

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**Obtenção de um dentifrício contendo extrato seco por aspersão padronizado de *Libidibia ferrea* com atividade antimicrobiana contra patógenos bucais**

**Sheila Kellen Caetano**

**Manaus**

**2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**Sheila Kellen Caetano**

**Obtenção de um dentifrício contendo extrato seco por aspersão padronizado de *Libidibia ferrea* com atividade antimicrobiana contra patógenos bucais**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientadora:** Profa Dra. Tatiane Pereira de Souza

**Co-Orientadora:** Prof. Dra. Nikeila Chacon de Oliveira Conde

**Manaus**

**2014**

## DEDICATÓRIA

À Deus, sem Ele nada seria possível...

À minha querida avó Wany de Fátima Zardini Caetano (*in memoriam*)  
pelo incentivo, dedicação e por sempre acreditar em mim.

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por sua presença absoluta em minha vida, pela proteção e força, permitindo mais uma etapa em minha vida.

À Lilian de Oliveira Corrêa pelo companheirismo, amizade, compreensão e paciência nos momentos mais difíceis, você é muito especial em minha vida.

À minha amada mãe Eva Aparecida Brandão pelo amor e pelas palavras de incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao meu tio padrinho Gilberto Caetano pelas palavras de incentivo, pelos conselhos e pela força durante a realização deste trabalho.

À prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiane Pereira de Souzaque aceitou me orientar, obrigada pela paciência, compreensão, dedicação e pela oportunidade.

À prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nikeila Chacon de Oliveira Conde pela co-orientação na realização do trabalho.

À Carolina Pacheco, um anjo amigo, que me ajudou em todas as etapas na realização deste trabalho. Obrigada de coração, por tudo o que fez por mim, pela dedicação e amizade sincera.

À Glauber Palma, pela amizade e trabalho em equipe durante a realização dos infindáveis testes microbiológicos.

À Dorotéia, Laboratório de Ciências Farmacêuticas, pela ajuda, amizade e apoio durante os trabalhos realizados no laboratório de farmacotécnica.

À Lilian Bastos pela ajuda e paciência durante a realização dos testes de cromatografia.

A todos os amigos e professores do curso de pós-graduação que estiveram presentes e de alguma forma contribuíram e tomaram possível a realização deste trabalho.

Ao programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFAM, que tornou possível a realização deste trabalho.

À Faculdade de Odontologia da UFAM, pela disponibilidade do laboratório de microbiologia.

E a todas as pessoas que estiveram presentes em vários momentos destacaminhada, amenizando as dificuldades, trazendo força e alegria, ajudando a manter o estímulo e a fé, o meu muito obrigado.

Nunca desista de seus sonhos  
Eles fortalecem a alma, e um dia,  
tornam-se realidade

**Sheila K. Caetano**

## RESUMO

A espécie vegetal *Libidibia ferrea* denominada, popularmente, como Jucá ou pau-ferro é utilizada na medicina tradicional para tratamento de contusões, problemas respiratórios, anemias e diabetes. Estudos farmacológicos demonstram ação anti-inflamatória, antiúlcera, anticarcinogênica e antimicrobiana contra patógenos da cavidade bucal. A referida espécie está catalogada no Formulário Nacional de Fitoterápicos e consta na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. O presente trabalho refere-se à obtenção de um dentifrício a partir do extrato seco por aspersão de *Libidibia ferrea* Martius var. *ferrea* com atividade antimicrobiana contra patógenos bucais. Os ensaios foram realizados a partir de extratos secos por aspersão obtidos das entrecascas dos frutos e das cascas de *L. ferrea*, onde foi identificada a concentração inibitória mínima (CIM). Os estudos realizados demonstraram que o extrato da casca apresentou melhor atividade antimicrobiana, sendo escolhido para incorporação nas formulações semissólidas. As formas farmacêuticas selecionadas para incorporação do extrato seco (ES) foram gel e pasta, nas proporções de 2,5% e 5% (m/m) no gel e de 5% e 10% (m/m) na pasta, ambas as formas farmacêuticas obtidas à base de carboximetilcelulose. A atividade antimicrobiana de todas as formulações obtidas foi demonstrada frente às cepas de *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* e *Candida albicans* empregando-se o método da microdiluição. Os resultados obtidos demonstraram que todas as formulações dos dentifrícios, contendo o extrato seco, apresentaram atividade antimicrobiana frente aos patógenos bucais avaliados, sendo que esta atividade foi maior nas formulações em gel contendo 2,5% de ES, também, maior que o extrato seco quando avaliado de forma isolada, demonstrando possível atividade de alguns componentes das formulações, que quando analisados isoladamente, foi verificado que o lauril sulfato de sódio foi o único adjuvante farmacêutico a demonstrar atividade antimicrobiana pelo método de difusão em meio sólido, com halos de inibição variando de 12 a 28 mm. Dessa forma, o estudo demonstra que pode haver um sinergismo entre os adjuvantes farmacêuticos e as substâncias presentes no extrato seco por aspersão de *L. ferrea* utilizado no presente trabalho.

Palavras-chave: Jucá, Pau-ferro, Dentifrício, Atividade Antimicrobiana.

## ABSTRACT

*Libidibia ferrea* known popularly as “Jucá” or “pau-ferro” is used in traditional medicine to treat bruises, breathing problems, anemia and diabetes. Pharmacological studies demonstrate anti-inflammatory action, anti-ulcer, antimicrobial and anticarcinogenic against pathogens in the oral cavity. Such species are cataloged in the National Formulary and Herbal Medicines listed in the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS. The aim of this work is to obtain a dentifrice prepared with a spray dried extract of *Libidibia ferrea* Martius var. *ferrea* represented antimicrobial activity against oral pathogens. Firstly the studies were carried out with spray dried extract obtained from the bark and seedless fruit of *L. ferrea* and it was identified the minimum inhibitory concentration (MIC) of both dried extracts evaluated. The studies demonstrated that the bark spray dried extract showed better antimicrobial activity, being chosen for incorporation in plastic formulations. The dosage forms selected for dry extract incorporation were gel and paste, the proportions of 2.5% and 5% (w/w) in the gel and 5% to 10% (w / w) in the paste, both the pharmaceutical forms it was obtained with carboxymethylcellulose. The antimicrobial activity of all formulations was evaluated against the strains of *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* and *Candida albicans* employing the microdilution method. The results showed that all formulations of toothpastes containing dry extract showed antimicrobial activity against oral pathogens evaluated, and this activity was higher in gel formulations containing 2.5% of DE also greater than the dry extract when assessed in isolation, demonstrating possible activity of some components of the formulations, which when analyzed separately, it was verified that the sodium lauryl sulfate was the only pharmaceutical adjuvant to demonstrate antimicrobial activity by diffusion method on solid medium, with inhibition zones ranging from 12 to 28 mm. Thus, the study demonstrates that there may be a synergism between pharmaceutical adjuvant and substances present in the *L. ferrea* spray dried extract used in this work.

Keywords: dentifrice, toothpaste, antimicrobial activity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Árvore de <i>L.ferrea</i> Mart.	23
<b>Figura 2</b>	Flores e folhas de <i>L.ferrea</i> Mart.	23
<b>Figura 3</b>	Frutos e sementesde <i>L.ferrea</i> Mart.	23
<b>Figura 4</b>	Representaçãoesquemática da Concentração Inibitória Mínima em meio sólido	50
<b>Figura 5</b>	Representação esquemáticaConcentração Inibitória Mínima em microdiluição	52
<b>Figura 6</b>	Gel a base de Carbopol 940®	70
<b>Figura 7</b>	Gel a base de Natrosol®	70
<b>Figura 8</b>	Gel a base de Carboximetilcelulose sódica com incorporação do extrato seco de <i>L. ferrea</i>	70
<b>Figura 9</b>	Gel com extratode <i>L. ferreea</i> 2,5%	70
<b>Figura 10</b>	Gel com extrato de <i>L. ferreea</i> 5%	70
<b>Figura 11</b>	Pasta com extrato de <i>L. ferrea</i> a 5%	71
<b>Figura 12</b>	Pasta com extrato de <i>L. ferrea</i> a 10%	71

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Concentração do extrato da entrecasca do fruto e casca do caule de <i>L. ferrea</i> em diluição logarítmica	49
<b>Quadro 2</b>	Volume em $\mu\text{L}$ e concentração dos extratos da entrecasca do fruto e da casca do caule de jucá em mg/mL nas microplacas de microdiluição	51
<b>Quadro 3</b>	Concentração do controle positivo em microdiluição	51
<b>Quadro 4</b>	Formulação base para obtenção do gel 1 e gel 2	53
<b>Quadro 5</b>	Formulação base para obtenção do gel 3	54
<b>Quadro 6</b>	Formulação da base para obtenção da pasta	55
<b>Quadro 7</b>	Concentração do gel a 2,5% em microdiluição	59
<b>Quadro 8</b>	Concentração do gel a 5% em microdiluição	59
<b>Quadro 9</b>	Concentração da pasta a 5% em microdiluição	60
<b>Quadro 10</b>	Concentração da pasta a 10% em microdiluição	60
<b>Quadro 11</b>	Concentração dos adjuvantes nas formulações em diluição logarítmica	62

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Caracterização físico-química dos extratos secos por aspersão de <i>L. ferrea</i>	63
<b>Tabela 2</b>	Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do extrato da entrecasca do fruto de <i>L. ferrea</i>	64
<b>Tabela 3</b>	Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do extrato da casca do caule de <i>L. ferrea</i> .	64
<b>Tabela 4</b>	Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da clorexidina – controle positivo	66
<b>Tabela 5</b>	Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) dos extratos da entrecasca do fruto, casca do caule de <i>L. ferrea</i> e controle positivo frente à patógenos orais em teste de microdiluição	67
<b>Tabela 6</b>	Densidade das formulações semissólidas	73
<b>Tabela 7</b>	Reograma do gel 2,5%	78
<b>Tabela 8</b>	Reograma do gel 5%	79
<b>Tabela 9</b>	Reograma da pasta 5%	79
<b>Tabela 10</b>	Reograma da pasta 10%	80
<b>Tabela 11</b>	Média dos valores de Polifenóis totais (P.T) das formulações semissólidas	81
<b>Tabela 12</b>	Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) dos géis da casca do caule de <i>L. ferrea</i> e controle positivo frente à patógenos orais em teste de microdiluição	81
<b>Tabela 13</b>	Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) das pastas da casca do caule de <i>L. ferrea</i> e controle positivo frente à patógenos orais em teste de microdiluição	82
<b>Tabela 14</b>	Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do Lauril sulfato de sódio	84

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> Reograma da formulação em Gel 2,5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque ( $^{\circ}/_{00}$ )	74
<b>Gráfico 2</b> Reograma da formulação em Gel 2,5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento(T)	75
<b>Gráfico 3</b> Reograma da formulação em Gel 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque ( $^{\circ}/_{00}$ )	75
<b>Gráfico 4</b> Reograma da formulação em Gel 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento(T)	76
<b>Gráfico 5</b> Reograma da formulação em Pasta 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque ( $^{\circ}/_{00}$ )	76
<b>Gráfico 6</b> Reograma da formulação em Pasta 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento(T)	77
<b>Gráfico 7</b> Reograma da formulação em Pasta 10%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque ( $^{\circ}/_{00}$ )	77
<b>Gráfico 8</b> Reograma da formulação em Pasta 10%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento(T)	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>CMC</b>	Carboximetilcelulose
<b>CBM</b>	Concentração Bactericida Mínima
<b>CIM</b>	Concentração Inibitória Mínima
<b><i>C. albicans</i></b>	<i>Candida albicans</i>
<b><i>C. ferrea</i></b>	<i>Caesalpinia ferrea</i>
<b>ESA</b>	Extrato Seco por Aspersão
<b>HCE</b>	Hidroxietilcelulose
<b><i>L. casei</i></b>	<i>Lactobacillus casei</i>
<b><i>L. ferrea</i></b>	<i>Libidibia ferrea</i>
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>q.s</b>	Quantidade suficiente
<b>q.s.p</b>	Quantidade suficiente para
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b><i>S. aureus</i></b>	<i>Streptococcus aureus</i>
<b><i>S. mitis</i></b>	<i>Streptococcus mitis</i>
<b><i>S. mutans</i></b>	<i>Streptococcus mutans</i>
<b><i>S. oralis</i></b>	<i>Streptococcus oralis</i>
<b><i>s. salivarius</i></b>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<b><i>S. sanguis</i></b>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<b><i>S. sobrinus</i></b>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<b>UNESCO</b>	Organização da Nações Unidas para Educação, Ciência e Cultura

## SUMÁRIO

### 1 –INTRODUÇÃO16

<b>2 -REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	19
2.1- Fitoterápicos	19
2.2- <i>Libidibia ferrea</i>	22
2.2.1- Aspectos Etnofarmacológicos	24
2.2.2- Aspectos Fitoquímicos	24
2.2.3- Estudos Farmacológicos	25
2.3- Fitoterápicos na Odontologia	29
2.4- Cárie Dental	32
2.5- Candidíase Bucal	36
2.6- Produtos com Ação Antimicrobiana Bucal	38
2.7-Formas Farmacêuticas Semissólidas	41
2.7.1- Géis	41
2.7.2- Principais Polímeros Geleificantes	43
2.7.2.1- Hidroxietilcelulose (Natrosol® 250)	43
2.7.2.2- Carbopol®	44
2.7.2.3- Carboximetilcelulose Sódica	45
2.7.3- Pastas	46
<b>3- OBJETIVOS</b>	47
3.1- Geral	47
3.2- Específicos	47
<b>4- MATERIAIS E MÉTODOS</b>	48
4.1- Matéria Prima Vegetal	48
4.2-Triagem da atividade antimicrobiana do ESA da Entrecasca do fruto e do ESA da casca do caule de <i>L. ferrea</i>	48
4.2.1- Preparo das Soluções Teste	48
4.2.2- Microrganismos Teste e Preparação dos Inóculos	48
4.3-Screnning para Determinação da Atividade Antimicrobiana doESA	49

4.3.1- Meio Sólido	49
4.3.2- Microdiluição	50
4.4- Obtenção dos Dentifrícios	53
4.4.1- Preparo dos Géis Dentais	53
4.4.2- Preparo da Pasta Dental	55
4.5- Caracterização dos Dentifrícios	56
4.5.1-Análise Macroscópica	56
4.5.2- Determinação do pH	56
4.5.3- Determinação da Densidade	56
4.5.4- Comportamento Reológico	57
4.5.5- Teste de Centrifugação	57
4.5.6- Determinação de Polifenóis Totais no ESA e Dentifrícios	57
4.6- Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos dentifrícios pelo método da microdiluição	58
4.7- Determinação da Atividade antimicrobiana dos Adjuvantes Farmacêuticos em meio sólido	61
4.8-Análise dos Resultados	62

## **5- RESULTADOS E DISCUSSÃO**

5.1- Matéria Prima Vegetal	63
5.2-Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato da entrecasca do fruto e da casca do caule de <i>L. ferrea</i> em meio sólido	63
5.3-Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato da entrecasca do fruto e da casca do caule de <i>L. ferrea</i> em microdiluição	67
5.4- Estudos Preliminares para Seleção das Formulações Dentifrícios	69
5.4.1-Formulações Dentifrícios	71
5.5- Caracterização dos Dentifrícios	72
5.5.1- Análise Macroscópica	72
5.5.2- Análise do pH	72
5.5.3- Análise da Densidade	72
5.5.4- Avaliação do Comportamento Reológico	73

5.5.5- Testes de Centrifugação	80
5.5.6- Determinação de Polifenóis Totais	80
5.6-Avaliação da CIM dos Géis e Pastas da Casca do Caule de <i>L. ferrea</i> em Microdiluição	81
<b>6- CONCLUSÕES</b>	<b>85</b>
<b>7- REFERÊNCIAS</b>	<b>87</b>
<b>8-ANEXOS</b>	<b>101</b>

## INTRODUÇÃO

Fitoterápicos são medicamentos obtidos a partir de plantas medicinais, empregando-se exclusivamente derivados de droga vegetal (extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco, e outros)(FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Dentre as inúmeras vantagens dos fitoterápicos estão seu largo uso terapêutico e a grande disponibilidade para a população de baixa renda (CALIXTO, 2000).

O Brasil é um país privilegiado em relação ao emprego da fitoterapia, pois possui 25% da flora mundial e um patrimônio genético de grande potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, o que corresponde a mais de 100 mil espécies, das quais menos de 1% tiveram suas propriedades avaliadas cientificamente para determinar uma possível ação medicinal. Com o crescimento da disponibilidade e incentivo ao emprego de fitoterápicos, entre os programas de prevenção e tratamento de doenças, estudos vêm sendo realizados a fim de avaliar extratos de plantas para a utilização na área odontológica, como controle do biofilme, cárie, candidíase e outras afecções bucais (FRANCISCO, 2010).

A cárie dental é uma das principais patologias que acometem pessoas de todo o mundo, principalmente, crianças em idade escolar. A doença de causa bacteriana é considerada um problema de saúde pública, as quais profissionais da área odontológica procuram prevenir e tratar, além da atuação de outros profissionais da área da saúde que procuram através da pesquisa, suas principais causas, prevenção e tratamento (PIMENTA et al., 2001).

A cárie é uma doença multifatorial, infectocontagiosa, de caráter crônico, causada pelo processo de desmineralização da superfície dental por ácidos orgânicos provenientes da fermentação dos carboidratos da dieta, pelas bactérias (LEITES et al., 2006). Pode ser causada por microrganismos gram-positivos como *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* e gram-negativos, porém, o principal causador da cárie é o *Streptococcus mutans* (CHHOUR et al., 2005).

Dentre as infecções que acometem a cavidade bucal, a mais comum é a candidíase, causada pelo fungo *Candida albicans*. Ocorre principalmente quando sua presença é associada a fatores ligados ao hospedeiro como, por exemplo, fatores nutricionais, prolongada terapia antibiótica, baixa imunidade, desordens endócrinas,

lesões em tecidos moles, higiene bucal deficiente, baixo fluxo salivar e uso de próteses bucais. Essa infecção se não tratada adequadamente pode invadir outros tecidos, disseminar-se e tornar-se muito grave (AKDENIZ et al., 2002; NIKAWA et al., 2001).

Dos hábitos para correta higienização bucal, destacam-se os produtos para redução de microrganismos e prevenção da cárie, são encontrados no mercado odontológico produtos como as pastas, cremes e géis dentais, fio dental e enxaguatórios antissépticos bucais e até mesmo, novas tecnologias envolvendo nanopartículas com flúor. Dessa forma, muito se tem estudado em relação à ação de fitoterápicos na saúde bucal (OLIVEIRA et al., 2007).

Dentre as substâncias naturais utilizadas na odontologia destacam-se aquelas provenientes de extratos das plantas medicinais, com destaque para o Jucá, Gengibre, Alfavaca e Hortelã.

A espécie vegetal *Libidibia ferrea* Martius ex Tul. var. *ferrea* é uma árvore que pertence à família Leguminosae – Caesalpinioideae, Caesalpinaceae, é conhecida como pau-ferro, jucá, ibirá-obi, imirá-itá, muirá-obi, muiré-itá (PIO CÔRREA, 1984). Na Amazônia, esta espécie está presente em todos os estados, sendo registrada no Pará, Rondônia, Amazonas, Roraima e Amapá e encontrada também em todo o Nordeste e Sudeste (QUEIROZ, 2009; LEWIS, 2012).

Na medicina popular, inúmeras propriedades terapêuticas são descritas, como a utilização da entrecasca para o tratamento de feridas, contusões, combate à asma e à tosse crônica. Os frutos são antidiarreicos, anticatarrais e cicatrizantes e as raízes são antitérmicas (MAIA, 2004). Segundo DI STASI et al., 2002, a planta possui atividade anti-histamínica e anticoagulante.

Vários estudos envolvendo produtos derivados de *L. ferrea* tais como, extratos de raízes, do caule, da casca do caule, da vagem, da casca do fruto e das folhas vêm sendo realizados ao longo dos anos (CARVALHO et al., 1996, VASCONCELOS et al., 2011). De acordo com estudos realizados por SILVA et al., 2010, as cascas de frutos e folhas apresentam altos níveis de ferro, manganês e zinco podendo complementar a dieta alimentar. Apresenta atividade analgésica, anti-

inflamatória e antibacteriana contra patógenos da cavidade bucal (CARVALHO et al., 1996; SAMPAIO et al., 2009).

Além disso, nesta espécie vegetal são encontrados ainda os polifenóis, compostos que possuem ação antioxidante convencional, com papel antibacteriano contra estreptococos cariogênicos, principalmente *S.mutans* (SAMPAIO et al., 2009). A ação dos polifenóis resume-se na interação com as proteínas de membrana bacteriana, inibindo a adesão destas células na superfície do dente. Os polifenóis, também, possuem ações de inibição de enzimas de replicação bacteriana e inativação de toxinas bacterianas (SOARES et al., 2006).

Diante o exposto, o presente trabalho teve como objetivo obter um dentifrício contendo extrato seco por aspersão de *L. ferrea* com atividade antimicrobiana contra patógenos da cavidade bucal.

## 1- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1- Fitoterápicos

Desde épocas ancestrais a utilização de plantas como fonte de fármacos para o tratamento das enfermidades que acometem a espécie humana sempre esteve ligada ao cotidiano do homem, servindo de alimento e remédio aos seus males (BENDAZZOLI, 2000). A origem do conhecimento do homem sobre as propriedades medicinais das plantas confunde-se com sua própria história (NOVAIS, 2003).

A fitoterapia, *phyton* (planta) e *therapia* (tratamento), é descrita como uma prática antiga. O primeiro relato manuscrito foi intitulado *Papiro de Ebers*, datado de 1500 a.C. que reuniam informação sobre o diagnóstico e tratamento concreto das doenças, descrevendo a aplicação de substâncias herbais e minerais em 700 medicamentos descritos, alguns dos quais ainda usados nos nossos dias como por exemplo: o ricínocomo laxante (ALONSO, 2008).

O médico grego Pedanius Dioscórides (40-90 dC) escreveu o livro *Matéria Médica*, onde descrevia mais de 600 plantas curativas, que ainda hoje é consultado no Oriente. Galeno (130-200 dC) elaborou formulações com inúmeras plantas, usando métodos por si criados para misturar, extrair e purificar substâncias, dando lugar aos medicamentos de qualidade reproduzível, usados por mais de 1500 anos (ALONSO, 2008).

A partir do século VI os mosteiros tornaram-se locais de referência para os cuidados médicos, surgindo os médicos monges, os boticários dos mosteiros e os enfermeiros. Durante a revolução industrial e com a preocupação em diferenciar os princípios ativos de cada planta e esclarecer os seus efeitos nasceu a Química Orgânica. Esta fase constitui um trampolim à fitoterapia, tendo o farmacêutico alemão Friedrich Wilhelm Adam Sertürner conseguido isolar o princípio ativo do ópio: a morfina no início do século XIX. Também o quinino foi isolado da casca de quina, permitindo dar um passo de gigante no tratamento da malária (ALONSO, 2008).

Com a consolidação do processo de industrialização no início do século XX e o aumento na fabricação de produtos terapêuticos sintéticos mais puros, ativos e

com menos efeitos colaterais, aliados ao difícil controle de qualidade das drogas vegetais e produtos derivados, os medicamentos oriundos de plantas medicinais foram caindo em descrédito gerando uma preferência mundial pelos medicamentos terapêuticos de origem sintética (BERMUDEZ, 1995). Porém, em meados dos anos 2000, notou-se um retorno do interesse pelas plantas medicinais com fins terapêuticos aplicados, devido à grande procura por terapias alternativas. Segundo PINHEIRO (2008), isto pode ser atribuído, principalmente, à ineficiência de alguns produtos sintéticos, ao alto custo dos medicamentos alopáticos e à busca da população por tratamentos menos agressivos ao organismo.

De acordo com a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), os fitoterápicos são medicamentos obtidos a partir de plantas medicinais. Eles são produzidos empregando-se exclusivamente derivados de droga vegetal (extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco, e outros) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Dentre as inúmeras vantagens dos fitoterápicos estão seu largo uso terapêutico e a grande disponibilidade para a população de baixa renda (CALIXTO, 2000).

De um modo geral, os vegetais são excelentes fontes de matéria-prima na busca de novos fármacos, tendo-se em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese química. Deve-se ainda ressaltar a importância de substâncias de origem vegetal na medicina moderna, pois entre 1984 e 1994, dos medicamentos aprovados pelo Ministério da Saúde, 6% foram extraídos diretamente de espécies vegetais, 24% foram produzidos a partir de produtos derivados de vegetais e 9% foram desenvolvidos através de modelagem molecular de estruturas químicas de substâncias vegetais que serviram como protótipos (ALVES, 2001).

Metade dos medicamentos de maior utilização no mundo foi originada de metabólitos secundários de vegetais (ALVES, 2001). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população do planeta de algum modo utilizam plantas medicinais como medicamentos, sendo, no entanto, somente 30% por indicação médica (GARCIA et al., 2012). Os fitoterápicos com maior número de estudos científicos fazem parte de uma lista (Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos), reconhecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA),

e podem obter registro sem necessidade de validar suas indicações terapêuticas e segurança de uso (BRASIL, 2004).

O Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 20% do total mundial, das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO), com destaque para as plantas superiores (NUNES, 1999). Contudo, apenas 8% foram estudadas para pesquisas de compostos bioativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (GUERRA et al., 2001).

A medicina alopática em todo o mundo utiliza 119 drogas, com estruturas químicas definidas que são extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores (CHADWISCK e MARSH, 1990). Alguns autores citam como exemplo a artemisina, papaína, efedrina, rutina, digitoxina, vincristina, vincamina, atropina e o taxol, (KOROLKOVAS e BURCKALTER, 1998).

