



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

RAVELY LUCENA SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE UM DENTIFRÍCIO A PARTIR DE
EXTRATO NEBULIZADO DE *Schinopsis brasiliensis* ENGLER.**

CAMPINA GRANDE – PB

2013

RAVELY LUCENA SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE UM DENTIFRÍCIO A PARTIR DE
EXTRATO NEBULIZADO DE *Schinopsis brasiliensis* ENGLER.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE – PB


2013

RAVELY LUCENA SANTOS

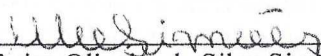
**DESENVOLVIMENTO DE UM DENTIFRÍCIO A PARTIR DE
EXTRATO NEBULIZADO DE *Schinopsis brasiliensis* ENGLER.**

Aprovada em 01 de março de 2013

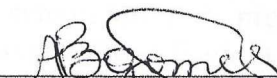
Banca Examinadora:



Prof. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros – (DF/UEPB)
(Orientadora)



Prof. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões – (DF/UEPB)
(Examinador interno)



Prof. Dra. Ana Paula Barreto Gomes – (DF/UFRN)
(Examinador externo)

RESUMO

O uso irracional de antimicrobianos proporciona à resistência de microorganismos, desta forma a busca por novos produtos com essa ação torna-se cada vez mais necessário. Plantas medicinais têm se tornado fortes candidatas no combater tais microorganismos. *Schinopsis brasiliensis* Engler pertencente a família Anacardiaceae é conhecida popularmente como braúna tem se mostrado uma forte candidata com ação antimicrobiana. Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma nova formulação de dentifrício a base de extrato nebulizado de *Schinopsis brasiliensis* Engler, com a finalidade de que seja utilizado no controle do biofilme dentário. Realizou-se um *screening* microbiológico com extratos hidroalcoolicos de *S. brasiliensis* Engler. Em gradientes de concentração diferentes água:álcool, frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus parasanguis* e *Streptococcus oralis*. Selecionou-se o extrato com melhor atividade, o qual foi submetido a nebulização em *Spray Dryer*, e o microorganismo que foi mais susceptível a esse extrato. Foram determinadas a potência microbiológica do extrato nebulizado e a toxicidade aguda. Um estudo de pré-formulação foi realizado com excipientes farmacêuticos e o extrato nebulizado através de Análise Térmica, Difração de Raios-X (DRX) e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). Foram formulados dezoito dentifrícios, sendo nove contendo apenas excipiente e água e os outros nove com estes componentes e o extrato nebulizado. Todas as formulações e o extrato nebulizado foram submetidos a análises físico-químicas, onde foram avaliados o pH, a condutividade e as características organolépticas. O extrato de *S. brasiliensis* Engler. na concentração de 30:70 apresentou melhor atividade antimicrobiana e o microorganismo mais susceptível foi o *S. mutans*. O estudo de potência microbiológica determinou que a menor dose que possui efeito significativo é de 337,23 mg/mL do extrato nebulizado frente ao *S. mutans*. O extrato apresentou toxicidade moderada sobre *A. salina* e nenhum efeito tóxico em camundongos. No estudo de pré-formulação os excipientes que apresentaram melhor comportamento foram: bicarbonato de sódio, hidroxietilcelulose, polissorbato 80, propilenoglicol, manitol e propilparabeno. As análises dos parâmetros físico-químicos do extrato nebulizado mostraram que o extrato nebulizado é um pó fino de baixa densidade, fracamente ácido e apresenta perda por dissecação dentro dos parâmetros recomendados pela farmacopéia. Quanto às formulações, a maioria apresentou-se estável após 24h de manipuladas e após os testes de centrifugação, a formulação 5 com e sem o extrato, apresentou melhores características organolépticas e valor de pH. Quanto à viscosidade e a espalhabilidade observou-se que a presença do extrato influencia no comportamento da formulação. *S. brasiliensis* Engler. apresenta atividade antimicrobiana frente as cepas testadas, o estudo de pré-formulação mostra que alguns excipientes interagem de forma negativa com o extrato nebulizado e a presença do extrato pode alterar comportamento da formulação, porém não influencia no pH nem nas características organolépticas.

Palavras-chave: extrato nebulizado, atividade antimicrobiana, semi-sólido odontológico, pré formulação, caracterização físico-química.

ABSTRACT

The irrational use of antimicrobial resistance of microorganisms provides thus the search for new products with this action becomes increasingly necessary. Medicinal plants have become strong candidates to combat these microorganisms. *Schinopsis brasiliensis* Engler, belonging to Anacardiaceae family, is popularly known as Braúna, and has proved to be a strong candidate with antimicrobial action. This study aimed to develop a new toothpaste formulation based on nebulized extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engler, with the purpose of which is used to control biofilm. We conducted a microbiological screening with hydroalcoholic extracts of *S. brasiliensis* Engler. In different concentration gradients water: alcohol, against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus parasanguis* and *Streptococcus oralis*. It was selected the extract with best activity, which was submitted to nebulization process in Spray Dryer, and the most susceptible microorganism to this extract. We determined the microbiological potency of the nebulized extract and the acute toxicity. A preformulation study was conducted with pharmaceutical excipients and the nebulized extract by thermal analysis, X-Ray Diffraction (XRD) and Fourier-Transform infrared spectroscopy (FT-IR). Eighteen toothpastes were formulated, nine containing only excipient and water and the other nine with these components and nebulized extract. All formulations and the nebulized extract were subjected to physicochemical analyzes, in which were evaluated pH, conductivity and organoleptic characteristics. The extract of *S. brasiliensis* Engler., in the concentration of 30:70 showed better antimicrobial activity and more susceptible microorganism was *S. mutans*. The microbiological potency study determined that the smallest dose with significant effect is of 337.23 mg/ml of nebulized extract against *S. mutans*. The extract showed moderate toxicity on *A. salina* and no toxic effects in mice. In the pre-formulation study the excipients that presented best results were: sodium bicarbonate, hydroxyethylcellulose, polysorbate 80, propyleneglycol, mannitol and propylparaben. The analyzes of the physicochemical parameters of nebulized extract showed that it is a fine powder of low density, weakly acidic and presents dissection loss within the recommended parameters by the pharmacopeia. Regarding formulations, most remained stable after 24h of manipulation and after centrifugation tests, the formulation 5 with and without the extract, showed better organoleptic properties and pH value. Regarding the viscosity and spreadability was observed that the extract influences the behavior of the formulation. *S. brasiliensis* Engler. shows antimicrobial activity against the strains tested, and the preformulation study shows that some excipients interact negatively with the nebulized extract and the extract presence can change formulation behavior, but it does not affect the pH or organoleptic characteristics.

Keywords: nebulized extract, antimicrobial activity, dental semi-solid, preformulation, physicochemical characterization.

“Tudo posso naquele que me fortalece, nada e ninguém no mundo vai me fazer desistir.”

Pe. Fabio de Melo.

“Não somos responsáveis apenas pelo que fazemos mas, também pelo que deixamos de fazer .”

Molière

A DEUS, pela graça de me dar a vida e da conclusão desta pós-graduação, e por sua infinita misericórdia em toda minha caminhada.

AOS MEUS PAIS, por ensinar-me os caminhos do Senhor e pelos seus exemplos de força e garra, por investir nos meus estudos e sempre acreditarem na minha capacidade de conquistar meus objetivos.

A MINHA IRMÃ, pela sua ajuda prestada e seu apoio sempre que precisei.

AO MEU ESPOSO, por sempre acreditar na minha capacidade e me incentivar a sempre lutar pela realização dos meus sonhos acadêmicos e pessoais e por todo o seu amor, dedicação, carinho, compreensão e companheirismo.

AO MEU BEBÊ, que logo estará conosco para aumentar ainda mais a nossa felicidade.

AOS MEUS AVÓS, maternos (*in memoriam*) e paternos, por terem confiado no meu potencial e terem me incentivado a lutar pelos meus sonhos.

