



Verificação da atividade antibacteriana de sabonete líquido contendo extrato glicólico de *Dimorphandra mollis* Benth.

Migliato, K.F.¹; Chorilli, M.¹; Scarpa, M.V.¹; Moreira, R.R.D.²; Corrêa, M.A.¹; Isaac, V.L.B.¹; Salgado, H.R.N.^{1*}

¹Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil.

²Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil.

Recebido 08/01/2009 / Aceito 18/05/2009

RESUMO

Dimorphandra mollis Benth., Compositae, falso-barbatimão, é utilizada topicamente como cicatrizante, adstringente e antimicrobiano. No presente estudo, verificou-se a atividade antibacteriana de sabonete líquido contendo extrato glicólico de *D. mollis* (EGD) em diferentes concentrações (8, 15 e 20%) e em diferentes pHs (6 e 8). Foram preparadas cinco formulações (F) de sabonete: F1 - triclosan (0,1%), F2 - EGD (8%), F3 - EGD (15%), F4 - EGD (20%) e F5 - sem conservante. Cascas de *D. mollis* foram secas em estufa de ar circulante e pulverizadas. Os extratos brutos foram preparados por turbo-extração utilizando-se etanol. Após filtração, os extratos foram concentrados em evaporador rotatório, liofilizados e ressuspensos em propilenoglicol para a obtenção do extrato glicólico. A atividade antibacteriana foi verificada pelo método de difusão em ágar, empregando cilindros em placa. Placas contendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Após incubação, as leituras foram realizadas com paquímetro, observando-se o diâmetro do halo de inibição de crescimento bacteriano. Verificou-se que o sabonete líquido contendo triclosan provocou inibição do crescimento bacteriano em ambos os pHs; já os sabonetes sem conservante e contendo EGD, independente da concentração e do pH empregados, não apresentaram atividade antibacteriana.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana. Sabonete líquido. *Dimorphandra mollis* Benth.

INTRODUÇÃO

Agentes antibacterianos são incluídos em preparações de limpeza principalmente para aliviar condições comuns como halitose, odor corporal e infecções de pele mais simples, incluindo infecções secundárias associadas à acne. Entretanto, tais produtos devem ser diferenciados de produtos farmacêuticos utilizados para o tratamento de condições patológicas, os quais podem conter antibióticos e outros agentes não comumente considerados susceptíveis para os objetivos mais gerais de higiene (British Pharmacopoeia, 2001).

O uso de antissépticos em preparações de higiene também deve ser distinguido do uso de conservantes. No primeiro, o objetivo é obter um produto ativo contra micro-organismos presentes na pele, no couro cabeludo ou na boca, enquanto que a função dos conservantes é manter o produto em uma condição satisfatória durante seu prazo de validade e uso (Orth & Kabara, 1998; Chorilli et al., 2007).

A flora normal da superfície corporal compreende dois distintos grupos de micro-organismos: a flora residente e a transitória. A flora normal, normalmente não patogênica, é composta por Gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* e, em menor proporção, Gram-negativos (Mims, 1999). Deve ser mencionado que a população de bactérias varia consideravelmente nas diferentes partes do corpo, sendo encontrada em maiores proporções na face, cabelos e axilas, particularmente nos folículos pilosos e glândulas sebáceas (Harry's, 1982).

Várias áreas do corpo, principalmente as mãos, também contêm, em adição à flora normal, a flora transitória, proveniente do meio ambiente e de outras áreas como mucosa nasal e trato gastrointestinal. Esta flora pode conter diferentes micro-organismos patogênicos, como *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* e *Escherichia coli* (Harry's, 1982; Jawetz, 2000).

Em geral, esses contaminantes transientes sobrevivem por curtos períodos de tempo, graças à umidade insuficiente e à presença de substâncias bactericidas na superfície da pele, como ácidos graxos. Estes micro-organismos podem ser removidos de maneira substancial através de banhos e lavagens da pele (Harry's, 1982; Jawetz, 2000).

O importante crescimento mundial da fitoterapia dentro de programas preventivos e curativos tem estimulado a avaliação da atividade de diferentes extratos de plantas (Migliato, 2005).

