



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**“CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO E EFEITO  
CICATRIZANTE DE UMA POMADA ORABASE DE  
EXTRATO *Libidibia ferrea* L. PARA TRATAMENTO DE  
ÚLCERAS DA CAVIDADE BUCAL.”**

**Mestranda: LUCIANA ALEIXO DOS SANTOS DE MELO**

**MANAUS - AM**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**LUCIANA ALEIXO DOS SANTOS DE MELO**

**“CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO E EFEITO  
CICATRIZANTE DE UMA POMADA ORABASE DE  
EXTRATO *Libidibia ferrea* L. PARA TRATAMENTO DE  
ÚLCERAS DA CAVIDADE BUCAL.”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, fitoterapia em odontologia.

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nikeila Chacon de Oliveira Conde  
Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Fulgência Costa Lima Bandeira**

**MANAUS – AM**

**2019**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M528c Melo, Luciana Aleixo dos Santos de  
Controle de qualidade físico-químico e efeito cicatrizante de uma pomada orabase de extrato libidibia ferrea I. para tratamento de úlceras da cavidade bucal / Luciana Aleixo dos Santos de Melo. 2019  
94 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Nikeila Chacon de Oliveira Conde  
Coorientadora: Maria Fulgência Costa Lima Bandeira  
Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Cicatrização. 2. Fitoterapia. 3. Úlceras orais. 4. Libidibia ferrea. I. Conde, Nikeila Chacon de Oliveira II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

**LUCIANA ALEIXO DOS SANTOS DE MELO**

**“CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO E EFEITO  
CICATRIZANTE DE UMA POMADA ORABASE DE *Libidibia  
ferrea* L. PARA TRATAMENTO DE ÚLCERAS DA CAVIDADE  
BUCAL.”**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, 12 de Junho de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dra. Nikeila Chacon de Oliveira Conde  
Universidade Federal do Amazonas – Manaus/AM

Prof. Dra. Tatiana Nayara Libório Kimura  
Universidade Federal do Amazonas – Manaus/AM

Prof. Dra. Karen Regina Carim da Costa  
Universidade Federal do Amazonas – Manaus/AM

## DEDICATÓRIA

À minha linda filha Cecília Aleixo,  
espero ser sua luz e sua inspiração  
para todo sempre.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, à Deus, por toda benção recebida até aqui em minha vida, sem sua proteção e graça tenho a certeza que nenhuma vitória seria possível.

À minha família, em especial aos meus pais Sandra Aleixo e Wesley Fazzioni, a madrinha-mãe Therezinha de Jesus Aleixo e minha tia Leonor Bernadete, sem o carinho, amor e apoio incondicional de todos, esta vitória seria inalcançável. Agradeço imensamente por vocês acreditarem no meu potencial, e, muitas vezes colocarem de lado suas prioridades para sonharem o meu sonho. A batalha foi árdua, porém a vitória com toda certeza é nossa.

Ao meu grande amigo Anselmo Matos, obrigada por todo apoio e incentivo nesses anos como colegas de docência, saiba que você é uma peça fundamental nesse meu contínuo crescimento profissional. Eu tenho muito orgulho de você e me sinto honrada em ser sua amiga, amo você e conte comigo sempre.

Aos meus colegas de trabalho que me apoiaram direto ou indiretamente, em especial ao Prof. Fernando Gonçalves, por sua amizade e apoio, ao Dr. Tadeu Borges pelas palavras de incentivo e por acreditar no meu potencial e a todo apoio dado durante esta etapa.

À minha amada orientadora de mestrado profa. Dra. Nikeila Conde por ser uma pessoa maravilhosa e de incrível competência. Obrigada pelo carinho, amizade, apoio e compreensão e por acreditar em minha capacidade e trabalho, confiando a mim a honra de poder aprender cada vez mais ao seu lado. Que possamos ter imensas oportunidades de trabalharmos lado a lado, ficarás guardada com carinho para sempre em meu coração.

À minha querida co-orientadora de mestrado profa. Dra. Maria Fulgência por ser esta profissional de incrível competência. Agradeço toda confiança em meu trabalho e por poder aprender muito ao seu lado. Espero, ainda, termos outras grandes oportunidades para troca de conhecimento e trabalho, és uma grande inspiração.

À minha querida amiga que o mestrado me concedeu, Keily Melo, por seu carinho e amizade em todo este caminho.

Ao Dr. Felipe Massa, por todo apoio durante as análises cromatográficas, sempre muito solícito e prestativo, grata demais por toda sua ajuda.

À equipe da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF - UFAM), por todo auxílio durante o preparo do extrato, em especial a Dra. Tatiane Pereira.

À equipe da Universidade Federal do Ceará (UFC), principalmente a Dr. Ana Paula e ao Doutorando Ernando, onde eu aprendi muito e sou muito grata durante toda ajuda no experimento, sem o apoio da equipe este trabalho não se tornaria possível.

À coordenação e todos os professores do Programa de Pós-Graduação (PPGo), Universidade Federal do Amazonas - UFAM, em especial à profa. Carina Toda, pelo acolhimento e conhecimentos compartilhados. Bem como aos alunos de graduação, pós-graduação e funcionários com quem pude compartilhar sorrisos a cada dia.

À CAPES pelo apoio e incentivo financeiro neste projeto.

Agradeço, por fim, a todos que direto ou indiretamente ajudaram na caminhada.

## RESUMO

As úlceras aftosas recorrentes e traumáticas constituem uma patologia bastante comum na odontologia, porém os tratamentos instituídos nem sempre alcançam o sucesso esperado. Dentro da fitoterapia, a *Libidibia ferrea* L., conhecida como jucá ou pau-ferro, é bastante utilizada por apresentar propriedades terapêuticas cicatrizantes, anti-inflamatória, analgésica e antimicrobiana. O objetivo deste estudo foi realizar o controle de qualidade físico-químico e avaliar o efeito cicatricial de uma pomada orabase a base de *Libidibia ferrea* L. a 2% em úlceras orais induzidas em ratos. No estudo 1, “*in vitro*” foram realizados os testes de centrifugação, pH, densidade, comportamento reológico e controle microbiológico pela determinação de contaminantes/patógenos, caracteres organolépticos e análise do perfil fitoquímico em HPLC em três condições de armazenamento, nos períodos experimentais de 0, 30 e 60 dias. No estudo 2, “*in vivo*” foi avaliado a ação cicatrizante da pomada em úlceras induzidas na mucosa bucal de ratos, onde os animais foram divididos em 3 grupos: controle positivo (tratamento com a pomada acetona de triancinolona), controle orabase (tratados somente com a orabase) e grupo teste (utilizando a pomada de *L. ferrea* L. a 2%), e avaliados nos dias 1, 5 e 10 dias pós indução ulcerativa. No teste centrifugação, observou-se a separação de 1 fase em todos os ambientes de armazenamento e tempos testados; no teste do pH, a formulação manteve-se estável (pH entre 6,01 a 6,67); para avaliação do comportamento reológico as mesmas mantiveram-se constantes; na avaliação de contaminantes não houve crescimento em todas condições testadas. As amostras apresentaram coloração amarronzada clara (Tâmara), odor forte e aromático, com presença de brilho e consistência lisa, ausente de granulações nas condições testadas. Em relação ao diâmetro das úlceras, o grupo controle positivo não demonstrou diferença significativa entre os tempos testados ( $p=0,994$ ). Já na comparação intergrupos, na análise do dia 5, os diâmetros das úlceras do grupo Jucá foram significativamente menores em comparação aos demais grupos ( $p=0,005$ ). Quanto ao padrão histológico, apenas no dia 10 houve diferenças significativas ( $p=0,002$ ), com o grupo teste (score 0) orabase (score 1) e positivo (score 3). Em relação ao peso dos animais, todos os grupos aumentaram ou mantiveram o peso ao final do período de dez dias de experimento. Pode-se concluir que a são três os compostos majoritários da solução analisada: ácido gálico, ácido elágico e rutina. A formulação testada apresentou estabilidade físico-química em todos os tempos e condições de armazenamento, sem alteração de cor, odor e consistência, elevada viscosidade e ausência de contaminantes bacterianos e/ou fúngicos. Assim como, houve redução significativa das úlceras tratadas com a pomada orabase de *L. ferrea* L. a 2% quando comparada aos demais grupos, comprovando a atividade cicatricial da formulação fitoterápica proposta quando utilizada para tratamento de úlceras bucais.