A TODOS OS ESTUDANTES, que lutam para conseguir cursar e concluir uma pós-graduação, e em especial aos jovens de Santa Maria-RS que não conseguiram realizar este sonho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- A Deus por ter me concedido a vida, por me dar discernimento e determinação na busca dos meus objetivos e da realização dos meus sonhos.
- A minha família, por acreditar na minha capacidade, me estimular e me proporcionar um bom estudo.
- A minha orientadora, Professora Doutora Ana Cláudia Dantas de Medeiros, pela oportunidade de aprendizado, por sua enorme dedicação, confiança, paciência, incentivo, ensinamentos e pela amizade construída no desenvolvimento desta pesquisa e na vida acadêmica.
- Ao professor doutor José Germano Vêras Neto pelo incentivo, ensinamentos e pela amizade construída no desenvolvimento desta pesquisa.
- Ao meu esposo George, pelo estímulo oferecido em todas as horas do meu curso, principalmente nos momentos difíceis de desenvolvimento de projetos e por me fazer acreditar que sou capaz de alcançar os meus objetivos e a toda a sua família.
- Aos meus amigos, amigas e companheiros de laboratório, em especial Alinne, Clediano, Cleildo, David, Deysiane, Elaine, Felipe, Fernanda, Fernando, Gean, Jocimar, Karla Monik, Lianne, Lidiane, Marcelo, Nayanna, Paulo César, Priscila, René, Thiago, Valber, pelas trocas de conhecimento, pelos incentivos, pela ajuda no desenvolvimento das análises, por terem ficado, muitas vezes, até altas horas da noite no laboratório apenas me acompanhado, e a todos os outros que contribuíram direto ou indiretamente.
- Aos meus amigos, amigas e colegas do mestrado, em especial Alan, Cynthia, Danielle, Geovani, Gabriela, Jammily, Katharina, Késsia, Michele, pelo incentivo, me fazendo sempre acreditar na minha capacidade, e por toda ajuda ao longo do curso.
- As minhas primas Vanessa e Tatiana, as minhas amigas Michely, Ryanne e Valquíria e a família Marques por toda ajuda, pelos conselhos, pela paciência com meus abusos e sumiços e por sempre acreditarem que eu venceria esta etapa.
- As Professoras Doutoras Mônica Oliveira da Silva Simões e Ana Paula Barreto Gomes, pela participação na banca examinadora desta dissertação, pelo incentivo à pesquisa e pela contribuição depositada neste trabalho.

- À Universidade Estadual da Paraíba, pela oportunidade de cursar esta Pós-Graduação, em Ciências Farmacêuticas, e disponibilizar seus laboratórios para o desenvolvimento da pesquisa.
- Pelo apoio e compreensão, a todo (a)s o (a)s professore (a)s e funcionários (as) do programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba.
- Aos doutores que contribuíram nesta formação e no desenvolvimento desta pesquisa.
- Ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) e ao Laboratório de Química Analítica e Quimiometria (LQAQ) da UEPB.
- Ao Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF), em especial aos professores doutores Alexsandro Silva e Bolivar Damasceno e aos alunos Alexsandra e Yargo.
- Ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais (CertBio) da UEPB/UFCG, em especial a Lidiane e a Geane.
- Ao Laboratório de farmacologia da UEPB, em especial a professora Doutora Vanda Santos e seus alunos e alunas.
- Ao Laboratório Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LUDEM) da UFPB, em especial aos professores doutores Rui Macedo e Fábio Santos e aos alunos Fabrício e Leonardo.
- Ao Laboratório de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em especial ao professor doutor Irinaldo Diniz Basílio Júnior.
- Ao CNPq e a CAPES.
- A todos que participaram diretamente ou indiretamente no desenvolvimento dessa pesquisa e durante a graduação.

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------|-----------|
| INTRODUÇÃO | 21 |
| OBJETIVOS | 23 |
| OBJETIVO GERAL | 23 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 23 |

CAPÍTULO I

| | |
|---|-----------|
| REVISÃO DE LITERATURA..... | 24 |
| 1.1. FITOTERAPIA NA ODONTOLOGIA | 24 |
| 1.2. <i>SCHINOPSIS BRASILIENSIS</i> ENGLER | 26 |
| 1.3. FORMAS FARMACÊUTICAS DE USO ODONTOLÓGICO | 28 |
| 1.4. DENTIFRÍCIO | 29 |
| 1.4.1. Excipientes utilizados em dentifrícios..... | 30 |
| 1.4.1.1. Abrasivos..... | 30 |
| 1.4.1.2. Umectantes | 33 |
| 1.4.1.3. Espessantes..... | 36 |
| 1.4.1.4. Tensoativo | 38 |
| 1.4.1.5. Edulcorantes | 40 |
| 1.4.1.6. Conservantes | 42 |
| 1.5. ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO | 45 |
| 1.6. DOSEAMENTO DA POTÊNCIA ANTIMICROBIANA | 47 |
| 1.7. CONTROLE DA QUALIDADE | 49 |

CAPÍTULO II

| | |
|---|-----------|
| PARTE EXPERIMENTAL..... | 51 |
| 2.1. LOCAL DA PESQUISA | 51 |
| 2.2. MATERIAL VEGETAL | 51 |
| 2.3. PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL..... | 52 |

| | | |
|------------|---|----|
| 2.4. | OBTENÇÃO DOS EXTRATOS | 52 |
| 2.5. | SCREENING MICROBIOLÓGICO..... | 53 |
| 2.5.1. | Cepas Microbianas | 53 |
| 2.5.2. | Preparação do Inoculo Microbiano | 53 |
| 2.5.3. | Ensaio Microbiológico por Difusão em Meio Sólido..... | 54 |
| 2.6. | DOSEAMENTO DE POTÊNCIA ANTIMICROBIANA POR DIFUSÃO EM AGAR | 54 |
| 2.7. | TESTE DE TOXIDADE AGUDA | 56 |
| 2.7.1. | Ensaio de Toxidade Aguda com <i>Artemia salina</i> | 56 |
| 2.7.2. | Ensaio de Toxicidade Aguda em Camundongos..... | 56 |
| 2.8. | ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO EXTRATO NEBULIZADO..... | 58 |
| 2.8.1. | Análise granulométrica..... | 58 |
| 2.8.2. | Análise das partículas | 59 |
| 2.8.3. | Determinação da densidade | 59 |
| 2.8.4. | Determinação da Perda por Dissecação..... | 60 |
| 2.8.5. | Determinação do pH..... | 61 |
| 2.9. | ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO | 61 |
| 2.9.1. | Obtenção das Misturas Binárias | 62 |
| 2.9.1.1. | Análise do comportamento térmico do pó nebulizado e de excipientes usados no dentifrício..... | 63 |
| 2.9.1.1.1. | Termogravimetria (TG)..... | 63 |
| 2.9.1.1.2. | Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) | 63 |
| 2.9.1.2. | Análise da caracterização de partícula do pó nebulizado e de excipientes usados em dentifrício..... | 63 |
| 2.9.1.2.1. | Difração de Raios-X (DRX)..... | 63 |
| 2.9.1.2.2. | Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) | 64 |
| 2.10. | DESENVOLVIMENTO DO DENTIFRÍCIO | 64 |
| 2.11. | ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS FORMULAÇÕES DE DENTIFRÍCIOS | 65 |
| 2.11.1. | Avaliação das características organolépticas | 65 |
| 2.11.2. | Determinação do pH e da condutividade | 66 |
| 2.11.3. | Viscosidade | 66 |
| 2.11.4. | Estresse Térmico..... | 67 |

| | | |
|---------|--------------------------------|----|
| 2.11.5. | Teste da centrifugação | 67 |
| 2.11.6. | Teste da espalhabilidade | 67 |
| 2.11.7. | Avaliação dos resultados | 68 |