Numerosas outras substâncias naturais se constituem em precursores de sínteses de valiosas moléculas, como é o caso de sapogeninas extraídas dos carás (*Dioscorea ssp.*) ou do sisal (*Agave ssp.*), que são usados como matéria-prima para síntese de hormônios e anticoncepcionais (MATOS, 1989).

Importantes grupos de pesquisas do mundo inteiro se mobilizam na identificação de novos compostos produzidos por plantas, promovendo modificações químicas em suas estruturas através de processos sintéticos e biossintéticos. Procuram-se novos compostos que possam ser utilizados clinicamente, em baixas dosagens, que apresentem baixa toxicidade, absorvidos por via oral, por períodos prolongados e, ainda, com amplo espectro de aplicação. Vale destacar a artemisina, isolada da *Artemisia annua*, uma lactona sesquiterpênica apresenta um grupo endoperoxídeo com um potente desempenho biológico contra a malária e o taxol, diterpeno isolado da casca de *Taxus brevifolia* utilizado como medicamento em pacientes com câncer de ovário, pulmão, cabeça, pescoço e linfoma (BRAS-FILHO, 1994).

Portanto, o que se tem observado nas últimas décadas é um acentuado aumento nas pesquisas de caráter interdisciplinar que buscam a documentação do conhecimento relativo aos “povos tradicionais”, onde suas interações ecológicas,

simbólicas e culturais com as plantas representam um aparente retorno à revalorização dos processos de cura com espécies medicinais (CASTRO, 2000).

## **2.2- *Libidibia ferrea***

*Libidibia ferrea* foi designada por Martius (1828) como *Caesalpinia ferrea*, entretanto, só foi descrita por Tulasne em 1844. Baillon (1876) transferiu esta espécie para o gênero *Apuleia*. *Libidibia* foi segregado de *Caesalpinia* por LEWIS et al., (2005). QUEIROZ (2009) subordinou *C. ferrea* e suas respectivas variedades ao gênero *Libidibia*, mencionando que essa espécie pertence a um grupo de espécies muito semelhantes, que se distribui principalmente em florestas secas neotropicais. *C. ferrea* (atualmente, *L. ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz) é encontrada nos estados do Amazonas (ULIBARRI, 2008) e Pará (FREITAS, 2009). Ocorre em todo o Nordeste e Sudeste, com exceção de São Paulo no Centro Oeste apenas no Mato Grosso do Sul (QUEIROZ, 2009; LEWIS 2005).

*L. ferrea* Martius ex Tul. var. *ferrea* é uma árvore que pertence à família Leguminosae - Caesalpinioideae (Caesalpinaceae, é conhecida como pau-ferro, jucá, ibirá-obi, imirá-itá, muirá-obi, muiré-itá (PIO CÔRREA, 1984).

A altura da árvore varia de 10-15 m, com tronco curto de 40 a 60 cm de diâmetro que possui manchas claras e fundo escuro. Sua casca tem cor acinzentada, é lisa e fina, e se renova anualmente (Figura 1). Possui flores amarelas brilhantes, pequenas e em cachos, sendo cultivada, muitas vezes, como planta ornamental (Figura 2) (GALDINO et al., 2007).

Os frutos são de cor verde quando imaturo e cor marrom escura na maturação, do tipo legume bacóide (vagem), indeiscente, oblongo, achatado, medindo aproximadamente 10 cm de comprimento e 1 cm de espessura (RODRIGUES et al., 2012). As sementes são escuras, variando da coloração verde a castanho avermelhados, opaca, de consistência firme e tegumento rugoso. As folhas são compostas, bipinadas com ráquis de 16 cm de comprimento, pínulas que variam de 5 a 11, opostas, em 1 – 5 pares (figura 3) (GALDINO et al., 2007).

Esta variedade foi introduzida na Amazônia durante os ciclos da borracha por imigrantes nordestinos, e atualmente em alguns estados da região Norte, está

presente nos quintais, sendo aproveitada como árvore de sombra e para produção de frutos com fins medicinais.



**Figura 1:** Árvore de *L. ferrea* Mart. Ex Tul. var. *ferrea*.

Fonte: <http://portalamazonia.locaweb.com.br/sites/ervas.htm>



**Figura 2:** Folhas e Flores de *L. ferrea* Mart. Ex Tul. var. *ferrea*.

Fonte: <http://www.arvores.brasil.nom.br/florin/pferro.htm>



**Figura 3:** Frutos e sementes de *L. ferrea* Mart. Ex Tul. var. *ferrea*.

Fonte: <http://portalamazonia.locaweb.com.br/sites/ervas.htm>

### 2.2.1- Aspectos Etnofarmacológicos

Diversos farmacógenos da espécie *L. ferrea* são utilizados na medicina popular. As sementes são utilizadas para emagrecer, para alívio de contusões e como depurativo (DE SOUZA, 2009).

As folhas são utilizadas para o tratamento de problemas respiratórios, como as bronquites, além do uso comum contra tosse, resfriados e gripe (COELHO, 2004).

Os frutos(vagem) combatem a anemia e o diabetes (OLIVEIRA et al., 2010). A casca atua como descongestionante no tratamento da enterocolite e diarreia, ameniza os sintomas do reumatismo e atua como agente depurativo (OLIVEIRA, 2010).

As raízes são utilizadas como antipirética e antidiarreica (PIO CÔRREA, 1984).

### 2.2.2- Aspectos Fitoquímicos

Estudos fitoquímicos preliminares dos componentes ativos presentes no extrato bruto da planta destacaram as antraquinonas, alcaloides, flavonoides, lactonas, saponinas, açúcares, taninos, sesquiterpenos, triterpenos e polifenóis (SOUZA et al., 2006).

GONZÁLES et al. (2004), a partir do extrato hidroalcoólico da casca e folhas de Jucá, demonstraram a presença de saponinas, taninos, flavonoides, esteroides, cumarinas e substâncias fenólicas. O extrato aquoso dos frutos foi caracterizado e apresentaram compostos alcaloides, antraquinonas, açúcares, flavonoides, taninos, saponinas, lactonas e triterpenos (CARVALHO, 1993).

NOZAKI et al. (2007) a partir do caule de *L. ferrea* isolaram o composto paufferol A, um derivado de chalcona, que apresentou inibição da DNA-topoisomerase II e induziu apoptose em células leucêmicas.

Dentre os polifenóis presentes nos extratos vegetais, pode-se destacar a presença de ácido gálico e ácido elágico, prováveis substâncias responsáveis pela atividade biológica e terapêutica dos frutos da espécie (UEDA et al., 2004).

A partir do extrato metanólico das folhas de Jucá, foi descrito o perfil químico, onde se encontrou uma mistura de triterpenos, três flavonoides C-glicosilado: isoorientina, orientina e vitexina, e uma mistura de ácido gálico (COELHO, 2004). Os triterpenos podem ser considerados os compostos mais comumente encontrados nesta espécie vegetal, e podem apresentar atividades anti-inflamatórias devido à presença do lupeol e da alfa e beta amirina (GEETHA et al., 2001).

SOUSA et al. (2011) através da caracterização fitoquímica e identificação de princípios ativos de plantas medicinais, verificou a presença de saponinas e flavonoides em extratos alcoólicos de *L. ferrea*.

### **2.2.3-Estudos Farmacológicos**

De um ponto de vista farmacológico algumas das propriedades terapêuticas de *L. ferrea* têm sido descritas na literatura e incluem tratamento de ferimentos e contusões, alívio de tosse crônica e asma (HASHIMOTO, 1996). Além disso, algumas pesquisas mostram que o jucá possui ação anti-ulcerogênica (BACCHI et al., 1995) e anti-inflamatória, bem como propriedades analgésicas (CARVALHO et al., 1996).

CARVALHO et al. (1996) realizaram um estudo preliminar das propriedades analgésica e anti-inflamatórias do extrato bruto aquoso de frutos de *L. ferrea* em ratos tratados com carragenina, substância capaz de induzir a atividade inflamatória. Os resultados mostraram que as amostras inibiram a formação de edema em torno de 40% e os números de contorções foram reduzidos em até 92% nos animais tratados com os extratos aquosos.

UEDA et al. (2001) identificaram dois compostos inibidores da aldose redutase a partir do extrato seco de frutos, de *L. Ferrea*. Os compostos identificados foram o ácido elágico e o 2-(2,3,6- tri-hidroxi-4carboxifenil) ácido elágico. Os dois compostos inibiram significativamente a aldose redutase de forma não competitiva.

O extrato aquoso de *L. ferrea* mostrou-se ainda eficaz no estímulo da mielopoiese frente à listeriose e tumor ascítico de Ehrlich em ratos, promovendo certa proteção contra a dose letal de *Listeria monocytogenes* e aumentando a sobrevivência dos animais respectivamente (QUEIROZ et al., 2001).

NAKAMURA et al. (2002a; 2002b) estudaram dois componentes extraídos de frutos de *L. ferrea*, o ácido gálico e metil galato que apresentaram atividade antitumoral e antiviral. Os constituintes extraídos dos extratos alcoólicos foram avaliados *in vivo* quanto ao seu efeito antitumoral em processos carcinogênicos de pele, no segundo estágio.

SOARES et al. (2006) avaliaram a atividade antibacteriana das tinturas de jucá, aroeira, gengibre, alfavaca, própolis, romã e hortelã da folha graúda, sobre as linhagens de *Streptococcus*, entre eles os *S. aureus*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *Lactobacillus casei*. Dentre as tinturas, o jucá, a aroeira e a própolis apresentaram uma significativa atividade antibacteriana sendo que o gengibre e a alfavaca apresentaram os menores espectros de ação frente às linhagens bacterianas avaliadas.

SOUZA et al. (2006) estudaram o efeito da clastogenicidade e citotoxicidade do extrato aquoso de frutos de *L. ferrea* em células da medula óssea de ratos *Wistar*. Os animais foram tratados com dose de 500, 1000 e 1500 mg/Kg do extrato. O estudo demonstrou que os extratos aquosos dos frutos não tiveram efeito clastogênico e nem citotóxico.

REBOREDO et al. (2007) avaliaram o efeito da administração do extrato aquoso de *L. ferrea* em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozoides de ratos *Wistar*, submetidos a tratamento subagudo. Foram observadas perdas significativas de peso de vesícula seminal dos ratos do grupo tratado com o extrato aquoso de *L. ferrea*, o que poderia ser considerado sugestivo de efeito tóxico no sistema reprodutor.

MENEZES et al. (2007) investigaram os efeitos cardiovasculares do extrato aquoso da casca do caule de *L. ferrea* *in vivo* e *in vitro* e concluíram que doses de 40 mg/Kg do extrato foram capazes de induzir a hipotensão associada a taquicardia em ratos normotensos e induzir a vasodilatação em artéria mesentérica,

considerando assim, essa planta com um potencial de utilização clínica para tratamento de doenças cardiovasculares.

PETERS et al. (2008) estudaram o efeito da toxicidade do extrato aquoso de frutos de *L. ferrea* no sistema reprodutor de ratos durante a implantação de blastocistos, num período de 5 a 7 dias de gestação. Os animais foram tratados com uma dose de 300mg/Kg do extrato diariamente. Os resultados mostraram que o uso dessa planta não apresentou toxicidade significativa e não interferiu na implantação dos blastocistos.

CAVALHEIRO et al. (2009) investigaram as atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *L. ferrea*. Os resultados obtidos mostraram atividade celulásica (capacidade de degradação da celulose, sugerindo presença de microrganismos endofíticos), atividade amilásica (capacidade de degradar o amido), anticoagulante e larvicida contra *Aedes aegypti*. Não apresentaram atividade tóxica aguda, hemolítica, antibacteriana e antifúngica.

SAMPAIO et al. (2009) analisaram a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato metanólico dos frutos de *L. ferrea* contra patógenos da cavidade oral, *C. albicans*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. oralis* e *L. casei*, através do método de microdiluição para células planctônicas e em um modelo de biofilme. Os extratos testados apresentaram atividade antimicrobiana na formação do biofilme, sugerindo seu uso potencial na saúde bucal.

OLIVEIRA et al. (2010) avaliaram a cicatrização de feridas cutâneas abertas em caprinos, tratados com uso tópico de pomada de cascas *L. ferrea*. Durante 21 dias de tratamento, foi observado que houve completa epitelização das feridas e não se observou crescimento bacteriano.

SILVA et al. (2011) realizaram uma análise comparativa da capacidade antioxidante e de proteção ao DNA a partir de extratos hidroalcoólicos dos frutos de *L. ferrea*. Os resultados mostraram uma significativa atividade antioxidante, devido principalmente à presença de compostos fenólicos que são capazes de neutralizar os radicais livres, impedindo assim possíveis danos às estruturas do DNA.

VASCONCELOS et al. (2011) investigaram as propriedades hipoglicemiantes da casca do caule de *L. ferrea* em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina e examinaram os efeitos do extrato aquoso sobre a fosforilação e a expressão de proteína quinase B (PKB / Akt), AMP-proteína quinase ativada (AMPK) e acetil-CoA carboxilase (ACC) em músculo esquelético. Os resultados mostraram que o extrato aquoso reduziu os níveis de glicose no sangue e houve uma melhora significativa no estado metabólico dos animais testados.

FREITAS et al. (2012) avaliaram as atividades biológicas do extrato bruto aquoso e uma fração aquosa a partir dos frutos de *L. ferrea*. Os resultados mostraram que os extratos testados não possuem atividades citotóxicas ou antitumorais em linhagens de células tumorais, apresentaram baixa toxicidade e nenhuma ação contra tumores *in vivo*. Ambas as preparações revelaram ainda atividades anti-inflamatória e antinociceptiva.

PEREIRA et al. (2012) avaliaram frações polissacarídeas de frutos de *L. ferrea* e o potencial anti-inflamatório, e concluiu que os frutos possuem atividade anti-inflamatória potente através da modulação negativa da histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandina E2 em edemas induzidos por carragenina.

MARTINS et al. (2014) avaliaram em seu estudo a inibição do crescimento e da produção de aflotoxina de *Aspergillus parasiticus* a partir de extratos dos frutos de *Paullinia cupana Kunth* (guaraná) e *L. Ferrea* (jucá) pelo método de difusão em ágar com concentrações dos extratos de 1,08, 1,62e3,24%. Os resultados mostraram que tanto o guaraná quanto o jucá apresentaram efeitos inibitórios sobre o crescimento fúngico e na produção de aflotoxinas nas diferentes concentrações aplicadas.

SAWADA et al. (2014) avaliaram a ação antinociceptiva, efeito central e periférico, e possível envolvimento de receptores colinérgicos e opiáceos em camundongos a partir do extrato aquoso de sementes maduras de *L. ferrea* e demonstraram que em concentrações do extrato variando de 1,5 a 10 mg/kg, os testes apresentaram efeitos antinociceptivo dose-dependente e, em todos os testes apresentaram propriedades anti-inflamatórias e analgesia periférica e central. Os resultados do estudo sugeriram que *L. ferrea* induza a atividade antinociceptiva e que,

possivelmente está relacionada com a sua capacidade para inibir os opiáceos, os receptores colinérgicos, e as vias da ciclooxygenase-2.

MARREIRO et al. (2014) avaliaram a estabilidade e a atividade antimicrobiana do extrato etanólico dos frutos de *L. ferrea* contra os *S. Oralis* e *S. mutans* utilizando o método da microdiluição e puderam concluir que em todas as diluições seriadas variando de 100 µL a 3,125 µL o extrato apresentou atividade inibitória frente aos patógenos testados.

### 2.3- Fitoterápicos utilizados na Odontologia

Os fitoterápicos possuem um amplo espectro de ações farmacológicas, das quais se pode destacar a anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica e a ansiolítica, que podem ser de grande interesse para a odontologia. Das espécies vegetais já pesquisadas para utilização em odontologia destacam-se a romã, aroeira, copaíba, gengibre, própolis, malva, hortelã, menta, canela, cacau, camomila, sálvia, tomilho e jucá (PINHEIRO e ANDRADE, 2008).

GEBARA et al. (1996) avaliaram a ação antibacteriana de tinturas de malva, cacau, salva, camomila, tomilho e própolis sobre *S. mutans* e *S. sobrinus* "in vitro". As concentrações das tinturas variaram entre 0,05 e 0,16 mg/ml. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) para *S. mutans* foram de 0,06; 0,10 e 0,04 mg/ml para tomilho, cacau e própolis, respectivamente. Para *S. sobrinus*, as CIM foram de 0,04; 0,12 e 0,02 mg/ml para tomilho, cacau e própolis respectivamente. Malva, sálvia e camomila não apresentaram ação antimicrobiana.

SAMPAIO (1997) pesquisou plantas adstringentes brasileiras e relatou que, no Brasil, usava-se uma mistura do suco do tronco da bananeira (*Musa sapienten Linn*) com água, obtendo excelente ação em aftas. Também para aftas, indicava-se o decocto da casca do cajueiro (*Anacardium occidentale Linn*). Acrescenta ainda que o pó da madeira do pau-brasil (*Caesalpinia echinata Lam*) era aconselhado para o fortalecimento gengival, assim como as folhas da mangueira (*Mangifera indica Linn*), no caso de ulcerações bucais.

A hortelã graúda apresenta propriedade antibacteriana, atribuída às substâncias carvacrol e tenol (ALMEIDA, 1993; DINIZ, 1997). O Eucalipto é um dos

remédios caseiros mais comuns. OYEDEJI et al., (1999) descreveram a ação antibacteriana e antifúngica de extratos de eucalipto.

A própolis é uma substância com composição bastante complexa, variando de acordo com sua origem botânica, tendo sido isolados mais de 300 componentes químicos. Um dos seus principais efeitos biológicos é a atividade antimicrobiana. As ações antissépticas, anti-inflamatórias e cicatrizantes da própolis já estão comprovadas cientificamente (COSTA, 1992; MATOS, 1991; DINIZ, 1997; MARTINS, 1998). A ação da própolis sob a forma de bochecho sobre o biofilme dentário e a gengivite foi testada por DUARTE E KFOURI (1999), não encontrando diferença estatisticamente significativa no mecanismo de formação do biofilme e nos sinais clínicos da gengivite entre os grupos teste e controle. Um estudo realizado por PANZERI et al., (1999) mostrou que um dentifrício fluoretado contendo própolis a 3% foi mais eficiente que outro dentifrício semelhante, porém, sem própolis no controle do índice gengival.

PEREIRA (1998) estudou ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico da casca da romã (*Punica granatum Linn.*), frente aos *S. mitis*, *S. mutans* e *S. sanguis*. Esta ação antibacteriana foi ainda comparada à atividade antibacteriana da clorexidina. Foi verificado que todas as linhagens bacterianas se mostraram sensíveis ao extrato ativo de romã. Plantas da família das Punicáceas, a romã, tem apresentado ação bactericida e bacteriostática sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas constituintes do biofilme dental (PEREIRA, 2002).

O óleo de copaíba vem sendo indicado, há mais de quatro séculos, para diversos fins farmacológicos. Este óleo é exudato do tronco da copaibeira. Os estudos de atividade antibacteriana mostraram atividade bactericida e bacteriostática do óleo frente ao *S. mutans* (VEIGA; PINTO, 2002). O óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) mostrou atividade contra *S. mutans*, além de atividade analgésica. Já os óleos, de cajueiro (*Anacardium occidentale*) e do cravo (*Eugenia caryophyllata T.*) podem ser utilizados em caso de odontalgias (MACIEL et al., 2002).

TREVIZANI (2002) observou redução do índice de sangramento gengival em indivíduos que fizeram uso de gel dentifrício contendo, em associação, extratos hidroalcoólicos de *Rosmarinus officinalis*, *Plantago major*, *Tabebuia impetiginosa*, *Achillea millefolium* e *Nasturtium officinale*, sugerindo efeito antigengivite, através de

possível ação anti-inflamatória de seus componentes ativos e/ou por alteração da qualidade do biofilme dento-bacteriano.

PINHEIRO et al. (2003) constataram o efeito ansiolítico da *Valeriana officinalis* L. em voluntários submetidos a exodontias de terceiros molares inclusos, administrada em uma única dose de 100 mg.

BIANCO (2004) constatou a capacidade de inibir o crescimento bacteriano a partir extratos vegetais aquosos e hidroalcoólicos, de folha de araçá (*Psidium cattleianum*), folha de aroeira do sertão (*Astronium urundeuva*), caule de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolius*), casca e folha de candeia (*Vanillosmopsis erythropappa*) e folha de jacarandá caroba (*Jacaranda cuspidifolia*).

PEREIRA et al.(2005) avaliaram a atividade antimicrobiana de um dentifrício a base do extrato da *Punica granatum Linn* ( Romã) *in vitro* e *in vivo* em cinco linhagens bacterianas do biofilme dental: *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus* e *L. casei*. O extrato foi efetivo nas cinco linhagens ensaiadas e ainda foi observadas redução do número de *S. mutans* em 53,84%.

Outro produto muito utilizado na cultura popular é o alho (*Allium sativum*) que demonstrou atividade contra bactérias orais, principalmente com uso de enxaguatórios contendo este produto (SALGADO et al., 2006).

CORDEIRO et al. (2006)desenvolveram uma formulação de enxaguatório bucal contendo em associação, os extratos hidroalcoólicos das espécies vegetais *R.officinalis* (Alecrim), *P. major* (Tanchagem), *T.impetiginosa* (Ipê-roxo), *A. millefolium* (Mil-folhas) e *N.officinale* (Agrião) e avaliou a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas *P. aeruginosa* , *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o enxaguatório bucal contendo extratos vegetais foi capaz de inibir o crescimento de todas as bactérias estudadas.

A aroeira (*S. terenithiofolius*) possui ação antimicrobiana, anti-inflamatória e antiulcerogênica, sendo utilizada como antisséptico e no tratamento de estomatites. Além disso, apresenta atividade bactericida e bacteriostática sobre *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *L.casei* e ação antifúngica sobre *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. Krusei* (BRANDÃO et al., 2007).

Além de serem utilizadas por sua ação antisséptica e antibacteriana, as plantas medicinais tem outras aplicações, como é o caso do açai (*Euterpe oleracea*) que produz um evidenciador de placa dental com eficiência de 90% superior a produtos comercializados tais como o verde de malaquita, a fucsina e a eritrosina. (SOYAMA, 2007).

VASCONCELOS et al.(2008) formularam um cimento odontológico obtido da associação do óxido de zinco, hidróxido de cálcio e óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne e avaliaram sua atividade antibacteriana através do teste de diluição em meio líquido frente às cepas de *S. mutans* e *S. sanguinis*. Todos os grupos analisados demonstraram atividade antibacteriana e o óleo de copaíba apresentou-se com grande potencial para o uso como veículo ao cimento.

GARCIA et al. (2010), avaliaram a atividade antimicrobiana da própolis verde e vermelha, contra *S. mutans*, que resultou em maior atividade do própolis vermelho contra os causadores de cárie e elaborou um enxaguatório bucal que eliminasse todas as bactérias causadoras da cárie.

VINAGRE et al. (2011), verificaram o desempenho de um enxaguatório bucal fitoterápico, contendo tintura padronizada de *Calendula officinalis*, na melhora da saúde periodontal. O enxaguatório fitoterápico foi eficaz na redução do sangramento gengival podendo ser sugerido, também, como uma solução inovadora que atua promovendo benefícios adicionais à melhoria da saúde periodontal.

## **2.4- Cárie Dental**

A cárie dental pode ser tida como uma doença típica do homem civilizado e, de maneira genérica, todo indivíduo adulto durante sua vida é acometido pela cárie dental, datando, porém, da pré-história o aparecimento da cárie entre os seres humanos. Num exame de 100 crânios do homem de Neanderthal não se constatou a presença de cárie, significando não a sua ausência, mas sim uma incidência de cárie apenas ocasional neste período, restrita a uns poucos espécimes. Porém a partir de um maior consumo de açúcar por volta de 1665, a incidência de cárie aumentou drasticamente (PINHEIRO, 1983).

A doença cárie não se instala a partir do momento em que há lesão visível clinicamente e sim muito antes disto. Assim, a atividade de cárie deve ser considerada alta quando muitos fatores cariogênicos estão presentes e em condições críticas. Desse modo, novas lesões cariosas podem ser realmente evitadas. Dentro dos novos conceitos de prevenção à doença cárie, está o estabelecimento do prognóstico do aparecimento de “novas” lesões, associado ao risco do paciente desenvolver a doença. Com as novas correntes de prevenção, o conceito de risco torna necessária uma forma de avaliação mais abrangente, incluindo informações sobre a dieta do paciente, fatores salivares e microbiota (ADAMS, 1995; NEWBRUN, 1993; WEYNE, 1989).

A relação entre cárie e bactéria é discutida há muito tempo. Em 1683, Antony Van Leeuwenhoek descreveu, através do uso de uma lente de aumento, a presença de “animáculos” em um material esbranquiçado, com consistência de manteiga, encontrado sobre os seus dentes quando estes não eram limpos (LINDHE, 1992).

A cárie dental durante muito tempo foi, e talvez ainda seja, tratada apenas no sentido mais estrito da palavra (do latim destruição, decomposição) limitando-se o seu tratamento apenas à remoção do tecido cariado e obturação da cavidade decorrente (MARINHO, 1998).

Após a descoberta por Clarke em 1924, o *S.mutans* permaneceu por, aproximadamente, 35 anos praticamente ignorado, até que em 1960 foi “redescoberto” por Fitzgerald e Keyes. A situação taxonômica dos estreptococos cariogênicos está bem definida nos “Estreptococos do Grupo Mutans” (EGM). Existem sete espécies que estão incluídas no EGM: *S. mutans*, *S.sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. downei*. Das espécies acima, o *S. mutans* e *S. sobrinus* apresentam potencial cariogênico em humanos (MALTZ, 2000).

