
Departamento de Odontologia, Campus I
E-mail: manuelagouvea@hotmail.com

Recebido em: 15-12-2012

Aceito em: 6-5-2013