**Palavras-chaves:** Cicatrização; Fitoterapia; Úlceras orais; *Libidibia ferrea*.

## ABSTRACT

Recurrent and traumatic aphthous ulcers are a common pathology in dentistry, but the treatments instituted do not always reach the expected success. Within the herbal medicine, *Libidibia ferrea* L., known as jucá or pau-ferro, is widely used because it presents healing, anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial therapeutic properties. The objective of this study was to perform the physical-chemical quality control and to evaluate the cicatricial effect of a 2% *Libidibia ferrea* L. orabase ointment on oral ulcers induced in rats. In study 1, the centrifugation, pH, density, rheological behavior and microbiological control tests were carried out by determination of contaminants/pathogens, organoleptic characteristics and phytochemical profile analysis in HPLC under three storage conditions in the experimental periods of 0, 30 and 60 days. In study 2, the healing action of the ointment was evaluated in ulcers induced in the oral mucosa of rats, in which the animals were divided into 3 groups: positive control (treatment with triamcinolone acetonide ointment), orabase control (treated only with orabase) and test group (using 2% *L. ferrea* L. ointment) and evaluated on days 1, 5 and 10 days post ulcerative induction. In the centrifugation test, 1-phase separation was observed in all storage environments and times tested; in the pH test, the formulation remained stable (pH 6.01 to 6.67); for evaluation of the rheological behavior they remained constant; in the evaluation of contaminants there was no growth in all tested conditions. The samples showed light brownish hue (Tâmara), strong and aromatic odor, with presence of brightness and smooth consistency, absent of granulations under the tested conditions. Regarding the diameter of the ulcers, the positive control group showed no significant difference among the times tested ( $p = 0.994$ ). In the intergroup comparison, in the analysis of day 5, the diameters of the ulcers of the Jucá group were significantly lower in comparison to the other groups ( $p = 0.005$ ). As for the histological pattern, only on day 10 there were significant differences ( $p = 0.002$ ), with the test group (score 0) orabase (score 1) and positive (score 3). Regarding the weight of the animals, all groups increased or maintained their weight at the end of the ten day experiment period. It can be concluded that three major compounds of the solution analyzed are gallic acid, ellagic acid and rutin. The tested formulation presented physical-chemical stability at all times and storage conditions, with no alteration of color, odor and consistency, high viscosity and absence of bacterial/fungal contaminants. As well, there was a significant reduction of ulcers treated with ointment orabase of *L. ferrea* L. to 2% when compared to the other groups, proving the cicatricial activity of the phytotherapeutic formulation proposed when used for the treatment of oral ulcers.

**Key-words:** Healing; Phytotherapy; Oral ulcers; *Libidibia ferrea*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação das úlceras. -----	22
Figura 2 – Representação esquemática do desenho do estudo. -----	38
Figura 3 – Árvore de <i>L. ferrea</i> L. -----	39
Figura 4 – Secagem em temperatura ambiente. -----	39
Figura 5 – Estufa de ar circulante. -----	40
Figura 6 – Moinho de facas. -----	40
Figura 7 – MPV. -----	40
Figura 8 – Pesagem do extrato bruto. -----	41
Figura 9 – Água/Etanol. -----	41
Figura 10 – Decoctor. -----	41
Figura 11a e 11b – Filtragem. -----	41
Figura 12 – Aparelho Spray Dryer. -----	41
Figura 13 – Extrato. -----	41
Figura 14 – Rendimento do extrato seco. -----	41
Figura 15a e 15b – Componentes da pomada orabase de <i>L. ferrea</i> L. a 2%. -----	43
Figura 16 a e 16b – Aquecimento em banho-maria até atingir 60°. -----	43
Figura 17 – Pomada orabase de <i>L. ferrea</i> L. a 2%. -----	44
Figura 18 – Pomada orabase. -----	44
Figura 19 – Pomada orabase (5g). -----	45
Figura 20 – Centrifugação. -----	45
Figura 21 – Solução de calibração 4,0. -----	46
Figura 22 – Solução de calibração 7,0. -----	46
Figura 23 – Aferição do pH da pomada. -----	46
Figura 24 – Picnômetro vazio. -----	47
Figura 25 – Picnômetro água. -----	47
Figura 26 – Picnômetro cheio. -----	47
Figura 27 – Viscosímetro de Brookfield. -----	50
Figura 28 – Spindle 2. -----	50
Figura 29 – Grupos de estudos acondicionados em suas respectivas caixas. -----	51
Figura 30 – Caixa de acondicionamento. -----	52
Figura 31 – Pesagem dos animais. -----	52

Figura 32 – Relaxante muscular e anestésico. -----	53
Figura 33 – Anestesia dos animais. -----	53
Figura 34 – Caixa de acondicionamento (instrumentais). -----	53
Figura 35 – Indução ulcerativa. -----	53
Figura 36 – Úlcera induzida em mucosa jugal - lado esquerdo. -----	54
Figura 37 – Mensuração com paquímetro digital. -----	54
Figura 38, 39 e 40 - Aplicação dos agentes testes: pomada orabase de jucá, somente a orabase e pomada Acetonida de triancinolona, respectivamente. -----	55
Figura 41 – Remoção do fragmento. -----	56
Figura 42 – Fixação em formol a 10%. -----	56
Figura 43 – Bloco de parafina. -----	57
Figura 44 – Solidificação do bloco de parafina. -----	57
Figura 45a – Micrótomo. -----	57
Figura 45b – Incorporação do corte em lâmina. -----	57
Figura 46 – Coloração Hematoxilina-eosina das lâminas histológicas. -----	57
Figura 47 – Área de acondicionamento das gaiolas. -----	57
Figura 48 - Perfil Fitoquímico do extrato seco da casca do caule de <i>L.ferrea</i> L. -----	59
Figura 49 - Teste de centrifugação da pomada com separação de fases (tempo 0). -----	59
Figura 50 (a, b e c) – Aspecto visual das amostras após teste de centrifugação demonstrando separação de fase (tempo 30). -----	60
Figura 51 (a, b e c) – Aspecto visual das amostras após teste de centrifugação demonstrando separação de fase (tempo 60). -----	60
Figura 52 e 53 - Controle microbiológico tempo 0 – ágar caseína-soja e ágar saboraud-dextrose, respectivamente. -----	62
Figura 54, 55 e 56 - Controle microbiológico tempo 0 – ágar macconkey, ágar cetrimida e ágar sal manitol. -----	62
Figura 57 e 58 – Controle microbiológico tempo 30 (Geladeira – ágar caseína-soja e ágar saboraud-dextrose. -----	63
Figura 59 e 60 - Controle microbiológico tempo 30 (TAC) – ágar caseína-soja e ágar saboraud-dextrose. -----	63
Figura 61 e 62 - Controle microbiológico tempo 30 (TAE) – ágar caseína-soja e ágar saboraud-dextrose. -----	63
Figura 63 – Controle microbiológico 30 (TAC, TAE e Geladeira) – ágar MacConkey. -----	64
Figura 64 – Controle microbiológico 30 (TAC, TAE e Geladeira) – ágar Cetrimida. -----	64

Figura 65 – Controle microbiológico 30 (Geladeira, TAE e TAC) – ágar Sal Manitol. -----	64
Figura 66 – Controle microbiológico tempo 60 (Geladeira) – ágar caseína-soja e ágar Saboraud-dextrose. -----	65
Figura 67 – Controle microbiológico tempo 60 (TAC) – ágar caseína-soja e ágar Saboraud-dextrose. -----	65
Figura 68 – Controle microbiológico tempo 60 (TAE) – ágar caseína-soja e ágar Saboraud-dextrose. -----	65
Figura 69 – Controle microbiológico 60 (TAE, Geladeira e TAC) – ágar MacConkey. -----	66
Figura 70 - Controle microbiológico tempo 60 (Geladeira, TAE e TAC) – ágar Cetrimida e Sal Manitol. -----	66
Figura 71 – Determinação da cor através da escala de cor Coral®. -----	68
Figura 72 – Aspecto visual da pomada orabase de <i>L. ferrea</i> L. de consistência lisa e brilhante, ausente de granulações. -----	68
Figura 73 - Representação clínica das úlceras orais tratadas com Orabase, Extrato de Jucá e Oncilon nos dias 01, 05 e 10. -----	69
Figura 74 - Escores histológicos de úlceras traumáticas orais tratados com Oncilom, Orabase e Jucá nos dias 1,5 e 10. H&E. Aumento 200x. -----	73