Segundo LOESCHE (1993), a cárie dentária pode ser definida como um processo de dissolução do esmalte ou de dentina, causada por ação bacteriana na superfície do dente e mediada por um fluxo físico-químico de íons dissolvidos em água. É um produto direto da variação contínua do pH da cavidade bucal, sendo o resultado de sucessivos ciclos de desmineralização (DES) e de remineralização (RE)

de minerais presentes na saliva, como o cálcio e o fosfato, sobre a superfície dentária, sendo que a perda do equilíbrio DES X RE ocorre quando o pH fica abaixo de 5,5. Atingido o pH inferior a 5,5, a consequência será a dissolução do esmalte.

A era científica no estudo da doença cárie teve início em 1890, com os estudos de Miller isolando, corando e identificando bactérias nos laboratórios de Robert Koch. Esse pesquisador estudou a participação microbiana na cárie, doença periodontal e infecção pulpar, levando à publicação do livro “Microorganisms of the Human Mouth”. Nesta publicação relatou a tese revolucionária de que os microrganismos atuando sobre os carboidratos da dieta resultavam na produção de ácidos que determinavam a descalcificação do esmalte dentário (Teoria químico-parasitária) (UZEDA, 2002).

As bactérias do gênero *Lactobacillus* compreendem um grupo de organismos que tem um papel mais importante na progressão do que na instalação da cárie dental. São bastonetes Gram-positivos, anaeróbios facultativos e às vezes micro-aerófilos. Uma característica importante é a sua capacidade acidogênica (produzir ácido) e acidúrica (sobreviver no meio ácido) e sua capacidade de realizar tanto o metabolismo oxidativo como fermentativo. As espécies *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, são homofermentativas, produzem ácido láctico. *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. buchneri* e *L. cellobiosus* são heterofermentativos, produzem vários ácidos orgânicos (ácido acético, ácido láctico) além do etanol e dióxido de carbono (UZEDA, 2002).

Na cavidade oral as superfícies dentais são recobertas por depósitos microbianos, com espessura determinada de acordo com sua localização. Os microrganismos precisam aderir-se firmemente a uma superfície, caso contrário, serão levados pelo fluxo salivar e deglutidos, dessa forma a maioria dos microrganismos são encontrados em áreas de estagnação (MARSH e MARTIN 2005).

Em relação à transmissibilidade da cárie, há evidências de que as mães são a fonte de infecção primária nas crianças, e que o nível de infecção da mãe é um preditor do grau de infecção e do desenvolvimento das lesões de cárie da criança (BERKOWITZ, 2003).

O principal problema de saúde bucal no Brasil é a cárie dental, tendo como primeiro agente etiológico o *S. mutans*, microrganismo com potencial de produzir cárie superior ao de qualquer outro acidogênico da placa supragengival (ROSELL, 2004).

O *S. mutans*, após sua redescoberta em 1960 por Fitzgerald e Keyes, tem sido, conforme relata a literatura, apontado como a principal bactéria em relação à etiologia da cárie (LEITES et al., 2006).

Sabe-se da indispensabilidade de microrganismos na superfície dental para que tenhamos o desenvolvimento da doença cárie, porém só a presença deles não é o bastante. Fatores como higiene, hábitos alimentares, colonização bacteriana, composição da saliva, entre outros, influenciam o metabolismo das bactérias sobre os dentes, modulando a atividade da cárie (MARSH e MARTIN 2005).

LEITES et al., (2006) classificam os diferentes tipos de microrganismos presentes em diferentes tipos de cárie destacando-se: cárie de sulco e fissura, iniciando com a presença de *S. sanguis*, e com o envelhecimento do biofilme aumentam o número de *S. mutans* e lactobacilos. Cárie de superfície lisa, os microrganismos encontrados com maior frequência são o *S. mutans* e *S. salivarius*; a Cárie de dentina há predomínio de bastonetes Gram-positivos, tais como: *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* observando-se um menor número de *S. mutans* e bactérias Gram-negativas; Cárie de superfície radicular, onde os microrganismos predominantes são os *S. mutans*, *L. acidophilus* e *Actinomyces israeli*.

LIMA (2007), em seus estudos, concluiu que a cárie dentária não deve ser considerada uma doença, mas simplesmente uma lesão do esmalte de causa local, sem fatores etiológicos determinantes, porém provocada pelo desequilíbrio de fatores considerados fisiológicos, pertencentes à biodiversidade do ser humano e especificamente da cavidade bucal. Assim, uma estratégia objetiva de prevenção dever ser buscar o equilíbrio biológico, sem perder de vista a qualidade de vida do ser humano.

## 2.5- Candidíase Bucal

De acordo com a literatura, atualmente são descritas 197 espécies de *Candida* pertencentes ao Reino *Fungi*, divisão *Eumycota*, subdivisão *Deuteromycotina*, Classe *Blastomycetes* e Família *Cryptococcaceae* (BARBEDO, 2010).

As *Candidas* são leveduras que se caracterizam como fungos oportunistas apresentando-se na forma comensal na superfície de peles e mucosas. Aproximadamente, cerca de 20% a 50% da população apresenta espécies de *Candida* na cavidade oral, sendo predominantemente de 60% a 90% a espécie *Candida albicans*. Embora a *C. albicans* seja considerada o principal agente etiológico da candidíase bucal, outras espécies podem ser encontradas como, *C. dubliniensis*, *C. Krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* (CATE, 2009).

A candidíase é a mais comum manifestação clínica de infecção por *C. albicans* na cavidade bucal. Essa infecção se não tratada adequadamente pode invadir outros tecidos, disseminar-se e tornar-se muito grave (AKDENIZ et al., 2002; NIKAWA et al., 2001).

*C. albicans* pode estar presente no homem como sapróbio ou causando infecção, principalmente quando sua presença é associada a fatores ligados ao hospedeiro como, por exemplo, fatores nutricionais, prolongada terapia antibiótica, baixa imunidade, desordens endócrinas, lesões em tecidos moles, higiene bucal deficiente, baixo fluxo salivar e uso de próteses bucais. Esses fatores seriam desencadeantes de infecção, porém, a severidade desta, além de estar relacionada a fatores do hospedeiro, também, deve-se às propriedades inerentes ao próprio microrganismo (MOREIRA et al., 2001).

A colonização de leveduras na cavidade bucal dá-se devido à capacidade de aderência às células epiteliais. A aderência é considerada o primeiro estágio de colonização de *C. albicans*, com subsequente disseminação da levedura quando ocorre desequilíbrio nos mecanismos de defesa do hospedeiro. A aderência envolve macromoléculas de superfície celular microbiana que interagem com macromoléculas de determinado substrato. Há evidências que *C. albicans* podem produzir mais de uma estrutura de aderência, ou que mais de uma dessas estruturas

possam estar envolvida nesse processo, como proteínas, lipídeos e manoproteínas como a adesina (PIRES et al., 2001). Ainda, a colonização depende de diversos fatores como o número de células que entram na cavidade bucal, sua aderência e crescimento, penetração nos tecidos e remoção dessas células da cavidade bucal, por diferentes mecanismos (KOMIYAMA et al., 2007).

*C. albicans*, possui a capacidade de colonizar diferentes superfícies epiteliais da cavidade bucal e o surgimento de novos nichos favorece a colonização por novos microrganismos; conforme esse processo continua, a diversidade e complexidade aumentam, chegando a microbiota bucal a possuir mais de 300 espécies microbianas (CASTRO e MOCHIDOME, 2000).

São encontradas principalmente no dorso da língua, onde as papilas filiformes e reentrâncias servem de sítios que fornecem proteção e favorecem o desenvolvimento de infecção (ARENDORF e WALKER, 1980). Além desses sítios, essas leveduras também têm sido isoladas do biofilme bacteriano dental, lesões de cárie, microbiota subgingival, saliva e em canais radiculares (CANNON e CHAFFIN, 1999).

Vários trabalhos vêm investigando a relação entre a colonização por *C. albicans* e a presença de lesões de cárie. REGO et al., (2003) analisaram o efeito da adequação do meio bucal sobre contagens de leveduras do gênero *Candida* em crianças cárie ativas e portadoras, de 4 a 10 anos, e concluíram que este procedimento clínico demonstrou ser eficiente na diminuição das contagens da levedura.

MOREIRA et al. (2001) avaliaram as diferentes espécies de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de 239 estudantes de diferentes classes sócio-econômicas, porém os autores consideraram que pelo fato do grupo analisado ser de baixo risco à cárie, não houve relação positiva entre a presença de lesões de cárie e colonização por *C. albicans*.

MOALIC et al. (2001) investigaram a colonização por *C. albicans* na cavidade bucal de 353 estudantes franceses e puderam comprovar a associação da atividade de cárie à presença da levedura.

BRANTING et al. (1989) estudando estomatites bucais em portadores de próteses em acrílico, avaliaram a adesão de *C. albicans* e *S. mutans* em 24 superfícies acrílicas incubando os microrganismos em meios contendo glicose e sacarose e concluíram que na presença de sacarose *S. mutans* aderiu fortemente à superfície acrílica, enquanto que *C. albicans* em presença tanto de glicose como sacarose apresentou-se fracamente ligada à superfície acrílica. Além disso, foi também verificada coagregação entre *S. mutans* e *C. albicans* na presença de sacarose, o que não ocorreu na presença de glicose. Neste trabalho, os autores concluíram que a presença de *S. mutans* em meio rico em sacarose pode favorecer a aderência de *C. albicans* pela presença de polímeros extracelulares produzidos pela bactéria.

BEIGHTON et al. (1995) relacionaram a alta prevalência de *Candida ssp.* em (58,5%) 82 lesões de cárie de raiz. Sabe-se que a desmineralização da superfície radicular ocorre em pH na faixa entre 4,3 a 5,0, portanto, tem sido frequente a utilização de desafio de pH nos modelos experimentais “in vitro” decáries de raiz sugerindo a colonização eficiente por *C. albicans* em regiões dentais recobertas pelo fluido gengival.

De acordo com os trabalhos relatados, há evidências que *C. albicans* e *S. mutans* interagem “in vitro” pelos seus mecanismos de aderência e coagregação, porém para que essas evidências sejam comprovadas no meio bucal, ainda há necessidade de maior quantidade de estudos, pois vários fatores devem ser considerados nessa interação.

## **2.6- Produtos com Ação Antimicrobiana Bucal**

O mercado odontológico apresenta muitos produtos que promovem a prevenção de patologias bucais, entre eles destacam-se os dentífricos (pastas, cremes e géis dentais) e os enxaguatórios antissépticos bucais. Dentre os principais agentes antimicrobianos pode-se citar a Clorexidina, o Cloreto de cetilpiridíneo e os óleos essenciais, além dos removedores de restos alimentares e de biofilme, com ação mecânica, a escova e o fio dental.

Altamente eficaz, a Clorexidina é em geral utilizada como substância padrão para medir a potência de outros agentes. Ela é classificada quimicamente como uma Bis-guanidina, apresentando propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Possui largo espectro bacteriano, alta substantividade, é segura e efetiva (EMILSON, 1994). Acredita-se que os efeitos da clorexidina na formação da placa sejam devidos a suas atividades bactericidas, quando em altas concentrações, e pela inibição de enzimas glicolíticas e proteolíticas quando em baixas concentrações. Atua na desorganização geral da membrana celular e inibição específica de enzimas da membrana bacteriana. Ela inibe a incorporação de glicose pelos *S. mutans* e seu metabolismo para ácido láctico. Pode ser encontrada veiculada em dentifrícios, vernizes ou soluções. Entretanto, seu uso em dentifrícios pode ser indevido, pois estes em geral apresentam detergentes (ex. lauril sulfato de sódio), incompatíveis com a clorexidina, reduzindo sua ação. Na forma de solução, a concentração preferida é de 0,12%, utilizada duas vezes ao dia (TORRES, 2000).

Substâncias presentes em óleos essenciais, tais como timol, eucaliptol e mentol, são moléculas fenólicas que agem inespecificamente sobre bactérias, não havendo desequilíbrio nem proliferação de microrganismos oportunistas. Até o presente momento, o único agente disponível no mercado comercial desta categoria é o Listerine® (Warner-Lambert) que é uma mistura de óleos essenciais: timol, mentol, eucaliptol e salicilato de metila. O mecanismo de ação parece ser a alteração da parede celular bacteriana. Este produto não tem carga e tem uma baixa substantividade. Como efeitos adversos, destaca-se a sensação de queimação e gosto ardido (TORRES, 2000).

O mecanismo de ação do cloreto de cetilpiridíneo está relacionado com o aumento da permeabilidade da parede celular, que favorece a lise, diminui o metabolismo celular, e a habilidade da bactéria em se aderir a superfície dentária. A retenção inicial do cloreto de cetilperidínio é mais alta do que a da clorexidina, mas ele é removido mais rapidamente da cavidade bucal (CURY, 2002).

Os dentifrícios são formas farmacêuticas cosméticas que geralmente apresentam na sua composição sólidos abrasivos, tais como carbonato de cálcio, sílica hidratada, pirofosfato de cálcio e óxido de magnésio, essenciais para garantir a remoção de manchas dos dentes; os agentes detergentes, que diminuem a tensão

superficial, permitindo a penetração nas fissuras dentais e auxiliando na remoção dos detritos da superfície dentária, sendo mais utilizado o lauril sulfato de sódio; e por outras substâncias como os flavorizantes que tem a função de promover sabor e refrescância, sendo as mais utilizadas essências de hortelã, menta, canela e eucalipto; e pelos solventes, os quais são responsáveis pela solubilização e ou dispersão dos componentes na formulação, onde os mais usados são água e álcool (CURY, 2002; SILVA, 2001). Possuem ainda agentes umectantes, responsáveis por reter umidade e evitar o ressecamento do produto, sendoos mais utilizados a glicerina, polietileno glicol e o sorbitol. Apresentam aglutinantes que impedem a separação dos componentes líquidos e sólidos, proporcionando estabilidade do produto ao longo do tempo e viscosidade adequada, como exemplo destacam-se a carboximetilcelulose, metilcelulose e goma de xantana (CURY, 2002).

Dentre os principais compostos com atividade antimicrobiana presente nos dentifrícios pode-se destacar o Triclosan e o Flúor (GEBRAN, 2002; AQUINO, 2004). O Triclosan é um antimicrobiano não iônico de amplo espectro que inibe bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos. Apresenta baixa toxicidade e tem como sítio de ação a membrana bacteriana, devido a sua natureza lipolítica age aumentando a permeabilidade da parede celular por adsorver-se na porção lipídica da membrana, resultando na liberação do conteúdo citoplasmático da bactéria. Apresenta eficácia na redução da placa, pois inibe a adesão, o crescimento e a colonização bacteriana, o que justifica o seu uso em dentifrícios e enxaguatórios bucais (AQUINO et al., 2004).

Devido a sua rápida liberação, a substantividade (capacidade de ficar retido na cavidade bucal) do Triclosan é considerada baixa, sendo então associado ao gantrez, um copolímero que aumenta o seu tempo de retenção e biodisponibilidade na mucosa bucal, na saliva, na superfície dentária e na placa (AQUINO et al., 2004; CORTELLI et al., 2003).

O Flúor atua interferindo no início e na progressão da doença cárie, além de manter o equilíbrio mineral dos dentes e alterar o metabolismo de alguns microrganismos por inibir enzimas glicolíticas (DITTERICH et al., 2007).

Considerando-se que o dentifrício continua sendo a melhor maneira de aplicar um agente terapêutico em manifestações patológicas da cavidade bucal, as

empresas de dentifrícios apresentam atualmente diferentes composições para estes produtos, visando atender às preferências pessoais e as necessidades dos diversos tipos de consumidores:

- preferência pessoal pela forma gel ou pasta e opções de sabores;
- diferentes faixas etárias destinados a bebês, crianças, adultos e idosos;
- necessidades específicas: tratamento de sensibilidade dentinária, gengivite, tártaro, etc.

Em relação à diferença na constituição de uma pasta dental e um gel, apresenta-se como principal característica o aspecto opaco e de maior consistência das pastas devido ao seu elevado conteúdo em sais de cálcio (CURY, 2002).

## **2.7- Formas Farmacêuticas Semissólidas**

As preparações farmacêuticas semissólidas incluem os géis, as pastas, as pomadas e as emulsões cremosas. A propriedade que lhes é comum é a capacidade de adesão à superfície de aplicação por um período razoável de tempo antes de serem removidas por lavagem ou devido ao uso. Esta adesão deve-se ao comportamento reológico plástico, que permite aos semissólidos manter a sua forma e aderir com um filme até a aplicação de uma força externa, caso em que se deformam e fluem (LACHMAN et al., 2001).

Entre as formas farmacêuticas semissólidas, os géis ganham destaque em produtos cosméticos e farmacêuticos por apresentarem algumas vantagens, em relação aos cremes e pastas, como fácil espalhabilidade e por poderem veicular princípios ativos hidrossolúveis e lipossomas (CORREA et al., 2005).

### **2.7.1- Géis**

São definidos como sistemas semissólidos constituídos por dispersões de pequenas partículas inorgânicas ou de grandes moléculas orgânicas, encerradas ou interpenetradas por um líquido. Geralmente, as substâncias formadoras de géis são polímeros que, quando dispersos em meio aquoso, doam viscosidade à preparação. A consistência dos géis decorre do forte entrelaçamento da fase

dispersa que retém e segura o meio de dispersão em sua rede, existindo, portanto, uma estrutura interna possuidora de esqueleto, a qual é responsável por sua viscosidade estrutural (AULTON, 2005; ALLEN Jr. et al., 2007).

Os polímeros são basicamente substâncias de alto peso molecular, também, chamados de macromoléculas. O tipo de polímero empregado na formulação do gel pode influenciar o comportamento reológico desta e, portanto, pode influenciar a estabilidade física do produto (CORREA et al., 2005).

Os tipos de géis mais utilizados como formas farmacêuticas são os géis hidrofílicos (hidrossolúvel, hidrogéis), obtidos pela incorporação de agentes gelificantes à água, ao glicerol ou ao propilenoglicol, tais como amido, celulose, e seus derivados, polímeros de carboxivinil e silicatos de magnésio-alumínio, e os géis hidrofóbicos (oleogéis) constituídos usualmente de parafina líquida com polietileno ou óleos gordurosos com sílica coloidal ou sabões de alumínio ou zinco, sendo relativamente pequena a quantidade de preparações apresentadas como oleogéis (FERREIRA; LEITE, 2008).

Os géis hidrófilos são mais utilizados ou mais comuns, em produtos cosméticos e dermatológicos, pois apresentam fácil espalhamento, não são gordurosos e podem veicular ativos hidrossolúveis. As substâncias formadoras de géis, geralmente são polímeros, que quando dispersos em meio aquosos, doam viscosidade a formulação (CORREA et al., 2005).

Para o desenvolvimento de géis se faz necessário e importante conhecer as características e estabilidade desses polímeros, com intuito de promover uma seleção adequada dos excipientes da formulação.

Uma das análises mais impactantes no estudo de um gel é a análise de reologia que, segundo ANSELet al., (2000), pode ser definida pelo estudo do fluxo levando-se em conta as características de viscosidade de pós, líquidos e semissólidos. São divididos em duas categorias: newtonianos e não-newtonianos. O fluxo newtoniano caracteriza-se por viscosidade constante, independente da velocidade de cisalhamento aplicada. O fluxo não-newtoniano caracteriza-se por mudança da viscosidade com o aumento da velocidade de cisalhamento.

A viscosidade é a medida da resistência do fluido ao fluxo de um sistema após a aplicação de estresse. Sendo assim, quanto maior a viscosidade, maior será a resistência e a força aplicada para produzir o fluxo com determinada velocidade (THOMPSON, 2006; CORREA et al., 2005).

Os géis hidrossolúveis possuem na maioria das vezes, comportamento reológico do tipo pseudoplástico e tixotrópico, ou seja, deformam-se durante a aplicação tornando-se mais fluidos, facilitando o espalhamento e recuperando a viscosidade inicial no momento em que encerra a aplicação, evitando que o gel escorra (AULTON, 2008).

Há uma grande diversidade de matérias-primas disponíveis para a preparação de géis, sendo que esses agentes gelificantes podem ser divididos em três classes: derivados de celulose (metilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica); não-celulósicos (gomas, pectina, ágar) e polímeros do ácido acrílico (carbômeros – Carbopol®) e (LOPES et al., 2005).

## **2.7.2- Principais Polímeros Gelificantes**

### **2.7.2.1-Hidroxietilcelulose (natrosol® 250)**

É um polímero não-iônico estável na faixa de pH 2 a 12, composto por grupos hidroxietila ligados à cadeia de celulose e também se encontra disponível em diferentes graus de viscosidade. Hidroxietilcelulose (HEC) é solúvel tanto em água quente como em água fria (AULTON, 2008).

O gel de HEC é uma das bases de celulose de maior interesse para a veiculação de ativos devido seu caráter não-iônico que permite sua utilização em uma ampla faixa de pH. É muito indicado para a incorporação de ativos que levam a um abaixamento do pH final da formulação. Embora bem tolerados, pHs extremos podem causar alterações na viscosidade (AULTON, 2008).

### 2.7.2.2- Carbopol®

Carbopol® é um polímero de ácido acrílico de alto peso molecular. É fornecido na forma pulverizada, como ácido livre. É um dos polímeros mais comuns para fase aquosa. Muito utilizado em formulações farmacêuticas líquidas ou semissólidas, como agente gelificante em géis, suspensões e emulsões (CORREA et. al., 2005).

O Carbopol® 940 é o mais utilizado para produzir géis cristalinos e brilhantes, e apresenta o maior efeito espessante dentre os polímeros de carbopol®. O uso tópicos desses géis é vantajoso, pois apresentam bom comportamento reológico, e permanece maior tempo no local administrado (MERCLIN et al., 2004).

O polímero de Carbopol® quando em dispersão em água, umecta e forma uma dispersão aquosa com valor de pH na faixa de 2,8 – 3,2. Nesse estado, a cadeia polimérica do carbopol® está extremamente enovelada e sua capacidade espessante é limitante. Para atingir o máximo de viscosidade a molécula deve se desenovelar completamente. Embora sejam ácidos fracos, facilmente reagem para formação de sais correspondentes (MERCLIN et al., 2004).

Existem dois mecanismos para o desenrolamento da molécula, dando um alto efeito de viscosidade ou a melhor propriedade bioadesiva. O mecanismo mais comum envolve a ionização dos grupamentos ácidos do polímero com uma base orgânica ou inorgânica, como por exemplo, trietanolamina ou hidróxido de sódio, e essa neutralização ionizará o polímero com cargas negativas ao longo da cadeia do polímero. A repulsão entre essas cargas contribui para desdobrar a estrutura, enquanto o entrelaçamento das cadeias produz uma matriz tridimensional. O resultado é a formação instantânea de um gel de alta viscosidade. O segundo mecanismo consiste na adição de uma estrutura hidroxil ao polímero. A combinação de um grupo carboxil a um ou mais grupos hidroxil fornece espessura ao polímero devido à formação de pontes de hidrogênio. Alguns doadores de grupos hidroxil comumente utilizados são glicerina, propilenoglicol e polietilenoglicol (TABERNER et al., 2002; SILVA et al., 2005; CORREA, et al., 2005).

O máximo de transparência e viscosidade é conseguido no gel de carbopol® com pH 7,0 (SILVA et al., 2005). Possui uma boa estabilidade frente a variações de

temperatura, e por isso é bastante utilizado em formas farmacêuticas bioadesivas para pele, mucosa bucal e gastrointestinal (ISLAM et al., 2004). Possui ainda uma ampla aplicação na área cosmética, dermatológica e farmacêutica. Algumas vantagens dos géis de carbomêros são: amplos intervalos de viscosidade e bom comportamento de fluidez, compatibilidade com muitos excipientes e ativos, propriedades bioadesivas, boa estabilidade térmica, alta viscosidade com baixa concentração, excelentes características organolépticas (ISLAM et al., 2004).

### **2.7.2.3- Carboximetilcelulose Sódica**

A Carboximetilcelulose (CMC) é um polímero aniônico derivado da celulose, produzido via reação de Williamson, à pressão atmosférica, que se dá através de solução de hidróxido de sódio (NaOH) e monocloroacetato de sódio ( $\text{ClCH}_2\text{-COONa}$ ), resultando na substituição parcial de grupos hidroxilas da glicose pelo grupo  $-\text{CH}_2\text{-COOH}$ , o que atribui à celulose modificada qualidades de solubilidade e viscosidade em soluções desejadas, facilitando a hidratação da molécula. Foi desenvolvida na Alemanha para substituir a gelatina. É um produto muito solúvel em água, tanto a frio quanto a quente, na qual forma tanto soluções propriamente ditas quanto géis (COMA et al., 2003).

Apresenta-se como um pó, com coloração de branco a creme, hidrocópico, isento de aglomerações, inodoro, insípido, possuindo uma ampla faixa de viscosidade. Nas concentrações nas quais é utilizado não interfere nas propriedades organolépticas do produto a ser adicionado; é fisiologicamente inerte, não é tóxico, não é agente sensibilizante e possui pH estável entre 5 e 11. Devido a isso tem muitas aplicações em indústrias alimentícias e farmacêuticas (NIE et al., 2004).

A propriedade mais importante do CMC é a viscosidade, sendo que por possuir características tixotrópicas e em certos casos pseudoplásticas (fluido não Newtoniano), sua viscosidade sofre influências de fatores externos, tais como: velocidade de agitação (cisalhamento), tempo de agitação, tipo de viscosímetro, temperatura, etc; portanto, há que se padronizar a determinação de viscosidade, padronizando todas as variáveis que nela estiverem implicadas (LAHOUD; CAMPOS, 2010).

As principais indicações desse polímero são como agente espessante, doador de viscosidade, estabilizante de fluidos, emulsificante, agente tixotrópico, engomante, agente adesivo, agente de suspensão, entre outras (COUTINHO et al., 2012).

### **2.7.3- PASTAS**

Pastas são formulações farmacêuticas semissólidas que contêm uma elevada concentração de pós finamente dispersos, variando normalmente este conteúdo de 20% até 60%, sendo mais firmes e espessas que as pomadas, mas sendo, geralmente, menos gordurosas e mais absorventes que elas. Destinam-se à aplicação externa e apresentam, geralmente, comportamento reológico dilatante (LACHMAN et al., 2001).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1- Geral

Obter um dentifrício contendo extrato seco por aspersão padronizado de *Libidibia ferrea* com atividade antimicrobiana contra patógenos bucais.