As plantas e os extratos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e como fonte de matérias-primas farmacêuticas, adjuvantes e produção de medicamentos elaborados exclusivamente à base de extratos vegetais: os medicamentos fitoterápicos (Migliato, 2008).

Como o Brasil é um país com a maior diversidade vegetal do mundo e conta com mais de 55.000 espécies vegetais catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (Dias, 1996; Soerjato, 1996), tem despertado interesse nas indústrias farmacêuticas e de grupos de pesquisa direcionados ao desenvolvimento de novos produtos, sejam eles medicamentos, cosméticos ou produtos para a indústria química em geral (Simões et al., 1999).

Diversas estimativas revelam que o cerrado brasileiro é uma das áreas de vegetação com um dos maiores índices de biodiversidade vegetal (Lorenzi, 2000).

Algumas espécies são muito freqüentes no cerrado tais como a "mamacadela" (*Brossimum gau-dichaudii*), a "aroeira" de casca vermelha (*Schinus terebinthifolius*), o "barbatimão" (*Stryphnodendron barbatiman*), a "douradinha-do-campo" (*Palicourea* sp.), "falso-barbatimão" (*Dimorphandra mollis*), entre outras. Estas plantas têm hoje um grande valor comercial por conterem substâncias químicas com propriedades medicinais comprovadas. A "mamacadela", por exemplo, contém substâncias chamadas furanocumarinas, que são utilizadas no tratamento do vitiligo, uma doença que ocasiona mancha na pele; a "aroeira" e o "barbatimão" contém grande quantidade de taninos, substâncias adstringentes e eficazes como cicatrizantes; o "falso-barbatimão", além de apresentar taninos, contém também rutina (flavonoide), uma substância química útil no tratamento de varizes e hemorróidas (Costa, 1994).

Dimorphandra mollis, conhecido popularmente como "falso-barbatimão", "barbatimão de folha miúda", "faveiro", "cinzeiro", "farinheiro", "fava danta", "enche-cangalha", "faveiro-do-campo", "farinha seca" e "barbatimão-de-folha-miúda" é uma árvore de porte médio, medindo de oito a 14 metros de altura e encontrada principalmente nos estados do Pará, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e São Paulo, sendo característica de cerrado e de campo cerrado (Lorenzi, 2000).

A propriedade anti-inflamatória se deve principalmente ao fato de que a composição química das cascas dos frutos de *D. mollis* ser representada basicamente por flavonoides (10-15%), sendo extraídas principalmente rutina e quercetina. A rutina é um flavonoide que tem importância farmacológica por ser portadora de vitamina P. Em humanos, tal vitamina, quando associada à vitamina C, normaliza a resistência e permeabilidade dos vasos capilares. A rutina diminui a permeabilidade dos glóbulos vermelhos e protege a vitamina

C contra a oxidação, sendo empregada como anti-hemorrágica (Costa, 1994; Nishikawa et al., 2007; Baby et al., 2008).

Nas cascas de *D. mollis* também estão presentes os taninos (catequinas e epicatequinas), substâncias fenólicas conhecidas por formarem complexos insolúveis com proteínas (Porter & Hemingway, 1989). Formam também complexos com alcaloides e metais pesados e possuem massa molecular entre 500 e 3000 daltons (Mello & Santos, 1999). Possuem propriedade secante, anti-inflamatória e cicatrizante (Lorenzi, 2000; Santos et al., 2002).

Plantas contendo taninos em geral são muito utilizadas tradicionalmente para o tratamento de diversas enfermidades, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas gástricos, problemas renais, problemas do sistema urinário, processos inflamatórios em geral, além de geralmente apresentarem atividade antimicrobiana (Haslam et al., 1989).

Desse modo, diversas bases dermocosméticas, como géis, cremes e pomadas, poderiam estar sendo utilizadas para a incorporação do extrato de *D. mollis*.

Independente da base escolhida para a incorporação do extrato, é de extrema importância que sejam realizadas análises que garantam a sua qualidade, dentre elas o controle microbiológico (Santos et al., 1995; Migliato et al., 2005; Salvagnini et al., 2006; Iha et al., 2008).