CAPÍTULO III

| | |
|---|-----------|
| RESULTADOS E DISCUSÃO..... | 69 |
| 3.1. SCREENING MICROBIOLÓGICO..... | 69 |
| 3.2. ESTUDO POTÊNCIA MICROBIOLÓGICA | 70 |
| 3.3. TESTE DE TOXIDADE AGUDA | 73 |
| 3.3.1. Ensaio de Toxidade Aguda com <i>Artemia salina</i> | 73 |
| 3.3.2. Ensaio de Toxicidade Aguda em camundongos..... | 74 |
| 3.4. ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO EXTRATO NEBULIZADO..... | 75 |
| 3.5. ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO | 78 |
| 3.5.1. Extrato nebulizado de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 78 |
| 3.5.2. Misturas binárias | 80 |
| 3.5.2.1. Agentes abrasivos..... | 80 |
| 3.5.2.2. Agentes espessantes | 84 |
| 3.5.2.3. Agentes tensoativos..... | 90 |
| 3.5.2.4. Agentes umectantes..... | 94 |
| 3.5.2.5. Agentes edulcorantes..... | 100 |
| 3.5.2.6. Agentes conservantes | 104 |
| 3.6. ANÁLISE DA CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULA DO EXTRATO NEBULIZADO E DE EXCIPIENTES USADOS EM DENTIFRÍCIO..... | 110 |
| 3.6.1. Difração de Raios-X (DRX)..... | 110 |
| 3.6.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) 112 | |
| 3.7. DESENVOLVIMENTO DO DENTIFRÍCIO..... | 114 |

CAPÍTULO IV

| | |
|------------------------|------------|
| CONCLUSÕES..... | 124 |
|------------------------|------------|

CAPÍTULO V

| | |
|--------------------------------|------------|
| PROPOSTAS FUTURAS | 127 |
|--------------------------------|------------|

CAPÍTULO VI

| | |
|---|------------|
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 128 |
|---|------------|

| | |
|-------------------|------------|
| ANEXO..... | 142 |
|-------------------|------------|

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C – Grau Celsius

% – Porcentagem

P – peso

V – volume

kg – Kilograma

g – Grama

mg – Miligrama

l – Litro

u.a. – Unidade atômica

cm³ – centímetro cúbico

cm⁻¹ – Centímetro a menos um

μL – Microlitro

μm – Micrometro

nm – Nanômetro

mm – Milímetro

mm² – Milímetro quadrado

min – Minuto

h – Hora

kV – Kilowatts

mA – Miliampere

cP – CentiPoise

q.s.p – Quantidade suficiente para

rpm – Rotação por minuto

DL – Dose letal

CL – Concentração Letal

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

DRX – Difração de Raios X

DTA – Análise Térmica Diferencial

TG – Termogravimetria

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

LABDEM – Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos

LQAQ – Laboratório de Química Analítica e Quimiometria

LDCPF – Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos

CertBio – Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais

LUDEM – Laboratório Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos

UEPB – Universidade Estadual da Paraíba

UFMG – Universidade Federal de Campina Grande

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

UFAL – Universidade Federal de Alagoas

ATCC – American Type Culture Collection

RDC – Resolução de Diretoria Colegiada

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BFCA – Brauna Folha com Aerosil

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 27 |
| Figura 2 - Coleta das folhas de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 52 |
| Figura 3 - Nebulização em aparelho <i>Spray Dryer</i> . A: mistura do extrato hidroalcoólico com o Aerosil 200®. B: Equipamento utilizado. C: Injeção do extrato no equipamento. D: Coletor do pó nebulizado. | 53 |
| Figura 4 – Ensaio de toxicidade aguda em camundongos. A: Administração do extrato em testes. B: Camundongos em caixas após tratamento. C: Teste do reflexo corneal. D: teste da resposta ao aperto da calda..... | 57 |
| Figura 5 - Sacrificação dos camundongos para análise das vísceras..... | 58 |
| Figura 6 - Análise granulométrica do extrato em pó nebulizado das folhas da <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 59 |
| Figura 7 - Determinação da densidade do extrato em pó nebulizado das folhas da <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 60 |
| Figura 8 - Determinação do pH do extrato nebulizado das folhas da <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler. | 61 |
| Figura 9 - Procedimento para medição do pH e da condutividade das formulações..... | 66 |
| Figura 10 - Viscosímetro rotativo. | 67 |
| Figura 11 - Curva de calibração obtida com o extrato nebulizado das folhas de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 72 |
| Figura 12 - Imagem da do vídeo microscopia do extrato nebulizado das folhas de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler..... | 77 |
| Figura 13 - Curvas TG (A) e DSC (B) do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> Engler..... | 78 |
| Figura 14 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> , excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do carbonato de Cálcio; C e D - curvas do bicarbonato de sódio. | 80 |
| Figura 15 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> , excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do carbopol 940; C e D - curvas do carboximetilcelulose; E e F – curvas do hidroxietilcelulose..... | 85 |
| Figura 16 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> , excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B –curvas do Lauril Sulfato de Sódio; C e D - curvas do Polissorbato 80..... | 91 |

| | |
|---|-----|
| Figura 17 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> , excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas da glicerina; C e D - curvas do sorbitol; E e F – curvas do propilenoglicol. | 95 |
| Figura 18 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> , excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do aspartame; C e D - curvas do manitol. | 101 |
| Figura 19 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> , excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do metilparabeno; C e D - curvas do propilparabeno; E e F – curvas do benzoato de sódio..... | 105 |
| Figura 20 - Difractogramas relativos às misturas 1:1 (vermelho) do extrato BFCA (verde) com os excipientes farmacêuticos (azul): Extrato nebulizado BFCA (A), Aspartame (B), Carbonato de Cálcio (C), Carbopol (D), Lauril Sulfato de Sódio (E) e Metilparabeno (F). | 111 |
| Figura 21 - Espectros no infravermelho relativos às misturas 1:1 (vermelho) do extrato BFCA (verde) com os excipientes farmacêuticos (azul): Lauril Sulfato de Sódio (A), Manitol (B), Metilparabeno (C), Polissorbato 80 (D), Aspartame (E), Benzoato de Sódio (F), Carbonato de Cálcio (G), Carbopol (H) e Glicerina (I)..... | 113 |
| Figura 22 - Perfil de espalhabilidade das formulações A..... | 123 |
| Figura 23 - Perfil de espalhabilidade das formulações B..... | 123 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Cepas de bacterianas utilizadas no <i>Screening</i> Microbiológico. | 53 |
| Tabela 2 - Classes e concentrações dos excipientes utilizados para formular o dentifrício. | 64 |
| Tabela 3 - Atividade antimicrobiana de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler. frente a bactérias do biofilme. | 70 |
| Tabela 4 - Média dos halos de inibição obtido no estudo de potência microbiológica do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> Engler. e do antibiótico padrão frente a <i>Streptococcus mutans</i> | 71 |
| Tabela 5. Determinação granulométrica do extrato nebulizado das folhas de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler. | 76 |
| Tabela 6 - Determinação do tamanho de partícula do extrato nebulizado das folhas de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler. | 76 |
| Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos avaliados com o extrato nebulizado das folhas de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler. | 77 |
| Tabela 8 - Dados termogravimétricos do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> Engler. | 79 |
| Tabela 9 - Dados DSC referentes aos picos endotérmicos do extrato nebulizado de <i>S. brasiliensis</i> Engler. | 79 |
| Tabela 10 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbonato de cálcio. | 81 |
| Tabela 11 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbonato de cálcio. | 82 |
| Tabela 12 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Bicarbonato de sódio. | 83 |
| Tabela 13 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Bicarbonato de sódio. | 83 |
| Tabela 14. Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbopol 940. | 86 |
| Tabela 15 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbopol 940. | 86 |
| Tabela 16 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carboximetilcelulose. | 87 |
| Tabela 17 - Dados DSC referentes aos processos transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carboximetilcelulose. | 88 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 18 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Hidroxietilcelulose. | 89 |
| Tabela 19 - Dados referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + hidroxietilcelulose. | 90 |
| Tabela 20 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Lauril Sulfato de sódio. | 92 |
| Tabela 21 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Lauril Sulfato de sódio. | 92 |
| Tabela 22 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + polissorbato 80. | 93 |
| Tabela 23 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + polissorbato 80. | 94 |
| Tabela 24 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + glicerina. | 96 |
| Tabela 25 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + glicerina. | 96 |
| Tabela 26 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + sorbitol. | 97 |
| Tabela 27 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + sorbitol. | 98 |
| Tabela 28 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilenoglicol. | 99 |
| Tabela 29 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilenoglicol. | 99 |
| Tabela 30 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + aspartame. | 101 |
| Tabela 31 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + aspartame. | 102 |
| Tabela 32- Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + manitol. | 103 |
| Tabela 33 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Manitol. | 104 |
| Tabela 34 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + metilparabeno. | 106 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 35 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + metilparabeno. | 107 |
| Tabela 36 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilparabeno. | 108 |
| Tabela 37 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilparabeno. | 108 |
| Tabela 38 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + benzoato de sódio. | 109 |
| Tabela 39 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + benzoato de sódio. | 110 |
| Tabela 40- Excipientes das formulações de dentifrícios desenvolvidos. | 117 |
| Tabela 41- Resultados dos parâmetros avaliados nas formulações. após 24H dentifrícios. | 118 |
| Tabela 42- Resultados dos parâmetros avaliados após centrifugação das formulações. | 119 |
| Tabela 43- Resultados dos parâmetros avaliados após formulações serem submetidas ao estresse térmico. | 120 |

INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado e prolongado de antibacterianos e antifúngicos pode causar resistência dos microorganismos e/ou proporcionar seu crescimento na cavidade bucal. Desta forma, a restrição ao uso de antimicrobianos, a pesquisa por novos agentes com esta atividade farmacológica e o estudo do mecanismo de resistência microbiana, tornam-se cada vez mais necessária.

Diversas pesquisas estão sendo realizadas na busca de descobrir e desenvolver novos medicamentos, seja ele de origem natural ou sintética, capazes de combater microorganismos patogênicos, principalmente aqueles que já apresentam resistência a substâncias convencionais. Neste sentido a classe médica e o Ministério da Saúde, com o desenvolvimento de programas oficiais, têm apoiado o emprego de plantas medicinais para o tratamento de doenças (COSTA *et al.*, 2009).

O biofilme dentário é formado por acumulações de bactérias na superfície do dente (MARSH, 2010), este é considerado o fator de maior importância etiológica de doenças odontológicas, periodontais e cárie. O controle deste biofilme ocorre normalmente pela escovação, uso de coadjuvantes químicos como dentifrícios e colutórios e remoção mecânica (SOARES *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2009; JOVITO *et al.*, 2009; FREIRES *et al.*, 2010).

O uso de dentifrício ainda é a forma mais fácil e conveniente para remover o biofilme e prevenir doença periodontal e cárie, entretanto sua composição básica nem sempre é suficiente para desenvolver estas ações sendo, portanto de fundamental importância a incorporação de substâncias com ação antimicrobiana (HOFFMANN, 2008).

A clorexidina, o triclosan, e o fluoreto de sódio estão entre as substâncias com ação antimicrobiana disponíveis no mercado (JOVITO *et al.*, 2009). Entre estas, a

clorexidina se destaca por possuir uma boa eficácia na remoção do biofilme cariogênico (FREIRE *et al.*, 2010), e por ser uma substância considerada como um antisséptico de espectro amplo, por atuarem sobre fungos filamentosos e leveduriformes e bactérias gram-positivas e gram-negativas (DINIZ *et al.*, 2010). Entretanto, esta substância apresenta algumas limitações, como alteração do paladar, manchas nos dentes, desequilíbrio da microbiota bucal e embora seja eficaz frente a diversos microorganismo, alguns já apresentam uma resistência considerável a este fármaco (FREIRE *et al.*, 2010).

Associações de extratos de plantas medicinais a substâncias utilizadas em colutórios bucais e dentifrícios tem sido propostas com o objetivo de avaliar a ação do extrato isolado ou em associações na redução de microorganismos bucais (COSTA *et al.*, 2009) e assim controlar o biofilme dental.

O Brasil possui a maior diversidade vegetal do planeta, e vinculada ao seu povo existe um valioso conhecimento tradicional relacionado ao uso de plantas medicinais. Este conhecimento, adquirido com outras gerações, tem sido base para grandes pesquisas científicas proporcionando o estudo e o desenvolvimento de produtos naturais utilizados em diversas enfermidades, inclusive, nas afecções odontológicas (FREIRES *et al.*, 2010). Desta forma a fitoterapia está sendo usada como recurso terapêutico para o auxílio de tratamentos ortodoxos e também para tratar doenças crônicas que a medicina convencional não conseguiu (ARAUJO *et al.*, 2009).

Pesquisas têm demonstrado atividade antimicrobiana *in vitro* de plantas, do semiárido Brasileiro, frente a microorganismos da cavidade oral (SILVA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012). A *Schinopsis brasiliensis* Engler conhecida por diversos nomes populares inclusive por braúna, tem se mostrado uma forte candidata com ação antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2012; SARAIVA *et al.* 2011).

Neste contexto pesquisas que propõem realizar um estudo de desenvolvimento de um novo dentifrício, tendo como matéria prima extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, são importantes, pois trazem a possibilidade da bioprospecção de um novo produto odontológico desenvolvido a partir de plantas medicinais do semiárido brasileiro.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Desenvolver uma formulação de dentifrício, no estado semi-sólido, a base de extrato nebulizado de *Schinopsis brasiliensis* Engler., com a finalidade de que seja utilizado no controle do biofilme dentário.

Objetivos Específicos

- Obter extratos de *Schinopsis brasiliensis* Engler. em diferentes proporções de misturas hidroalcoólicas;
- Realizar um screening microbiológico nos extratos hidroalcoólicos produzidos;
- Obter extrato nebulizado, com estabilizante farmacotécnico, do (s) extrato (s) que possuir melhor atividade antimicrobiana;
- Determinar potência microbiológica do extrato nebulizado;
- Realizar ensaios de toxicidade aguda no extrato nebulizado;
- Realizar estudo de pré-formulação nas misturas binárias produzidas com os extratos nebulizado e excipientes farmacêuticos utilizados na produção das formulações;
- Analisar os parâmetros físico-químicos do extrato nebulizado;
- Determinar o perfil térmico e caracterizar as partículas do extrato nebulizado e de excipientes usados no dentifrício;
- Desenvolver formulações de dentifrícios, no estado semi-sólido, de *S. brasiliensis*, com atividade antimicrobiana;
- Analisar os parâmetros físico-químicos do extrato nebulizado e das formulações desenvolvidas.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Fitoterapia na odontologia

O uso de plantas medicinais no Brasil é bastante difundido, uma vez que o país possui um grande número de espécies vegetais nativas consideradas medicinais, sendo que, na maioria dos casos, é utilizada de modo empírico, sem conhecimento do verdadeiro potencial terapêutico e conseqüentemente uma adequada avaliação científica (ARAUJO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2009). O uso destas plantas normalmente se justifica pelo conhecimento adquirido através dos imigrantes de origem européia, africana e asiática ou dos povos indígenas (CARELLI *et al.*, 2011).

Com o estudo científico das plantas usadas pela população para fins medicinais, foi criada a palavra Fitoterapia, que refere - se às tradições populares de tratamento, onde as plantas medicinais são usadas como medicamentos (ALMEIDA *et al.*, 2008). Pode-se dizer que a fitoterapia é um princípio que se baseia na alopatia, diferenciando uma da outra pelas seguintes características: na fitoterapia são usados preparados tradicionais elaborados de plantas medicinais, os quais são eficazes,

devidamente padronizados, com inocuidade e qualidade controlada, já os preparos alopatícos usam substâncias quimicamente definidas, isoladas, purificadas e de estrutura molecular determinada (ARAÚJO *et al.*, 2009). Deste modo, os medicamentos fitoterápicos são preparações farmacêuticas (extratos, tinturas, pomadas, cápsulas, etc.) compostas por uma ou mais plantas e utilizados para o tratamento de várias patologias (SOARES *et al.*, 2008).

A fitoterapia existe principalmente no mercado informal, representando grande perigo à saúde da população, pois desta forma sua comercialização ocorre desconsiderando os parâmetros da qualidade, desde a identificação até a pureza do vegetal. Por se tratar de um grande risco a saúde é indiscutível a necessidade de um controle de qualidade maior e melhor, para que assim a fitoterapia não seja apenas uma alternativa medicinal economicamente viável à população, mais também um medicamento de qualidade confiável (CORDEIRO *et al.*, 2006).