#### 3.2- Específicos

- Avaliar a atividade antimicrobiana de extratos secos obtidos da entrecasca do fruto e da casca do caule de *L. ferrea* Martius var. *ferrea* contra microrganismos da cavidade bucal;
- Obter uma forma cosmética semissólida a partir do extrato seco de *L. ferrea* Martius var. *ferrea* de maior atividade antimicrobiana;
- Caracterizar a forma cosmética semissólida obtida;
- Avaliar a atividade antimicrobiana da forma cosmética semissólida obtida contra microrganismos da cavidade bucal;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos adjuvantes farmacêuticos contra microrganismos da cavidade bucal

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1- Matéria- primavegetal**

Foram utilizados extratos secos por aspersão(ESA) da entrecasca do fruto de *L. ferrea* padronizado por BARAKAT(2011) e extrato seco por aspersão da casca do caule de *L. ferrea* padronizado por COSTA (2012).

### **4.2- Triagem da Atividade Antimicrobiana dos ESA da entrecasca do fruto e do ESA da casca do caule de *L. ferrea***

#### **4.2.1- Preparo das soluções teste**

As soluções testes foram preparadas com 0,2 g dos extratos da casca do caule e da entrecasca do fruto de *L. ferrea* diluídas em 20 mL de água destilada. As soluções foram levadas ao agitador magnético (MARCONI – MA 085) a fim de obter soluções homogêneas.

#### **4.2.2- Microrganismos testes e preparação de inóculos**

Os microrganismos utilizados para a determinação da CIM foram: *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073); *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); *Streptococcus oralis* (ATCC 10557); *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e *Candida albicans* (INCQS 40040). As cepas bacterianas foram fornecidas pelo laboratório do Laboratório de Microbiologia Bucal da Universidade Federal da Paraíba.

Para obtenção do inóculo os microrganismos foram reativados em caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO, USA) e *Candida albicans* em meio Sabouraud dextrose (DIFCO, USA) em tubos de ensaios de 10x150mm, incubados a 37°C por 24 horas, em aerofilia para o *L. casei* e *C. albicans*, e em microaerofilia para os demais microrganismos.

Em condições assépticas foram retiradas alíquotas de 100 µL dos microrganismos e inoculados em 5 mL de caldo BHI e Sabouraud dextrose estéril, em tubo de ensaio de 10x150mm. As suspensões foram turbilhonadas em agitador de tubos (Marconi, MA – 162) até se tornarem homogêneas. Os inóculos foram

padronizados pela escala de McFarland (PROBAC) com turbidez compatível a 0,5, a fim de fornecer um padrão de  $10^8$  UFC/mL (SAMPAIO, 2009).

#### 4.3- *Screnning* para determinação da atividade antimicrobiana dos extratossecosvegetais

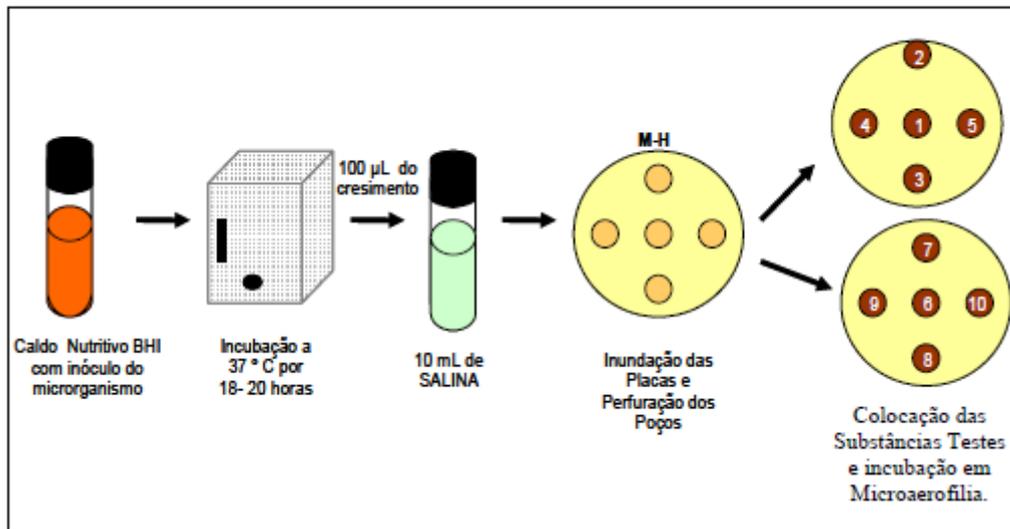
##### 4.3.1- Meio Sólido

A atividade antimicrobiana foi determinada segundo metodologia proposta por BAUER et al., (1969) modificada, através da difusão em meio sólido em placas de Petri (90 x 150 mm). Placas de Agar Mueller Hinton e Agar Sabouraud dextrose (DIFCO) foram preparadas e após 24 horas para controle de esterilidade, foram inundadas com solução salina inoculada com microrganismos do *overnight* utilizando a escala padrão de McFarland 0,5 uma concentração de  $10^8$  UFC/mL e a seguir, foram confeccionados orifícios padronizados de aproximadamente 6mm de diâmetro. Em cada placa foram confeccionados cinco orifícios que receberam numerações que variavam de 1 a 10 as quais corresponderiam ao número da diluição da substância teste (1:1 até 1:512). A concentração está descrita no quadro 1. Após a colocação de 50µL das substâncias testes em cada poço, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas para *S. mutans* e *C. albicans* e 24 horas para os demais microrganismos (Figura 4). Cada ensaio foi realizado em duplicata frente a cada linhagem selecionada. O mesmo procedimento foi utilizado para o controle positivo, o gluconato de clorexidina 0,12% (Periogard®).

Foi considerada como CIM a menor concentração da substância capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano, ou seja, presença de halo acima de 12mm (BAUER et al., 1969).

**Quadro 1:** Concentração do extrato da entrecasca do fruto e casca em diluição logarítmica.

Concentração do Extrato (mg/mL)									
<b>Extrato Padrão</b>	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
<b>(75)</b>	(37,5)	(18,7)	(9,3)	(4,6)	(2,3)	(1,1)	(0,5)	(0,2)	(0,1)



**Figura 4:** Representação Esquemática da CIM em meio sólido.

#### 4.3.2- Microdiluição

Após o *screening* inicial e conhecendo os microrganismos que foram sensíveis aos extratos da entrecasca do fruto e da casca de jucá, a atividade antimicrobiana foi determinada segundo metodologia da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em microdiluição proposta por CLSI – *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* (antigo NCCLS) (2003), ANDREWS et al., (2001), adaptação de SAMPAIO et al., (2009). O digluconato de clorexidina a 0,12% foi utilizado como controle positivo.

Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar e com vidrarias, ponteiras e meios de cultura previamente esterilizados. Foram utilizadas microplacas de 96 orifícios (em formato de “U”), de forma que cada poço foi preenchido por um volume final de 100 µL. Na placa, as colunas foram distribuídas nos números de 1 a 12 e as linhas nas letras “A” até o “H”. Nos poços foram distribuídos o extrato da casca do caule e o extrato da entrecasca do fruto de jucá de forma a conter as diferentes concentrações das substâncias testes conforme quadro 2. O sistema de diluição foi controlado pelo volume dos produtos testes, ocupando os poços 2 a 11. Nos mesmos poços, foi acrescentado um volume padrão de inóculo (20µL) e para alcançar o volume final de 100µL foi preenchido com o meio

de cultura. Na linha D, nos poços 1 ao 11 foram distribuídos a solução controle (quadro 3).

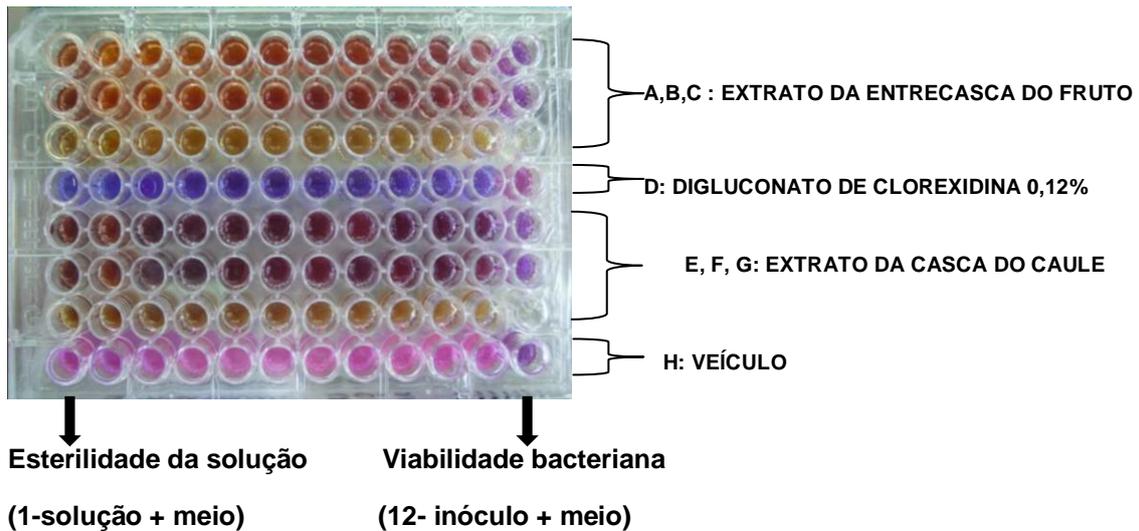
**Quadro2:** Volume em  $\mu\text{L}$  e concentração dos extratos da entrecasca do fruto e da casca do caule de jucá em mg/mL nas microplacas de microdiluição.

Volume dos poços ( $\mu\text{L}$ )												
Concentração dos Extratos da Entrecasca do fruto e Casca do Caule (mg/mL)												
Poço	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Extrato</b>	80	70	65	60	55	50	45	40	35	30	25	0
<b>Meio</b>	20	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	80
<b>Inóculo</b>	0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
<b>Concentração</b>	6,00	5,25	4,87	4,50	4,12	3,75	3,37	3,00	2,62	2,25	1,87	0

**Quadro3:** Concentração do controle positivo em microdiluição

Concentração da Clorexidina (mg/mL)		
Poço	Volume ( $\mu\text{L}$ )	Concentração(mg/mL)
<b>1</b>	80	0,096
<b>2</b>	70	0,084
<b>3</b>	65	0,078
<b>4</b>	60	0,072
<b>5</b>	55	0,066
<b>6</b>	50	0,060
<b>7</b>	45	0,054
<b>8</b>	40	0,048
<b>9</b>	35	0,042
<b>10</b>	30	0,036
<b>11</b>	25	0,030

De acordo com a figura 5, a coluna 01 representa a esterilidade da substância teste, extrato + meio sem microrganismos. A coluna 12 representa a viabilidade dos microrganismos, meio + inoculo sem produto teste. A linha D representa o digluconato de clorexidina a 0,12% (controle positivo) e a linha H o veículo (controle negativo). Para cada microrganismo foi utilizada uma única microplaca, sendo que na mesma placa foram testados o extrato da entrecasca do fruto (linhas A, B e C), e o extrato da casca do caule (linhas E, F e G).



**Figura 5:** Representação esquemática da microdiluição

Após o preenchimento de todos os poços, as microplacas foram seladas com parafilme e incubadas a 37°C por 24 horas em aerofilia para *L. casei* e *C. albicans*, e em microaerofilia para os demais microrganismos.

Passado o período de incubação, foram incluídos nos poços 30µL de reagente resazurina preparado em solução aquosa (0,01%, 10 mg diluído em 100mL). As placas foram novamente incubadas por 30 minutos para proceder à leitura por método visual (SARKER et al., 2007).

A ausência da mudança de cor nos orifícios foi interpretada como microrganismos sensíveis à solução testada, visto que o reagente possibilita a avaliação de viabilidade celular. Porém, os extratos de jucá por serem de coloração escura não permitem uma total diferenciação dos poços onde houve oxidação de resazurina à resofurina. Dessa forma, duas linhas de cada extrato foram escolhidas aleatoriamente e de todos os seus poços foram retirados 100µL para plaqueamento em ágar BHI e Agar Sabouraud-dextrose e incubadas a 37°C por 24 horas, a fim de confirmar através do crescimento bacteriano as concentrações bactericidas e fungicidas inibitórias mínimas (CBM) dos extratos.

#### 4.4- Obtenção dos Dentifrícios

Foram preparados Géis e pastas contendo extrato seco da casca de *L. ferrea*. A concentração de extrato seco incorporado em cada formulação foi definida após ensaio piloto e baseado na Concentração Inibitória Mínima (CIM).

##### 4.4.1- Preparo dos géis dentais

Para obtenção de géis contendo extrato seco de *L. ferrea*, inicialmente foram avaliados polímeros derivados do ácido poliacrílico (Carbopol 940®) e derivados de celulose (Natrosol® e Carboximetilcelulose). Todas as formulações foram preparadas em triplicata.

Dispersões coloidais contendo extrato seco foram preparadas mediante a dispersão dos polímeros em água.

Os géis foram preparados em gral e pistilo, e após completa mistura dos componentes, o extrato seco foi incorporado à formulação, com posterior homogeneização. Inicialmente foram avaliadas dois tipos de bases denominadas gel1 e gel 2, cuja formulação está descrita no quadro 4.

**Quadro 4:** Formulação base para obtenção do gel 1 e gel 2

Componentes	Gel1 Base	Gel2 Base
	(%m/v)	(%m/v)
Carbopol 940 ®	1%	—
Natrosol ®	—	2%
Propilenoglicol	5%	5%
Nipagin (metilparabeno)	0,15%	0,1%
Nipazol (propilparabeno)	0,15%	0,1%
Trietanolamina q.s.p.	Até pH entre 6 e 7	—
Água destilada q.s.p.	100%	100%

Para obtenção do GEL 1, o Carbopol 940® foi disperso em água e deixado em repouso durante 24 horas. Após, o nipagin e nipazol solubilizado em q.s. de álcool foram acrescentados ao gel. Em seguida, foi realizada a homogeneização do extrato seco nas concentrações de 5,0% e 10,0% (m/V) em propilenoglicol, sendo então esta dispersão transferida para um becker contendo o carbopol previamente preparado, e misturada até completa homogeneização, com auxílio de agitação manual. Após completa incorporação e dissolução do extrato seco entre os componentes da base, mediu-se o pH da mistura e adicionou-se a trietanolamina para dar viscosidade e corrigir o pH até atingir o valor entre 6-7.

Para obtenção do GEL 2, o Natrosol® foi disperso em água destilada e deixado sob aquecimento em banho maria a 70 °C, até completa solubilização, após o arrefecimento, foram acrescentados o nipagin e nipazol solubilizados em q. s. de álcool. Em seguida, foi realizada a homogeneização do extrato seco nas concentrações de 5,0% e 10,0% (m/V) em propilenoglicol e incorporada a mistura no gel de natrosol até completa homogeneização, com auxílio de agitação manual.

Também, foi preparado uma base 3, denominada de gel 3, cuja formulação está descrita no quadro 5.

**Quadro 5:** Formulação da base para obtenção do gel 3

<b>Componentes</b>	<b>Gel3 Base(%m/v)</b>
Celulose Microcristalina	1%
Carboximetilcelulose	2,5%
Propilenoglicol	20%
Sacarina Sódica	0,1%
Lauril sulfato de Sódio	2%
Solução de Parabenos	3,3%
Água destilada q.s.p.	100%

Para obtenção do GEL3, a celulose microcristalina e a carboximetilcelulose foram dispersas em propilenoglicol, obtendo-se a solução 1. A solução de parabenos foi preparada através da dissolução de 6% de metilparabeno, 3% de propilparabeno em 91% de propilenoglicol, mantendo-se em agitação manual moderada e aquecimento, em banho maria, até completa solubilização das substâncias. Em seguida, a sacarina sódica e a solução de parabenos foram solubilizadas em água, e o lauril sulfato de sódio acrescido, sob agitação manual branda. Esta última solução foi acrescentada à solução 1 sob agitação manual moderada até completa homogeneização. A mistura foi deixada em repouso até a estabilização da espuma, por 24 horas. Ao final, foi realizada a homogeneização do extrato seco nas concentrações de 2,5% e 5,0% (m/v) solubilizado em água destilada e incorporados ao gel 3.

#### 4.4.2- Preparo da pasta dental

Para obtenção da pasta contendo extrato seco de *L. ferrea*, foi avaliada a viabilidade de incorporação do extrato seco, em duas diferentes concentrações, em apenas uma formulação de pasta base, utilizando o polímero carboximetilcelulose (CMC) adicionado de carbonato de cálcio como agente abrasivo (quadro 6).

**Quadro 6:** Formulação da base para obtenção da pasta

Componentes	Pasta Base (%m/v)
Carboximetilcelulose (CMC)	0,5%
Carbonato de cálcio	45%
Sorbitol	15%
Lauril sulfato de Sódio	1,2%
Nipagin (metilparabeno)	0,2%
Sacarina Sódica	0,4%
Essência de menta	0,3%
Água destilada q.s.p.	100%

A formulação pasta dental foi preparada, em triplicata, seguindo o procedimento descrito abaixo:

Em um gral foram adicionados a CMC, o lauril sulfato de sódio, o nipagin, a sacarina sódica e o sorbitol até completa homogeneização, com auxílio de um pistilo. Em seguida foi incorporado o carbonato de cálcio e após homogeneização o extrato seco nas concentrações de 5% e 10% diluídos em q.s. de água destilada, seguido de homogeneização, e por fim acrescentada a essência de menta.

#### **4.5- Caracterizações dos Dentifrícios**

##### **4.5.1-Análise macroscópica(PUISIEUX e SEILLER,1983)**

Foram avaliadas as características visuais das formulações em estudo, no que se refere à cor, odor e aspecto.

##### **4.5.2-Determinação do pH (PUISIEUX e SEILLER, 1983; KNORST, 1991)**

A medida dos valores de pH das formulações foram realizada em potenciômetro Hanna® pH21 previamente calibrado com solução tampão pH 4 e 7 respectivamente. As amostras foram diluídas em água, a uma concentração de 10% (m/v) e realizadas leituras após filtração.

##### **4.5.3- Determinação da Densidade**

Esta análise foi realizada em picnômetro de inox de 25 mL, previamente calibrado através da aferição do mesmo vazio e contendo água. Em seguida foi determinada a massa do picnômetro contendo o dentifrício. A densidade foi expressa pela média e desvio padrão de três determinações e calculada segundo a equação abaixo (Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos - ANVISA, 2007):

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Onde: d = densidade

M0 = massa do picnômetro vazio, em gramas

M1 = massa do picnômetro com água purificada, em gramas

M2 = massa do picnômetro com a amostra, em gramas.

#### **4.5.4- Comportamento Reológico (VOIGT e BORNSCHEIN, 1982; MARTIN et al., 1993)**

As características reológicas das amostras foram avaliadas com o auxílio do viscosímetro rotacional Brookfield R/S<sup>+</sup> Reometer modelo DV-1+, série RV, utilizando spindle SC<sub>4</sub>-25. Um minuto após ajuste de cada fator de velocidade, efetuou-se a leitura dos valores de viscosidade e da tensão de cisalhamento.

Os reogramas foram representados pelos gráficos de viscosidade e tensão de cisalhamento, sendo as análises realizadas a 25° C ± 2° C.

#### **4.5.5- Teste de Centrifugação (PUISIEUX e SEILLER, 1983).**

A avaliação da estabilidade das formulações frente à centrifugação foi realizada empregando-se 5 g das amostras em estudo, centrifugando-se a 3000 rpm, durante 30 minutos.

#### **4.5.6- Determinação de polifenóis totais no (ESA) e nos dentifrícios**

Os teores de polifenóis totais foram obtidos por diluição de 0,25 g do ESA em 50,0 mL de água destilada (solução mãe). Posteriormente, foram diluídos 3,0 mL da solução mãe em 25,0 mL de água destilada (Solução 2). Após diluiu-se 2,0 mL da solução 2 em 25 mL de água destilada a fim de se obter uma solução de análise com concentração de 48 µg/mL.

Para as formulações dos dentifrícios a diluição seguiu os mesmos padrões, porém a massa inicial foi de 10 g de gel a 2,5%, 5 g de gel a 5%, 5 g de pasta a 5% e 2,5 g de pasta a 10%.

A absorvância foi medida em espectrofotômetro UV visível, marca Pharma Spec Shimadzu, UV-1700, no comprimento de onda de 275nm.

O teor de polifenóis totais foi calculado conforme equação abaixo:

$$PT = \frac{A1 \cdot FD}{A_{1cm}^{2\%} \cdot (m - p)}$$

Onde:

PT = polifenóis totais (g%) expressos em relação ao ácido gálico

A1 = absorvância de polifenóis totais

FD = fator de diluição

$A_{1cm}^{2\%}$  = coeficiente de absorção do ácido gálico determinado por COSTA 2012.

m = massa de matéria-prima vegetal (g);

p = perda por dessecação de matéria-prima vegetal (g)

Os ensaios foram realizados em triplicata.

#### **4.6- Avaliação da atividade antimicrobiana dos dentifrícios pelo método da microdiluição**

Os testes de microdiluição foram realizados com as formulações em géis e pastas, seguindo os mesmos parâmetros realizados com os extratos da entrecasca do fruto e da casca do caule de *L. ferrea*.

Foram utilizadas microplacas de 96 orifícios (em formato de “U”), de forma que em cada poço foi preenchido por um volume final de 100 µL. Na placa, as colunas foram distribuídas nos números de 1 a 12 e as linhas nas letras “A” até o “H”. Nos poços foram distribuídos os géis nas concentrações de 2,5% e 5% e as pastas nas concentrações de 5% e 10% (quadros 7, 8, 9 e 10). O sistema de diluição foi controlado pelo volume dos produtos testes, ocupando os poços 2 a 11. Nos

mesmos poços, foi acrescentado um volume padrão de inoculo (20 $\mu$ L) e para alcançar o volume final de 100 $\mu$ L foi preenchido com o meio de cultura.

**Quadro7:**Concentração do Gel a 2,5%em microdiluição

<b>Concentração do Gel a 2,5% (mg/mL)</b>		
<b>Poço</b>	<b>Volume (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Concentração(mg/mL)</b>
<b>1</b>	80	0,15
<b>2</b>	70	0,13
<b>3</b>	65	0,12
<b>4</b>	60	0,11
<b>5</b>	55	0,10
<b>6</b>	50	0,09
<b>7</b>	45	0,08
<b>8</b>	40	0,07
<b>9</b>	35	0,06
<b>10</b>	30	0,05
<b>11</b>	25	0,04

**Quadro8:**Concentração do Gel a 5%em microdiluição

<b>Concentração do Gel a 5% (mg/mL)</b>		
<b>Poço</b>	<b>Volume (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Concentração(mg/mL)</b>
<b>1</b>	80	0,30
<b>2</b>	70	0,26
<b>3</b>	65	0,24
<b>4</b>	60	0,22
<b>5</b>	55	0,20
<b>6</b>	50	0,18
<b>7</b>	45	0,16
<b>8</b>	40	0,14
<b>9</b>	35	0,12
<b>10</b>	30	0,10
<b>11</b>	25	0,08

**Quadro9:**Concentração da Pasta a 5%em microdiluição

<b>Concentração da Pasta a 5% (mg/mL)</b>		
<b>Poço</b>	<b>Volume (µL)</b>	<b>Concentração(mg/mL)</b>
<b>1</b>	80	0,30
<b>2</b>	70	0,26
<b>3</b>	65	0,24
<b>4</b>	60	0,22
<b>5</b>	55	0,20
<b>6</b>	50	0,18
<b>7</b>	45	0,16
<b>8</b>	40	0,14
<b>9</b>	35	0,12
<b>10</b>	30	0,10
<b>11</b>	25	0,08

**Quadro 10:**Concentração da Pasta a 10% em microdiluição

<b>Concentração da Pasta a 10% (mg/mL)</b>		
<b>Poço</b>	<b>Volume (µL)</b>	<b>Concentração(mg/mL)</b>
<b>1</b>	80	0,60
<b>2</b>	70	0,52
<b>3</b>	65	0,48
<b>4</b>	60	0,44
<b>5</b>	55	0,40
<b>6</b>	50	0,36
<b>7</b>	45	0,32
<b>8</b>	40	0,28
<b>9</b>	35	0,24
<b>10</b>	30	0,20
<b>11</b>	25	0,16

A coluna 01 representa a esterilidade da substância teste, formulação + meio sem microrganismos. A coluna 12 representa a viabilidade dos microrganismos, meio + inóculo sem produto teste. A linha D representa o digluconato de clorexidina a 0,12% (controle positivo) e a linha H o veículo (controle negativo). Para cada microrganismo foi utilizada uma única microplaca, sendo que na mesma placa foram testados os géis a 2,5% nas linhas A, B e C, e os géis a 5%, nas linhas E, F e G. Nas linhas A, B e C, as pastas a 5% e nas linhas E, F e G as pastas a 10%.

Após o preenchimento de todos os poços, as microplacas foram seladas com parafilme e incubadas a 37°C por 24 horas em aerofilia para *L. casei* e *C. albicans*, e em microaerofilia para os demais microrganismos.

Passado o período de incubação, foram incluídos nos poços 30µL de reagente resazurina preparado em solução aquosa (0,01%, 10 mg diluído em 100mL). As placas foram novamente incubadas por 30 minutos para proceder à leitura por método visual (SARKER *et al.*, 2007).

