

Elaboração de um fitoterápico antibiótico a partir da casca de *Anadenanthera macrocarpa*

Laís Azevedo RODRIGUES¹, lala-rodrigues@hotmail.com; Letícia Silva MAGALHÃES¹; Cássia Guerra PUSSENTE¹; Juliana Maria Rocha e Silva CRESPO², Adriana de Freitas SOARES³

1. Graduada em Farmácia pela Faculdade de Minas (FAMINAS), Muriaé, MG.
2. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa (MG); professora na FAMINAS, Muriaé (MG).
3. Mestre em Ensino de Ciências da Saúde pelo Centro Universitário Plínio Leite (UNIPLI), Niterói, RJ; professora na FAMINAS, Muriaé (MG).

RESUMO: O objetivo deste estudo foi elaborar um colutório oral a partir do extrato hidroalcolólico da casca de *Anadenanthera macrocarpa*. Os resultados obtidos demonstram a presença de metabólitos ativos para produção do efeito farmacológico, a segurança microbiológica do produto acabado e a eficácia do mesmo perante as estirpes testadas. Justifica-se a formulação desenvolvida para o efeito terapêutico desejado e garantia da qualidade, porém conclui-se que, para comercialização, há a necessidade de testes complementares.

Palavras-chave: fitoterápicos, colutórios, extrato de *Anadenanthera macrocarpa*, potencial antimicrobiano, triagem fitoquímica.

ABSTRACT: Preparation of a herbal antibiotic from the *Anadenanthera macrocarpa* peel. The objective of this study was to develop an oral

mouthwash from the hydroalcoholic extract of the peel of *Anadenanthera macrocarpa*. The results show the presence of active metabolites for the production of the pharmacological effect, the microbiological safety of the finished product and the effectiveness against the same strains tested. It justifies the formulation developed for the desired therapeutic effect and quality assurance, but it seems that, for marketing, there is the need for further tests.

Keywords: herbal, mouthwashes, *Anadenanthera macrocarpa*, antimicrobial potential, phytochemical screening.

Introdução

Medicamentos elaborados a partir da matéria-prima do vegetal que possui propriedades profiláticas e curativas recebem a denominação de fitoterápicos. Eles necessitam de qualidade assegurada, eficácia clínica e segurança para uso, comprovados por meio de levantamentos etnofarmacológicos, documentação tecnocientífica em publicações ou ensaios clínicos para que possam ser comercializados (BRASIL, 2004).

Entre as diversas atribuições farmacológicas existentes em plantas medicinais, a atividade antimicrobiana é uma das mais pesquisadas devido aos problemas do uso irracional de antibióticos tradicionais, causando estirpes resistentes aos mesmos (VOLPATO, 2005).

Alguns estudos vêm sendo elaborados para descobrimento de agentes antimicrobianos a partir de extratos de plantas para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos naturais (OSTROSKY et al., 2008). Um dos extratos que apresenta atividade contra microorganismos comprovado em estudos de Dantas et al. (2010) e Nunes (2011) é o da planta *Anadenanthera macrocarpa*, conhecida popularmente como angico-vermelho.

Na medicina popular, o extrato de *Anadenanthera macrocarpa* é utilizado através da preparação da casca para produção de soluções orais, como xaropes, usados para o tratamento de inflamações e doenças como coqueluche e bronquite, ambas causadas por bactérias que colonizam o trato respiratório (MATOS, 1997).

Vários extratos vêm sendo testados na forma farmacêutica colutório para bochecho, e foi a partir de estudos científicos, iniciados graças ao

conhecimento popular, que pode-se comprovar a eficácia clínica do uso de colutórios, que são soluções de aplicação local na cavidade bucal e na porção superior da laringe que contêm frequentemente substâncias antissépticas e que não devem ser engolidas (DESTRUIT, 1998; BARBOSA, 2011; MARINHO; ARAÚJO, 2007; VINAGRE et al., 2011).

A *Anadenanthera macrocarpa* é um dos componentes fitoterápicos de uma solução farmacológica comercial, Elixir Sanativo®, que é utilizado no Brasil no combate a patologias bucais causadas por microorganismos, comprovando sua atividade antimicrobiana como solução oral (SOUZA, 2010).