O objetivo deste estudo foi verificar a atividade antimicrobiana de um sabonete líquido contendo extrato glicólico de *D. mollis* em diferentes concentrações (8, 15 e 20%) e em dois diferentes pHs (6 e 8).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo do material vegetal

As cascas de *D. mollis* Benth (Compositae) foram coletadas no município de Corumbataí – SP. A exsiccata está depositada no Herbarium da UNESP de Rio Claro sob o número 5464. O material botânico foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C. Em seguida, foi pulverizado em moinho de facas, para facilitar a extração de seus constituintes químicos.

Obtenção dos extratos brutos

Os extratos brutos foram preparados por turbo-extração, durante 15 minutos, com temperatura máxima de 40°C, utilizando-se como líquido extrator o etanol 96°C GL. Após filtração, os filtrados foram concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotatório, com temperatura máxima de 40°C, de modo a eliminar todo o solvente orgânico. Os extratos concentrados foram congelados em nitrogênio líquido e liofilizados, obtendo-se os extratos brutos.

Obtenção dos extratos glicólicos de *Dimorphandra* (EGD)

Os extratos glicólicos foram obtidos após trituração dos extratos brutos. A massa total obtida de extrato bruto foi ressuspensa em 80% de propilenoglicol, de forma a obter o extrato glicólico.

Perfil Cromatográfico

Foi determinado o perfil cromatográfico dos extratos brutos obtidos a partir das cascas de *D. mollis*, empregando-se a técnica de cromatografia em camada delgada comparativa (Wagner, 1984; Collins et al., 1995) e utilizando os seguintes fatores cromatográficos: fase fixa: sílica gel G; fase móvel: acetona: tolueno: ácido fórmico (3:3:1); revelador químico: vanilina sulfúrica; amostra: extrato etanólico obtido a partir de cascas de *D. mollis*.

Confirmação da presença de taninos nas cascas e no extrato glicólico obtido de *D. mollis*

As cascas de *D. mollis*, segundo a literatura (Santos et al., 2002), possuem grande quantidade de taninos, dentre eles a catequina e a epicatequina. Assim, foi realizada a pesquisa de taninos nas cascas de *D. mollis* e no extrato glicólico obtido para confirmar a presença desta classe de metabólitos secundários nas amostras coletadas no município de Corumbataí – SP. Para este fim, foram utilizados testes químicos específicos para a classe de taninos.

Extração: preparou-se um decocto (15 minutos) com 5g da droga vegetal pulverizada e 100 mL de água destilada. Filtrou-se e deixou-se esfriar, obtendo-se assim a solução extrativa A (Simões et al., 1999).

Reações de caracterização (Simões et al., 1999):

Reação da gelatina: 2 mL da solução A + 2 gotas de ácido clorídrico diluído + solução de gelatina 2,5% gota a gota. A presença de precipitação indica reação positiva para taninos.

Reação com sais de ferro: 2 mL da solução A + 10 mL de água destilada + 2-4 gotas de solução de FeCl₃ a 1% em metanol. A cor verde indica presença de taninos condensados.

Reação com acetato de chumbo: 5 mL da solução A + 10 mL da solução de ácido acético 10% + 5 mL da solução de acetato de chumbo a 10%. A formação de um precipitado esbranquiçado indica presença de taninos hidrolisáveis.

Preparo das formulações

Foram preparadas cinco formulações (F) de sabonete líquido: F1 - triclosan (0,1%), F2 - EGD (8%), F3 - EGD (15%), F4 - EGD (20%) e F5, que não apresentava conservante (controle).

A fórmula base do sabonete estudado foi composta pelas seguintes substâncias e concentrações: lauril éter sulfato de sódio (35,00%), cocoamido propilbetaína (6,00%), dietanolamida de ácido graxo de coco (4,00%), gliceril cocoato PEG 7 (1,00%), ácido cítrico (pH 6.0 qs) e água destilada (100,00g qsp).

Determinação da atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana das formulações foi verificada pelo método de difusão em ágar Mueller Hinton utilizando cilindros em placa (Bauer et al., 1966).

Foram empregados no estudo *S. aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *E. coli* (ATCC 25922).