A ausência da mudança de cor nos poços foi interpretada como microrganismos sensíveis à solução testada, visto que o reagente possibilita a avaliação de viabilidade celular. Porém, a formulação base contendo extrato seco de jucá, por ser de coloração escura, não permite uma total diferenciação dos poços onde houve oxidação de resazurina à resofurina. Dessa forma, duas linhas foram escolhidas aleatoriamente e de todos os seus poços foram retirados 100 µL para plaqueamento os quais foram semeados em placas de Petri com ágar BHI e Agar Sabouraud dextrose e incubados a 37°C por 24 horas para confirmar a presença de microrganismos viáveis e dessa forma garantir a ação bactericida do jucá nas suas respectivas concentrações inibitória mínima.

#### **4.7- Determinação da atividade antimicrobiana dos adjuvantes farmacêuticos em meio sólido**

Foram testadas, separadamente e individualmente, as substâncias adjuvantes das formulações a fim de avaliar a atividade antimicrobiana das mesmas. Os componentes testados foram o lauril sulfato de sódio, carboximetilcelulose, carbonato de cálcio, sorbitol e metilparabeno.

A atividade antimicrobiana foi realizada a partir do método da diluição em meio sólido. Em cada placa foram confeccionados cinco orifícios que receberam numerações que variavam de 1 a 10 as quais corresponderia ao número da diluição da substância teste (1:1 até 1:512) A concentração está descrita no quadro 11. Após a colocação de 50µL das substâncias testes em cada poço, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Cada ensaio foi realizado em duplicata frente a cada linhagem selecionada. Foi considerada como CIM a menor concentração da substância capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano, ou seja, presença de halo acima de 12mm (BAUER *et al.*, 1969).

**Quadro11:** Concentração dos adjuvantes nas formulações em diluição logarítmica.

<b>Concentração dos adjuvantes na formulação (mg/mL)</b>										
<b>Carbonato de cálcio</b>	1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
	450	225	112,5	56,25	28,12	14	7	3,5	1,75	0,87
<b>Sorbitol</b>	150	75	37,5	18,75	9,37	4,68	2,34	1,17	0,58	0,29
<b>Lauril Sulfato de sódio</b>	12	6	3	1,5	0,75	0,37	0,18	0,09	0,04	0,02
<b>CMC</b>	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,15	0,07	0,03	0,01	0,005
<b>Metilparabeno</b>	2	1	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03	0,01	0,005	0,002

#### 4.8- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados obtidos foram expressos por meio de média, desvio-padrão e coeficiente de variação.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1- MatériaPrima Vegetal

As matérias-primas vegetais utilizada neste trabalho foram ESA obtidos da entrecasca do fruto e casca do caule da espécie *Libidibia ferrea* desenvolvidos e obtidos por BARAKAT (2011) e COSTA (2012) cujos resultados de caracterização estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1:** Caracterização físico-química dos extratos secos por aspensão de *L. ferrea*

Ensaio	Entrecasca do Fruto (BARAKAT, 2011)	Casca do Caule (COSTA, 2012)
Rendimento operacional (%)	76,36	82,91
Taninos Totais (g%)	19,00	-
Umidade residual (%)	3,42	6,67
Diâmetro partículas (µm)	8,20	9,32

No estudo de COSTA (2012) a caracterização físico-química referente aos valores de taninos totais foi realizada somente para a solução extrativa da casca do caule de *L. ferrea*, apresentando teor de taninos totais 40,25g%.

### 5.2- Avaliação da (CIM) do extrato da entrecasca do fruto e da casca do caule de *L. ferrea* em meio sólido

De acordo com os dados apresentados nas tabelas 2 e 3 pode ser observado que houve atividade antimicrobiana de ambos os extratos avaliados frente aos microrganismos testados em meio sólido.

**Tabela 2:**Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do ESA da entrecasca do fruto de *L. ferrea*.

<b>Extrato da entrecasca do Fruto</b>					
<b>Microrganismos</b>					
	<b><i>S. oralis</i></b>	<b><i>S.salivarius</i></b>	<b><i>L. casei</i></b>	<b><i>C. albicans</i></b>	<b><i>S. mutans</i></b>
<b>Diluição da solução</b>	<b><math>\bar{X} \pm s</math> (CV%)</b>				
<b>1 EP</b> *(75)	13,5±0,70(5,1)	11,0 ± 0 (0,0)	18,5 ± 0,70 (3,8)	21,0 ± 1,41 (6,7)	12,5 ± 0,70 (5,6)
<b>1:2</b> *(37,5)	11,5 ± 0,70 (6,1)	10,0 ± 0 (0,0)	17,0 ± 1,41 (8,3)	19,5 ± 0,70 (3,6)	10,0 ± 0 (0,0)
<b>1:4</b> *(18,7)	11,0 ± 0 (0,0)	9,5 ± 0,70(7,3)	15,5 ± 0,70 (4,5)	18,5 ± 0,70 (3,8)	0,0
<b>1:8</b> *(9,3)	0,0	0,0	13,0± 0 (0,0)	0,0	0,0
<b>1:16</b> *(4,6)	0,0	0,0	10,5 ± 0,70 (6,6)	0,0	0,0

EP= Extrato puro;\* Concentração do extrato em mg/mL.

**Tabela 3:**Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do ESA da casca do caule de *L. ferrea*.

<b>Extrato da casca do Caule</b>					
<b>Microrganismos</b>					
	<b><i>S. oralis</i></b>	<b><i>S.salivarius</i></b>	<b><i>L. casei</i></b>	<b><i>C. albicans</i></b>	<b><i>S. mutans</i></b>
<b>Diluição da solução</b>	<b><math>\bar{X} \pm s</math> (CV%)</b>				
<b>1 EP</b> *(75)	14,5 ± 0,70(4,8)	18,5 ± 0,70(3,8)	24,5 ± 0,70(2,8)	21,5 ± 0,70 (3,2)	13,0± 1,41 (10)
<b>1:2</b> *(37,5)	13,5 ± 0,70(5,1)	12,5 ± 0,70(5,6)	13,0 ± 1,41(10)	17,0 ± 0 (0)	11,0 ± 0 (0)
<b>1:4</b> *(18,7)	10,5 ± 0,70(6,6)	10,5 ± 0,70(6,6)	10,0 ± 0 (0)	14,5 ± 0,70 (4,8)	9,0 ± 0 (0)
<b>1:8</b> *(9,3)	0,0	0,0	9,5 ± 0,70 (7,3)	0,0	0,0
<b>1:16</b> *(4,6)	0,0	0,0	0,0	0	0,0

EP= Extrato puro;\* Concentração do extrato em mg/mL.

De acordo com os resultados obtidos foi verificado que a o ESA obtido da casca do caule de *L. ferrea* apresentou melhores resultados referente à CIM para os *S. oralis* (37,5 mg/mL), *S. salivarius* (37,5 mg/mL). Para os *S. mutans* a CIM foi de 75mg/mL e *C. albicans* (18,7 mg/mL) tantopara a entrecasca do fruto quanto para a casca do caule, porém o diâmetro dos halos de inibição foram maiores nos testes com o ESA da casca do caule, indicando uma possível maior atividade antimicrobiana deste extrato seco.

Considerando os ensaios contra o *S. salivarius*, os testes com a entrecasca do fruto não demonstraram atividade inibitória mínima. Por outro lado, os ensaios contra o *L. casei* demonstraram melhores resultados com a entrecasca do fruto com CIM de 9,3 mg/mL.

Segundo estudo realizado por BARAKAT(2011) com ESA da entrecasca do fruto de *L. ferrea*, obtido pela autora e o mesmo utilizado neste trabalho, os testes de atividade antimicrobiana foram satisfatórios para todas as cepas testadas, porém demonstrando maior atividade contra *C. albicans*, sendo o halo de inibição de aproximadamente 30 mm. No estudo foi encontrado uma média de halos de inibição de 22 mm, o que pode se explicado devido ao tempo de armazenamento do ESA desde 2011 até o presente, indicando a possibilidade de o ESA ter perdido componentes responsáveis pela atividade antimicrobiana.

Ao analisar os resultados do método de difusão em ágar, observa-se que houve sensibilidade dos microrganismos testados frente aos extratos da casca do caule e dos frutos de *L. ferrea*, exceto em relação ao *S. salivarius*, o qual não obteve halo de inibição superior a 12 mm com o extrato da entrecasca do fruto. O controle positivo de clorexidina a 0,12% apresentou atividade frente a todos os microrganismos testados (tabela 4).

**Tabela 4:**Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da clorexidina – controle positivo.

<b>Clorexidina 0,12%</b>					
<b>Microrganismos</b>					
	<b><i>S. oralis</i></b>	<b><i>S.salivarius</i></b>	<b><i>L. casei</i></b>	<b><i>C. albicans</i></b>	<b><i>S. mutans</i></b>
<b>Diluição da solução</b>	<b><math>\bar{X} \pm s</math> (C.V%)</b>				
<b>SP</b> *(1,2)	<b>26,5 ± 0,70 (2,6)</b>	<b>21,0 ± 0,70 (3,3)</b>	<b>29,0 ± 1,41 (4,8)</b>	<b>22,5 ± 0,70 (3,1)</b>	<b>38,0 ± 1,41 (3,7)</b>
<b>1:2</b> *(0,6)	<b>23,5 ± 0,70 (3)</b>	<b>20,5 ± 0,70 (3,4)</b>	<b>28,0 ± 1,41 (5)</b>	<b>20,5 ± 0,70 (3,2)</b>	<b>36,5 ± 0,70 (1,9)</b>
<b>1:4</b> *(0,3)	<b>23,5 ± 0,70 (3)</b>	<b>20,5 ± 0,70 (3,4)</b>	<b>24,0 ± 1,41 (5,8)</b>	<b>20,0 ± 1,41 (7)</b>	<b>35,0 ± 0 (0)</b>
<b>1:8</b> *(0,15)	<b>21,5 ± 2,12 (9,8)</b>	<b>19,0 ± 0,70 (3,6)</b>	<b>23,5 ± 0,70 (3)</b>	<b>18,5 ± 0,70 (3,8)</b>	<b>34,5 ± 0,70 (2)</b>
<b>1:16</b> *(0,075)	<b>21,0 ± 0 (0)</b>	<b>14,5 ± 0 (0)</b>	<b>21,0 ± 1,41 (6,7)</b>	<b>10,0 ± 1,41 (14,1)</b>	<b>34,0 ± 0 (0)</b>
<b>1:32</b> *(0,037)	<b>21,0 ± 0,70 (3,3)</b>	<b>14,5 ± 1,41 (9,7)</b>	<b>18,5 ± 0,70 (3,8)</b>	<b>0,0</b>	<b>29,5 ± 0,70 (2,3)</b>
<b>1:64</b> *(0,018)	<b>16,0 ± 0,70 (4,3)</b>	<b>12,5 ± 0,70 (5,6)</b>	<b>17,5 ± 0,70 (4)</b>	<b>0,0</b>	<b>26,5 ± 0,70 (2,6)</b>
<b>1:128</b> *(0,009)	<b>15,0 ± 1,41 (9,4)</b>	<b>11,0 ± 0,35 (3,1)</b>	<b>17,0 ± 1,41 (8,3)</b>	<b>0,0</b>	<b>22,5 ± 0,70 (3,1)</b>
<b>1:256</b> *(0,004)	<b>8,5 ± 0,70 (8,2)</b>	<b>10,5 ± 0,70 (6,6)</b>	<b>16,0 ± 0 (0)</b>	<b>0,0</b>	<b>21,0 ± 0 (0)</b>
<b>1:512</b> *(0,002)	<b>7,0 ± 0,70 (10)</b>	<b>9,0 ± 0,70 (7,7)</b>	<b>14,0 ± 1,41 (10)</b>	<b>0,0</b>	<b>19,0 ± 0,70 (3,7)</b>

**SP**=substância pura \* Concentração da solução em mg/mL

PEREIRA et al.(2006) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos alcoólicos obtidos a partir da casca de *C. ferrafrente* a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterobacter gergoviae*. Os resultados indicaram uma moderada inibição contra as diferentes linhagens bacterianas testadas, onde o extrato apresentou halo de inibição superior a 17 mm, frente à cepa de *S. aureus*, indicando ação antimicrobiana positiva. Sendo assim, o estudo demonstrou a ação antimicrobiana para esta espécie vegetal frente a outros patógenos que não os da cavidade bucal.

Os resultados dos halos de inibição obtidos no presente estudo a partir dos ESA estudados estão semelhantes aos encontrados em outras espécies vegetais, onde os halos ficam em torno de 14 mm (JESUS et al., 2010).

### 5.3- Avaliação da (CIM) do extrato da entrecasca do fruto e da casca do caule de *L. ferrea* em microdiluição

O método da microdiluição para a determinação da CIM é usado para concluir o desempenho de todos os outros métodos utilizados para testes de susceptibilidade antimicrobiana (ANDREWS, 2001).

Através desta técnica torna-se possível determinar quantitativamente a menor concentração inibitória capaz de inibir o crescimento dos microrganismos. É possível observar a presença do crescimento microbiano pela turbidez ou a partir do uso de indicadores de crescimento como, por exemplo, a resazurina (DAS; TIWARI; SHRIVASTAVA, 2010).

A Tabela 5 apresenta os resultados da atividade antimicrobiana dos ESA da entrecasca do fruto e da casca do caule de *L. ferrea* em microdiluição.

**Tabela 5:** Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) dos extratos da entrecasca do fruto, casca do caule de *L. ferrea* e controle positivo frente a patógenos orais em teste de microdiluição.

Microrganismos	Entrecasca do Fruto $\bar{X} \pm S$ (C.V%)	Casca do Caule $\bar{X} \pm S$ (C.V%)	Clorexidina $\bar{X} \pm S$ (C.V%)
<i>S. oralis</i>	3,37 ± 0,00 (0)	2,25 ± 0,00 (0)	0,03 ± 0,00 (0)
<i>S. salivarius</i>	5,06 ± 0,26 (0,19)	3,00 ± 0,00 (0)	0,03 ± 0,00 (0)
<i>S. mutans</i>	3,56 ± 0,26 (0,19)	2,43 ± 0,26 (0,18)	0,03 ± 0,00 (0)
<i>L. casei</i>	3,37 ± 0,00 (0)	3,93 ± 0,26 (0,18)	0,03 ± 0,00 (0)
<i>C. albicans</i>	3,18 ± 0,26 (0,18)	2,62 ± 0,00 (0)	0,03 ± 0,00 (0)

Diantes dos resultados, pode-se observar que o extrato da casca do caule apresentou melhor atividade frente aos microrganismos *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mutans* e *C. albicans* com concentrações inibitórias mínimas de 2,25; 3,00; 2,43 e

2,62 mg/mL, respectivamente. A entrecasca do fruto apresentou melhor atividade somente contra os *L. casei* 3,37 mg/mL.

De acordo com FABRY et al., 1998, os valores de CIM menores que 8 mg/mL de extrato bruto são considerados com boa atividade antimicrobiana. Diante do estudo realizado, pode-se observar uma CIM com extrato da entrecasca dos frutos variando entre 5,06 mg/mL e 3,18 mg/mL, e CIM do extrato da casca do caule variando entre 3,93 mg/mL e 2,25 mg/mL, podendo assim, concluir, que ambos os extratos apresentaram uma excelente atividade antimicrobiana frente aos microrganismos orais testados.

De acordo com CASTRO e LIMA (2010), a técnica da microdiluição possui como vantagens: pequena quantidade de amostra, baixo custo das microplacas e permite trabalhar com um grande número de amostras.

Porém, uma de suas desvantagens é a dificuldade de detecção visual do crescimento microbiano, devido à coloração de alguns extratos vegetais que pode influenciar no resultado final da análise das amostras (OSTROSKY et al., 2008). O subcultivo dos poços das microplacas em meio de cultura contendo ágar é uma alternativa para essa desvantagem, sendo possível a obtenção da Concentração Bactericida Mínima (CBM) (DE OLIVEIRA et al., 2005).

No presente estudo o valor de CBM do extrato da entrecasca do fruto frente ao *S. oralis* foi de 3,37 mg/mL, *S. mutans* 3,75 mg/mL, *L. casei* 3,37 mg/mL e *C. albicans* 3,00 mg/mL, enquanto que com o extrato da casca do caule o valor de CBM frente ao *S. oralis* foi de 2,25 mg/mL, *S. salivarius* 3,00 mg/mL, *S. mutans* 2,62 mg/mL, *L. casei* 4,12 mg/mL e *C. albicans* 2,62 mg/mL confirmando assim uma maior atividade apresentada pelo extrato da casca do caule.

O extrato da entrecasca do fruto não apresentou atividade antimicrobiana frente ao *S. salivarius*.

SAMPAIO et al., (2009), avaliaram a atividade antimicrobiana de frutos de *C. ferrea* Martius contra patógenos da cavidade bucal através do método de microdiluição onde os microrganismos testados obtiveram uma CIM de 25,0; 40,0; 66,0; 100,0 e 66,0 µg/mL para *C. albicans*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. oralis* e

*L. casei* respectivamente, confirmando que os frutos da *C. ferrea* Martius possui atividade antimicrobiana contra patógenos orais.

MARREIRO (2011) avaliou a atividade antibacteriana a partir de um extrato hidroetanólico e um enxaguatório da entrecasca dos frutos de *Libidibia ferrea* frente a *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius* e *L. casei* através do método de microdiluição para determinação da CIM. Seu estudo demonstrou que o extrato de *L. ferrea* a 0,6% apresentou atividade antibacteriana frente a *S. mutans*, *S. oralis* e *L. casei* nas concentrações de 4,375 µg/mL; 3,750 µg/mL; 4,375 µg/mL, respectivamente. Tanto o extrato quanto o enxaguatório foram eficazes frente a *L. casei*, *S. oralis* e *S. mutans*. Porém frente a *S. salivarius* nem o extrato nem o enxaguatório de jucá apresentaram atividade antimicrobiana.

Tais resultados corroboram com os resultados do presente estudo, onde o extrato aquoso da entrecasca dos frutos de *L. ferrea* não apresentou atividade frente a *S. salivarius* pelo método de difusão em meio sólido. Assim, diante dos resultados apresentados, o extrato da casca do caule foi selecionado para elaboração das formulações cosméticas semissólidas.

#### **5.4- Estudos preliminares para seleção das formulações dos dentifrícios**

Para obtenção de géis contendo ESA da casca do caule de *L. ferrea*, inicialmente, foram avaliados polímeros derivados do ácido poliacrílico (Carbopol 940®) e derivados de celulose (Natrosol® e Carboximetilcelulose).

Os géis foram preparados na concentração de Carbopol 940® a 1%, Natrosol® a 2% e Carboximetilcelulose a 2,5% e incorporado o extrato seco da casca do caule de *L. ferrea* nas concentrações de 5% e 10% nos géis de Carbopol 940® e Natrosol® previamente solubilizados em q.s de propilenoglicol e nas concentrações de 2,5% e 5% no gel de Carboximetilcelulose previamente solubilizados em q.s. de água.

Os géis de Carbopol 940® e Natrosol® não se mostraram adequados para incorporação do extrato seco, uma vez que houve precipitação do extrato e quebra

darede polimérica a partir da concentração de 5%. Enquanto que os géis de Carboximetilcelulose mostram-se como adequadas bases para incorporação do extrato seco em todas as concentrações avaliadas (figuras 6, 7, 8, 9 e 10).



**Figura 6:** Gel a base de Carbopol 940® **Figura 7:** Gel a base de Natrosol®



**Figura 8:** Gel de Carboximetilcelulose Sódica com incorporação dos extratos secos de *L. ferrea*



**Figura 9:** Gel com extrato de *L. ferrea* a 2,5% **Figura 10:** Gel com extrato de *L. ferrea* a 5%

BITTENCOURT, 2008 realizou um estudo com formulações semissólidas contendo própolis vermelha e pode verificar que as formulações contendo própolis em gel Natrosol apresentaram imediata separação de fases, durante o procedimento

de incorporação foi observada a incompatibilidade da solução de própolis vermelha com a referida base.

BARAKAT, 2011 avaliou a viabilidade de obtenção de formas farmacêuticas plásticas contendo extrato seco da entrecasca dos frutos de *L. ferrea*, onde obteve géis derivados do ácido poliacrílico e da celulose incorporados de ESA nas concentrações de 1%, 2,5% e 5%. Os derivados de celulose não se mostraram adequados para incorporação do extrato seco, uma vez que houve precipitação do extrato e quebra da rede polimérica a partir da concentração de 2,5%. Enquanto que os carbômeros demonstram ser adequadas bases para incorporação do ESA em todas as concentrações avaliadas.

Às pastas foram incorporados dos extratos secos nas concentrações de 5% e 10%, onde se pode obter uma completa homogeneização dos componentes (figuras 11 e 12).



**Figura 11:** Pasta com extrato a 5%

**Figura 12:** Pasta com extrato a 10%

#### **5.4.1- Formulações dos dentifrícios**

Considerando os estudos preliminares, foram preparadas as bases de géis de Carboximetilcelulose e as pastas para obtenção das formas cosméticas. Nelas foram incorporados os extratos secos da casca do caule de *L. ferrea* nas concentrações de 2,5% e 5% para os géis e 5% e 10% para as pastas.

## **5.5- Caracterização dos dentifrícios**

### **5.5.1- Análise Macroscópica**

As formulações apresentaram-se, macroscopicamente estáveis, e com cor marrom claro nas formulações a 2,5 %, e marrom escuro a 5% e 10% tanto para os géis como para as pastas. Demonstraram odor de caramelo, sendo o odor mais forte nas formulações com concentração a 5% e 10%.

ALVES, (2009)em seu estudo, obteve formas farmacêuticas plásticas contendo extrato seco por aspensão dos frutos de *L. ferrea* e na análise macroscópicaas formulações também se apresentaram estáveis, com coloração variando de marrom claro a marrom escuro nas concentrações de 2,5% e 5%, respectivamente e odor predominante de caramelo em ambas as formulações.

### **5.5.2- Análise do pH**

O conhecimento do pHnas formulações constitui um índice de extrema importância, pois cada formulação deve apresentar pH compatível com a região onde irá ser aplicada.

Nas formulações dos géis, as concentrações a 2,5% e 5 %, tiveram pH de 5,1 e 4,8, respectivamente. Enquanto que nas pastas a 5% e 10% as concentrações, apresentaram,pH 8 e 7,7.O pH ácido encontrado nos géis pode ser explicado pelo fato do grande teor de taninos e polifenóis presentes na espécie vegetal estudada. Nas pastas o pH encontrado foi alcalino, isso é devido a grande concentração de carbonato de cálcio presente na formulação.

### **5.5.3- Análise da Densidade**

Na tabela 6estão discriminados os resultados da caracterização físico-química para asformas cosméticas dentifrícios.

**Tabela 6:** Densidade das formulações semissólidas

<b>Forma Cosmética Semissólida</b>	<b>Densidade (g/L) <math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>
<b>Gel CMC 2,5%</b>	0,829 $\pm$ 0,002 (0,2)
<b>Gel CMC 5%</b>	0,870 $\pm$ 0,009 (1,0)
<b>Pasta 5%</b>	1,112 $\pm$ 0,029 (2,6)
<b>Pasta 10%</b>	1,058 $\pm$ 0,010 (0,9)

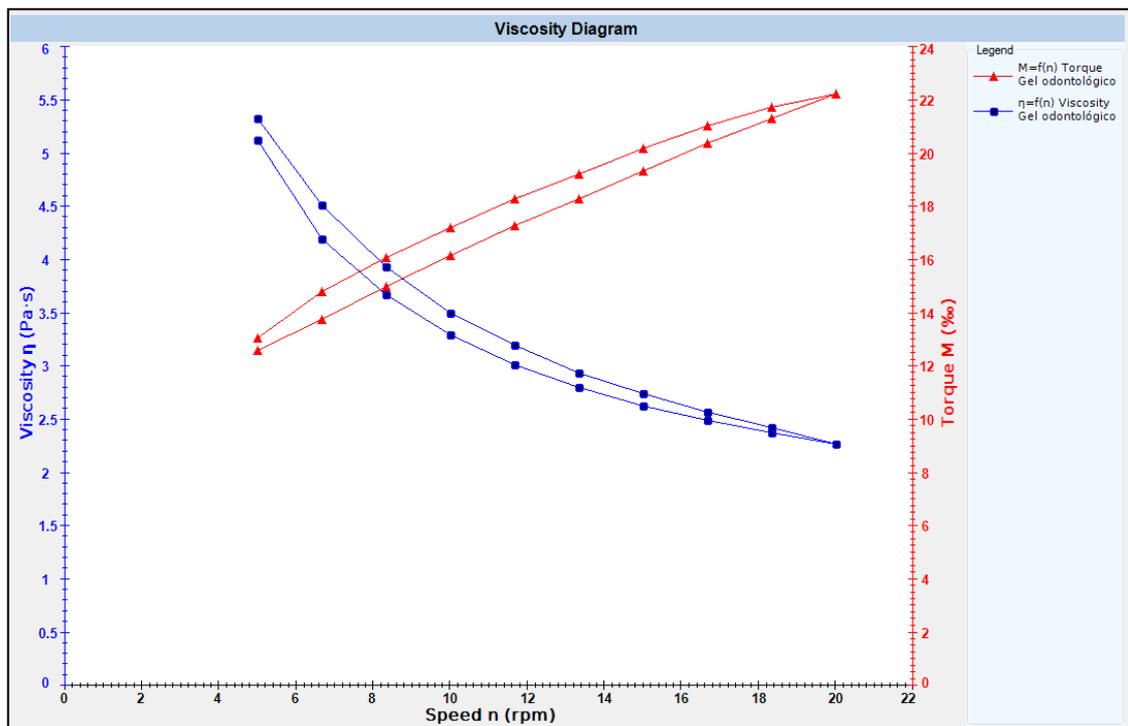
#### 5.5.4- Avaliação do comportamento reológico

O termo reologia foi introduzido no século XIX por Bingham e Crawford, com o propósito de identificar a parte da físico-química que estuda sobre a deformação dos sistemas sólidos, semissólidos e líquidos. A reologia pode então, ser definida como o estudo das propriedades de fluxo e deformação da matéria (AULTON, 2008).