A busca por novos fitoterápicos capazes de erradicar microorganismos causadores de patologias orais está em ascensão, e os colutórios fitoterápicos conferem benefícios à saúde bucal por apresentarem menor toxicidade, sendo menos agressivos ao organismo e tendo sua ação potencializada, pois um mesmo fitofármaco pode possuir princípios ativos com atribuições diferentes (BARBOSA, 2011; VINAGRE et al., 2011).

O objetivo deste trabalho é a obtenção de um fitoterápico antibiótico elaborado a partir do extrato da casca de *Anadenanthera macrocarpa*.

I – Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido nos laboratórios da Faculdade de Minas (FAMINAS), em Muriaé (MG). As atividades realizadas foram: obtenção do extrato hidroalcoólico, triagem fitoquímica, avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana do extrato e do produto frente às estirpes padronizadas das bactérias *Escherichia coli* ATCC 11229 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, através do teste de inibição em ágar, análise estatística e testes de controle de qualidade microbiológico do produto.

1.1 – Obtenção do extrato

Foi utilizada a casca de *Anadenanthera macrocarpa* colhida no município de Muriaé (MG) para obtenção do extrato hidroalcoólico. A técnica foi realizada de acordo com o “Processo B” para a obtenção de extratos fluidos da Farmacopéia Brasileira, 5ª edição, através da maceração. A casca, reduzida em pequenos pedaços, foi mantida em contato com o líquido extrator (solução hidroalcoólica a 40%) por 48 horas. Esse contato foi realizado em recipiente fechado e, ao final do processo, o extrato foi separado do resíduo por meio de filtração (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010; ISAAC et al., 2008).

1.2 – Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica foi realizada com o propósito de detectar os compostos químicos responsáveis pelo efeito terapêutico. Foram preparados dois extratos: um alcoólico e o outro aquoso; ambos com 10 g de casca para 100 ml da solução de álcool e de água, sendo colocados sob maceração durante 7 dias em recipiente de vidro fechado. Após a maceração, filtrou-se com gases e depois papel filtro. O extrato e o filtrado foram evaporados e os resíduos contidos no fundo dos recipientes foram utilizados para a análise (SIMÕES et al., 2004).

Os resíduos dos extratos, alcoólico e aquoso, foram submetidos a uma investigação dos constituintes químicos, por classes, de acordo com metodologia de análise farmacognóstica descrita por Simões et al. (2004). As classes de metabólitos secundários testados foram: saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, proteínas e aminoácidos, polissacarídeos, depsídeos e depsidonas, derivados da cumarina, esteroides e triterpenoides, fenois e taninos, alcaloides e glicosídeos cardíacos.

1.3 – Obtenção do produto

A formulação foi desenvolvida segundo farmacotécnica descrita na *Farmacopéia brasileira*, 5ª edição, e *Handbook of pharmaceutical manufacturing formulation – liquid products*, volume 3 e 5.

Primeiramente foram realizadas três diluições do extrato hidroalcoólico de *Anadenanthera macrocarpa*, para 5, 10 e 15%. Logo após, pesou-se o edulcorante (sorbitol a 30%), e um mix de conservantes (metilparabeno a 0,15%, propilparabeno a 0,05% e benzoato de sódio a 0,25%), a solução diluída do ativo em 5% (extrato hidroalcoólico de *Anadenanthera macrocarpa*), e a água qsp para 100 ml. Solubilizou-se o benzoato de sódio no edulcorante, sorbitol, e os parabenos foram solubilizados no ativo de concentração 5%, acrescentou-se a solução de sorbitol com benzoato de sódio, e completou-se com água até o volume de 100 ml. Este procedimento foi realizado na obtenção do produto também nas concentrações de 10 e 15 % do ingrediente ativo (NIAZI, 2004).

1.4 – Controle de qualidade microbiológico do produto

O controle de qualidade microbiológico foi realizado segundo diretrizes descritas na RDC nº 48, de 16 de março de 2004 (BRASIL, 2004), que dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos e a RE nº 899, de 29 (BRASIL, 2003) de maio de 2003, que dispõe sobre controle de qualidade

de extratos vegetais e fitoterápicos, seguindo a metodologia determinada pela Farmacopéia Brasileira, 5ª edição.

As análises avaliaram a contagem de bactérias mesófilas totais e fungos. O método empregado foi a contagem em placas de semeadura por profundidade.