O interesse pelas plantas medicinais tem aumentado nos últimos anos na busca de cura e de controle de diversas patologias, e um dos fatores relevantes deste aumento é a procura significativa por novas substâncias que substituam os medicamentos atualmente usados e pelo fato de muitos não apresentarem a eficácia desejada. Neste contexto a busca por substâncias com atividade antimicrobiana tem se destacado significativamente nas pesquisas científicas, além de que muitas plantas medicinais são utilizadas popularmente com fins antibacteriano e antifúngico (CARELLI *et al.*, 2011).

No âmbito odontológico ressalta o interesse pela busca de produtos fitoterápicos que possuam eficácia terapêutica significativa, menores efeitos colaterais, e consequentemente menor toxicidade. A utilização de plantas medicinais no combate de afecções da cavidade bucal busca o controle do crescimento desordenado do biofilme dental e a prevenção das doenças periodontais, cáries e candidoses (COSTA *et al.*, 2009; DINIZ *et al.*, 2010).

O biofilme dentário é formado por comunidades microbianas presentes em uma matriz polimérica aderida a superfície do dente (BRIGHENTI *et al.*, 2012). A colonização do biofilme inicia-se com a aderência de microorganismos do grupo *Streptococcus*, em especial o *Streptococcus mutans* (ISHNAVA *et al.*, 2012). A cárie dentária e as doenças periodontais são as patologias orais que mais afetam a humanidade e são causadas por bactérias da cavidade oral que formam placas, assim estão diretamente relacionadas com a formação do biofilme. O tratamento destas patologias além de apresentarem um alto custo financeiro, é de difícil acesso,

principalmente nos países em desenvolvimento. Devido muitos microrganismos apresentarem resistência aos produtos odontológicos convencionais, muitos produtos de origem vegetal, como extratos líquidos e pós de plantas, foram associados a dentifrícios e colutórios (ROSAS-PINÓN *et al.*, 2012).

A grande biodiversidade brasileira e o rico conhecimento tradicional que a população dispõe com relação a plantas medicinais favorecem os estudos de produtos naturais, porém, pesquisas mostram que menos de 15% das plantas medicinais de regiões tropicais tiveram seu potencial terapêutico estudados. Estudos de produtos naturais contra os patógenos da cavidade oral, tentam verificar tanto as propriedades antibacterianas dos vegetais, quanto os mecanismos de ação *in vitro* pelo qual a ação farmacológica é alcançada (BRIGHENTI *et al.*, 2012).

Francisco (2010) mostra em seu estudo que diversas plantas vem sendo utilizadas no tratamento de doenças da cavidade oral, e entre estas, o autor apresenta trabalhos que mostram o uso do alho (*Allium sativum*), araçá (*Psidium albidum*), cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*), romã (*Punica granatum*), uva (*Vitis sp.*), óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*), cajueiro (*Anacardium occidentale*), cravo (*Eugenia caryophyllata T.*), ciretro (*Anacyclus pyrethrum*) e a calêndula (*Calendula officinalis*).

Algumas publicações tem descrito a rica flora do semiárido Brasileiro (ALBUQUERQUE 2006; ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; AGRA *et al.*, 2008; CARTAXO, SOUZA, ALBUQUERQUE 2010) e mostrado que plantas desta região apresentam atividade *in vitro* frente a microorganismos da cavidade oral (SILVA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012), inclusive ao *Streptococcus mutans*, bactéria relatada como causadora primária da cárie dentária (ISHNAVA *et al.*, 2012). No entanto, a busca por novas substâncias com eficácia frente a este microorganismos continua sendo um desafio (LOBO *et al.*, 2011).

1.2. *Schinopsis brasiliensis* Engler

Dentre as diversas famílias de plantas medicinais destaca-se a Anacardiaceae que apresenta distribuição pantropical, sendo constituída por cerca de 80 gêneros e 600 espécies. Cerca de 13 gêneros e 68 espécies são encontradas no Brasil (NADIA; MACHADO; LOPES 2007). Dentre estes gêneros, pode-se destacar o *Schinopsis* que por sua vez contém sete espécies, a *S. brasiliensis* Engl, *S. haenklana*; *S. lorentzii*, *S. balansae*, *S. heterophylla*, *S. cornuta* e *S. glabra*. As espécies que apresentam maior

importância econômica são: *S. brasiliensis* Engl., *S. haenklana*; *S. lorentzii* e *S. balansae*

A espécie *Schinopsis brasiliensis* Engler. (Figura 1) é conhecida pelos nomes vulgares de braúna, baraúna, braúna-parda, braúna-sertão, porém no pantanal mato-grossense é chamada de chamacoco. É uma planta xerófito, heliófito, totalmente decídua durante o período seco e floresce em épocas variáveis do ano. É muito comum no Nordeste do Brasil, principalmente na região da Caatinga (LORENZI & MATOS, 2002).

Figura 1 - *Schinopsis brasiliensis* Engler.



Fonte: Ravelly Lucena Santos

A *S. brasiliensis* é encontrado na Bahia, Ceará, Pernambuco, Distrito Federal, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe, Tocantins, Espírito Santo, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás e Paraíba. Também apresenta ocorrência internacional como é o caso da Bolívia e Paraguai (OLIVEIRA *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2006).

As maiores árvores desta espécie podem chegar a atingir 12 a 15 m de altura e 60 cm de diâmetro na idade adulta, por isso se destacam como umas das maiores árvores encontradas na caatinga. O caule é aéreo de tronco forte e lenhoso, o fuste é curto, a ramificação é dicotômica a casca é áspera, as folhas são composta pinadas com 7

folíolos de consistência subcoriácea e são aromáticas, as flores são pequenas, brancas, glabras e suavemente perfumadas, o fruto é alado, medindo de 3,0 a 3,5 cm de comprimento e suas sementes são obovoide tendendo para renifóide (LORENZI e MATOS, 2002; PAOLINI *et al.*, 2003; CARVALHO, 2009).

Essa espécie destaca-se no reino vegetal pela sua alta importância, tanto por seu valor econômico como do ponto de vista de suas virtudes medicinais. Sob o primeiro aspecto, pode-se ressaltar a indústria madeireira, devido ao seu alto grau de resistência (dureza), que aproveita as suas qualidades para os mais variados fins (construção civil, dormentes, etc.) (BRAGA, 1978). No campo medicinal, extrai-se da casca o extrato da casca ou da folha, o qual apresenta composição fitoquímica contendo: tanino, flavonóides, fenol, antocianidina, antocianina, xantona, leucocianina, saponina, albumina, resina, alcalóide, chalcona, aurona, flavonol, flavona, presentes em elevada quantidade neste vegetal (DUKE'S, 1994; DANTAS, 2002; ESTEVAM *et al.*, 2005; CHAVES *et al.*, 2011)

As cascas do caule, as folhas e os frutos têm sido usado na medicina com ação analgésica, antidiarréica, antiinflamatória, antiséptica, antimicrobiana, bem como no tratamento de zoonoses veterinárias (CARDOSO, 2001; ALMEIDA *et al.*, 2005.; ALBUQUERQUE, 2006; ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; SARAIVA, 2007). Alguns estudo têm avaliado *in vitro* ações farmacológicas desse vegetal e observaram que extratos das folhas possuem ação antioxidante (SARAIVA *et al.*, 2011) e antimicrobiana (CHAVES *et al.*, 2011; SARAIVA *et al.*, 2011) assim como, o extrato das cascas apresentaram ação antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2012).

1.3. Formas farmacêuticas de uso odontológico

Tratamentos e prevenções odontológicas podem ser realizados com uso de formas farmacêuticas líquidas, semi-sólidas e sólidas. Dentre os produtos farmacêuticos mais utilizados se destacam as soluções (colutórios e irrigadoras), dentifrícios (Pastas ou geis) (DENARDI, 1994). A forma a ser escolhida deve dispor de características como compatibilidade adequada com agente ativo e biodisponibilidade, e uma boa aceitação pelo paciente (TORRES *et al.*, 2000).