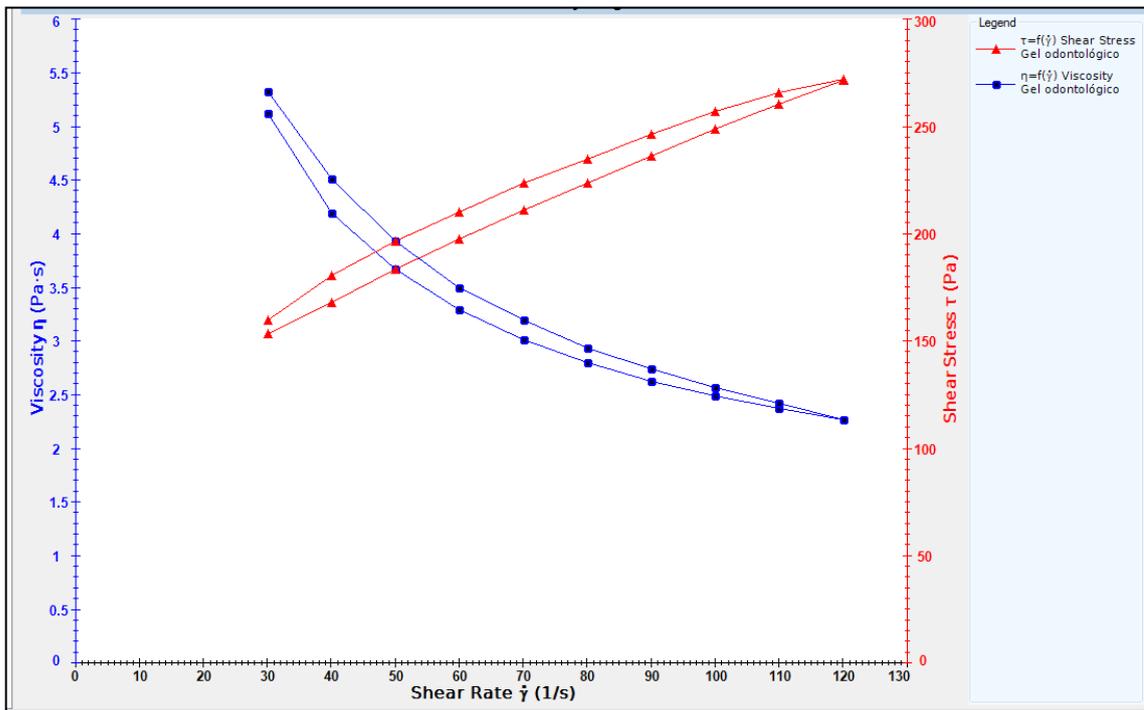
A partir dos dados fornecidos no estudo do comportamento reológico pode-se observar a presença de uma região compreendida entre a curva ascendente e a curva descendente, esta região é denominada área de histerese e constitui o índice tixotrópico do produto. Ele informa a reorganização do sistema após submetê-lo a diferentes tensões de cisalhamento. Num sistema tixotrópico as curvas ascendentes e descendentes não se sobrepõem. A área de histerese indica a ocorrência de uma ruptura na estrutura da substância e pode ser medida através de um planímetro digital e quanto maior a distância entre as duas curvas maior a tixotropia e maior o tempo gasto para o sistema recuperar sua estrutura inicial (LAHOUD; CAMPOS, 2010). Nas formulações propostas, a presença da área de histerese confirma a tixotropia das formulações (gráficos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8). A diminuição progressiva nos valores da viscosidade aparente à medida que aumenta a velocidade de cisalhamento e o retomo aos seus valores iniciais quando cessa o mesmo, caracterizam-se como pseudoplasticidade (LAHOUD; CAMPOS, 2010).

A análise dos reogramas mostrou que todas as formulações possuem um comportamento pseudoplástico (tabelas 7, 8, 9 e 10), apresentando fluxo não newtoniano, ou seja, a viscosidade depende de fatores, como: estrutura da substância; forma de preparo; tempo de repouso; entre outras características que levam o quociente entre a tensão e a velocidade de cisalhamento não ser uma constante como a maioria dos produtos cosméticos e farmacêuticos (ANSEL, 2000).

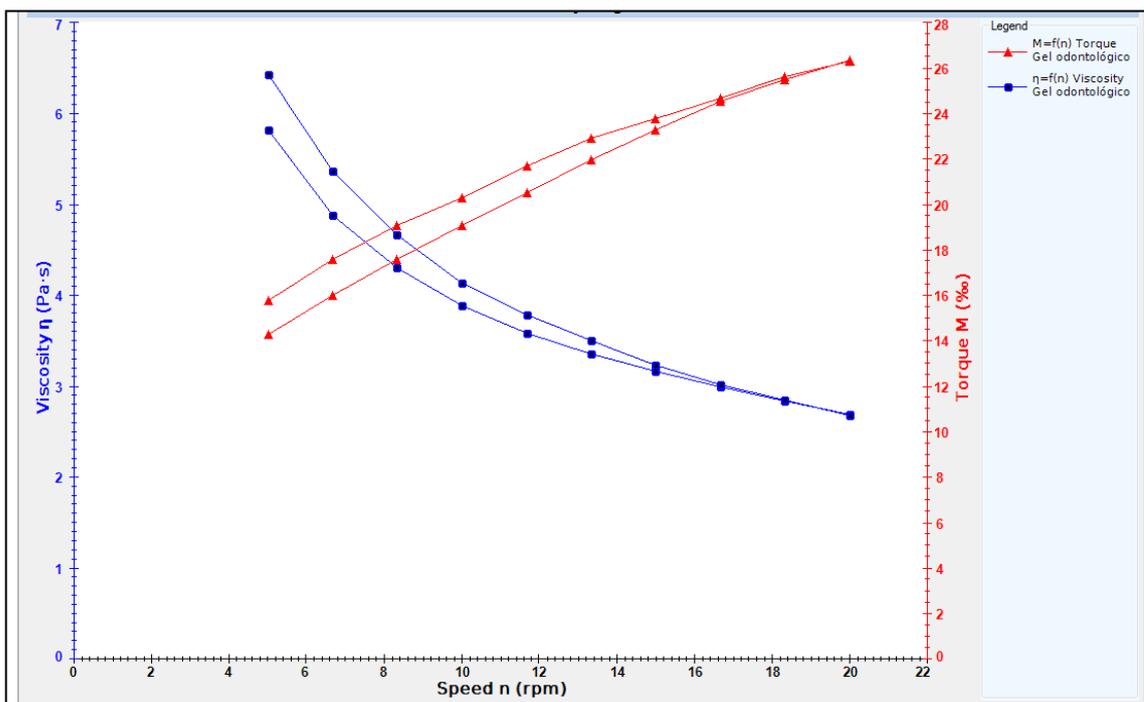
**Gráfico 1:** Reograma da formulação em Gel CMC 2,5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque (%/100)



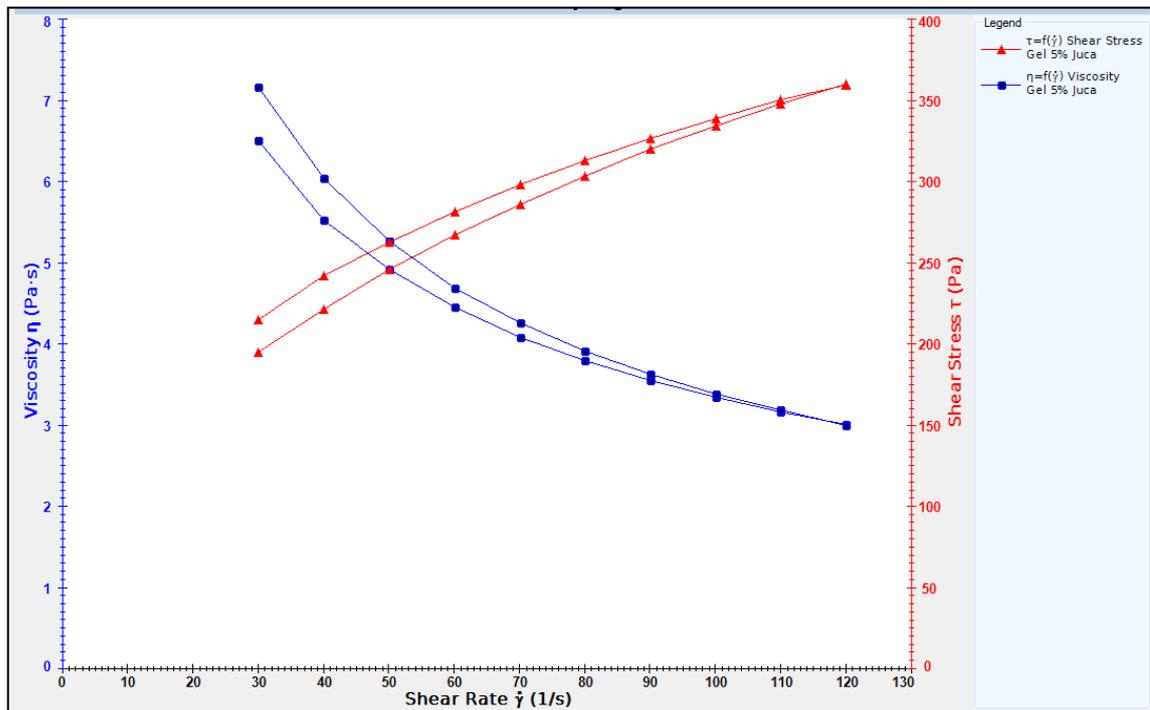
**Gráfico 2:** Reograma da formulação em Gel CMC 2,5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento ( $T$ )



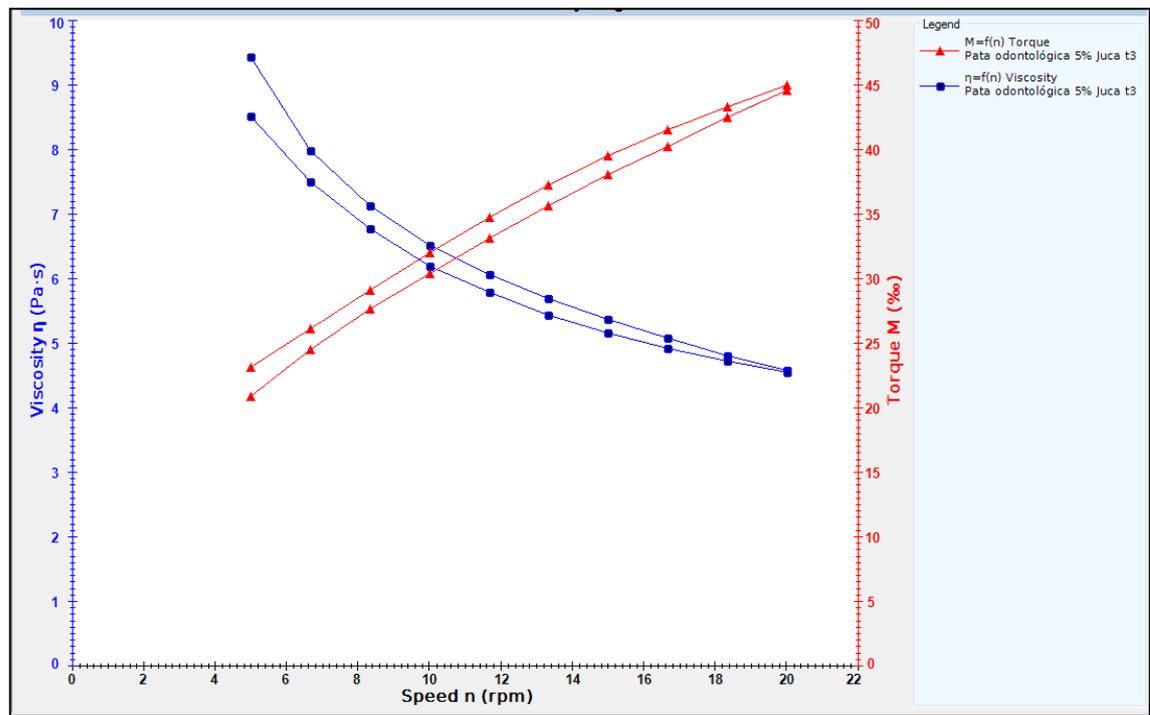
**Gráfico 3:** Reograma da formulação em Gel CMC 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque ( $M$ )



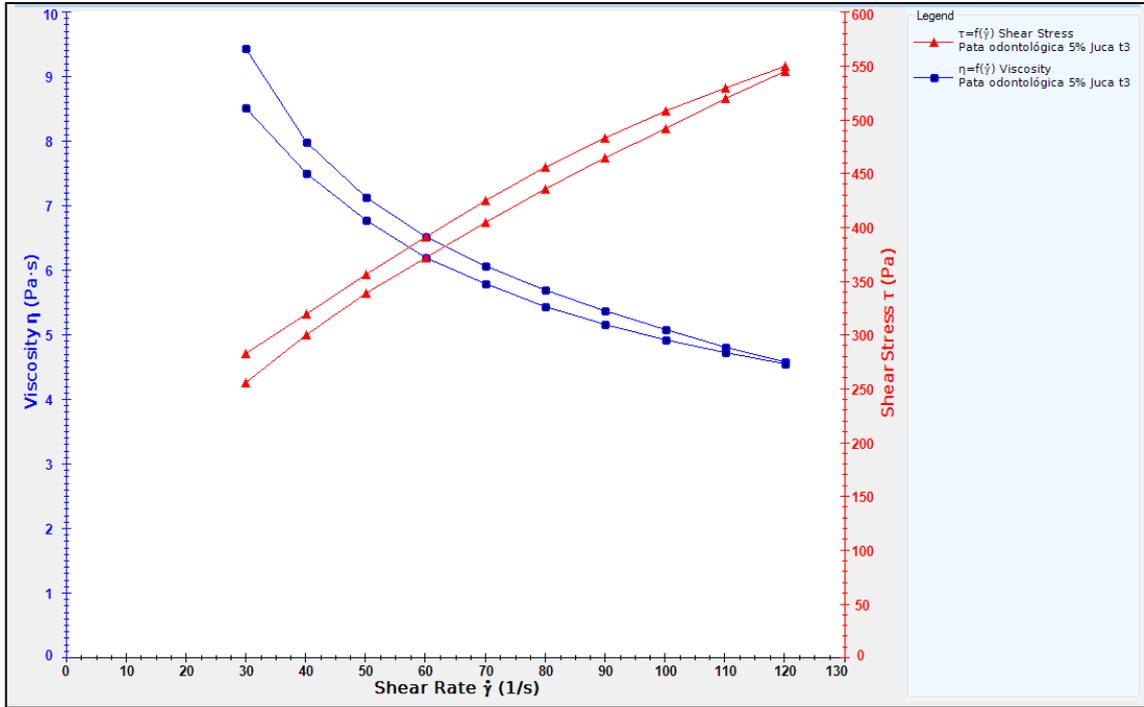
**Gráfico 4:** Reograma da formulação em Gel CMC 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento ( $\tau$ )



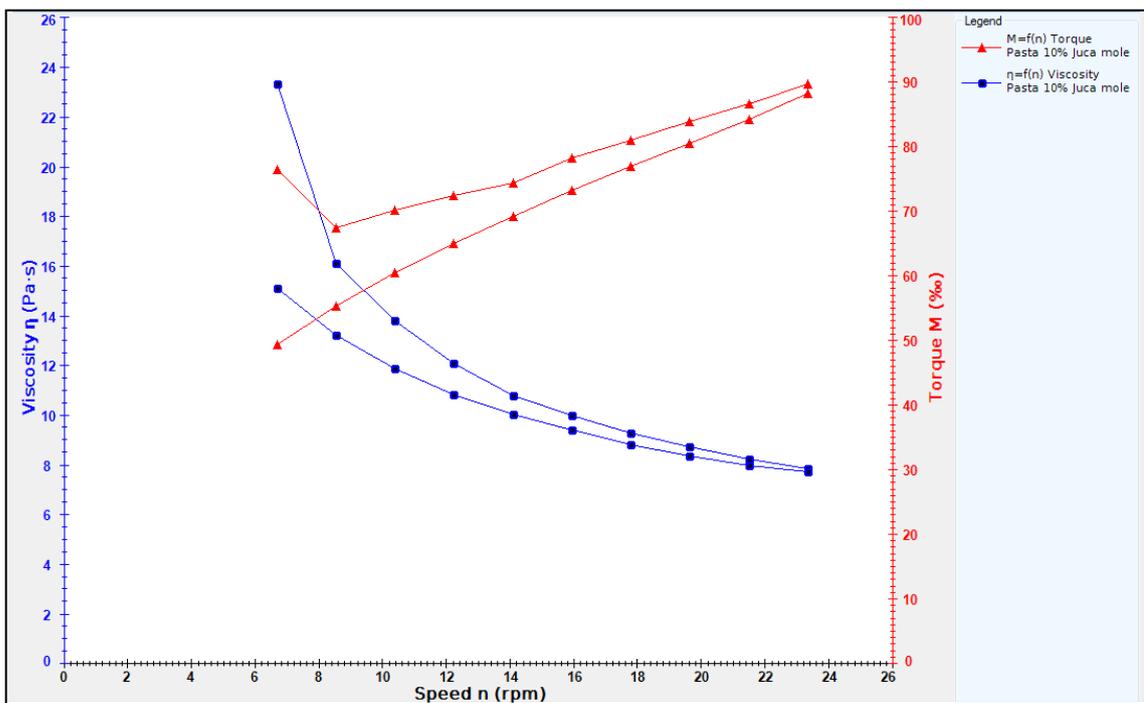
**Gráfico 5:** Reograma da formulação em Pasta 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque ( $M$ )



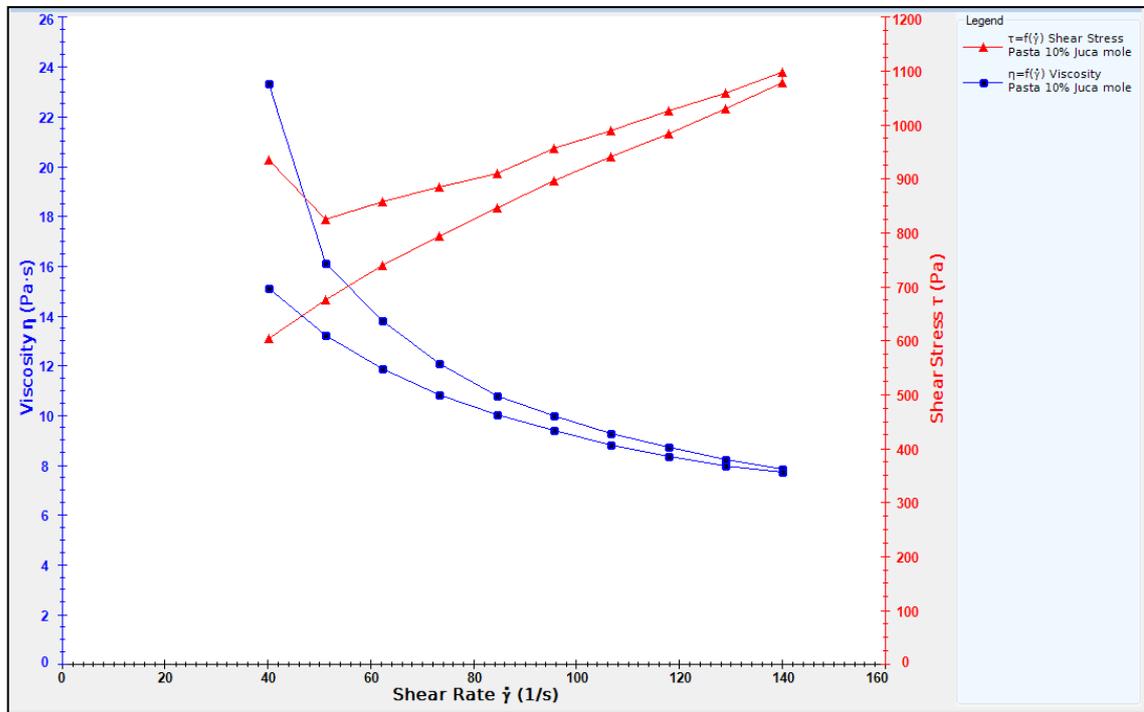
**Gráfico 6:** Reograma da formulação em Pasta 5%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento ( $\tau$ )



**Gráfico 7:** Reograma da formulação em Pasta 10%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à velocidade (rpm) e torque (%).



**Gráfico 8:** Reograma da formulação em Pasta 10%. Diagrama de viscosidade (Pa/s) em relação à tensão de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) e cisalhamento (T)



**Tabela 7:** Reograma Gel CMC 2,5%

Número	Tempo (s)	Cisalhamento (Pa)	Tensão Cisalhamento (1/s)	Viscosidade (Pa·s)	Temperatura (°C)
1	20	153.570	30.000	5.1190	25,4
2	40	167.761	40.020	4.1919	25,4
3	60	183.247	49.980	3.6664	25,4
4	80	197.353	60.000	3.2892	25,4
5	100	210.871	70.020	3.0116	25,3
6	120	223.546	79.980	2.7950	25,3
7	140	235.953	90.000	2.6217	25,3
8	160	248.799	100.020	2.4875	25,3
9	180	260.301	109.980	2.3668	25,3
10	200	271.424	120.000	2.2619	25,3
1	220	271.778	119.994	2.2649	25,3
2	240	265.618	109.980	2.4151	25,3
3	260	256.769	100.020	2.5672	25,3
4	280	246.293	90.000	2.7366	25,3
5	300	234.877	79.980	2.9367	25,3
6	320	223.498	70.020	3.1919	25,3
7	340	209.869	60.000	3.4978	25,3
8	360	196.216	49.980	3.9259	25,3
9	380	180.656	40.020	4.5141	25,3
10	400	159.571	30.000	5.3190	25,3

**Tabela 8:** Reograma Gel CMC 5%

Número	Tempo (s)	Cisalhamento (Pa)	Tensão Cisalhamento (1/s)	Viscosidade (Pa-s)	Temperatura (°C)
1	20	174.569	30.000	5.8190	25,4
2	40	195.348	40.020	4.8813	25,4
3	60	214.746	49.980	4.2966	25,4
4	80	232.824	60.000	3.8804	25,4
5	100	250.498	70.020	3.5775	25,4
6	120	268.001	79.980	3.3509	25,3
7	140	284.063	90.000	3.1563	25,3
8	160	299.659	100.020	2.9960	25,3
9	180	311.503	109.980	2.8324	25,3
10	200	322.088	120.000	2.6841	25,3
1	220	321.208	119.994	2.6769	25,3
2	240	313.055	109.980	2.8465	25,3
3	260	301.627	100.020	3.0157	25,3
4	280	290.418	90.000	3.2269	25,3
5	300	280.139	79.980	3.5026	25,3
6	320	265.092	70.020	3.7860	25,3
7	340	248.054	60.000	4.1342	25,3
8	360	232.921	49.980	4.6603	25,3
9	380	214.575	40.020	5.3617	25,3
10	400	192.708	30.000	6.4236	25,3

**Tabela 9:** Reograma Pasta 5%

Número	Tempo (s)	Cisalhamento (Pa)	Tensão Cisalhamento (1/s)	Viscosidade (Pa-s)	Temperatura (°C)
1	20	282.877	30.000	9.4292	26,7
2	40	319.596	40.020	7.9859	26,7
3	60	356.325	49.980	7.1293	26,7
4	80	391.209	60.000	6.5202	26,7
5	100	424.676	70.020	6.0651	26,7
6	120	455.331	79.980	5.6931	26,6
7	140	483.212	90.000	5.3690	26,6
8	160	507.817	100.020	5.0772	26,6
9	180	529.378	109.980	4.8134	26,6
10	200	549.754	120.000	4.5813	26,6
1	220	544.889	119.994	4.5410	26,6
2	240	519.844	109.980	4.7267	26,6
3	260	492.074	100.020	4.9198	26,6
4	280	464.914	90.000	5.1657	26,6
5	300	435.212	79.980	5.4415	26,6
6	320	404.972	70.020	5.7837	26,6
7	340	371.934	60.000	6.1989	26,6
8	360	338.235	49.980	6.7674	26,6
9	380	299.916	40.020	7.4941	26,6
10	400	255.656	30.000	8.5219	26,6

**Tabela 10:** Reograma Pasta 10%

Número	Tempo (s)	Cisalhamento (Pa)	Tensão Cisalhamento (1/s)	Viscosidade (Pa-s)	Temperatura (°C)
1	20	934.094	40.056	23.3197	27,2
2	40	823.965	51.126	16.1164	27,2
3	60	857.663	62.226	13.7830	27,2
4	80	884.248	73.320	12.0601	27,2
5	100	909.147	84.426	10.7686	27,2
6	120	995.337	95.580	9.9952	27,2
7	140	989.256	106.680	9.2731	27,2
8	160	1.024.886	117.780	8.7017	27,2
9	180	1.059.196	128.880	8.2185	27,2
10	200	1.096.770	139.980	7.8352	27,2
1	220	1.078.985	139.980	7.7081	27,2
2	240	1.029.519	128.880	8.2185	27,2
3	260	983.316	117.780	8.3438	27,1
4	280	940.780	106.680	8.8187	27,1
5	300	895.946	95.580	9.3738	27,1
6	320	846.418	84.420	10.0263	27,1
7	340	794.348	73.320	10.8340	27,1
8	360	739.125	62.220	11.8792	27,1
9	380	676.237	51.120	13.2284	27,1
10	400	604.134	40.020	15.0958	27,1

### 5.5.5- Teste de Centrifugação

Após o preparo das formulações, foram realizados os testes de centrifugação. As formulações em gel a 2,5% e 5% e pasta a 10% apresentaram estabilidade e não houve quebra dos géis.

A formulação em pasta a 5% apresentou separação de fases, formou-se uma fase sólida e uma fase líquida indicando a separação do extrato da formulação.