Para determinar a contagem de fungos e bactérias mesófilas totais, foram realizadas em triplicata nas diluições 1:100, 1:1000 e 1:10000 do produto em caldo tampão fosfato de sódio com pH 7,2 e transferido 1 ml de cada diluição em placa de petri. Depois de fundidos e resfriados a 45 °C, cerca de 20 ml dos meios ágar caseína-soja estéril e ágar Saborraund foram vertidos cada um em uma placa contendo as diluições.

A mistura foi homogeneizada com movimentos em forma de "8". Quando os meios solidificaram, as placas com ágar Saborraund foram colocadas em estufa a 35 °C por 5 dias para contagem de bactérias e as placas contendo ágar caseína-soja em temperatura ambiente, também por 5 dias, para contagem de fungos. Os resultados foram observados e registrados para a realização dos cálculos necessários para a quantificação dos microorganismos. Este procedimento foi realizado apenas no produto com o extrato de *Anadenanthera macrocarpa* a 5%, sem adição do mix de conservantes para não alterar o resultado.

Para diagnóstico presuntivo, utilizou-se o caldo lactosado e o caldo caseína e 1 ml da amostra foi transferido para os meios determinados e incubados por 24 h a 48 h em estufa. Os resultados foram observados e anotados.

1.5 – Avaliação da atividade antimicrobiana

A avaliação microbiológica foi feita *in vitro* pela técnica da inibição da multiplicação microbiana por difusão em Ágar, de acordo com a metodologia descrita pelo Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2003), com modificações. O extrato e o produto foram testados contra as bactérias Gram-positivas *S. aureus* ATCC 6538 e Gram-negativa *E. coli* ATCC 11229.

O produto foi testado sem a presença do mix de conservantes para que não interferisse na pesquisa, uma vez que poderiam ocorrer resultados falso-positivos.

As bactérias foram ativadas por duas vezes consecutivas em caldo BHI e incubadas a 37 °C por 18 a 24 h. Para obter colônias isoladas, foram feitas estrias em placas de Petri contendo Ágar-Padrão para Contagem (PCA) e também incubadas por 18 a 24h (CRESPO, 2012).

A padronização dos microorganismos foi realizada através da turvação de 0,5% da escala de McFarland em solução fisiológica correspondente a

uma concentração de aproximadamente 10^8 UFC/mL (FERNANDES, 2010; CRESPO, 2012).

Após inoculação das bactérias nas placas com meio ágar Müller-Hinton, foram perfurados poços no ágar, utilizando-se moldes de plástico estéreis. Nestes, foram inoculados 30 μ L do extrato puro e do produto contendo o extrato em concentrações de 5, 10 e 15%.

Após 24 h de incubação a 37 °C, os halos de inibição formados foram medidos em centímetros, utilizando-se uma régua milimetrada. O experimento foi realizado com três repetições, em triplicata. Utilizou-se como controle positivo uma solução de triclosan a 1 % em propilenoglicol (CRESPO, 2012).

1.6 – Análise estatística

Os testes foram realizados seguindo a metodologia de Neto (1977), utilizando o software Matlab, versão 2009.

A fim de determinar a eficácia do extrato e do produto em 5, 10 e 15%, foram feitos os testes de variância, que permitem determinar a diferença estatística existente entre elas por meio do Teste F. Após comprovadas as diferenças, suas magnitudes foram avaliadas através do teste de comparações múltiplas, Teste de Tukey com nível de 5% de probabilidade.

Os resultados foram apresentados na forma de tabela estruturada (Tabela 4), com as comparações entre as médias de tamanho do halo (cm) da bactéria *S. aureus*. Posteriormente, foi elaborado o Gráfico 1, que compara os valores das médias e variâncias de cada amostra em centímetros para tornar mais evidente a escolha da concentração de uso.