- ❖ Colutórios – destacam-se entre as formulações mais utilizadas pelos pacientes para o controle e remoção do biofilme oral. É o veículo mais simples para transportar agentes ativos e trata-se de uma solução líquida onde são misturados na maioria das vezes água, álcool, flavorizantes, surfactantes, umectantes, agentes

antimicrobianos e edulcorantes (TORRES *et al.*, 2000; MEYER; TERA; ETO, 2007; CAVALCANTE *et al.*, 2009;).

- ❖ Dentifrícios – são substâncias que tem como função geral limpar os dentes, conservar as gengivas e fazer a assepsia bucal (HOFFMANN, 2008). São muito bem aceitos pelos pacientes por fazerem parte do seu hábito diário, fato este que os tornam excelentes veículos para os agentes antimicrobianos, pois o paciente pode tratar o biofilme dentário sem mudar seus hábitos (TORRES *et al.*, 2000). Podem ser encontrados na forma de gel, creme ou pastas (MEYER; TERA; ETO, 2007).
- ❖ Gomas de Mascar e Pastilhas – são formulações onde a liberação do ativo depende da mastigação, no caso das gomas de mascar, ou da dissolução na cavidade bucal, no caso das pastilhas (TORRES *et al.*, 2000).

Todas essas formulações citadas acima têm como função principal atuar no biofilme dentário. Desta forma, ressalta-se a importância de que os pacientes sigam as orientações e prescrições de um cirurgião-dentista, visto que o uso incorreto e excessivo pode causar tanto um desequilíbrio na flora microbiana da cavidade oral, como resistências microbianas aos produtos (CAVALCANTE *et al.*, 2009)

1.4. Dentifrício

Os dentifrícios são associações de substâncias que ao serem utilizadas em associação a uma escova, consiste no método mais comum de limpeza dos dentes (HALAWANY, 2012). Desta forma, os dentifrícios potencializam a ação mecânica da escova dentária (FARIAS *et al.*, 2011).

A função principal desta formulação além de limpar os dentes, é polir sua superfície, prevenir a cavidade oral de doenças como gengivites e cárie, remover odores desagradáveis e fornecer refrescância e hálito agradável (APPEL & REUS, 2005; PARRY *et al.*, 2012). Nem sempre os dentifrícios e a escovação controlam de forma eficaz o biofilme dentário, por isso outros meios complementares como o uso do fio dental e colutórios podem ser utilizados (FARIAS *et al.*, 2011)

Quanto aos requisitos básicos que os dentifrícios devem apresentar, podem ser citados: limpar os dentes de forma que os resíduos de alimentos, placas e manchas dentárias sejam removidos; fornecer um frescor e limpeza à cavidade oral; ter custo acessível, uma vez que seu uso será de forma freqüente e regular; ser atóxico; ter sabor agradável; ser fácil de aderir as cerdas quando colocados na escova; ter boa aparência; apresentar estabilidade físico-química durante o seu armazenamento; estar dentro dos

parâmetros de abrasividade, pH, índice de espuma e espalhabilidade recomendados pela ABO; apresentar-se em embalagens econômicas (HARRY, 1990; APPEL & REUS, 2005; HOFFMANN, 2008).

Embora os dentifrícios mais conhecidos e utilizados sejam formulações semi-sólidas, estes podem ser classificados em: pastas, géis, pós e líquidos (APPEL & REUS, 2005). As pastas se destacam como a formulação mais popular, entretanto, na atualidade as formulações em géis também vêm se destacando (FARIAS *et al.*, 2011).

Dentre os componentes básicos que um dentifrício deve ter em sua formulação estão os agentes abrasivos, os umectantes, os detergentes, os flavorizantes, os conservantes, os aglutinantes, corantes e solventes (APPEL & REUS, 2005; FARIAS *et al.*, 2011; VERKAIK *et al.*, 2011)

Muitas vezes os dentifrícios de composição básica não são suficientes para remover o biofilme oral e prevenir doença periodontal e cárie, então nestes casos são necessárias a incorporação de um agente antimicrobiano. Os antimicrobianos mais comumente utilizados são: o triclosan, a clorexidina, o bicarbonato de sódio, o cloreto de cetil piridínio e os fluoretos (GUNSOLLEY, 2006; HOFFMANN, 2008).

Vários dentifrícios e colutórios com propriedades antibacterianas estão sendo desenvolvidos e avaliados *in vitro* e *in vivo* e apesar do mercado dispor de formulações com essa propriedade determinada, a sociedade deseja a presença de compostos naturais no tratamento e prevenção de sua saúde (VERKAIK *et al.*, 2011), o que favorece ainda mais a pesquisa de novos compostos naturais para o desenvolvimento de formulações fitoterápicas com essa finalidade.

1.4.1. Excipientes utilizados em dentifrícios

1.4.1.1. Abrasivos

Os agentes abrasivos fornecem aos dentifrícios a capacidade de limpar, polir e remover manchas dos dentes. São praticamente insolúveis em água e são normalmente sais inorgânicos. Constituem de 0 a 55 % da formulação total de um dentifrício, uma vez que o grau de abrasividade desejada é quem vai determinar no geral essa quantidade (APPEL & REUS, 2005).

Dentre os agentes abrasivos podem ser citados:

❖ Carbonato de cálcio: é utilizado principalmente em formulações farmacêuticas orais. Podem ser obtidos por decomposição dupla de cloreto de cálcio e bicarbonato de sódio em solução aquosa ou a partir de minerais de ocorrência natural com a aragonite, calcite e vaterite. Geralmente é considerado como um material não tóxico. No entanto, se consumido em grandes quantidades, 4-60 g por dia, pode resultar em insuficiência renal ou hipercalcemia. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 6,45 g/kg. O carbonato de cálcio apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):

- Fórmula empírica: CaCO_3
- Peso molecular: 100,09 u.a.
- Sinônimos: Calcii carbonas; carbonato de cálcio (1:1), sal de cálcio do ácido carbônico (1:1); creta preparada; Destab; E170; MagGran CC; Micromite; Pharma-Carb; carbonato precipitado de cal; giz precipitado; Vitagran; Vivapress Ca; Witcarb.
 - Descrição: apresenta-se como pó inodoro, insípido e branco.
 - Categoria funcional: é utilizado como agente de tamponamento e como um auxiliar na dissolução de comprimidos dispersíveis; É também usado como agente abrasivo em preparações de dentifrícios (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995); opacificante de comprimido revestidos; aglutinante; diluentes nem formulações sólidas; corante; O carbonato de cálcio é também utilizado como um aditivo alimentar e terapeuticamente como um antiácido e suplemento de cálcio.
 - Acidez e alcalinidade: pH = 9,0 em dispersão aquosa a 10% (p/v)
 - Densidade: $0,8 \text{ g/cm}^3$
 - Ponto de fusão: 825°C
 - Índice de refração: 1,59
 - Solubilidade: praticamente insolúvel em etanol (95%) e água.
 - Estabilidade: é estável.
 - Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, local fresco e seco.

❖ Bicarbonato de sódio: é utilizado em várias formulações farmacêuticas, incluindo injeções, formulações oftálmicas, tópicas e preparações orais. O bicarbonato de sódio é geralmente considerado como agente não tóxico e não

irritante, porém se administrado em quantidades excessivas podem perturbar o equilíbrio electrolítico do corpo, levando a alcalose metabólica ou sobrecarga de sódio, que possivelmente causará consequências potencialmente graves. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 3,36 g/kg. O bicarbonato de sódio apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):

- Fórmula empírica: NaHCO_3
- Peso Molecular: 84,01 u.a.
- Sinônimos: Baking soda; E500; Effer-Soda; Carbonato monossódio; natrii hydrogenocarbonas; Sal de Vichy; Carbonato Ácido de Sódio; Hidrogenocarbonato de Sódio.
- Descrição: apresenta-se como pó inodoro, cristalino branco, com um sabor salino ligeiramente alcalino.
- Categoria Funcional: é utilizado em formulações farmacêuticas como fonte de dióxido de carbono em comprimidos efervescentes; amplamente utilizado para produzir ou manter um pH alcalino em preparação gerais; pode ser utilizado como agente tamponante; como um anti-ácido; como um componente de sais de re-hidratação oral e como uma fonte de bicarbonato em fluidos de diálise; também tem sido utilizado como um estabilizador em processos de liofilização e em dentifrícios.
- Acidez e alcalinidade: pH = 8,3
- Densidade: $0,869 \text{ g/cm}^3$
- Ponto de fusão: 270°C
- Índice de refração: 1,3344
- Solubilidade: praticamente insolúvel em etanol (95%) e eter. Solúvel em água.
- Estabilidade: é estável abaixo de 76% de umidade relativa a 25°C e abaixo de 48% de umidade relativa a 40°C . Soluções aquosas de bicarbonato de sódio apresentam decomposição acelerada por meio de agitação ou de aquecimento. O bicarbonato de sódio quando aquecido a cerca de 50°C iniciasse-se o processo de dissociação em dióxido de carbono, carbonato de sódio e água; a $250\text{-}300^\circ\text{C}$, por um curto período de tempo é completamente convertido em carbonato de sódio anidro. Entretanto a conversão completa de 90% ocorre dentro de 75 minutos a uma temperatura de 93°C .

- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, local fresco e seco.

1.4.1.2. Umectantes

São substâncias atóxicas, que ajudam na solubilização dos demais componentes da formulação e melhoram a consistência e textura do dentífrico. Entre tanto a função principal dos agentes umectantes nos dentífricos é evitar o seu ressecamento (APPEL & REUS, 2005). Nos dentífricos que possuem a forma de gel transparente, a quantidade de umectante é bem elevada, enquanto que a de água é mínima, fato este que fornece a característica de produto transparente (NUNES, 1996). A concentração de umectantes nos dentífricos varia de 15 a 70% (APPEL & REUS, 2005).

Dentre os agentes umectantes podem ser citados:

- ❖ Glicerina: A glicerina é usada em uma grande variedade de formulações farmacêuticas incluindo oral, oftálmica, ótica, tópica, e preparações parentéricas. Podem também ser utilizada por via oral em doses de 1,0 - 1,5 g/kg para reduzir a pressão intra-ocular. Normalmente é considerada como agente não tóxico e não irritante, porém grande doses podem causar cefaléia, náuseas, hiperglicemia, hemoglobinúria, hemólise e insuficiência renal. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 4,1 g/kg, por via intravenosa é de 4,25 g/kg e intraperitoneal 8,70 g/kg. A glicerina apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007; PRISTA, 1991):
 - Fórmula empírica: $C_3H_8O_3$
 - Peso molecular: 92,09 u.a.
 - Sinônimos: Croderol; E422; glicerol; glicerina; Glycon G-100; Kemstrene; Optim; Pricerine; 1,2,3- propanotriol; trihidroxipropano glicerol.
 - Descrição: a glicerina é um líquido claro, incolor, inodoro, viscoso, higroscópico, sabor doce.
 - Categoria Funcional: conservante antimicrobiano; emoliente; umectante; plastificante; agente edulcorante; solvente; e co-solvente.
 - Densidade: 1,2656 g/cm³ a 15°C; 1,2636 g/cm³ a 20°C; 1,2620 g/cm³ a 25°C.
 - Ponto de fusão: 17,8°C
 - Índice de refração: 1,470–1,475

- Solubilidade: ligeiramente solúvel em acetona; praticamente insolúvel em benzeno e clorofórmio; solúvel em etanol (95%), metanol e água
 - Estabilidade: a Glicerina pura não é propensa a oxidação pela atmosfera se armazenadas em condições normais, porém se decompõe no aquecimento. Glicerina misturada com água, etanol (95%) e propilenoglicol são quimicamente estável. Caso seja armazenada em temperaturas baixas a glicerina pode cristalizar. Condições de armazenamento: deve ser armazenada em recipiente hermético, em local fresco e seco.
- ❖ Sorbitol: é amplamente usado em diversos produtos farmacêuticos e ocorre naturalmente em muitas frutas comestíveis. O sorbitol é melhor tolerado pelos diabéticos do que a sacarose, entretanto é geralmente considerado mais irritante do que o manitol. É prontamente fermentado por microorganismos da cavidade oral, porém tem pouco efeito no pH da placa dentária. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 17,8 g/kg. O sorbitol apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007; PRISTA, 1991):
- Fórmula empírica: $C_6H_{14}O_6$
 - Peso Molecular: 182.17 u.a.
 - Sinônimos: C*PharmSorbidex; E420; 1,2,3,4,5,6-hexanehexol; Liponic 70- NC; Liponic 76-NC; Meritol; Neosorb; Sorbitab; sorbite; Dsorbitol; Sorbitol instantâneo; sorbitolum; Sorbogem.
 - Descrição: apresenta-se como pó cristalino higroscópico, inodoro, branco ou quase incolor. Quatro polimorfos cristalinos e uma forma amorfa de sorbitol foram identificadas e estas apresentam propriedades físicas ligeiramente diferentes, como por exemplo, o ponto de fusão.
 - Categoria funcional: é utilizado como umectante; plastificante; agente estabilizador; adoçante; e diluente.
 - Acidez e alcalinidade: pH = 4,5–7,0 em solução aquosa a 10% (p/v)
 - Densidade: $1,49 \text{ g/cm}^3$
 - Ponto de fusão: forma anidra: 110,0-112,0 °C; forma polimorfa: 97,7 °C; e forma metaestável: 93,0 °C.

- Solubilidade: solúvel em água e etanol, praticamente insolúvel em éter e clorofórmio e ligeiramente solúvel em metanol.
 - Estabilidade: sorbitol não escurece ou se decompõem em temperaturas elevadas. É resistente a fermentação por microrganismos.
 - Condições de armazenamento: deve ser armazenado em recipiente hermético, em local fresco e seco. As soluções podem ser armazenadas em vidro, plástico, alumínio e recipientes de aço inoxidável.
- ❖ Propilenoglicol: é utilizado numa ampla variedade de produtos farmacêuticos. Geralmente é considerado como um material relativamente atóxico. Com base nos dados metabólicos e toxicológicos, a Organização Mundial de Saúde definiu 25 mg/kg peso corporal como a dose diária aceitável de propilenoglicol. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 22,0 g/kg, por via intravenosa é de 6,63 g/kg e intraperitoneal 9,72 g/kg. O propilenoglicol apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007; PRISTA, 1991):
- Fórmula empírica: $C_3H_8O_2$
 - Peso Molecular: 76,09 u.a.
 - Sinônimos: 1,2-di-hidroxiopropano; E1520, 2-hidroxiopropanol; metiloetilenoglicol; metilglicol; propano-1,2-diol; propilenoglicol.
 - Descrição: é um líquido límpido, incolor, viscoso, praticamente inodoro e com um gosto doce.
 - Categoria funcional: é utilizado como conservante antimicrobiano; desinfetante; hidratante; plastificante; umectante; estabilizante; solvente; co-solvente.
 - Densidade: $1,038 \text{ g/cm}^3$ em 20°C
 - Ponto de fusão: $-59,0^\circ\text{C}$
 - Índice de refração: 1,4324
 - Solubilidade: solúvel em acetona, clorofórmio, etanol (95%), glicerina e água.
 - Estabilidade: é estável em baixas temperaturas. Oxida em temperaturas elevadas. O propilenoglicol é quimicamente estável quando misturado a etanol (95%), glicerina ou água.

- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em local protegido da luz, fresco e seco em recipientes fechados.

1.4.1.3. Espessantes

Os espessantes são substâncias transparente, gelatinosas, conseqüente semi-sólidas e são constituídas de partículas coloidais hidrofílicas que não se sedimentam. Dentre as funções dos agentes espessantes destacam-se a capacidade que eles têm de manter a consistência, evitar a separação dos componentes, manter a suavidade e o aspecto brilhante dos dentifrícios (APPEL & REUS, 2005; HOFFMANN, 2008).