Os inóculos de bactérias foram adaptados e padronizados segundo Murray et al. (2003) e segundo documento do NCCLS (2000). Culturas de colônias isoladas foram obtidas em caldo Mueller Hinton (MH) por 24 h, até a obtenção de turvação igual à escala 0,5 de McFarland que equivale a aproximadamente 1,5 x 10⁶ UFC/mL, sendo semeadas por swab estéril.

As placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Após o período de incubação, as leituras foram realizadas com o auxílio de um paquímetro, observando-se o diâmetro do halo de inibição de crescimento bacteriano (mm).

As formulações F1 e F5 foram usadas como controle negativo e positivo, respectivamente.

RESULTADOS

Perfil cromatográfico

O extrato glicólico obtido a partir das cascas de *D. mollis* apresentou duas manchas com valores de referência (Rf's) de 0,30 de coloração rosa e de 0,78 de coloração azul. Ao comparar os dados encontrados com os valores preconizados na literatura, pode-se sugerir que uma destas substâncias possa ser a epicatequina (Rf = 0,26), pois possuem valores de referência muito próximos (Santos & Waterman, 2001).

Desta forma, os resultados indicam a presença de taninos no extrato obtido a partir das cascas de *D. mollis*.

Confirmação da presença de taninos nas cascas e no extrato glicólico obtido de *D. mollis*

Reação da gelatina: verificou-se a presença de precipitado, indicando reação positiva para taninos;

Reação com sais de ferro: verificou-se a presença de cor verde, indicando a presença de taninos condensados;

Reação com acetato de chumbo: não ocorreu a formação de um precipitado esbranquiçado, indicando, portanto ausência de taninos hidrolisáveis.

Segundo Simões et al. (1999), a presença de precipitado na reação da gelatina e a presença de cor verde na reação com sais de ferro são indicativos da presença de taninos na amostra vegetal.

Determinação da atividade antibacteriana

A Tabela 1 apresenta os resultados da determinação da atividade antibacteriana para as formulações envolvidas no estudo.

Tabela 1. Atividade antibacteriana das formulações analisadas.

Amostras	Pesquisa de patógenos					
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	pH 6	pH 8	pH 6	pH 8	pH 6	pH 8
F1	-	-	-	-	-	-
F2	+	+	+	+	+	+
F3	+	+	+	+	+	+
F4	+	+	+	+	+	+
F5	+	+	+	+	+	+

(-) ausência e (+) presença dos patógenos; F1 - triclosan (0,1%), F2 - EGD (8%), F3 - EGD (15%), F4 - EGD (20%) e F5 - formulação não apresentava conservante (controle).

DISCUSSÃO

O impacto das doenças infecciosas na evolução humana é de difícil avaliação, tanto pela sua complexidade em si, como pela escassez de dados e pontos obscuros (Migliato, 2005). O interesse em conseguir novas formulações com atividade antibacteriana levou à realização de testes em busca desta atividade com o emprego do extrato glicólico de *D. mollis*, planta muito empregada na medicina popular, incorporado em sabonete líquido.

O interesse em incorporar o extrato vegetal a uma formulação de sabonete líquido está na preocupação de resistência microbiana, pois o número de micro-organismos resistentes vem aumentando muito e o número de infecções hospitalares torna-se preocupante (Meade et al., 2001).

Os sabonetes líquidos apresentam como principal característica o fato de serem composições semelhantes aos xampus, com elevadas concentrações de detergentes. Estes produtos podem ser transparentes ou perolados. A evolução dos sabonetes líquidos permitiu que tais produtos adquirissem valores mais amplos, como a veiculação de aditivos com funções diversas e específicas como anti-sépticos, anti-inflamatórios, entre outros (Souza, 2007).

Na formulação do sabonete foi utilizado lauril éter sulfato de sódio que é um dos detergentes sintéticos mais utilizados no preparo de sabonetes líquidos. Foi adicionado outro tipo de detergente, o cocamido propilbetaína, que é normalmente associado à formulação, pois melhora a qualidade espumógena e auxilia na viscosidade da composição. Para proporcionar adequado sobre engorduramento e maior suavidade ao sabonete líquido, foi utilizada dietanolamida de ácido graxo de coco que além de sobreengordurar, é um importante auxiliar de viscosidade, um solubilizante e estabilizador de espuma. Além disso, para abrandar o efeito desengordurante, propôs-se enriquecer a preparação com um emoliente hidrossolúvel como o gliceril cocoato PEG 7. Para que o sabonete tenha o pH próximo ao pH da pele, estabeleceu-se o valor de pH 6,0 para a preparação proposta. Para isto empregou-se o ácido cítrico. Já a água destilada foi empregada como veículo.