II – Resultados e discussão

2.1 – Triagem fitoquímica

Os metabólitos secundários, mesmo estando presentes em baixas concentrações nas plantas, são de grande importância na área farmacológica, uma vez que possuem efeitos biológicos sobre várias patologias que acometem os seres humanos, sendo importantes fontes de pesquisa para determinação da farmacodinâmica na produção de fitofármacos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que os resultados do teste nos extratos aquoso e alcóolico apresentaram ausência de açúcares redutores, de proteínas e aminoácidos, de polissacarídeos, de esteroides e triterpenoides, de fenóis e de glicosídeos cardíacos. Os resultados positivos

TABELA 1 Resultados da triagem fitoquímica

Grupos	Resultado extrato aquoso	Resultado extrato alcoólico
Saponinas	Presente: camada estável de espuma	Presente: camada estável de espuma
Ácidos orgânicos	Presente: descoloração do reativo	Presente: descoloração do reativo
Açúcares redutores	Ausente	Ausente
Proteínas e aminoácidos	Ausente	Ausente
Polissacarídeos	Ausente	Ausente
Depsídeos e depsidonas	Presente: aparecimento de coloração verde-azulada	Ausente
Cumarina	Ausente	Presente: fluorescência azul na parte exposta da mancha
Esteroides e triterpenoides	Ausente	Ausente
Fenóis	Ausente	Ausente
Taninos	Presente: precipitado escuro	Presente: precipitado escuro
Alcaloides	Ausente	Presente: formação de precipitados para cada reativo
Glicosídeos cardíacos	Ausente	Ausente

em ambos os extratos ocorreram nas classes de metabólitos secundários saponinas, ácidos orgânicos e taninos. Já a presença de cumarinas e alcaloides foi detectada apenas no extrato alcoólico e os depsídeos e depsídonas apenas presentes no extrato aquoso.

De acordo com estudos realizados por Santos (2010), o extrato alcoólico de *Anadenanthera macrocarpa* apresentou alcaloides e taninos, assim como o presente estudo que também verificou a presença de alcaloides no extrato alcoólico, e tanino em ambos os extratos (alcoólico e aquoso). Verificou também a ausência de esteróides e, em controvérsia com a pesquisa, o estudo não encontrou saponinas no extrato. Estas possuem propriedades antissépticas depurativas (SCHENKEL et al., 2007).

De acordo com estudos realizados por Lima et al. (2006), a triagem fitoquímica feita no produto acabado revelou a presença majoritária de taninos, que provavelmente foi conferida devido à presença do extrato de *Anadenanthera macrocarpa* no produto.

A presença de taninos fica evidenciada uma vez que as propriedades terapêuticas de *Anadenanthera macrocarpa* advém do metabólito presente em sua casca como foi determinado em estudos realizados por Souza (2010), Trugillho et al. (1997) e Monteiro et al. (2005).

De acordo com estudos de Silva (2011), a casca é amarga, adstringente e com aproximadamente 32% de tanino. Esta adstringência sucede do metabólito secundário quando este entra em contato com tecidos vivos, formando uma reação com proteínas da própria cavidade oral, reduzindo inflamações causadas por patógenos (TRUGILLHO et al., 1997). O tanino também tem alto poder de reparo justificado pela precipitação de proteínas na área lesada, que leva a formação de uma camada protetora que reveste o tecido, permitindo sua regeneração (HEJMEN et al., 1997; PANIZZA et al., 1988).

2.2 – Controle de qualidade microbiológico do produto

O controle de qualidade para extratos vegetais e fitoterápicos é de grande relevância para a comercialização do mesmo, uma vez que são produtos com finalidade para tratamento de doenças e por isso devem ter sua eficácia e segurança comprovadas (IHA et al., 2008).

O controle microbiológico pode comprovar a existência de contaminação por patógenos prejudiciais, colocando em risco a saúde do indivíduo que o utiliza (ZARONI et al., 2004; SOUZA; MACIEL, 2010).

No presente estudo, pode-se observar que não houve contaminação por bactérias ou fungos acima do limite permitido, e os patógenos pesquisados não foram encontrados na amostra, como demonstra a Tabela 2.

TABELA 2 Resultado da análise microbiológica do produto

Microorganismos testados	Número de microorganismos (UFC/ml)
Bactérias mesófilas totais	0,33 x 10 ¹
Fungos	0,336 x 10 ¹
<i>S.aureus</i>	Ausente
<i>E.Coli</i>	Ausente
<i>Pseudomonas</i>	Ausente
<i>Salmonellas</i>	Ausente

De acordo com o que preconiza a Organização Mundial da Saúde os limites para fitoterápicos são 10^5 bactérias aeróbicas/g; 10^3 fungos filamentosos e leveduras/g, *E.coli* 10/g UFC; outras enterobactérias 10^3 /g e ausência de *Salmonella*, *Shigella* e *Clostrídios* em 1g para este tipo de produto (WHO, 2011).