### 5.5.6- Determinação de Polifenóis Totais (P.T)

Os resultados obtidos na determinação dos P. T foram expressos como equivalentes de ácido gálico e estão apresentados na Tabela 11. O extrato seco por aspersão apresentou altos teores de compostos fenólicos, quando comparados a dados de outras espécies descritos na literatura (SOUSA et al., 2007). Referente às formulações, o menor teor de P.T foi registrado na formulação em pasta a 10% e o maior teor, na formulação em gel a 5%.

**Tabela 11:** Média dos valores de P.T das formulações semissólidas

	<b>Polifenóis Totais</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>
<b>ESA</b>	34,02 ± 0,38 (0,31)
<b>Gel 2,5%</b>	24,23± 1,10 (0,90)
<b>Gel 5%</b>	34,06± 0,17 (0,14)
<b>Pasta 5%</b>	10,43± 1,22 (1,00)
<b>Pasta 10%</b>	6,78± 0,59 (0,48)

### 5.6- Avaliação da (CIM) dos géis e pastas da casca do caule de *L. ferrea* em microdiluição

Os resultados obtidos para a atividade antimicrobiana dos géis contendo extrato seco de *L. ferrea* estão representados na tabela 12.

**Tabela 12:** Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) dos géis da casca do caule de *L. ferrea* e controle positivo frente à patógenos orais em teste de microdiluição.

<b>Microrganismos</b>	<b>Gel 2,5%</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>	<b>Gel 5%</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>	<b>Clorexidina</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>
<b><i>S. oralis</i></b>	0,04 ± 0,007 (0,005)	0,09± 0,014 (0,010)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>S. salivarius</i></b>	0,06± 0,007 (0,005)	0,09 ± 0,014 (0,010)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>S. mutans</i></b>	0,04 ± 0,000 (0,000)	0,09 ± 0,014 (0,010)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>L. casei</i></b>	0,06±0,007(0,005)	0,09±0,014(0,010)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>C. albicans</i></b>	0,04±0,007(0,005)	0,09±0,014(0,010)	0,03 ± 0,000 (0,000)

Os resultados obtidos para a atividade antimicrobiana das pastas contendo extrato seco de *L. ferrea* estão representados na tabela 13.

**Tabela 13:** Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) das pastas da casca do caule de *L. ferrea* e controle positivo frente à patógenos orais em teste de microdiluição.

	<b>Pasta 5%</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>	<b>Pasta 10%</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>	<b>Clorexidina</b> <b><math>\bar{X} \pm S</math> (C.V%)</b>
<b><i>S. oralis</i></b>	0,11 ± 0,014(0,010)	0,26± 0,028 (0,020)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>S. salivarius</i></b>	0,09 ± 0,014(0,010)	0,18 ± 0,028 (0,020)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>S. mutans</i></b>	0,09 ± 0,014(0,010)	0,18 ± 0,028 (0,020)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>L. casei</i></b>	0,09 ± 0,014(0,010)	0,22± 0,028 (0,020)	0,03 ± 0,000 (0,000)
<b><i>C. albicans</i></b>	0,13 ± 0,014(0,010)	0,22± 0,028 (0,020)	0,03 ± 0,000 (0,000)

MARREIRO (2011) avaliou a atividade antibacteriana de um enxaguatório bucal a partir de frutos *L. ferrea* frente a *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mutans* e *L. casei* através da técnica de microdiluição para determinação da CIM. Seu estudo demonstrou que o extrato de *L. ferrea* a 0,6% apresentou atividade antibacteriana frente a *S. oralis*, *S. mutans* e *L. casei* nas concentrações de 3,750 µg/mL; 4,375 µg/mL e 4,375 µg/mL respectivamente. Porém frente a *S. salivarius* o enxaguatório não apresentou atividade antimicrobiana.

Por outro lado, os resultados do presente estudo demonstram a eficácia antimicrobiana das formulações obtidas, contendo ESA da casca do caule de *L. ferrea*, sobre todos os microrganismos testados.

Porém quando se compara os testes realizados com o ESA da casca do caule e as formulações de dentifrícios, estes demonstraram resultados superiores referentes à CIM em relação aos extratos isolados, podendo assim, pressupor que houve um sinergismo entre ESA e adjuvantes farmacêuticos presentes nas formulações.

A escolha dos adjuvantes adequados para qualquer formulação deve se basear nas características do princípio ativo, bem como na sua compatibilidade com os demais componentes da formulação, pois de fato, interações entre princípio ativo e excipientes podem afetar a natureza química e estabilidade da formulação (TAGLIARI, 2008).

Ao propor uma formulação a partir de extratos vegetais, a probabilidade de que uma interação química entre o extrato e os adjuvantes venha a desestabilizar as

preparações é bem maior que em outros casos, principalmente nos casos de dispersão coloidal e emulsão (TAGLIARI, 2008).

De acordo com NUNES (1996), um dos adjuvantes utilizados no preparo de dentifrícios é o detergente lauril sulfato de sódio. Sua molécula aniônica apresenta uma alta capacidade de aderência a moléculas de proteínase às cargas positivas, Possui ainda, atividade antimicrobiana, sendo capaz de penetrar através de membranas biológicas, durabilidade mediana de 5 a 7 horas e ação inibidora de biofilme dental.

Diante o exposto, optou-se por avaliara atividade antimicrobiana dos adjuvantes farmacêuticos utilizados em meio sólido.

Foram testados o carbonato de cálcio, sorbitol, lauril sulfato de sódio, carboximetilcelulose e o metilparabeno. Dos cinco adjuvantes testados apenas o lauril sulfato de sódio apresentou atividade antimicrobiana, com halos de inibição variando de 12 a 28 mm e CIM de 0,18 mg/mL para *S. oralis*, 0,75 mg/mL para *S. salivarius*, 0,18mg/mL para *L. casei*, 3 mg/mL para *C. albicans* e 0,75 mg/mL para *S. mutans*, como demonstra a tabela 14.

**Tabela 14:** Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do Lauril sulfato de sódio.

<b>Lauril Sulfato de Sódio (mg/mL)</b>					
<b>Microrganismos</b>					
	<b><i>S. oralis</i></b>	<b><i>S. salivarius</i></b>	<b><i>L. casei</i></b>	<b><i>C. albicans</i></b>	<b><i>S. mutans</i></b>
<b>Diluição Da solução</b>	<b><math>\bar{X} \pm s</math> (C.V%)</b>				
<b>1</b> <b>*(12)</b>	22,0 ± 1,41 (6,40)	23,5 ± 0,70 (3,00)	28,0 ± 1,41 (5,00)	22,0 ± 0,00 (0,00)	23,5 ± 0,70 (3,00)
<b>1:2</b> <b>*(6)</b>	20,5 ± 0,70 (3,40)	21,0 ± 0,00 (0,00)	24,0 ± 1,41 (5,80)	20,5 ± 0,70 (3,40)	22,5 ± 0,70 (3,10)
<b>1:4</b> <b>*(3)</b>	19,5 ± 0,70 (3,50)	20,0 ± 0,00 (0,00)	23,0 ± 0,00 (0,00)	17,5 ± 0,70 (4,00)	20,5 ± 0,70 (3,40)
<b>1:8</b> <b>*(1,5)</b>	17,5 ± 0,70 (4,00)	18,5 ± 0,70 (3,80)	22,5 ± 0,70 (3,10)	0,0	19,0 ± 0,00 (0,00)
<b>1:16</b> <b>*(0,75)</b>	16,5 ± 0,70 (4,20)	13,5 ± 0,70 (5,10)	19,0 ± 0,00 (0,00)	0,0	15,5 ± 0,70 (4,50)
<b>1:32</b> <b>*(0,37)</b>	15,0 ± 1,41 (9,40)	0,0	19,0 ± 0,00 (0,00)	0,0	0,0
<b>1:64</b> <b>*(0,18)</b>	12,0 ± 0,00 (0,00)	0,0	18,0 ± 0,00 (0,00)	0,0	0,0
<b>1:128</b> <b>*(0,09)</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>1:256</b> <b>*(0,04)</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>1:512</b> <b>*(0,02)</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

\* Concentração da solução em mg/mL

Estudos que testam a efetividade de produtos comerciais devem considerar se possíveis, além dos constituintes farmacêuticos, as concentrações de cada princípio ativo presente, visando, dessa forma, identificar a ação de cada componente, de modo a permitir a comparação e análise dos resultados.

No presente estudo pode-se confirmar que o lauril sulfato de sódio apresentou atividade antimicrobiana frente às espécies de microrganismos testadas confirmando assim o sinergismo entre adjuvante e o extrato vegetal.

## 6- CONCLUSÕES

- Os ensaios de atividade antimicrobiana *in vitro* com extrato seco por aspersão da casca do caule *L. ferrea* obtiveram melhores resultados frente aos patógenos bucais testados apresentando atividade antimicrobiana contra todas as cepas testadas.
- No estudo para obtenção da forma cosmética dentifrício, o gel de Carboximetilcelulose sódica demonstrou maior viabilidade como base para incorporação do extrato seco das cascas do caule de *L. ferrea*. A formulação base de pasta dental, com Carboximetilcelulose sódica e Carbonato de Cálcio, foi viável para incorporação do ESA na concentração de 10%.
- Nos ensaios de caracterização físico-químico dos dentifrícios as pastas dentais nas concentrações de 5% e 10% apresentaram melhores valores de pH de 8,0 e 7,7 respectivamente, sendo considerados mais compatíveis com o pH da cavidade bucal.
- O comportamento reológico obtido demonstrou que as formulações em gel de CMC avaliadas apresentaram tixotropia, sendo que, a diminuição nos valores da viscosidade à medida que aumentava a velocidade de cisalhamento e o retorno aos seus valores iniciais quando cessava o mesmo, foi possível caracterizar as formulações como pseudoplásticas. A análise dos reogramas mostrou que todas as formulações possuem um comportamento pseudoplástico.
- A avaliação da atividade antimicrobiana dos dentifrícios em diferentes concentrações do ESA, obtiveram melhores resultados no gel de CMC a 2,5% com CIM de 0,04 mg/mL para o *S. oralis*, *S. mutans* e *C. albicans* e CIM de 0,06 mg/mL para os *S. salivarius* e *C. albicans*.
- A avaliação da atividade antimicrobiana dos adjuvantes farmacêuticos presentes na formulação permitiu concluir que o Lauril sulfato de sódio apresentou atividade antimicrobiana nos testes *in vitro* em meio sólido com halos de inibição que

variaram de 12 a 28 mm frente a todos os patógenos bucais testados indicando assim um sinergismo entre adjuvante e extrato vegetal.

## 7- REFERÊNCIAS

- ADAMS,A.B. **Caries risk assessment**.Chronicle,v.58, n.1, p.10-3, Jan. 1995.
- AKDENIZ, B. G.; KOPARAL, E.; SEN, B. H.; ATES, M.; DENIZCI, A. A. **Prevalence of *Candida albicans* in oral cavities and root canals of children**.Journal of Dentistry for Children, p.289-292, 2002.
- ALLEN Jr., L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed,2007.
- ALMEIDA, R. **Plantas medicinais brasileiras: Conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus EditoraLTDA, 341 p. 1993.
- ALONSO, J. R. **Fitomedicina- curso para profissionais da área da saúde**. 1ªedição. São Paulo: Pharmabooks; p 9-53, 81-99, 2008.
- ALVES, H. M. A.**Diversidade Química das Plantas como Fonte de Fitofármacos**. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, n.3, 2001.
- ALVES, T. M. C. **Avaliação da viabilidade de obtenção de formas farmacêuticas plásticas contendo extrato seco por aspersão de *Caesalpinia ferrea* martius**. Trabalho de iniciação científica, Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2009.
- ANDREWS, J. M. **Determination of minimum inhibitory concentrations**. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 48, n. 1, p. 5-16, 2001.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; JR, L. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. Editorial Premier, São Paulo, ed.6. 2000.
- AQUINO, D. R.; CORTELLI, J. R.; FARIA, I. S.; SIQUEIRA, A.F.;CORTELLI ,S. C. **Ação antimicrobiana de triclosan sobre microbiota cariogênica**.Biociência. 10 (1-2):79-86. 2004.
- ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M.**The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man**.Archives of Oral Biology, v.25, p.1-10, 1980.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 677 p., 2008.
- BACHI, E. M.; SERTIE, J. A. A.; VILLA, N.; KATZ, H.**Antiulcer action and toxicity of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferrea***.Planta Med 61: 204–207. 1995.
- BARAKAT, L. **Avaliação da viabilidade de obtenção de formas farmacêuticas plásticas contendo extrato seco de *Caesalpinia ferrea* Mart**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Amazonas, Manaus.100f. 2011.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. C. **Candidíase**. *Jornal de Doenças Sexualmente Transmissíveis*. V. 22, n. 1, p.22-38, 2010.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method**. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4) : 493-496.1969.

BEIGHTON, D.; LUDFORD, R.; CLARK., D.T. **Use of Chromagar Candidamedium for isolation of yeasts from dental samples**. *Journal of Clinical Microbiology*, v.33, p.3025-3027, 1995.

BENDAZZOLI, W.S. **Fitomedicamentos: perspectivas de resgate de uma terapia histórica**. *Mundo Saúde*, São Paulo, v.24, n.2, p.123-126, 2000.

BERKOWITZ, R. J. **Acquisition and transmission of mutans streptococcus**. *Journal Calif. Dent. Assoc.*, Sacramento, v. 31, n. 2, p. 135-8, 2003.

BERMUDEZ, J.A.Z. **Indústria Farmacêutica, Estado e Sociedade**. São Paulo: Hucitec, 204 p. 1995.

BIANCO, K. G. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais da savana brasileira sobre *Streptococcus mutans* e a sua capacidade de desmineralização e a adesão à superfície de vidro**. (Mestrado em Odontopediatria). Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista; 2004.

BITTENCOURT, F. O. **Desenvolvimento e avaliação da atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* de formulações semi-sólidas contendo própolis vermelha**. Dissertação de Mestrado Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, Aracaju. Março 2008.

BRANDÃO, E. H. S.; OLIVEIRA, L. D.; LANDUCCI, L. F.; KOGA- ITO, C. Y.; JORGE, A. O.C. **Antimicrobial activity of coffee-based solutions and their effects on *Streptococcus mutans* adherence**. *Brasil Journal Oral Science*, 6(20):1274-7, 2007.

BRANTING, C.; SUND, M. L.; LINDER L. E. **The influence of *Streptococcus mutans* on adesion of *Candida albicans* to acrylic surfaces *in vitro***. *Archives of OralBiology*, v.34, p.347-353, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 89, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da “**Lista de registro simplificado de fitoterápicos**”. *Diário Oficial da União*, Brasília, 18 mar. 2004.

BRAS-FILHO, R. **Química de Produtos Naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de um pacatubano**. *Química Nova*, v.17.n.5,p.405-445,1994.

CALIXTO, J. B. **Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (Phytotherapics)**. *Brazilian Journal of Medical and BiologicalResearch*, v. 33, p. 179-189, 2000.

CANNON, R.D.; CHAFFIN, W.L. **Oral colonization by *Candida albicans*.Critical.Reviews in Oral Biology and Medicine**, v.10, n.3, p.359-383, 1999.

CARVALHO, J. C. T. ***Caesalpinia ferro* (Pau-Ferro): Avaliação da atividade antiinflamatória e analgésica.** Masters Thesis.Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto,Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 125 pp. 1993.

CARVALHO, J. C. T.; TEIXEIRA, J. R. M.; SOUZA, P. J. C.; BASTOS, J. K.; FILHO, D. S.; SARTI, S. J. **Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpiniaferrea* crude extract.**J Ethnopharmacol 53:175–178, 1996.

CASTRO, A. M.; MOCHIDOME, F. L. ***Streptococcus mutans* na cavidade bucal de bebês e sua relação com a cárie dentária.** Revista do CRO-MG, v.6, n.1,p.24-27, 2000.

CASTRO, E. **Territórios, biodiversidade e saberes de populações tradicionais.** In: DIEGUES, A.C. (org.). **Etnoconservação: novos rumos para a proteção da natureza dos trópicos.**São Paulo: HUCITEC, 2000.

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. **Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candidaspp*.** Revista de Odontologia UNESP, 39(3):179-184, 2010.

CATE, J. M. **Molecular an cellular mechanisms that lead to candida biofilm formation.** Journal dentistry research. V. 88, n. 22, p. 105-115, 2009.

CAVALHEIRO, M.G.;FARIAS, D. F.; FERNANDES, G. S.; NUNES, E.P.; CAVALCANTI, F. S.; VASCONCELOS, I. M.; MELO, V. M. M.; CARVALHO, A. F. U. **Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea*Mart.,Leguminosae.**Rev Bras Farmacogn 19: 586- 591, 2009.

CHADWISCK, D. J.; MARSH, J. **Bioactive compounds from plants,** John Wiley, New York, 1990.

CHHOUR, K. L. **Molecular analysis of microbial diversity in advenced caries.**Journal Clinical. Microbiology, Washington, v. 43, n. 2, p. 843-849, 2005.

COELHO, R.G. **“Estudo químico de *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae), *Wilbrandia ebracteata* (Cucurbitaceae) e *Caesalpinia ferrea* (Caesalpinaceae)”.** Tese (Doutorado de Química), Universidade Estadual Paulista, Araraquara. 2004.

COMA, V.; SEBTI, I.; PARDON, P.; PICHAVANT, F. H.; DESCHAMPS, A. **Film properties from crosslinking of cellulosic derivatives with a polyfunctional carboxylic acid.** Carbohydrate Polymers,v.51, 2003.

CORDEIRO, C. H. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; PIZZOLITTO, A. C.; BAUAB, T. M. **Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de**

**extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 42, n. 3, jul./set., 2006.

CORREA, N. M.; CAMARGO Jr, F.B.; IGNÁCIO, R.F.; LEONARDI, G.R. **Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.v. 41, n. 1, p.74-78, jan./mar., 2005.

CORTELLI, S. C.; JORGE, A. O. C.; QUERIDO, S. M.R.; CORTELLI, J. R. **PCR e culturana detecção subgingival de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: estudo comparativo.** Ciência Odontologia Brasileira, abr.; 6(2):58-64, 2003.

COSTA, M. A. **Plantas e saúde: Guia introdutório á Fitoterapia.** Brasília: Governo do Distrito Federal.88p.1992.

COSTA, L. M. **Desenvolvimento de produto seco por aspersão obtido a partir das cascas do caule de *Libidibia ferrea* Martius var. *ferrea* (Fabaceae).** Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 126.f.2012.

COUTINHO, M. S. ; SILVA, D.C.F. ; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G.; OLIVEIRA, P.J. **Rheological and morphological properties of carboxymethylcellulose/starch blends with or without zno and their applications as inoculant carrier.** Macromolecular Symposia, v. 319, p. 222-229, 2012.

CURY, J. A. **Dentifrícios: como escolher e como indicar.** In: Associação Paulista dos Cirurgiões-Dentistas. Odontologia. São Paulo: Artes Médicas – Divisão Odontológica; 2002.

DAS, K.; TWARI, R. K. S.; SHRIVASTAVA, D. K. **Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends.** Journal of medicinal plants research, v. 4, n. 2, p. 104-111, 2010.

DE OLIVEIRA, S. A.; TRNTIN, V. H.; KAPPEL, V. D. BARELLI, C.; GOSMANN, G.; REGINATTO, F. H. **Screening of antibacterial activity ou south Brazilian Baccharis Species.** Pharmaceutical biology, v. 43, n. 5, p. 434- 438, 2005.

DE SOUZA, C. F. **Galactomanana de sementes de *caesalpinia ferrea* var. *ferrea*: estrutura, modificação química e caracterização de propriedades.** Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), 113f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

DI STASI, L. C.; GUIMAR, E.S.; SANTOS, C .M.; HIRUMA, C. A. L.; SOUZA-BRITO, A. R. M. **Fabales medicinais.** In: DI STASI, L. C.; HIRUMA, C. A. L. **Plantas medicinais na Amazonia e na Mata Atlantica.** S. Paulo, SP, Brasil, Editora UNESP, p. 276–320, 2002.

DINIZ, M. F. F. **As plantas como alternativa terapêutica: aspectos populares e científicos.** João Pessoa/PB. Editora Universitária/ UFPB. 202p. 1997.

DITTERICH, R.G.; VASCONCELLOS, M. C. M. O.; RASTELLI, M.C., PORTERO, P.P.; SANTOS, E.B. **Atividade antimicrobiana “in vitro” de substâncias naturais presentes nos dentifrícios.**Odontologia Clinica Cientifica. 6(4):303-7. 2007.

DUARTE, C. A.; KFOURI, L. S. **Ação da própolis sob forma de bochechos.**RGO, Porto Alegre, v. 47, n. 2, p. 82-84, abr./jun. 1999.

EMILSON, C.G. **Potencial efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries.**Journal Dental Res, v.73, n.3, p.862-91, 1994.

FABRY, W.; OKEMO, P. O.; ANSORG, R. **Antibacterial activity of east African medicinal plants.** Journal Ethnopharmacology, Feb. 60 (1): 79:84, 1998.

FARMACOPEIA BRASILEIRA,5 ed., vol. 1, Brasília, 2010.

FERREIRA, L.A.; LEITE, J.P.V. **Desenvolvimento de formulações fitoterápicas.**In: LEITE, J.P.V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas.** São Paulo:Editora Atheneu, p. 206-251, 2008.

FRANCISCO, K. S. F. **Fitoterapy: an option in odontological treatment.**Revista Saúde da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP. 4 (1) 2010.

FREITAS, A.P.F.T. **Flórua fanerogâmica das restingas do Estado do Pará: Leguminosae-Caesalpinoideae.** Dissertação de Mestrado, Museu Paraense Emilio Goeldi, Belém. 2009.

FREITAS, A. C. C.; XIMENES,N. C. A.;AGUIAR,J. S.;NASCIMENTO,S. C.;LINS, T. U. L.; MAGALHÃES,L. R.; COELHO, L. C. B. B.; CUNHA,M. G.;SILVA, G. T. CORREIA, M. T. S. **Biological Activities of Libidibia (Caesalpinia) ferrea var. parvifolia (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz Pod Preparations Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.** Article ID 514134, 7 pages.2012.

GALDINO, G.; MESQUITA, M. R.; FERRAZ, I. D. K.**Descrição morfológica da plântula e diásporos de Caesalpinia ferrea Mart.**Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 747-749, jul. 2007.

GARCIA, B. H.; SANTOS, A. G.; SARTOR, C. F. P.; FELIPE, D. F. **Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis verde e vermelha contra bactérias cariogênicas.** CESUMAR – Centro Universitário de Maringá – Paraná. V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica 26 a 29 de outubro de 2010.

GARCIA, E. S. **Fitoterápicos: biodiversidade, perspectivas e oportunidades tecnológicas.**1996. Disponível em: <[www.bdt.fat.org.br/publicações](http://www.bdt.fat.org.br/publicações)>. Acesso: 26 maio de2012.

GEBARA E. C.E.; ZARDETO C. G. D.C.; MAYER M. P. A. **Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre S. mutanse S. sobrinus.** Revista de Odontologia da Universidade São Paulo; 10(4), p. 251-6, 1996.

GEBRAN, M. P.; GEBERT, A. P.O. **Controle químico e mecânico da placa bacteriana.** Tuiuti: Ciência e Cultura.26(3):45-58. 2002.

GEETHA, T.; VARALAKSHMI, P. **Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats.** Journal of Ethnopharmacology, v.76, p.77-80, 2001.

GONZALEZ, F. G.; BARROS, S. B. M.; BACHI, E. M. **Atividade antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpinia ferrea* Mart.** Braz J Pharmacol Scienc,40 (supl 1), 79, 2004.

GUERRA, P. M.; NODARI, O. R. **Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos.** In: SIMÕES, M. O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3. ed. p.15 Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

HASHIMOTO, G. **Illustrated encyclopedia of Brazilian medicinal plants.** Kamakura: Abokk Press, p.171-7, 1996.

ISLAM, M. T.; HORNEDO, N. R.; CIOTTI, S.; ACKERMANN, C. **Rheological Characterization of Topical Carbomer Gels Neutralized to Different pH.** Pharmaceutical Research, Vol 21, No 7. 2004.

JESUS, R. P. F. S.; COSTA, M. R. M.; BASTOS, I. V.; COUTO, G. B. L.; VIEIRA, M. S. P.; SOUZA, I. A. **Antimicrobial and antiadherent activity of *pithecellobium cochliocarpum* (gomez) macbr tested on oral microorganism.** Odontologia científica, Recife, 9 (4) 331-335, out./dez., 2010.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides*. Lam.DC. Compositae. (Marcela)**228p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul]. Porto Alegre, 1991.

KOMIYAMA, E. Y.; SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C.; MARTINS, C. A. P.; KOGAITO, C.Y. **Produção de exoenzimas por amostras de *Candida albicans* isoladas de pacientes com periodontite crônica e indivíduos-controle.** Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo set/dez;19(3):288-92, 2007.

KOROLKOVAS, A.; BURCKALTER, J.H. **Química farmacêutica,** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 4, 1998.

LACHMAN, L.; DELUCA, P.; AKERS, M. J. **Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química.** In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN H.A.; KANIG, J. L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulben Kian. v. 2, cap. 256. 2001.

LAHOUD, M. H.; CAMPOS, R. **Theoretical aspects related to pharmaceutical rheology.** Visão Acadêmica, Curitiba, v.11, n.1, Jan. - Jun./2010.

LEITES, A. C. B. R.; PINTO, M. B.; SOUSA, E. R. **Aspectos microbiológicos da cárie dental.** microbiological. *Salusvita*, Bauru, v. 25, n. 2, p. 135-148 2006.

LEWIS, G.P., SCHIRE, B.D., MACKINDER, B.A. & LOCK, J.M. **Legumes of the World**. Royal Botanic Gardens, Kew. 2005.