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Esquema para pesquisa de número total de microrganismos. -----	48
Esquema 2 - Esquema para pesquisa de <i>Escherichia coli</i> . -----	48
Esquema 3 - Esquema para pesquisa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . -----	49
Esquema 4 – Esquema para pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i> . -----	49
Esquema 5 – Linha do tempo do estudo “ <i>in vivo</i> ” experimental. -----	52

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Comparação da mediana do pH em relação aos grupos em 30 e 60 dias, Manaus - AM. -----	63
Gráfico 2 - Comparação dos diâmetros da lesão em relação aos grupos nos diferentes dias, Manaus - AM. -----	72
Gráfico 3 – Comparação dos pesos em relação aos grupos em três diferentes momentos, Manaus - AM. -----	72
Gráfico 4 - Comparação dos escores em relação aos grupos nos diferentes dias. -----	73

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Componentes da pomada orabase. -----	42
Quadro 2 - Diâmetro médio das úlceras orais nos dias 01 ,05 e 10. (Média± EPM/ Teste de Kruskal-wallis/ Pos teste de Dunn. -----	71
Tabela 1 - Parâmetros histológicos. -----	58
Tabela 2 - Valores de pH após a formulação da pomada (T0), após 30 (T30) e 60 dias (T60) nos diferentes ambientes. -----	63
Tabela 3 - Comparação da mediana da viscosidade em relação aos grupos em 30 e 60 dias conforme as rotações, Manaus - AM. -----	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

*et al.*: e outros (abrev. de “et ali”).

DEF: Dicionário de Especialidades Farmacêuticas.

MEC: Matriz extracelular.

*L. Ferrea* L.: Libidibia Ferrea Linné.

pH: potencial hidrogeniônico.

*Ssp*: species pluralis.

*S. sanguinis*: *Streptococcus sanguinis*.

*S. salivarius*: *Streptococcus salivarius*.

*S. mitis*: *Streptococcus mitis*.

*S.mutans*: *Streptococcus mutans*.

*S.sobrinus*: *Streptococcus sobrinus*.

*L.casei*: *Lactobacillus casei*.

*C.albicans*: *Candida albicans*.

*S.oralis*: *Streptococcus oralis*.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

UFAM: Universidade Federal do Amazonas.

FCF: Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

TAC: temperatura ambiente claro.

TAE: temperatura ambiente escuro.

G: geladeira.

°C: graus celsius.

%: porcentagem

CMC: caboximetilcelulose.

a.C.: antes de cristo.

mg: miligramas.

g: gramas.

Kg: Kilogramas.

µl: microlitros.

µm: micromêtro.

Mm: milímetros.

Cm: centímetros.

m/v: massa/volume.

q.s.p.: quantidade suficiente para.

UR: Unidade Relativa.

CIM: concentração inibitória mínima.

EP: extrato puro.

RPM: rotação por minute.

UFC: unidade formadora de colônias.

OMS: Organização Mundial de Saúde.

BHI: brain heart infusion.

MPV: Matéria prima vegetal.

Nº: número.

RENISUS: Relação Nacional de Plantas Medicinais do SUS.

Res.: Resolução.

PNPIC: Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares.

AM: Amazonas.

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada.

BPMF: Boas Práticas de Manipulação Farmacêutica.

ANOVA: Análise de variância

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	Lesões ulcerativas da cavidade bucal	22
2.2	Plantas medicinais e fitoterapia	25
2.3	<i>Libidibia ferrea</i> L.	28
2.4	Desenvolvimento tecnológico farmacêutico	30
2.5	Controle de qualidade de produtos fitoterápicos	32
3.	OBJETIVOS	37
3.1	Geral	37
3.2	Específicos	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	Desenho de estudo e consentimento para pesquisa	38
4.2	Coleta do material vegetal ( <i>L. ferrea</i> L.)	39
4.3	Obtenção do extrato ( <i>L. ferrea</i> L.)	40
4.4	Rendimento do extrato seco	41
4.5	Perfil fitoquímico do extrato seco de <i>Libidibia ferrea</i> L.	42
4.6	Preparo da pomada orabase ( <i>L. ferrea</i> L.)	42
4.7	Caracterização da pomada	44
4.7.1	Testes físico-químicos do controle de qualidade	45
4.7.1.1	Teste de centrifugação	45
4.7.1.2	Teste de determinação do pH aparente	45
4.7.1.3	Determinação da densidade de massa e da densidade relativa	46
4.7.1.4	Avaliação microbiológica para pesquisa de contaminantes – Controle microbiológico da pomada de <i>Libidibia ferrea</i> L.	47
4.7.2	Comportamento reológico	49
4.7.3	Avaliação dos caracteres organolépticos	50
4.8	Teste da atividade cicatricial em mucosa jugal de ratos	51
4.8.1	Indução da ulceração	52
4.8.2	Avaliação clínica	54
4.8.3	Avaliação da diferença de peso corpóreo	55
4.8.4	Aplicação dos fármacos	55

4.8.5	Análise Histológica	56
4.8.6	Condições de alojamento e alimentação dos animais	59
4.8.7	Método de indução de morte e descarte da carcaça	59
4.9	Análise estatística	59
5	RESULTADOS	61
5.1	Perfil fitoquímico do extrato seco de <i>Libidibia ferrea</i> L.	61
5.2	Teste de centrifugação	61
5.3	Teste de determinação do pH aparente	62
5.4	Determinação da densidade de massa e densidade relativa	63
5.5	Avaliação microbiológica para pesquisa de contaminantes – controle microbiológico da pomada de <i>Libidibia ferrea</i> L.	64
5.6	Comportamento reológico	68
5.7	Avaliação dos caracteres organolépticos	69
5.8	Teste de atividade cicatricial em mucosa jugal de ratos	70
5.8.1	Diâmetro ulcerativo	70
5.8.2	Variação do peso corpóreo	72
5.8.3	Escores histológicos	73
6	DISCUSSÃO	76
7	CONCLUSÃO	82
8	REFERÊNCIAS	83
9	ANEXOS	94
9.1	Anexo A – aprovação pelo CEUA/UFAM	94
9.2	Anexo B – aprovação pelo CEUA/UFC	95
9.3	Anexo C – descrição referente ao parâmetro histológico	96

## 1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia é um método de tratamento de enfermidades que utiliza drogas vegetais: planta medicinal, ou suas partes, que contenham as substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica. É caracterizada como o uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas desde que sua eficácia e segurança sejam validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas para garantir sua adequada reprodutibilidade e garantir a qualidade do produto farmacêutico (ANVISA, 2013).

O uso de plantas medicinais faz parte da prática da medicina popular, constituindo um conjunto de saberes internalizados nos diversos usuários e praticantes, especialmente pela tradição oral. Esta prática diminuiu frente ao processo de industrialização ocorrido no país, nas décadas de 1940 e 1950. Atualmente, observa-se um resgate na utilização de fitoterápicos pela população brasileira e mundial. Dois fatores podem explicar este aumento: o primeiro seria os avanços ocorridos na área científica que permitiu o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes, e o segundo fator, é a crescente tendência de busca, pela população, por terapias menos agressivas destinadas ao atendimento primário à saúde. Os programas de fitoterapia empregados no Brasil, principalmente na atenção primária, vem trazendo à população novas opções terapêuticas visando suprir carências medicamentosas aos tratamentos locais e sistêmicos (BRAGANÇA, 1996; BRUNING, 2012; ELDIN & DUNFORD, 2001; IBIAPINA *et al.*, 2014; YUNES *et al.*, 2001).

As plantas medicinais têm como principal vantagem o fato de ser uma fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo ser humano. A descoberta de substâncias ativas, que em estado natural, ou após sofrerem processos de transformação química, possuíam atividade farmacológica, muitas vezes, já confirmadas pelo uso popular e comprovadas cientificamente, passaram a gerar interesse e incentivos institucionais e governamentais (COPETTI & GRIEBELER, 2005).

Ao longo da história, as plantas têm servido como reservatório de potenciais novos fármacos. No entanto, Allen Jr, Poppvich e Ansel (2007) afirmam que apesar das espécies já exploradas, elas representem pequena porção de 270.000 vegetais conhecidos no qual tem sido estudado quanto à atividade terapêutica.

O controle de qualidade de um produto envolve várias etapas que vão desde a obtenção da matéria-prima, passando por todo o processo de produção, culminando com a análise do

produto final. Ainda se destaca que a qualidade da matéria-prima não garante a eficácia do produto, mas é fator determinante da mesma (FARIAS, 2001).