Em uma formulação normal deveria ser utilizado conservante, porém como a função do sabonete foi verificar a atividade antibacteriana, este foi preparado sem a presença de conservantes para que não interferisse na avaliação, seguindo as Boas Práticas de Manipulação e sendo analisado no mesmo dia.

Inicialmente, obteve-se o extrato glicólico das cascas de *D. mollis* por turbo-extração. Neste processo, a escolha do solvente foi baseada na polaridade do grupo de substâncias que se procurou extrair, portanto para os taninos foram utilizadas misturas etanol:água. O método de turbo-extração foi usado devido à eficiência da técnica, simplicidade, rapidez e versatilidade, permitindo sua fácil utilização em processamento de pequena e média escala (Galina, 2003).

Dentre os diversos constituintes presentes nas cascas do “falso-barbatimão” encontram-se os taninos, substâncias que geralmente são tóxicas para fungos e bactérias devido a algumas de suas propriedades como a inibição de enzimas extracelulares, deprivação de substrato, inibição da fosforilação oxidativa, além de mecanismos que envolvem deprivação de ferro. Além disto, a literatura

revela a similaridade de ação dos taninos em comparação ao apresentado pelos compostos fenólicos e bi-fenólicos sintéticos, materiais estes largamente empregados como antissépticos na atualidade (Sanches, 2004).

A atividade antibacteriana do sabonete líquido contendo extrato de cascas de *D. mollis* foi realizada utilizando-se o extrato bruto solubilizado em propilenoglicol 80%, de acordo com o método de difusão em ágar, utilizando cilindros em placa. O ensaio ocorreu frente às bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*).

Com o objetivo de ter um controle positivo, inseriu-se nas placas referentes a cada micro-organismo, um padrão de sensibilidade. O triclosan foi o antisséptico escolhido para essa função e a concentração estabelecida seguiu a determinação usual para este tipo de material em preparações que sofrem enxague. A concentração estabelecida foi de 500 mg/50 mL em solução de propilenoglicol 80% no sabonete líquido.

Outra consideração importante diz respeito à utilização do propilenoglicol (80%) como material para a solubilização do extrato seco. Na escolha desta substância para os ensaios referentes à avaliação antibacteriana do extrato, procurou-se prever a possível incorporação do extrato solubilizado no sabonete líquido. Em tal situação, deve-se estabelecer um material que permita a adequada suspensão e até solubilização do extrato, e que apresente a menor influência possível sobre as propriedades do sabonete líquido, ou seja, não deve interferir sobre a viscosidade, poder espumógeno e fundamentalmente sobre a capacidade de limpeza ou detergência. O propilenoglicol (80%), escolhido quali e quantitativamente para solubilizar o extrato das cascas de *D. mollis*, também foi utilizado nas placas como controle com o objetivo de certificar que a presença deste material não apresentasse qualquer atividade antibacteriana.

Verificou-se que o sabonete líquido contendo triclosan provocou inibição do crescimento bacteriano em ambos os pHs, para todos os micro-organismos (Tabela 1). Tal resultado já era esperado, pois o triclosan, segundo dados da literatura, apresenta espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de atividade antifúngica (Adolfsson-Erici et al., 2002). O sabonete líquido sem conservante, por sua vez, não apresentou ação contra os micro-organismos em questão. Embora as concentrações de extrato incorporadas no sabonete tenham sido superiores quando comparadas com as concentrações utilizadas para extratos com reconhecida atividade antibacteriana, observou-se que o sabonete líquido contendo o extrato glicólico de *D. mollis*, de acordo com ensaio de difusão em ágar realizado em triplicata, independente da concentração e do pH empregados, não apresentou atividade antibacteriana.