LEWIS, G. P. **LIBIDIBIA**. IN: FORZZA, R. C.; LEITMAN, P. M.; COSTA, A. F.; CARVALHO, J. R.; PEIXOTO, A. L.; WALTER, B. M. T.; BICUDO, C.; ZAPPI, D.; COSTA, D. P.; LLERAS, E.; MARTINELLI, G.; LIMA, H. C.; PRADO, J.; STEHMANN, J. R.; BAUMGRATZ, J. F. A.; PIRANI, J. R.; SYLVESTRE, L.; MAIA, L. C.; LOHMANN, L. G.; QUEIROZ, L. P.; SILVEIRA, M.; COELHO, M. N.; MAMEDE, M. C.; BASTOS, M. N. C.; MORIM, M. P.; BARBOSA, M. R.; MENEZES, M.; HOPKINS, M.; SECCO, R.; CAVALCANTI, T.B. & SOUZA, V.C. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB109830> (acesso em 01.08.2012).

LIMA, J.E.O. **Cárie dentária: um novo conceito**. Revista Dental Press Ortodontia e Ortopedia Facial, 12(6): 119-130, 2007.

LINDHE, J. **Tratado de Periodontologia Clínica**, 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 493p. 1992.

LOESCHE, W.J. **Cárie Dental, Uma Infecção Tratável**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. **Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos**. Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas, v.41, n. 2, p.143-15, 2005.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares**. Quim. Nova, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAIA, G.N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica, Leitura & Arte, 413 p. 2004.

MALTZ, M. T. **Cárie: fatores relacionados**. In: Pinto, V. G. Saúde Bucal Coletiva, 4 ed, São Paulo: Santos, p. 319-339, 2000.

MARTINS, E. R. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFC: 240p. 1998.

MARINHO, V. A.; PEREIRA, G. M. **CÁRIE: Diagnóstico e plano de tratamento: revisão de literatura**. R. Un. Alfenas, Alfenas, 4:27-37, 1998.

MARREIRO, R. O. **Caesalpinia ferrea L.: avaliação da atividade antimicrobiana, controle de qualidade e compatibilidade biológica de uma formulação de enxaguatório bucal**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa Saúde Sociedade e Endemias da Amazônia – UFAM. 2011.

MARREIRO, R. O.; BANDEIRA, M. F. C. L.; SOUZA, T. P. S.; ALMEIDA, M. C.; BENDAHAM, K.; VENÂNCIO, G. N.; RODRIGUES, I. C.; COELHO, C. N.; MILÉRIO, P. S. L. L.; OLIVEIRA, G. P.; CONDE, N. C. O. **Evaluation of the Stability and**

**Antimicrobial Activity of an Ethanolic Extract of *Libidibia ferrea*.** Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry, 6 9–13, 2014.

MARSH, P., MARTIN, M. V. **Microbiologia oral.** 4 ed. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 192p, 2005.

MARTIN, A.; BUSTAMENATNE, P.; CHUN, A.H.C. **Physical pharmacy.**4.ed. Baltimore: Lea and Febiger,622 p.1993.

MARTINS, M.; KLUCZKOVSKI, A. M.; SOUZA, T. P.; PACHECO, C.; SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. **Inhibition of Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus parasiticus* by Guaraná (*Paullinia cupana Kunth*) and Jucá (*Libidibia ferrea Mart*) Extracts.** African Journal of Biotechnology.Vol. 13(1), pp. 131-137, 1 January, 2014.

MARTIUS, C.F.P. **REISE IN BRASILIEN. LINDAUER, MUNCHEN.** 1828.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais. Guia de seleção para emprego de plantas medicinais do Nordeste do Brasil.** Vol. 1, IOCE, Fortaleza, 1989.

MATOS, F. J. **Farmácias vivas.** Ceará: UFC: 415p. 1991.

MENEZES, I. A. C.; MOREIRA, I. J. A.; CARVALHO, A. A.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. R. V. **Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea*: involvement of ATP-sensitive potassium channels.**Vascular Pharmacology, v.47, p.41–47, 2007.

MERCLIN, N.; BRAMER, T.; EDSMAN, K. **Iontophoretic delivery of 5-aminolevulinic acid and its methyl Ester using a carbopol gel as vehicle.**Journal of Controlled Release, v. 98, p. 57-65, 2004.

MOALIC, E.; GESTALIN, A.; QUINIO, D.; GEST, P.E. ZERILI, A; LE FLOHIC, A. M. **The extent of oral fungal flora in 353 students and possible relationships whith dental caries.**Caries Research. v.35 p.149-155. 2001.

MOREIRA, D.; SPOLIDÓRIO, D. M. P.; RODRIGUES, J. A. O.; BORIOLLO, M. F. G.; PEREIRA, C. V.; ROSA, E. A. R.; HÖFLING, J. F. **Biotipos de *Candida spp.* na cavidade oral de escolares de diferentes categorias socioeconômicas de Piracicaba-SP, Brasil.**Pesquisa Odontológica Brasileira, v.15, n.3, p.187-195, 2001.

NAKAMURA, E. S.; KUROSAKI, F.; ARISAWA, M.; MUKAINAKA, T.; TAKAYASU, J.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; PASTORE, F. **Cancer chemopreventive effects of a Brazilian folk medicine, Juca, on *in vivo* two-stage skin carcinogenesis.** J Ethnopharmacol 81: 135–137. 2002a.

NAKAMURA, E.S. KUROSAKI, F.; ARISAWA, M.; MUKAINAKA, T.; TAKAYASU, J.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; PASTORE, F. **Cancer chemopreventive effects of *Caesalpinia ferrea* and related compounds.** *Cancer Letters*, v.177, n.2, p.119-24, 2002b.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard, 6<sup>th</sup> edition. M7-A6. NCCLS, Wayne, PA. 2003.

NEWBRUN, E. **Problems in caries diagnosis**. Int. Dent. J., v.43, n.2, p.133-142, 1993.

NIE, H.; LIU, M.; ZHAN, F.; GUO, M. **Factors on the preparation of carboxymethylcellulose hydrogel and its degradation behavior in soil**. Carbohydrate Polymers, v. 58, 2004.

NIKAWA, H.; EGUSA, H.; MAKIHIRA, S.; YAMASHIRO, H.; FUKUSHIMA, H.; JIN, C.; NISHIMURA, M.; PUDJI, R. R.; HAMADA, T. **Alteration of the coadherence of *Candida albicans* with oral bacteria by dietary sugar**. Oral Microbiology and Immunology, v.16, p.279-283, 2001.

NOVAIS, T. S. **Atividade antimicrobiana em alguns extratos de vegetais de semiárido brasileiro**. Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v. 13, supl. 2, p. 5-7, 2003.

NOZAKI, H.; HAYASHI, K.; KIDO, M.; KAKUMOTO, K.; IKEDA, S.; MATSUURA, N.; TANI, H.; TAKAOKA, D.; LINUMA, M.; AKAO, Y. **Paufferol A, a novel chalcone trimer with a cyclobutane ring from *Caesalpinia ferrea* Mart exhibiting DNA topoisomerase II inhibition and apoptosis-inducing activity**. Tetrahedron Letters, v.48, p.8290–8292, 2007.

NUNES, J. **Desenvolvimento de dentifrícios específicos para diferentes faixas etárias**. São Paulo, 155 p. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1996.

NUNES, D. A. **Autilização de agentes fitoterápicos em odontologia**. Revista da Faculdade de Odontologia da UFBA, Salvador, v. 18, p.11-14, jan./jun. 1999.

OLIVEIRA, F. Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. **Espécies vegetais indicadas na odontologia**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n.3, p. jul./set., 2007.

OLIVEIRA, A.F.; BATISTA, J.S.; PAIVA, E.S.; SILVA, A.E.; FARIAS, Y.J.M.D.; DAMASCENO, C.A.R.; BRITO, P.D.; QUEIROZ, S.A.C.; RODRIGUES, C.M.F.; FREITAS, C.I.A. **Avaliação da atividade cicatrizante do jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *ferrea*) em lesões cutâneas de caprinos**. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.12, n.3, p.302-310, 2010.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K. LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; MISHIKAWA, S. O. FREITAS, B. R. **Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de plantas medicinais**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 18, n. 2, p. 301- 307, 2008.

OYEDEJI, A. O. **Antimicrobial activity of the essential oils of five Eucalyptus species growing in Nigeria.** Fitoterapia, v. 70, p. 526-528, 1999.

PANZERI, H.; PEDRAZZI, V.; OGASAWARA, M. S.; ITO, I. Y.; LARA, E. H. G.; GABARRA, F. R. **Um dentifrício experimental contendo própolis: avaliações físicas, microbiológicas e clínicas.** Revista ABO Nacional fev./mar.; 7 (1): 26-30, 1999.

PEREIRA, J. V. **Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos formadores da placa bacteriana.** João Pessoa, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba. 1998.

PEREIRA, J. V. **Estudos com o extrato da *Punicagranatum* Linn (romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentifrício sobre microrganismos do biofilme dental.** João Pessoa, Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal da Bahia. 2002.

PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S.; SAMPAIO, F. C.; ALVES, P. M. ARAÚJO, C. R. F. **Studies with the extract of the punica granatum linn. (pomegranate): effect antimicrobial “in vitro” and trial avaliation of a toothpaste upon microorganisms of the oral biofilm.** Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS, v. 20, n. 49, jul./set. 2005.

PEREIRA, M. S. V.; RODRIGUES, O. G.; FEIJÓ, F. M. C.; ATHAYDE, A. C. R.; LIMA, E. Q.; SOUSA, M. R. Q. **Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no semi-árido Paraibano.** Agropecuária Científica no Semiárido, v. 2, n. 1, 2006.

PEREIRA, L. P.; SILVA, R. O.; BRINGELA, P. H. S. F.; SILVA, K. E. S.; ASSREUY, A. M. S.; PEREIRA, M. G. A. **Polysaccharide fractions of *Caesalpinia ferrea* pods: Potential anti-inflammatory usage.** Journal of Ethnopharmacology, 139:642– 648, 2012.

PETERS, V. M; SOUZA, S. O.; CARVALHO, J. C.T.; BORGES, L. V.; GUERRA, M .O. **Evaluation of reproductive toxicity of aqueous extract of the fruits from *Caesalpinia ferrea* Mart. in rats.** Boletín Latino americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 7 (5), 268 – 272 2008.

PIMENTA, F.C.; MARIN, J.M.; UZEDA, M.; ITO, I. Y. **Prevalence of *mutans* streptococci in 93 members from six Brazilian families.** Pesquisa Odontologia Brasileira, Jul.; 15(3):181-6, 2001.

PINHEIRO, C.E. **Curso de Bioquímica da cárie dental. Fatores etiológicos: suscetibilidade do dente.** Revista Paulista de Odontologia, v.5, n.4, p.53-62, jul./ago. 1983.

PINHEIRO, M. L. P. **Avaliação dos efeitos da *Valeriana officinalis* L no controle da ansiedade em pacientes submetidos a exodontias de terceiros molares mandibulares inclusos.** [Dissertação]. Piracicaba: Curso de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas; 2003.

PINHEIRO, M. L. P.; ANDRADE, E. D. **Phytotherapeutics in dentistry: an alternative to conventional drugs**. Rev. ABO Nac. Vol. 16 nº 2 - Abril/maio, 2008.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis no Brasil**. Rio de Janeiro, Brasil: Imprensa Nacional. 1984.

PIRES, M. F. C.; CORRÊA, B.; GAMBALE, W.; RODRIGUES, P. **Experimental model of *Candida albicans* (serotypes A and B) adherence in vitro**. Brazilian Journal of Microbiology, v.32, p.163-169, 2001.

PUISIEUX, F.; SEILLER, M. **Technique et Documentation Lavoisier**. Les Systèmes dispersés, 591 páginas, 1983.

QUEIROZ, L.P. **Leguminosas da Caatinga**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. 2009.

QUEIROZ, M. L.; JUSTO, G. Z.; VALADARES, M. C.; PEREIRA-DA-SILVA, F. R. **Evaluation of *Caesalpinia ferrea* extract on bone marrow hematopoiesis in the murine models of listeriosis and Ehrlich ascites tumor**. Immunopharmacology and Immunotoxicology 23:367-382. 2001.

REBOREDO, M. M.; LUCINDA, L. M.F.; ROCHA, C. B.; QUEIROZ, G. T.; FARIA, V. C.; VIEIRA, V. A. **Avaliação da toxicidade do extrato aquoso de *Caesalpinia ferrea* em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozoides de ratos Wistar submetidos a tratamento subagudo**. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, Juiz de Fora, v. 26, n. 1\2, p. 11-17, 2007.

REGO, M.A.; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A. O.C. **Effects of oral environment stabilization procedures on counts of *Candida* spp. In children**. Pesquisa Odontológica Brasileira, v.17, n.4, p.332-336, 2003.

RODRIGUES, M. S.; SILVA, R. C. M.; SECCO, R. S. **Caesalpinieae (Leguminosae-Caesalpinioideae) do Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental, Município de Moju, PA, Brasil**. Hoehnea 39(3): 489-516, 2012.

ROSELL, F. L.; VALSECKI, J. A.; SILVA, S. R. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, L. G. **Atividade antimicrobiana de substâncias naturais em dentifrícios**. Saúde Revista; 6 (14): 39-44, 2004.

SALGADO, A. D. Y.; MAIA, J. L.; PEREIRA, S. L. S.; LEMOS, T. L. G.; MOTA, O. M.L. **Antiplatelet and antigingivitis effects of a gel containing *Punica granatum* L. extract. A double-blind clinical study in humans**. Bras. Journal OralScience, 14(3):162-6, 2006.

SAMPAIO, F. C. **Fitoterapia em Odontologia. In: Das plantas medicinais aos fitoterápicos: abordagem cinética**. João Pessoa: UFPB, 1997.

SAMPAIO, F.C.; PEREIRA, M.S.V.; DIAS, C.S.; COSTA, V.C.O.; CONDE, N.C.O.; BUZALAF, M.A.R. **In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius**

**fruits against oral pathogens.**Journal of Ethnopharmacology, v.124, p.289–294, 2009.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. **Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as na indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals.** Methods, Aug. 42(4): 321-324, 2007.

SAWADA, L. A.; MONTEIRO, V. S. C.; RABELO, G. R.; DIAS, G. B; CUNHA, M.; NASCIMENTO, J. L. M.; BASTOS, G. N. T. ***Libidibia ferrea* Mature Seeds Promote Antinociceptive Effect by Peripheral and Central Pathway: Possible Involvement of Opioid and Cholinergic Receptors.**BioMed Research International, 10 pages, 2014.

SILVA, R. R.; FERREIRA, G. A. L.; BAPTISTA, J. A.; DINIZ, F. V. **A química e a conservação dos dentes.**Química Nova Escola. (13):3-8. 2001.

SILVA, V. V.; ROPKE, C. D.; ALMEIDA, R. L.; MIRANDA, D. V.; KERA, C. Z.; RIVELLI, D. P.; SAWADA, T. C. H.; BARROS, S. B. M. **Chemical stability and SPF determination of Pothomorphe umbellateextract gel and photostability of 4-nerolidylcatechol.**Internationaljournal of pharmaceutics 303. p. 125-131. 2005.

SILVA, C. S.; NUNES, P. O.; MESCOUTO, C. S. T.; MÜLLER, R. C. S.; PALHETA, D. C.; FERNANDES, K. G. **Evaluation of the use of the fruit peel and leaves of *Caesalpinia ferrea* Martius as a nutritional supplement of Fe, Mn and Zn.**Ciência,Tecnologia e Alimentos, Campinas, 30(3): 751-754, jul.-set. 2010.

SILVA, L. C. N.;SILVA JÚNIOR, C. A.; SOUZA, R. M.; MACEDO, A. J.; SILVA. M. V.; CORREIA, M. T. S.**Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits.**Food and Chemical Toxicology, 49,2222–2228, 2011.

SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C. B.; LEAL, C.; DRUMOND, M. R.S.; PADILHA, W. W. N. **Susceptibility *in vitro* of the buccal bacterias to phytotherapics tinctures.**Revista Odonto Ciência – Faculdade de Odonto/PUCRS, v. 21, n. 53, jul./set. 2006.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. **Fenóis totais e atividade antioxidante de 5 plantas medicinais.** Química Nova, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, V. M. S.; DIAS, V. L. N.; NASCIMENTO, I. O.; NUNES, S. E. A.; BELFORT, M. G. S. **Phytochemical characterization for the protection of local flora.**Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – Vol 6, No. 2, Dez 2011.

SOUZA, A. B.; SOUZA, L. M. S.; CARVALHO, J. C. T.; MAISTRO, E. L.**No clastogenic activity of *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae) extract on bone marrow cells of Wistar rats.** Genetics and Molecular Biology, 29, 2, 380-383, 2006.

SOYAMA, P. **Plantas medicinais são pouco exploradas pelos dentistas.** Cienc.Cult.v.59, n.1, p.12-3, 2007.

TABERNER, T. S.; VILLODRE, A. M.; DELFINA, J. M.; HERRAEZ, J. V. **Consistency of Carbopol 971-P NF gels and influence of soluble and cross-linked PVP.** International Journal of Pharmaceutics 233. p. 43-50. 2002.

TAGLIARI, M. P. **Development and validation of a stability-indication LC method to quantify hydrochlorothiazide in oral suspension for pediatric use.** Chromatographia, Wiesbaden: v. 67, n. 7/8, p. 647-652, apr. 2008.

THOMPSON, J. E. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos.** Porto Alegre: Artmed Editora, p. 345-367. 2006.

TORRES, C. R. G.; KUBO, C. H.; ANIDO, A. A.; RODRIGUES, J. R. **Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia.** Revista Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, v.3, n.2, jul./dez., 2000.

TREVIZANI, L.M.M. **Efeito do gel dentifrício formulado com extratos vegetais em doenças periodontais.** [Dissertação de Mestrado.Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista]. Araraquara,103p. 2002.

TULASNE, M.L.R. **Légumineuses arborescentes de l' Amerique du Sud.** Archives du Muséum D'Histoire Naturelle 4: 123-170, 1844.

UEDA, H.; TACHIBANA, Y.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K.; ALVES, S.M. **Aldose reductase inhibitors from the fruits of *Caesalpinia ferrea* Mart.** Phytomedicine, v.8, p. 377–381; 2001.

UEDA, N.; KAWANISHI, K.; MORIYASU, M. **Effects of ellagic acid and 2-(2,3,6-trihydroxy-4-carboxyphenyl)ellagic acid on sorbitol accumulation *in vitro* and *in vivo*.** Biological & Pharmaceutical Bulletin 27:1584-1587, 2004.

ULIBARRI, E.A. **Los gêneros de Caesalpinioideae (Leguminosae) presentes em Sudamerica.** Darwiniana 46: 69-163, 2008.

UZEDA, M. **Microbiologia Oral: etiologia da cárie, doença periodontal e infecções endodônticas.** Rio de Janeiro:Medsi, 104p, 2002.

VASCONCELOS, C.F. B.; MARANHÃO, H.M.L.; BATISTA, T. M.; CARNEIRO, E. M.; FERREIRA, F.; COSTA, J.; SOARES, L.A.L.; SÁE, M.D.C.; SOUZA, T. P.; WANDERLEY, A.G. **Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats.** Journal of Ethnopharmacology 137:1533– 1541, 2011.

VASCONCELOS, K. R. F.; VEIGA JÚNIOR, V.F.; ROCHA, W. C.; BANDEIRA, M. F. C.L. **Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 18 : 733-738, 2008.

VINAGRE, N. P. L.; FARIAS, C. G.; ARAÚJO, R. J. G.; VIEIRA, J. M. S.; SILVA JÚNIOR, J. O. C.; CORRÊA, A. M. **Efetividade clínica de um enxaguatório bucal fitoterápico com tintura padronizada de *Calendula officinalis* na manutenção da saúde periodontal.** Revista de Odontologia da UNESP, Araraquara. jan./fev.; 40(1): 30-35, 2011.

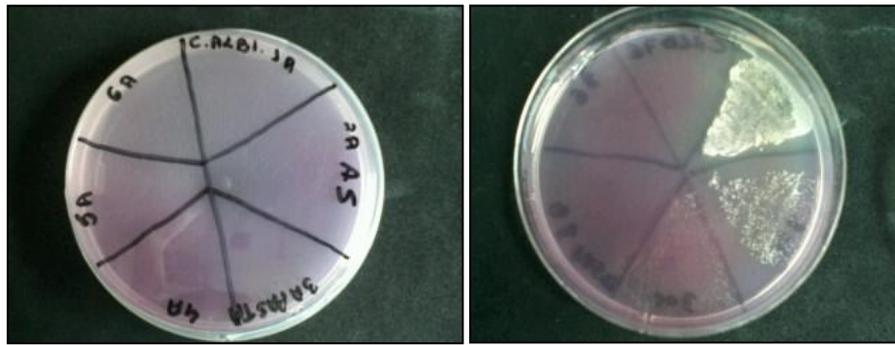
VOIGT, R.; BORNSCHEIN, M. **Tratado de tecnologia farmacêutica**, 3. Zaragoza: Editorial Acribia, p. 170, 1982.

WEYNE, S. *Cariologia*. In: BARATIERI, L. N. **Dentística - Procedimentos preventivos e restauradores**. Rio de Janeiro: Quintessence, Cap. 1, p. 1-42, 1989.

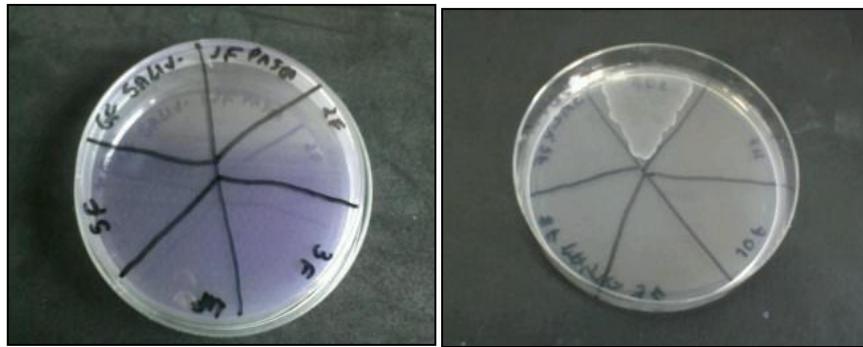
## 8- ANEXOS



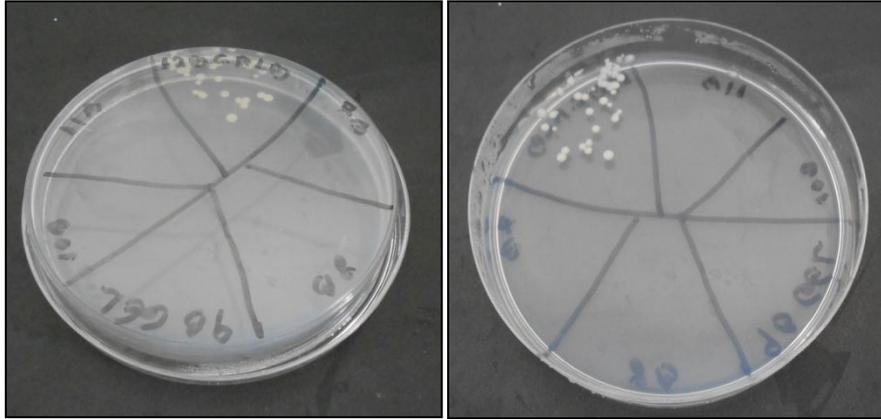
CIM da Clorexidina 0,12% (controle positivo) em meio sólido frente ao *S. mutans*



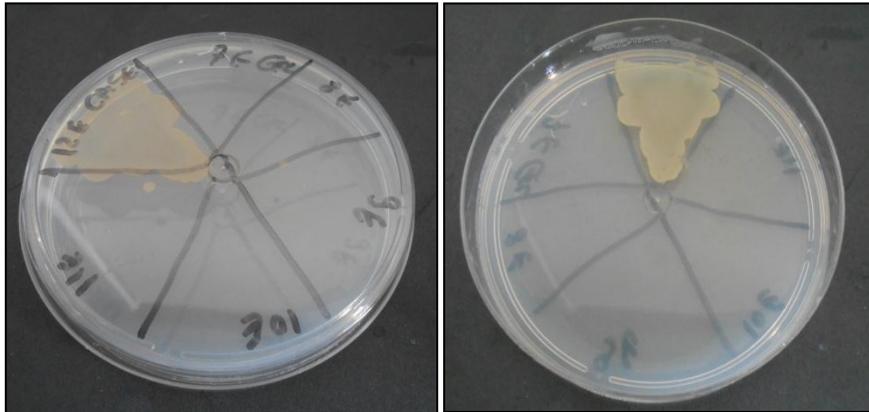
CBM da Pasta dental 5% frente a *C. albicans*



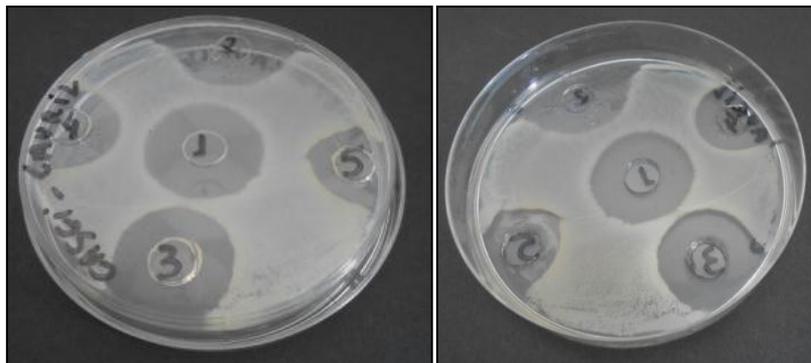
CBM da Pasta dental 10% frente a *S. salivarius*



CBM do Gel dental 2,5% frente a *C. albicans*



CBM do Gel dental 5% frente a *L. casei*



CIM do Lauril sulfato de sódio em meio sólido frente ao *L. casei*