As plantas utilizadas na medicina popular com finalidades terapêuticas têm contribuído para obtenção de fármacos que ainda são utilizados na prática clínicas como a emetina, a vincristina, a colchicina e a rutina (CECHINEL-FILHO & YUNES, 1998).

Na odontologia, tem havido um crescente interesse neste assunto nos últimos anos, demonstrada pelo aumento do número de estudos com produtos naturais na área. Esses estudos apontam que as plantas medicinais podem ser usadas terapêuticamente contra doenças bucais exibindo propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, analgésicas e anti-hemorragicas para o tratamento de odontalgias e outros distúrbios bucais (CASTILHO *et al.*, 2007; CONDE, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2010; LIMA-JÚNIOR & SOUZA, 2005).

*A ex Ceasalpinia ferrea Mart. (L. ferrea L.)* popularmente conhecida como jucá ou pau-ferro, é bastante utilizada na medicina popular por apresentar propriedades terapêuticas antiinflamatória, analgésica e antimicrobiana, o que justifica o grande interesse de pesquisadores por esta planta (PEREIRA *et al.*, 2012; SAMPAIO *et al.*, 2009).

As cascas em decocto combatem asma e tosses convulsivas, agindo ainda contra afecções broncopulmonares e no combate à diabetes, a sacarina, amenizando sintomas, poliúria e xerostomia. Tem ação cicatrizante, antiúlcera, hemostática, antidiabética, expectorante, anti-inflamatória, anti-helmíntica, antibacteriana, cardiônica (OLIVEIRA, 2008a; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

As lesões ulcerativas presentes na cavidade oral, popularmente conhecidas como aftas, constituem uma patologia de etiologia desconhecida bastante comum na prática diária odontológica, têm uma incidência universal e seu conhecimento é obrigatório para todo cirurgião dentista. Apesar da etiologia desconhecida existem várias hipóteses etiológicas que são especuladas, como hereditariedade, traumas variados sobre a mucosa bucal, mediação por microrganismos (bactérias), alterações hematológicas, hormonais e psicológicas. Sendo assim, os tratamentos instituídos nem sempre alcançam o sucesso esperado. A prevalência epidemiológica abrange o sexo feminino em quase 90%, apresentando surtos esporádicos, com sintomatologia discreta à moderada o que se refere às ulcerações aftosas menores (MARCUCCI, 2005).

Quando se deseja tratar das lesões em mucosa oral, sejam elas envolvidas ou não com o sistema imunológico, dentre elas: as aftas traumáticas, lesões por lúpus eritematoso, pênfigo vulgar, liquens planos, dentre outras, tem sido escolhido preferencialmente o tratamento

paliativo pelo uso de pomadas a base de corticosteroides sintéticos (Acetonido de Triancinolona a 1%), geralmente em orabase (REGEZI, SCIUBBA & JORDAN, 2003).

Considerando a prevalência de lesões ulcerativas na cavidade oral e do desconforto que causam aos pacientes, prejudicando a mastigação, deglutição e a fonação, estudos à procura de novas formas de tratamento são necessários. Em vista da necessidade de novas formulações e de opções naturais para o tratamento de lesões ulceradas em cavidade bucal, a proposta desse trabalho foi caracterizar uma formulação magistral a base de fitoterápico, obedecendo às exigências físico-químicas de controle de qualidade, seguindo orientações de padronização e normas das boas práticas de fabricação de pomadas da Farmacopeia Brasileira e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, bem como avaliar a atividade cicatricial em úlceras induzidas na mucosa oral de ratos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Lesões ulcerativas da cavidade bucal

O termo “*aphthae*” é derivado da palavra grega *aphthi*, que significa "incendiar" ou "inflamar", o qual foi usado pela primeira vez por Hipócrates cujo descreveu a dor associada a um transtorno comum da boca durante certo período de tempo (COMPILATO *et al.*, 2009). A estomatite aftosa recorrente é uma doença multifatorial que afeta cerca de 15 a 25% da população mundial pré-existindo diversos fatores envolvidos em sua patogênese (EDGAR; SALEH & MILLER, 2017; NASRY *et al.*, 2016).

As lesões ulcerativas comumente presentes na cavidade oral são caracterizadas pela cessação da continuidade do tecido cutâneo-mucoso, acarretando alterações na estrutura anatômica ou função fisiológica dos tecidos afetados. As mesmas podem ser classificadas quanto à causa, em: cirúrgicas, não cirúrgicas; segundo o tempo de reparação, em agudas e crônicas, e, de acordo com a profundidade, em relação à extensão da parede tissular envolvida (epiderme, derme, subcutâneo e tecidos mais profundos, como músculos, tendões, ossos e outros), em graus, I, II, III e IV como demonstrado na Figura 1 (BRASIL, 2002).



Figura 1- Classificação das úlceras. Fonte: BRASIL, 2002.

Segundo Kignel (2007) as aftas, estomatites aftosas ou úlceras aftosas recorrentes é uma doença da cavidade bucal mais frequentes que se caracteriza por um desequilíbrio imunológico relacionado com linfócitos T de etiologia desconhecida, porém com diversos fatores predisponentes, sendo os fumantes mais acometidos. Em uma visão microscópica, observa-se três estágios da doença: a fase pré-ulcerativa com um infiltrado de linfócitos na lâmina própria acompanhado de degeneração das células epiteliais suprabasais; um estágio ulcerativo, mais avançado, com a presença de um edema e degeneração epitelial progredindo para uma úlcera

com uma membrana de fibrina recobrando-a e conseqüente aumento dos infiltrados epiteliais; e, a última fase, de reparação, observa-se a regeneração do epitélio.

Certas lesões bucais são originadas devido a uma irritação mecânica, térmica, elétrica ou química na mucosa bucal. A mucosa bucal é uma barreira de proteção ao organismo constituída de células epiteliais em sua camada externa e sustentada por tecido conjuntivo, esta integridade tecidual pode ser alterada devido a um estímulo irritativo mecânico, térmico, elétrico ou químico, e, dependendo da intensidade e tempo do mesmo podem ser observadas diversas alterações, principalmente no tecido epitelial. Segundo Brasileiro Filho (), estímulos mecânicos produz vários tipos de lesões (únicas ou múltiplas), denominadas de lesões ulcerativas traumáticas.

Clinicamente, as lesões ulcerativas apresentam três aspectos, normalmente sintomáticos, como: minor, major e herpetiforme. A do tipo minor é a mais frequente, com prevalência de 80% a 90%, caracteriza-se por lesões pequenas, únicas ou múltiplas, ovoides ou arredondadas com base crateriforme, contorno bem definido e halo eritematoso com material amarelado purulento; A major, conhecida como afta de “Sutton”, apresenta um diâmetro de 10mm ou mais que deixam cicatrizes após a fase de reparação podendo durar até 42 dias, localizando-se, prevalentemente, no palato mole e mucosa labial, é considerada o tipo mais grave; a menos comum é a do tipo herpetiforme, são pequenas e numerosas (chegando a 100 lesões ao mesmo tempo) variando entre 1 a 3mm podendo ulcerar e persistir por cerca de 10 dias (KIGNEL, 2007; SCULLY; GORSKY & LOZADA-NUR, 2002; ZUNT, 2003).

Ao analisar as características clínicas das lesões COMPILATO *et al.* (2009) relatou que normalmente são de aspecto ovóides e sintomáticas, sendo limitadas à área submetida ao dano e podem apresentar-se com um centro necrótico branco-amarelado rodeado por uma banda larga eritematosa. Na grande maioria dos casos medem cerca de 1 cm e evoluem para cura espontânea em um período que pode variar de 10 a 14 dias, sem deixar cicatriz.

As lesões aftosas são normalmente encontradas em superfícies não queratinizadas, tais como a mucosa, bordos da língua e lábios, as quais podem ser facilmente lesionadas pela dentição. Porém, podem ocorrer lesões na gengiva, palato e fundo de sulco vestibular por outras fontes de irritação, como pelo trauma da escovação (NEVILLE *et al.*, 2009).

Assim que a superfície do epitélio é lesionada pode-se observar o início do processo de cicatrização sendo um processo natural mediado por uma organização dos tecidos onde o tecido afetado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado. (BRASILEIRO FILHO, 1998).