De acordo com Scalbert (1991), as propriedades antimicrobianas apresentadas pelos taninos parecem apresentar um espectro de ação limitado, uma vez que muitos micro-organismos podem crescer em presença de materiais ricos em taninos. Os resultados de certa forma não contradizem este tipo de afirmação, uma vez que não foi encontrada atividade antibacteriana frente aos micro-organismos *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Segundo Migliato (2005), a reduzida atividade frente

a bactérias Gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *E. coli*, pode também ser justificada ao se considerar uma possível ação dos taninos frente à membrana dos micro-organismos e à complexidade da membrana celular apresentada por este tipo de micro-organismo.

É importante frisar que muitas vezes a atividade antibacteriana de extratos vegetais incorporados em formulações é dose-dependente. Assim, foram empregadas concentrações aleatórias de extrato glicólico, trabalhando numa faixa de concentração de extrato relativamente alta (8 a 20%) e procurando garantir que a proposta do sabonete líquido antisséptico fosse positiva. Outro fator a ser considerado diz respeito aos problemas técnicos em relação ao sabonete líquido. Concentrações superiores às escolhidas podem afetar a estrutura da fórmula e comprometer a capacidade espumógena da preparação e desta forma, interferir negativamente sobre sua viscosidade. A manutenção destes parâmetros é fator determinante para a boa aceitação do produto, de tal forma que não devem ser desprezados.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Brasília, Brasil), à FAPESP (São Paulo, Brasil) e ao PADC-FCF-UNESP (Araraquara, Brasil), pelo apoio financeiro aos nossos projetos. À Maria de Fátima Rodrigues, pelo apoio técnico.

ABSTRACT

Verification of the antibacterial activity of liquid soap containing glycolic extract of Dimorphandra mollis Benth.

***Dimorphandra mollis* Benth., Compositae, false barbatimão, has been used topically as a healing, astringent and antibacterial. In this study, antibacterial activity was verified on liquid soap containing glycolic extract of *D. mollis* (DGE) at different concentrations (8, 15 and 20%) and at different pH levels (6 and 8). Five soap formulations (F) were prepared: F1 - tryclosan (0.1%), F2 - DGE (8%), F3 - DGE (15%), F4 - DGE (20%) and F5 - without preservatives. Bark of *D. mollis* were dried in a circulating air oven and ground. The rude extracts were prepared by turbo extraction with ethanol. After screening, the extract were concentrated in rotating evaporator, lyophilized and resuspended in propilenglycol to obtain the glycolic extract. The antimicrobial activity was verified by diffusion in agar method, using cylinder in plate. Plates containing *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* were incubated at 37°C for 24 hours. After incubation, the results were analysed with a pachymeter, observing the bacterial growth inhibition halo diameter. It was verified that the liquid soap containing tryclosan caused on inhibition of bacterial growth at both pH levels; the soaps without preservatives and containing DGE, independently of the concentration and pH levels used, did not present antibacterial activity.**

Keywords: Antibacterial activity. Liquid soap. *Dimorphandra mollis* Benth.

REFERÊNCIAS

Adolfsson-Erici M, Pettersson M, Parkkonen J, Sturve J. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere* 2002; 46:1485–89.

Baby AR, Haroutiounian CA, Sarruf FD, Tavante Junior CR, Pinto CASO, Zague V, Areas EPG, Kaneko TM, Velasco MVR. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de membrana alternativa. *Rev Bras Ciên Farm.* 2008; 44:233-48.

Bauer AW, Kirby E, Sherris EM, Turk M. Antibiotic by standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966; 45:493-6.

British Pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationery Office, 2001.

Chorilli M, Corrêa MA, Salgado HRN. Utilização de conservantes antimicrobianos em cosméticos. *Biofarma: Rev Técn Cient Farm, Bioquim, Anál Clín Toxicol.* 2007; 2:291-304.

Collins CH, Braga GL, Bonato PS. Introdução a métodos cromatográficos. Campinas: Unicamp; 1995.

Costa AF. *Farmacognosia.* 5.ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian; 1994.

Dias BFS. A implementação da conservação sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades. Campinas: André Tosello; 1996.

Galina KJ. *Guazuma ulmifolia* Lam., *Sterculiaceae*: estudo botânico, químico e microbiológico. Dissertação [Mestrado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP; 2003.