Desta forma, o produto é apto para consumo, uma vez que apresentou resultados abaixo do estabelecido para todos os microorganismos testados.

Ao elaborar fitoterápicos, que é um produto considerado não-estéril, a necessidade do teste microbiológico é evidente, pois a presença de patógenos nas formulações pode significar grande potencial de risco no agravamento de quadros clínicos de infecções, podendo ocorrer também mudanças de estabilidade como cor, odor e sabor (OHARA; SAITO, 1994).

É importante salientar que mesmo depois do registro para produção industrial, é necessária a repetição dos testes para comprovar os resultados encontrados no lote piloto; desta forma evitar-se-á problemas de contaminação do produto final causados por erros na elaboração farmacotécnica do mesmo (CRESPO, 2012; SANTOS; OLIVEIRA; TOMASSINI, 1995).

2.3 – Avaliação da atividade antimicrobiana

O teste da avaliação de potencial microbiológico do extrato e do produto mostrou que a atividade de inibição de ambos foi efetiva apenas para estirpes de *S. aureus*, não mostrando nenhuma atividade para *E. coli*, o que demonstra que a eficiência do potencial terapêutico de *Anadenanthera macrocarpa* ocorre apenas para bactérias do gênero gram-positivas.

Segundo estudos de Rocha (2012), os halos de inibição do extrato de angico foram eficazes também apenas para *S. aureus*, com zona de medição de 8,3 mm, não obtendo nenhum resultado frente à *E. coli*.

Em outro estudo de Souza (2010) que avaliou a atividade antimicrobiana do extrato de *Anadenanthera macrocarpa* presente no fármaco Elixir Sanativo®, comercializado no Brasil para tratamento de patologias orais contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, também obteve-se resultados de inibição melhores para bactérias gram-positivas, justificando a pouca atividade para gram-negativas, devido a diferença na constituição química da parede celular dos grupos, porém se desconhece o mecanismo de atuação do extrato em ambos os gêneros.

A atividade antimicrobiana do colutório foi comprovada pela formação de halos em todas as concentrações testadas, como demonstram as Figuras 1, 2 e 3. O produto fitoterápico, como já dito anteriormente, possui atividade adstringente e regenerativa devido ao metabólito secundário contido na casca



FIGURA 1 Imagem do halo de inibição contra *S. aureus* do colutório a 5%

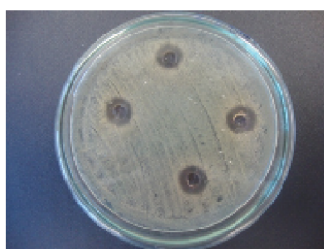


FIGURA 2 Imagem do halo de inibição contra *S. aureus* do colutório a 10%



FIGURA 3 Imagem do halo de inibição contra *S. aureus* do colutório a 15%

de *Anadenanthera macrocarpa*, comprovado por testes farmacognósticos. De acordo com Iaria (1981), cerca de 4 a 64% dos indivíduos são portadores assintomáticos de infecções na garganta causados por *S. aureus*, enfatizando e justificando a escolha pela forma farmacêutica oral, colutório, no presente estudo.

De acordo com as análises de variância empregadas (Tabela 3 e 4), pode-se observar que, entre os produtos, quando comparados, não ocorreram diferenças estatísticas entre o colutório a 15 % e 10 %, como também não houve entre o colutório a 10 % e 5 %. Dessa forma, conclui-se que a melhor escolha para uso seria o produto com concentração a 10 %, pois este possui o mesmo efeito farmacológico que 15 e 5 %.

Quanto ao extrato puro de *Anadenanthera macrocarpa*, sua eficiência contra a estirpe de *S. aureus* foi comprovada, pois houve a formação do halo de inibição, como mostra a Figura 4, com média de 2,17 cm.

De acordo com estudos de Dantas et al. (2010), que avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima de extratos hidroalcoólicos de *Anadenanthera macrocarpa* frente a cepa de *Staphylococcus aureus*, sua eficácia ocorreu em todas as estirpes analisadas e o maior halo obtido foi de 25 mm, equivalente a 2.5 cm, e o menor, medindo 19 mm, 1.9 cm de diâmetro, o que demonstra que os resultados obtidos no presente estudos se assemelham.