Soares *et al.* (2013) analisou a atividade cicatrizante da *Ceasalpinia ferrea* e *Aloe vera* (L.) *Burn.f.* em lesões cutâneas totais provocadas experimentalmente em ratos da linhagem

Wistar. Foram divididos em 3 grupos (A, B e C) com 5 animais cada, onde foram tratados com pomada de babosa a 10%, pau-ferro a 10% e uma pomada orabase não-iônica e realizadas análises histopatológicas nos mesmos após o 5º dia após a lesão induzida. Durante a análise histopatológica pode-se observar as diferenças de resultados entre os grupos, no grupo controle notou-se a presença de crosta fibrino leucocitária desprendida do epitélio, presença de neovasos e um acentuado infiltrado leucocitário. No grupo B observou-se a presença de crosta fibrino leucocitária desprendida do epitélio, presença de neovasos e discreto infiltrado inflamatório e, por fim, no grupo C (tratado com *Ceasalpinia ferrea*) foi observado a grande quantidade de neovasos, presença de discreta crosta fibrino leucocitária e de infiltrado leucocitário. Com esta análise comprovou-se o poder cicatrizante da *Ceasalpinia ferrea* e *Aloe vera* (L.) *Burn.f.* com diferença significativa entre os grupos tratados e controle, predominando um melhor resultado do grupo tratado com *Ceasalpinia ferrea*.

A avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico da vagem de *Libidibia ferrea* L. em dorso de ratos foi comprovada por KOBAYASHI *et al.* (2015). Após o preparo do extrato etanólico liofilizado (12,5% e 50%) foi realizada as devidas análises fitoquímicas e testes de toxicidade oral onde os ratos receberam uma dose do extrato de 5g/kg por via oral e observados durante 14 dias. Para o teste in vivo 24 ratos da linha Wistar foram divididos em 4 grupos (G1, G2, G3 e G4) com 6 ratos cada, sendo o grupo G1 tratado com soro fisiológico, o G2 com digluconato de clorexidina a 1%, o G3 com extrato de *Libidibia ferrea* L. a 12,5% e, por fim, o G4 com extrato de *Libidibia ferrea* L. a 50%, que após a indução da lesão foram tratados pela via tópica a cada 24 horas. KOBAYASHI *et al.* (2015) constatou que a concentração pode influenciar no resultado do tratamento, pois a concentração a 12,5% mostrou-se superior a de 50% que retardou o processo de contração da ferida e apresentou menor grau de reepitelização, porém o extrato a 12,5% apesar de apresentar atividade cicatrizante não apresentou diferença estatística significativa em relação ao soro fisiológico. O extrato, nas doses testadas não demonstraram toxicidade aguda o que representa uma boa segurança em ensaios farmacológicos para ratos.

Um estudo semelhante para avaliação da atividade cicatrizante da *Libidibia ferrea* L. foi realizado por OLIVEIRA *et al.* (2010) em lesões cutâneas de caprinos onde após a indução das lesões as mesmas foram tratadas com uma pomada a base de *Libidibia ferrea* L. onde apresentou resultados extremamente significativos no processo de cicatrização das feridas.

ALVES *et al.* (2011) estabeleceram um modelo experimental de úlcera traumática em mucosa jugal de ratos para utilização em futuros testes de terapias alternativas. Foram utilizados 60 ratos, adultos, machos, pesando entre 250 a 300g. A ulceração na mucosa jugal esquerda foi

provocada por meio da abrasão desta com uma lâmina de bisturi número 15. Os animais foram observados por um período de 10 dias, sendo estes pesados e suas escoriações mensuradas. As características histológicas foram analisadas e descritas adotando escores para comparação dos estágios da fase da úlcera. Durante os cinco primeiros dias os animais perderam peso. A área da úlcera regrediu linearmente com o tempo, estando quase que completamente cicatrizada ao final de dez dias. Os grupos do 1º, 2º e 3º dias tiveram comportamento semelhante havendo uma diminuição dos escores a partir do 4º dia. O modelo de úlcera na mucosa jugal de ratos proposto pode ser considerado eficaz, apresentando reprodutibilidade confiável e baixo custo.

A escolha da terapêutica para úlceras aftosas recorrentes e traumáticas é inespecífica, baseia-se na gravidade, frequência, sintomatologia e promoção do processo cicatricial, utilizados na maioria das vezes opções terapêuticas paliativas como anti-inflamatórios, imunomoduladores, analgésicos, antibióticos e anestésicos além de medicamentos com propriedades naturais e homeopáticos para restabelecimento das funções orais normais (BELENGUER-GUALLAR; JIMENEZ-SORIANO; CLARAMUNT-LOZANO, 2014; HOSEINPOUR, 2011; KIGNEL *et al.*, 2007).

## **2.2. Plantas medicinais e Fitoterapia**

Apesar do uso de produtos a base de plantas medicinais transcender 1500 a.C., somente em 1978, a declaração da Alma-Ata reconhece o uso dos fitoterápicos com a finalidade de cura, terapêutica e paliativa, deparando-se em mitos, lendas e tradições em todos os tempos, independente de classe social e econômica, pelo mundo inteiro (IBIAPINA *et al.*, 2014; MACIEL *et al.*, 2002; OLIVEIRA; SIMOES; SASSI., 2006). Entretanto, até a metade do século XX, o uso de medicamentos de origem sintética tornou-se mais amplo que o uso de plantas medicinais, principalmente no continente ocidental, com destaque para os países industrialmente e economicamente desenvolvidos (GUPTA; BLEAKLEY; GUPTA 2008; SANTOS *et al.*, 2011). De acordo com a OMS, 65 a 80% da população mundial nos países em desenvolvimento, incluindo o Brasil, devido à pobreza e à falta de acesso à medicina moderna, dependem essencialmente das plantas para seus cuidados de saúde primários (CALIXTO, 2005).

Os indícios sobre a prática da Fitoterapia são muito antigos, ao longo da história Ébers (1500 a.C.) descreve centenas de plantas medicinais no primeiro manuscrito conhecido, o papiro de Éber. Teofrasto (372-285 a.C.) catalogou cerca de 500 espécies vegetais. Hipócrates (460-36 a.C.), em sua obra considerada a mais clara e completa da antiguidade nos traz à

utilização de plantas medicinais (BETTEGA *et al.*, 2011; LIMA JUNIOR; DIMENSTEIN, 2006; RATES, 2001). Índícios arqueológicos demonstraram que por volta de 4000 a.C. os sumérios já utilizavam a papoula, de onde é extraído o ópio, conhecido há séculos por suas propriedades soporíferas e analgésicas (HOSTETTMANN, 2003). Na época do descobrimento do Brasil, o emprego de ervas medicinais era prática indígena somado com os valores culturais advindos dos africanos e portugueses, no qual geraram uma rica cultura popular (ALMASSY JUNIOR *et al.*, 2005; ALONSO, 1998; NOGUEIRA, 1983).

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da ANVISA nº 26/2014 define fitoterápico como o produto obtido de matéria-prima vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, podendo ser simples, quando o ativo é proveniente de uma única espécie, vegetal medicinal, ou composto, quando o ativo é proveniente de mais de uma espécie vegetal e planta medicinal é a espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos (BRASIL, 2014). De modo geral, os compostos fitoterápicos podem ser utilizados nas mais variadas formas farmacêuticas, como cápsulas, comprimidos, géis, pomadas, soluções aquosas, soluções hidroalcoólicas e infusões, que são conhecidas como chás. É de fundamental importância garantir a segurança e a eficácia de sua utilização como terapia complementar, resgatando e potencializando o conhecimento tradicional (FRANCISCO, 2010).

O uso das plantas e fitoterápicos tem sido estimulado por iniciativas do Ministério da Saúde. Em 2006, através da Portaria nº 971 e o decreto nº 5.813, publicada em Diário Oficial da União, é proposta a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), incluindo plantas medicinais e a fitoterapia, entre outras, como opção terapêutica no Sistema Único de Saúde. Posteriormente, também foram criadas a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos; em 2008, foi publicada a Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse do SUS (RENISUS), contendo 71 plantas (BRASIL, 2009; IBIAPINA *et al.*, 2014).

Na odontologia, o uso da fitoterapia pelo cirurgião-dentista somente foi reconhecido e regulamentado como prática integrativa e complementar pela resolução nº 082/2008 pelo Conselho Federal de Odontologia. A utilização de plantas medicinais para tratar doenças bucais ou para tratar doenças sistêmicas com manifestações bucais ainda é pouco explorada (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Entretanto, nos últimos anos as pesquisas relacionadas a produtos naturais cresceram significativamente frente ao aumento pela busca por produtos com menor toxicidade, maior atividade farmacológica e biocompatíveis, além de custos mais acessíveis à população (FRANCISCO, 2010).