Harry's *Cosmetology.* 7th. ed. New York: Chemical Publishing Company; 1982.

Haslam E, Lilley TH, Ya C, Gaffney SH, Spencer CM, Martin R, Magnolato D. Some observations on the role of plant polyphenols in traditional herbal medicines. *Farm Tijdschrift Voor Belgie* 1989; 66:21.

Iha SM, Migliato KF, Velloso JCR, Sacramento, LVS, Pietro RCLR, Isaac VLB, Brunetti IL, Corrêa MA, Salgado HRN. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. *Rev Bras Farmacogn.* 2008; 18:387-93.

Jawetz E. *Microbiologia médica.* 21.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.

Lorenzi H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.* 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2000.

Meade MJ, Waddell RL, Callahan TM. Soil bacteria *Pseudomonas putida* and *Alcaligenes xylosoxidans*

- subsp. *denitrificans* inactivate triclosan in liquid and solid substrates. FEMS Microbiol Lett. 2001; 204:45-8.
- Mello JCP, Santos SC. Taninos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS; 1999.
- Migliato KF. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: validação do extrato, análises farmacognósticas, estudo da atividade antimicrobiana, avaliação genotóxica e citotóxica. Tese [Doutorado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP; 2008.
- Migliato KF. *Syzygium cumini* (L.) Skeels - Jambolão: estudo farmacognóstico, otimização do processo extrativo, determinação da atividade antimicrobiana do extrato e avaliação da atividade anti-séptica de um sabonete líquido contendo o referido extrato. Dissertação [Mestrado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP; 2005.
- Migliato KF, Chorilli M, Michelin DC, Aquino NC, Corrêa MA, Scarpa MV, Marona HRN. Avaliação da atividade anti-séptica de sabonete líquido contendo *n*-carboximetil quitosana. Int J Pharm Compound. 2005; 7(1):49-53.
- Mims C. Microbiologia médica. 2. ed. São Paulo: Manole; 1999.
- Murray PR, Barron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of clinical microbiology. 8th. ed. Washington, DC: ASM; 2003. p.1102-6.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5th. ed. Wayne, Pa; 2000.
- Nishikawa DO, Zague V, Pinto CASO, Vieira R, Kaneko TM, Velasco MVR, Baby AR. Avaliação da estabilidade de máscaras faciais *peel-off* contendo rutina. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2007; 28:227-32.
- Orth DS, Kabara JJ. Preservative-free and self-preserving cosmetics and drugs. Cosm Toil. 1998; 113(4):51-8.
- Porter LJ, Hemingway RW. Significance of the condensed tannins. In: Rowe JW. Natural products of woody plants. Berlin: Springer; 1989.
- Salvagnini LE, Migliato KF, Isaac VLB, Correa MA, Salgado HRN, Pietro RCLR. Evaluation of efficacy of preservatives associated to *Achillea millefolium* L. extract against *Bacillus subtilis*. Br J Microbiol. 2006; 37:75-7.
- Sanches ACC. Estudo farmacognóstico das cascas de *Stryphnodendron obovatum* Benth., atividade antioxidante, antimicrobiana e da ação cicatrizante dos seus extratos. Dissertação [Mestrado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP; 2004.
- Santos SC, Waterman PG. Polyphenols from *Eucalyptus ovata*. Fitoterapia 2001; 72: 316-18.
- Santos SC, Costa WF, Ribeiro JP, Guimarães DO, Ferri PH, Ferreira HD, Seraphin JC. Tannin composition of *barbatimão* species. Fitoterapia 2002; 73:292-99.
- Santos PRV, Oliveira ACX, Tomassini TCB. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. Rev Farm Bioquím Univ S Paulo 1995; 31(1):35-38.
- Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry 1991; 30(12):1875-83.
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis: UFSC; 2007.
- Soerjato DD. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. J Ethnopharmacol. 1996; 51:1-15.
- Souza TM. Estudo farmacognóstico e avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de preparações cosméticas contendo o extrato de folhas de *Myrciaria cauliflora* O. Berg. (*Myrtaceae*) e de cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). Dissertação [Mestrado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP; 2007.
- Wagner HM, Bladt S, Zgainski EM. Plant drug analysis. Berlin: Springer; 1984.