A eficácia de *Anadenanthera macrocarpa* quanto à inibição de *S. aureus* também foi comprovada por Nunes (2011), que encontrou halos de 8 a 18 mm (0,8 e 1,8 cm). A diferença de tamanho pode ser justificada pelo fato de o pesquisador ter utilizado o extrato diluído a 25%.

Ao analisar a atividade do colutório, observa-se que, em concentração reduzida do extrato, os halos ficam menores, porém ainda apresentam ação inibitória.

Dantas et al. (2010) e Nunes (2011) comprovaram que, conforme reduzida a concentração do princípio ativo do produto, menor serão os halos de inibição formados, devido às diluições da substância ativa. Porém, mesmo em concentrações de 1,56% é observado potencial antimicrobiano. Este potencial não advém da presença do álcool etílico na formulação, apesar do mesmo ser conhecido como agente bactericida.

III – Considerações finais

A partir dos testes realizados, é possível comprovar a segurança microbiológica e a eficácia do produto elaborado, uma vez que o mesmo possui atividade antimicrobiana, é isento de contaminantes microbiológicos prejudiciais à saúde, e apresenta em seu princípio ativo o metabólito secundário

TABELA 3 Análise de variância para a variável tamanho do halo (em cm) de *Staphylococcus aureus* após contato com extrato e produtos, significativo pelo teste F

Causas de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F calculado
Tratamentos	4	26.5469	6.6367	94.8100
Resíduos	40	2.8007	0.0700	
Total	44	29.3476		

TABELA 4 Comparações das médias de tamanho do halo (em cm) da bactéria *S. aureus* do padrão de irgasan 1%, extrato de *Anadenanthera macrocarpa* e o produto em diferentes concentrações

Tratamento	Médias
Produto a 15%	1.3370 A
Produto a 10%	1.1852 AB
Produto a 5%	0.9000 B

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com nível de probabilidade maior que 0,05

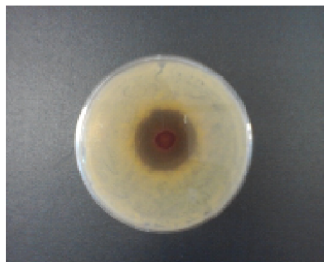


FIGURA 4 Imagem do halo de inibição contra *S. aureus* do extrato de *Anadenanthera macrocarpa*

responsável pelo seu efeito farmacológico. Apesar disto, para produção industrial, há a necessidade da realização de testes complementares: controle de qualidade físico-químico, testes de estabilidade do produto, testes com outras estirpes de bactérias, teste para avaliação do potencial anti-inflamatório e testes clínicos “in vivo” com voluntários, para que este se torne apto para consumo.

Referências

BARBOSA, D. N. **Análise clínica do efeito de fitoterápico na redução do biofilme dental e sangramento gengival na doença periodontal.** Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Estadual da Paraíba, Pró-reitoria e Pós-graduação e Pesquisa, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RDC Nº 48, de 16 de março de 2004.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. DOU (Diário Oficial da União) de 18 de março de 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RE nº 899, de 29 de maio de 2003.** Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” DOU (Diário Oficial da União) de 02 de junho de 2003.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão:** norma aprovada – oitava edição, M2 – A8, v. 23, n. 1, 2003.

CRESPO, J. M. R. S. **Aplicação do extrato da *Allamandacathartica L.*, no desenvolvimento de formulação fitocosmética, para anti-sepsia das mãos de manipuladores de alimentos.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa, 2012.

DANTAS, J. P. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólico de angico sobre estirpes de *Staphylococcus aureus*. **RBAC**, v. 42, n. 1, p. 33-37, 2010.

DESTRUIT, A. B. C. B. **Noções básicas de farmacotécnica.** 4. ed. São Paulo: Senac, 1998.

FERNANDES, P. E. **Novo método de síntese de nanopartículas de prata e avaliação de seu efeito antimicrobiano.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa, 2010.

HEJMEN, F. H. et al. Cross-linking of dermal sheep collagen with tannic acid. **Biomaterials**, v. 18, n. 10, p. 749-754, 1997.