No Brasil 132 espécies de plantas medicinais (52 famílias botânicas) úteis para o tratamento de afecções odontológicas foram descritas por Oliveira *et al.*, 2007. Dentre elas podemos citar Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*), Romã (*Punica granatum*), Tanchagem (*Plantago major* L.), Amoreira (*Morus celtidofilia*), Sálvia (*Salvia officinalis* L.), Camomila (*Matricaria chamomilla* L.), entre outras. Essas plantas têm apresentado ação bactericida e bacteriostática sobre bactérias presentes no biofilme dental e indicadas nos casos de gengivite, abscessos orais, inflamação e aftas (OLIVEIRA *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2006).

Iauk *et al.* (2003) demonstraram que a *Althaea officinalis*, popularmente conhecida como malva ou malvavísco, vem sendo testada quanto a atividade antibacteriana, apresentando resultados promissores contra as bactérias periodontopatogênicas. A Calêndula (*Calendula officinalis*) é uma espécie empregada na cicatrização de feridas com ação anti-inflamatória e antibacteriana, e, na odontologia, vem sendo testada no controle de crescimento de bactérias do biofilme dental e bactérias periodontopatogênicas (BUFFON *et al.*, 2001).

Outro fitoterápico com ação antimicrobiana é o óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*), estudos recentes demonstraram atividade antibacteriana de uma formulação em gel de óleo de copaíba frente aos microrganismos presentes na cavidade bucal (SIMÕES *et al.*, 2016). Os óleos da copaíba, do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), e do cravo (*Dianthus caryophyllus*) podem ser usados em caso de odontalgias. O açaí (*Euterpe oleracea*) produz um evidenciador (corante) de placa dental com eficiência de 90% superior a produtos comercializados tais como o verde de malaquita, a fucsina e a eritrosina (FRANCISCO, 2010).

A odontologia perscruta agentes biocompatíveis para serem usados nos tecidos dentinários para os mais diversos fins medicamentosos, BANDEIRA *et al.* (2016) evidenciou a eficácia de uma emulsão de óleo de copaíba e uma suspensão do extrato de etanol de própolis como agentes de limpeza dentária.

SANTOS *et al.* (2009) comprovou a utilização de plantas medicinais para afecções da cavidade oral, sendo a romã (*Punica granatum* L.) a mais utilizadas por parte dos pacientes e profissionais corroborando com o estudo de Evangelista *et al.* (2013) que demonstrou a existência de comercialização de plantas medicinais para patologias orais, destacando-se as seguintes espécies: Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), Pedra ume cãa (*Aulomyrcia sphaeocarpa*), Crajiru (*Arrabidaea chica*), além da planta, sem identificação botânica, conhecida popularmente como Sara tudo. Entre os Cirurgiões-Dentistas e entre os pacientes, apenas 8% e 7,61%, respectivamente, utilizaram plantas medicinais para alterações patológicas orais. Os autores concluíram que as plantas medicinais comercializadas na cidade de Manaus são utilizadas de maneira empírica e que, apesar da Política Nacional de Práticas Integrativas e

Complementares (PNPIC), novas políticas públicas de saúde devem inserir plantas medicinais e fitoterápicos de uso oral na rede pública de saúde na cidade de Manaus, assim como a inserção da fitoterapia como uma matéria obrigatória nos cursos de graduação, corroborando com o estudo transversal de Nascimento-Junior e colaboradores (2015) onde os profissionais da área da saúde necessitam de capacitação e motivação para prescrição adequada e segura de medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais.

### **2.3. *Libidibia ferrea* L.**

A flora amazônica apresenta o maior patrimônio genético de plantas medicinais. Estudos etnobotânicos apontam diversas plantas utilizadas na odontologia presentes nesta região, além do nordeste brasileiro, Espírito Santo e Rio de Janeiro. Dentre as espécies podemos destacar a *Libidibia ferrea* L., ex *Caesalpinia ferrea* L., conhecida como jucaina, jucá pau-ferro-verdadeiro ou birá-obi, que é uma espécie da família *Leguminosae*, uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas com cerca de 650 gêneros e mais de 18 mil espécies (CAVALHEIRO *et al.*, 2009; MARREIRO *et al.*, 2014).

Sendo uma subfamília cujas espécies são tipicamente tropicais, está bem representada nos biomas brasileiros. Na Reserva Florestal Adolpho Ducke, por exemplo, localizada ao norte de Manaus (AM), são encontrados representantes de 16 gêneros das *Caesalpinioideae* e aproximadamente 53 espécies entre árvores, arbustos e lianas. Assim também, os diferentes ecossistemas amazônicos, as leguminosas compõem importante parte da flora na paisagem das matas ribeirinhas, dos igapós, savanas, campinaranas, matas secundárias, cerrados e várzeas, predominando em mata primária de terra firme (LEWIS *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 1997).

Muito utilizada na medicina popular por apresentar propriedades terapêuticas anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana e antitérmica; o pó da *Libidibia ferrea* L. é bastante utilizado pela população para o tratamento de feridas cutâneas, a utilização e comercialização de suas diversas partes, como a farinha da casca vem despertando o interesse de pesquisadores para estudos biotecnológicos (CAVALHEIRO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2012; SAMPAIO *et al.*, 2009). Além disso, pode ser utilizada para tratamento de feridas, contusões, combate a asma, tosse crônica, no combate de úlceras gástricas, atividades cardiotônicas, anti-histamínicas, antialérgicas e anticoagulantes, apresentando atividade antimicrobiana frente aos microrganismos presentes no biofilme dental (ALVES *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 1996; CAVALHEIRO *et al.*, 2009; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; MAIA, 2004).

Estudo preliminares sobre o perfil fitoquímicos foram realizados a partir do extrato hidroetanólico das folhas e da casca do caule da *Libidibia ferrea* L. comprovando a presença de substâncias como flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteróides e substâncias fenólicas (GONZÁLES; BARROS; BACCHI, 2004; KOBAYASHI *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2015). Quanto ao perfil fitoquímico do extrato aquoso da vagem da *Libidibia ferrea* L. foram comprovados a presença de alcaloides, antraquinonas, açúcares, flavonoides, taninos, saponinas, sesquiterpenos, lactonas e triterpenos, apresentando dentre estes, maior concentração de taninos (BALBACH, 1992; CARVALHO *et al.*, 1996). Destacam-se na avaliação dos constituintes químicos, os polifenóis, na sugestão de que o ácido gálico e o ácido elágico podem ser as possíveis substâncias responsáveis por parte da atividade biológica e terapêutica da vagem (UEDA *et al.*, 2001).

Estudos já comprovaram a atividade antimicrobiana “in vitro” da *Libidibia ferrea* L. sobre microrganismos presentes no biofilme dental. Um enxaguatório bucal desenvolvido, seguindo as normatizações vigentes da ANVISA (segurança, eficácia e qualidade), a partir do extrato desta planta demonstrou resultados positivos frente ao controle do crescimento microbiano. A estabilidade farmacológica do enxaguatório fitoterápico à base do extrato hidroalcoólico de *Libidibia ferrea* L. a 1% foi avaliado frente a microrganismos como *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *Streptococcus oralis* (ATCC10557), *Streptococcus salivarius* (ATCC7073), *Lactobacillus casei* (ATCC7469) e *Candida albicans* (DPUA 1706) determinando a concentração inibitória mínima pela técnica de microdiluição em caldo, assim como, realizou-se os testes de controle de qualidade avaliando a presença de contaminantes (*Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) bem como as características organolépticas do produto (cor, brilho, consistência e odor), pH, densidade e sedimentação (VENÂNCIO *et al.*, 2015). Ainda realizando os testes pré-clínicos e farmacológicos do enxaguatório, avaliou-se a citotoxicidade através do teste de hemólise e cultura de células bem como o potencial erosivo através do teste de microdureza (dureza Knoop) e a capacidade de manchamento dentário. O enxaguatório de *L. ferrea* L. apresentou condições de estabilidade e qualidade sem contaminantes no produto; atividade bactericida e fungicida frente aos microrganismos do biofilme dental; não foi citotóxico frente ao teste de hemólise e de cultura de células; não alterou a microdureza do esmalte dentário, porém causou alteração de cor após uso prolongado.

## 2.4. Desenvolvimento tecnológico farmacêutico

O desenvolvimento de novas tecnologias farmacológicas traz novas opções de tratamento, bem como de formulações, aprimorando a prestabilidade terapêutica de medicamentos já existentes no mercado, igualmente incluindo novos princípios ativos, mais potentes e eficazes. Com o advento da era industrial os produtos isolados de plantas ou a partir dela sintetizados vem ganhando mercado quanto a novas descobertas curativas/paliativas (BÔAS & GADELHA,2007; TOLEDO *et al.*, 2003).

O Brasil representa um mercado significativo no desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos, com a região Norte representando cerca de 33% do registro de patentes dos mesmos. Há diversos fatores limitante para que o Brasil desenvolva pesquisa com plantas medicinais em escala mais expressiva, dentre elas podemos destacar a limitação política e legislativa, parcerias pública-privada e entre as indústrias e universidades (CARVALHO *et al.*, 2008).

A política deve enfatizar a difusão das tecnologias, agregando valores ao produto, assim como os processos locais de aprendizado, valorizando os sistemas produtivos locais. Outra dificuldade encontrada é procedência sanitária do material vegetal, sendo esta irregular, sobretudo com a contaminação microbiológica, além da presença de herbicidas e agrotóxicos. A implementação das políticas de Plantas Medicinais e Fitoterápicos em 2006, no Brasil, trouxe o incentivo ao desenvolvimento e pesquisa de novas plantas medicinais/fitoterápicos, com foco na nossa biodiversidade (TOLEDO *et al.*, 2003).

Os fitoterápicos diferente dos medicamentos alopáticos, apresentam variações quanto à complexidade de sua composição e qualidade das drogas obtidas a partir de uma mesma espécie vegetal, intimamente relacionados às condições de plantio, processo de coleta, processamento e manuseio da matéria-prima vegetal - MPV (KLEIN *et al.*, 2009).

Os produtos naturais têm sido a maior fonte de novos fármacos, mesmo alguns industrializados foram resultantes de síntese para reprodução da atividade terapêutica destes ativos. O processo de validação leva à descoberta de novas ações farmacológicas de moléculas conhecidas e à descoberta de novas moléculas. O desenvolvimento de uma nova droga normalmente fica restrito a indústrias multinacionais sediadas em poucos países desenvolvidos, requer grandes investimentos, tempo inestimável de pesquisa e alto risco de resultados não previstos. Contudo, o desenvolvimento de um fitoterápico com comprovação de qualidade, segurança e eficácia demanda menos recursos e riscos (CALIXTO; SIQUEIRA JUNIOR, 2008).

A indústria farmacêutica é o setor que mais investe em pesquisa, desenvolvimento e inovação. No atual mundo capitalista, a inovação e desenvolvimento de novos produtos é considerada a principal arma de competição, integrando o núcleo de estratégia empresarial. Pode-se observar dois segmentos de mercado: um voltado para as substâncias isoladas e outro para a droga vegetal, contendo compostos de ação sinérgica. O desenvolvimento do Acheflan® (Laboratório Aché), produzido a partir da planta *Cordia verbenácea*, é um exemplo de fitomedicamento totalmente desenvolvido no Brasil. O produto tornou-se o mais prescrito pelos médicos, representando cerca de 44% das prescrições médicas (BARATA-SILVA *et al.*, 2017; CALIXTO; SIQUEIRA JUNIOR, 2008). Além deste, podemos destacar o ácido acetil salicílico, identificado no extrato vegetal da *Salix alva*, a *Aloe vera*, conhecida por diversas propriedades terapêuticas dentre elas purgativas, revulsivante, imunorreguladora, entre outras.

Os produtos farmacêuticos atuais estão longe do ótimo desempenho na prática clínica devido à sua baixa solubilidade, baixa estabilidade e baixo efeito de direcionamento. Por isso, muitas formas novas de dosagem e sistemas de administração de fármacos são desenvolvidos para promover a eficiência clínica dos fármacos, reduzir a sua toxicidade e melhorar a adesão do paciente. A tendência de cada geração mercadológica é trazer sistemas de liberação de ativos cada vez mais inteligentes. Desde a década de 1990, os sistemas de liberação de fármacos nanoparticulados atraíram atenção generalizada nas pesquisas farmacêuticas (PESSANHA *et al.*, 2012).

Os nanoparticulados apresentam propriedades específicas de entregar o fármaco eficientemente no local de ação, independente da via de administração, assim como a eficácia terapêutica pode ser otimizada e os seus efeitos colaterais reduzidos. Dentre as nanopartículas mais utilizadas podemos citar o óxido de ferro, ouro, poliméricas, lipossomos, micelas, fulenos, nanotubos de carbono, grafeno, dendrímeros, nano diamantes, entre outros. As nanopartículas poliméricas apresentam excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de serem não tóxicas e não imunogênicas, as mesmas são intensivamente estudadas para carreamento e a liberação de diversas drogas anticancerígenas, como o Abraxane® utilizado para veiculação de quimioterápicos para o tratamento de diversos tipos de cânceres. Os carreadores anfífilos também possuem propriedades biológicas de isolamento do princípio ativo do meio circundante, evitando sua degradação, bem como a capacidade de carrear drogas hidrofílicas e hidrofóbicas (ALLEN; CURRIS, 2004; VIEIRA; GAMARRA, 2016).

Outra proficuidade dos fármacos nanoparticulados é que eles não são capazes de atravessar tecidos saudáveis, somente tecidos inflamados ou acometidos por tumores, efeito conhecido como *Enhanced Permeability and Retention* (EPR), além disso, a superfície pode ser

alterada para direcionar o nanocarreador para o tecido/célula alvo, alterando sua farmacocinética (ALLEN; CURRIS, 2004; KHAWAR; KIM; KUM, 2015).

A administração de drogas via bucal tem algumas vantagens bem conhecidas sobre a distribuição de fármacos, a mucosa oral por ser bem permeável e supridas de vasos sanguíneos, as drogas são prontamente absorvidas através de transportes transcelulares. Além disso, a via contorna ambientes gástricos e intestinais e apresentam vantagens clínicas como maior biodisponibilidade, menor variação interindividual e maior segurança. Em particular, a administração oromucosa aparece como uma opção promissora para substâncias quimicamente instáveis e sensíveis, além da boa adesão da terapia pelo paciente (MONTANHA & AZEVEDO, 2013).

Por fim, cada produto inovador deve seguir um processo adequado para garantir a segurança e eficácia antes de sua comercialização. Berkowitz (2006) e Guido e colaboradores (2010) descreveram simplificada o processo de pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos, como estudos *in vitro*, *in vivo*, caracterização dos efeitos biológicos em animais (testes pré-clínicos), antes de serem iniciados os estudos em seres humanos.

## **2.5. Controle de qualidade dos produtos fitoterápicos**

A normatização dos produtos fitoterápicos e naturais está vigente para garantir o seu uso seguro e eficaz, o controle de qualidade das drogas vegetais e seus produtos deve incluir antes dos testes laboratoriais e clínicos a identificação macroscópica e microscópica, bem como a análise do perfil cromatográfico, critério este importante para aplicar-se as “Boas Práticas de Fabricação” determinando produtos de qualidade e resultados mais conclusivos (BRASIL, 2010; BRASIL, 2013; COSTA; GUIMARAES; VIEIRA, 2014; WHO, 1998).

O controle de qualidade de medicamentos/produtos fitoterápicos é primordial para assegurar a eficácia e segurança do mesmo e compreende uma série de análises da sua matéria-prima e da formulação finalizada, como ensaios farmacológicos pré-clínicos (análises físico-químicas e microbiológicas) e clínicos dos efeitos biológicos recomendados, bem como seus efeitos tóxicos. Embora diversos estudos tenham demonstrado a necessidade de garantir segurança a cada produto de origem vegetal (BRANDÃO; FREIRE, VIANNA-SOARES, 1998; SIMÕES *et al.*, 2007), a aplicação e a validação de métodos analíticos para matérias-primas a base de plantas ainda são escassas na literatura porem de ser realizada de acordo com as bases científicas e técnicas (SIMÕES *et al.*, 2007).

Os parâmetros de qualidade são estabelecidos nas Farmacopéias e Códigos oficiais, atualmente existem monografias definindo o critério de pureza, identidade e de teor, dentre elas: a Farmacopéia Brasileira, Européia, Alemã, Americana, a elaborada pela OMS (Organização Mundial de Saúde), entre outras. Porém com avanços tecnológicos a maioria se tornou atrasada para fins analíticos (SIMÕES *et al.*, 2007).