IARIA, S. T. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico em doces cremosos vendidos em padarias e confeitarias do município de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 15, n. 3, jun. 1981.

IHA, S. M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 387-393, jul./set. 2008.

ISAAC, V. L. B. et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, Araraquara, v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.

LIMA, C. R. et al. Atividade cicatrizante e estudo toxicológico pré-clínico do fitoterápico sanativo. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, Universidade Federal de Lavras, v. 25, n. 4, p. 544-9, 2006.

MARINHO, B. V. S; ARAÚJO, A. C. S. O uso dos enxagatatórios bucais sobre gengivite e o biofilme dental. **International Journal of Dentistry**, Recife, v. 6, n. 4, p. 124-131, 2007.

MATOS, F. J. A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**: informações sobre o emprego na medicina caseira, de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 2. ed. Fortaleza: EUFC, 1997.

MONTEIRO, J. M. et al. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Revista Árvore**, Viçosa (MG), v. 29, n. 6, p. 999-1005, 2005.

NETO, P. L. O. C. **Estatística**. São Paulo: Edgard Blucher, 1977.

NIAZI, K. SARFARZ. **Handbook of pharmaceutical manufacturing formulation - liquid products**. Volume 3. London; New York; Washington: CRC Press, 2004.

NIAZI, K. SARFARZ. **Handbook of pharmaceutical manufacturing formulation - over the counter products**. Volume 5. London; New York; Washington: CRC Press, 2004.

NUNES, L. J. **Estudo de interações *in vitro* entre extratos hidroalcoólicos de plantas medicinais e drogas antimicrobianas sobre linhagens multirresistentes de *Staphylococcus sp.*** Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.

OHARA, M. T.; SAITO, T. Contaminação microbiana em soluções para uso oral. **Revista Brasileira de Farmácia e Bioquímica**, v. 20, n. 1, p. 17-27, 1984.

OSTROSKY, E. A. et. al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, abr./jun. 2008.

PANIZZA, S. et. al. *Stryphnodendron barbatiman (Velloso) Martius*: teor em taninos na casa e sua propriedade cicatrizante. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 10, p. 101-6, 1988.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, nov. 2012.

ROCHA, E. A. L. S. S. **Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos vegetais do semiárido brasileiro contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica**. TCC, Curso de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

SANTOS; P. B. **Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de Angico (*Anadenanthera colubrina*) (Vell.) Brenan. Var. *cebil* (Gris.) Alts e *Pereiro Aspidosperma pyriforme* Mart.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Patos (PB), 2010.

SANTOS, P. R. V.; OLIVEIRA, A. C. X.; TOMASSINI, T. C. B. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmácia e Bioquímica**, v. 3, n. 1, p. 35-38, 1995.

SCHENKEL, E. P. et.al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007.

SILVA, K. O. **Avaliação das atividades antimicrobiana, aderência, antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) brenan**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Vitória da Conquista (BA), 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2004.

SOUZA, L. B. F. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato do Sanativo® em bactérias gram-positivas e gram-negativas**. Ciências

Biológicas - 10. Microbiologia - 2. Microbiologia aplicada. Reunião Anual da SBPC, 62., Natal, 2010.

SOUZA, F. S.; MACIEL, C. C. S. Produtos fitoterápicos e a necessidade de um controle de qualidade microbiológico. **Veredas Favip - Revista Eletrônica de Ciências**, v. 3, n. 2, jul./dez. 2010.

TRUGILLHO, P. F. et al. **Avaliação do conteúdo em taninos condensados de algumas espécies típicas do cerrado mineiro**. Lavras: Cerne, 1997.

VINAGRE, N. P. L. et al. Efetividade clínica de um enxagatário bucal fitoterápico com tintura padronizada de *Calendula officinalis* na manutenção da saúde periodontal. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v. 40, n. 1, p. 30-5, jan. /fev. 2011.

VOLPATO, A. M. M. **Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico**. Tese (Doutorado em Ciências, concentração em Química Orgânica). Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Química, Curitiba, 2005.

WHO. **Updated edition of Quality control methods for medicinal plant materials, 1998**. WHO, 2011. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241500739_eng.pdf>. Acesso em: 04 nov. 2013.

ZARONI, M. et.al. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 29-39, 2004.