Os parâmetros do controle de qualidade variam de acordo com o tipo de matéria-prima vegetal e sua procedência e é responsável pelas atividades referentes à:

I - a amostragem;

II - as especificações;

III - aos ensaios; e

IV - a organização, documentação e procedimentos de liberação; RDC 13/2013 (BRASIL, 2013).

Segundo a Resolução RDC 89/2004 (BRASIL, 2004), a ANVISA publicou uma lista de fitoterápicos de registro simplificado e buscou estabelecer a padronização de marcadores químicos para diversas plantas e limite diário para seu uso. Buscando atuar neste contexto, a necessidade de determinar o teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. A qualidade do produto manipulado é conduzida através das Boas Práticas de Manipulação Farmacêutica (BPMF) segundo RDC nº67 de 2007 (BRASIL, 2007), onde o controle de qualidade é ferramenta indispensável para sua verificação, para atingir um produto com qualidade farmacopéia e que possa ser manipulado quantas vezes for necessário, com os mesmos parâmetros de qualidade.

Segundo a RDC 17/2010 (BRASIL, 2010), as especificações devem incluir, ao menos, as seguintes informações:

a) testes para determinação de contaminação microbiológica;

b) uniformidade de peso, tempo de desintegração, dureza e friabilidade, viscosidade, consistência e tempo de dissolução, quando aplicável;

c) aparência física tais como, cor, odor, forma, tamanho e textura; perda por secagem ou conteúdo de água;

d) testes de identificação, determinação qualitativa de substâncias relevantes das plantas (por exemplo, cromatogramas fingerprint);

e) quantificação dos marcadores, e métodos analíticos disponíveis;

f) testes limite para solventes residuais.

Os testes de controle de qualidade e especificações para medicamentos fitoterápicos devem contemplar a determinação qualitativa e quantitativa dos principais componentes ativos (BRASIL, 2010a).

CHECHINEL-FILHO (1998) propôs algumas etapas experimentais para obtenção de princípios ativos de plantas. Segundo o autor, somente a maior concentração são isolados e estudados, o que exclui as substâncias em menores proporções que apresentam melhores efeitos biológicos, portanto, necessita-se de metodologias para obtenção de extratos onde obtêm-se substâncias puras, onde a certeza da atividade biológica pertence ao princípio ativo específico.

A avaliação de Produtos Tradicionais Fitoterápicos deve abranger todos os fatores relevantes, incluindo: as condições de produção, os resultados de controle em processo, a documentação de fabricação, incluindo a embalagem, o cumprimento das especificações para o produto acabado e a análise da embalagem final RDC 13/2013 (BRASIL, 2013).

O controle de qualidade deve abranger, como dito anteriormente, metodologias para a análise dos seus constituintes vegetais. Segundo literatura a metodologia mais adequada para esta análise é a obtenção de um extrato hidroalcoólico (50% água/50% etanol – v/v). Existem diversas procedimentos relatados em literatura, outro exemplo é a semi-purificação de extratos, onde filtra-se os extratos alcoólicos brutos em sílica gel com solventes de polaridades crescentes, separando-os pela polaridade (CHECHINEL-FILHO, 1998; MATOS, 1998; SIMÕES *et al.*, 2007). Independente da metodologia utilizada para obtenção dos compostos ativos, posteriormente, os extratos devem ser avaliados biologicamente e submetidos aos métodos cromatográficos (BYRNE, 1993; CHECHINEL-FILHO, 1998; SIMÕES *et al.*, 2007).

Alguns modelos experimentais foram propostos para avaliação da atividade biológica como: avaliação da atividade antifúngica e antibacteriana pelos métodos de difusão em ágar e pelo método da concentração inibitória mínima, respectivamente (BAUER *et al.*, 1966; MITSCHER *et al.*, 1972); avaliação da atividade analgésica pelos modelos de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos (COLLIER *et al.*, 1968), modelo de dor induzida pela formalina em camundongos (HUNSKAAR *et al.*, 1985) e modelo de placa quente (EDDY & LEIMBACH, 1953); modelo de pleurisia induzida por neurotransmissores (HENRIQUES *et al.*, 1992); avaliação da atividade antiespasmódica através da contração de órgão isolado induzida por neurotransmissores (SCHLEMPER *et al.*, 1996); e, por fim, avaliação da atividade antitumoral pelo modelo da leucemia “in vivo” (MUKHERJEE *et al.*, 1993).

A estabilidade de produtos farmacêutico depende de fatores ambientais como temperatura, luz, umidade, assim como de fatores relacionados a própria composição do

produto como propriedades físicas e químicas dos princípios ativos e excipientes, forma farmacêutica e o que a constitui, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem, visando definir seu prazo de validade e período de utilização em embalagem e condições de armazenamento especificadas (ANVISA, 2003; BRASIL, 2005).

Segundo o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade (BRASIL, 2005) todo produto farmacêutico em desenvolvimento deve ser submetido a testes de estabilidade os quais apresentam frequências de estudo específicas: o estudo acelerado, o estudo de longa duração e estudo de acompanhamento. O estudo de estabilidade acelerado é designado para acelerar a degradação química e/ou mudanças físicas em condições de armazenamento forçadas, este é realizado acondicionando amostras do produto em desenvolvimento em sua embalagem primária e submetendo-se, durante seis meses, a condições de 40° C e umidade relativa que pode ser de 75% no caso de embalagem primária de material semi-permeável, no caso de embalagem de material impermeável é isento o controle de umidade. O estudo acelerado é realizado em três análises (0, 3 e 6 meses) para doseamento, quantificação de produtos de degradação, dissolução (quando aplicável) e pH (quando aplicável). Outras análises, tais como esterilidade e pirogênio, dureza podem ser realizadas apenas no primeiro e no último mês do estudo acelerado.

O estudo de estabilidade de longa duração é utilizado para estabelecer ou confirmar o prazo de validade e recomendar condições de armazenamento. Este estudo verifica as características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas durante e, opcionalmente, após o prazo de validade, este é realizado submetendo-se as amostras do medicamento a 30°C e umidade relativa conforme a do estudo acelerado, durante o número de meses que se deseja atribuir como prazo de validade. O estudo de longa duração é realizado em 7 análises (0, 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses), realizando os mesmos testes do estudo acelerado. Como obrigatoriamente este estudo deve ser apresentado para a ANVISA após 24 meses de estudo, estas análises devem ser realizadas no momento zero e no 24º mês. O estudo de acompanhamento é realizado a cada 12 meses, devendo ser realizados todos os testes de um relatório de estudo de estabilidade. Este estudo tem por objetivo verificar se as características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas mantiveram-se, conforme o estudo de longa duração. Este estudo deve ser realizado a cada doze meses (BRASIL, 2005).

Conforme os dados obtidos pelo estudo de estabilidade acelerada e dados preliminares do estudo de longa duração e de acompanhamento, é possível avaliar o impacto que os efeitos químicos e físicos causarão em um produto farmacêutico quando este é exposto a condições fora das estabelecidas pela rotulagem por curto período de tempo, determinando assim as

adequadas condições de armazenamento do produto final bem como suas devidas orientações no rótulo do produto e tempo de validade.

Os produtos odontológicos que contém substâncias naturais apresentam boas perspectivas no mercado, devido à aceitação popular da fitoterapia, porém só devem ser introduzidos após a comprovação científica de sua eficácia, por meio de estudos laboratoriais e clínicos específicos (GEBARA *et al.*,1996).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Realizar o controle de qualidade físico-químico e avaliar o efeito cicatricial de uma pomada orabase a base de *Libidibia ferrea* L. a 2% em úlceras orais induzidas em ratos.

#### 3.2 Específicos

- ✓ Determinar os compostos químicos majoritários através do controle analítico em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC);
- ✓ Avaliar a estabilidade da fórmula farmacêutica, bem como as propriedades físico-químicas de controle de qualidade (densidade, pH, centrifugação e características organolépticas), bem como verificar a presença de contaminantes bacterianos e/ou fúngicos, obedecendo às orientações de padronização e normas das boas práticas de fabricação de uma formulação terapêutica fitoterápica em tempos e condições de armazenamento pré-estabelecidos;
- ✓ Avaliar a ação cicatrizante da formulação fitoterápica em orabase em úlceras induzidas na mucosa oral de ratos da linha *wistar*.