Dentre os agentes espessantes podem ser citados:

- ❖ Carboximetilcelulose de sódio: é uma substância amplamente utilizada em fórmulas farmacêuticas orais, tópicas e parenterais principalmente pelo fato de aumentar a viscosidade e evitar o ressecamento da formulação. Geralmente é considerada como uma substância atóxica e não irritante. No entanto, caso seja consumido por via oral grandes quantidades de carboximetilcelulose de sódio, ela pode apresentar um efeito laxante. Entretanto, 4-10 g ao dia tem sido usada, terapêuticamente, como laxantes de volume. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 27 g/kg. A carboximetilcelulose de sódio apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL e BRANDÃO, 2007):
 - Sinônimos: Akucell; Aqualon CMC; Aquasorb; Blanose; Carbose D; carmellosum natricum; Cel-O-Brandt; goma de celulose; Cethylose; CMC sodium; E466; Finnfix; Glykocellan; Nymcel ZSB; SCMC; carboximetilcelulose de sódio; glicolato de sódio de celulose; Sunrose; Tylose CB; Tylose MGA; Walocel C; Xylo-Mucine.
 - Descrição: apresenta-se como um pó branco, inodoro e sem sabor granular.
 - Categoria funcional: é utilizada com um agente de revestimento, desintegrante, estabilizante, aglutinante, agente de suspensão; agente para aumentar a viscosidade; agente de absorção de água.
 - Acidez e alcalinidade: pH = 6,0–8,5 em solução aquosa a 10% (p/v)
 - Densidade: 0,52 g/cm³
 - Ponto de fusão: 227,0°C

- Solubilidade: é facilmente disperso em água a qualquer temperatura, porém é praticamente insolúvel em etanol (95%), tolueno, acetona e éter.

- Estabilidade: embora seja um material higroscópico que pode absorver uma grande quantidade (> 50%) de água, caso esteja sob condições de umidade elevada, a carboximetilcelulose de sódio é considerada estável. No caso das soluções aquosas, estas são estáveis a pH 2-10; e instáveis em pH abaixo de 2 pois pode ocorrer precipitação e acima de 10, pode ocorrer diminuição da viscosidade.

- Condições de armazenamento: o material em pó deve ser armazenado em um recipiente bem fechado e em um local seco e fresco.

❖ Hidroxietilcelulose: é um agente aglutinante ideal para formulações de dentifrícios, porém a dispersão fica mais lenta do que as com carboximetilcelulose de sódio. Apresentam caráter não-iônico (Appel & Reus, 2005). Geralmente é considerado como uma substância essencialmente não irritante e não tóxica. E estudos de toxicidade oral aguda e subaguda em ratos não demonstraram efeitos tóxicos. A hidroxietilcelulose apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):

- Sinônimos: Cellosize HEC; éter de celulose de hidroxietil, celulose de éter de 2-hidroxietil; hidroxietil celulose;; etilose; HEC; HE celulose; hidroxietilamido, 2; hidroxietilamido; hyetellose; Natrosol; oxycellulose; Tylose H; Tylose PHA.

- Descrição: apresenta-se como um branco, branco-amarelado ou branco-acinzentado, inodoro e insípido, pó higroscópico.

- Categoria funcional: é utilizado como um agente de revestimento, espessante, aglutinante, suspensão; e para aumentar a viscosidade.

- Acidez e alcalinidade: pH = 5,5–8,5 em solução aquosa a 10 % (p/v)

- Densidade: 0,60 g/cm³

- Ponto de fusão: 280,0 °C

- Índice de refração: 1,336 em solução aquosa a 2 % (p/v)

- Solubilidade: é solúvel em água a qualquer temperatura, porém é praticamente insolúvel em etanol (95 %), tolueno, acetona e éter.

- Estabilidade: apesar de ser um pó higroscópico, é considerado como um pó estável. As soluções aquosas dessa substância são relativamente estáveis a uma faixa de pH entre 2-12. No entanto, em pH abaixo de 5, ocorre hidrólise e acima de 12

oxidação. Quanto ao aumento de temperatura a viscosidade pode ser reduzida, porém não ocorre gelificação nem precipitação, mesmo que também sejam submetidas a congelamento-descongelamento. Como a Hidroxietilcelulose é sujeita à degradação enzimática produzidas por microorganismo do ambiente, para um armazenamento prolongado é sugerido um conservante antimicrobiano.

- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, em um local seco e fresco.

❖ Carbopol 940[®]: é utilizado normalmente em preparações semi-sólidas. Considerado como uma substância não irritante e não tóxica. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 2,5 g/kg. O Carbopol 940[®] apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009):

- Peso Molecular: 4×10^5 u.a.
- Descrição: é um pó branco e leve, com sabor ácido e odor característico.
- Categoria funcional: pode ser utilizado como um agente espessante, aglutinante, suspensor; e para aumentar a viscosidade.
- Acidez e alcalinidade: 2,5–4,0 em solução aquosa a 0,2 % (p/v)
- Densidade: 1,76 g/cm³
- Ponto de fusão: 260 °C
- Solubilidade: é solúvel em água e após ser neutralizado é solúvel também em etanol e glicerina.
- Estabilidade: oxida ao ser exposto a luz.
- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, em um local seco e fresco.

1.4.1.4. Tensoativo

São agentes espumantes e redutores da tensão superficial, que ao fornecerem essas ações permitem com que os agentes abrasivos atuem da melhor forma possível na limpeza dos dentes. A concentração dos tensoativos nos dentífricos variam entre 3 a 6 % e estas substâncias devem ser atóxicos, insípidos e não irritantes da mucosa oral (APPEL & REUS, 2005)..

Dentre os agentes tensoativos podem ser citados:

- ❖ Lauril sulfato de sódio: é um agente tensoativo utilizado em formulações farmacêuticas orais e tópicas. É eficaz tanto em condições ácidas como básicas. Esta entre os tensoativos mais utilizados, porém é considerado como moderadamente tóxico causando intoxicações agudas, como irritação da pele, olhos e estômago. Não deve ser usado em preparações intravenosas. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 1,29 g/kg, por via intravenosa é de 0,12 g/kg e intraperitoneal 0,21 g/kg. O Lauril sulfato de sódio apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):
 - Fórmula empírica: $C_{12}H_{25}NaO_4S$
 - Peso molecular: 288.38 u.a.
 - Sinônimos: Dodecil sulfato de hidrogênio de álcool, sal de sódio, sal de sódio dodecilsulfato; Elfan 240; lauril sulfato de sódio, sulfato de lauril, sal de sódio, sulfato de sódio monododecil; natrii laurilsulfas; dodecil sulfato de sódio, sulfato de sódio n-dodecilo, sulfato de sódio monolauril, SDS, SLS, monododecil éster de ácido sulfúrico, sal de sódio, Texapon K12P.
 - Descrição: apresenta-se como um pó ou flocos variando em branco ou creme para o amarelo claro, gosto amargo e leve odor de substâncias gordurosas
 - Categoria funcional: agente tensoativo aniônico; detergente; agente emulsionante; penetrante da pele; comprimidos e cápsulas de lubrificante, agente molhante.
 - Acidez e alcalinidade: pH = 7,0–9,5 em solução aquosa a 1 % (p/v)
 - Densidade: 1,07 g/cm³ em 20°C
 - Ponto de fusão: 204–207 °C
 - Solubilidade: muito solúvel em água, porém praticamente insolúvel em clorofórmio e éter.
 - Estabilidade: é estável sob condições normais de armazenamento. Entretanto, soluções de Lauril sulfato de sódio sofre hidrólise em pH menores ou igual a 2,5.
 - Condições de armazenamento: deve ser armazenado em recipiente bem fechado, distante de fortes agentes oxidantes, em local seco e fresco.

- ❖ Polissorbato 80 (Tween 80): é amplamente utilizado em cosméticos e formulações farmacêuticas orais, normalmente não é considerado tóxico, porém tem

sido relatada uma intoxicação moderada por via intravenosa, ligeira toxicidade por via oral e irritações nos olhos. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 25,0 g/kg, por via intravenosa é de 4,5 g/kg e intraperitoneal 6,8 g/kg. O Polissorbato 80 apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007; PRISTA, 1991):

- Fórmula empírica: $C_{64}H_{124}O_{26}$
- Peso molecular: 1310 u.a.
- Sinônimos: Atlas E; Armotan PMO 20; Capmul POE-O; Cremophor PS 80; Crillet 4; Crillet 50; Drewmulse POE-SMO; Drewpone 80K; Durfax 80; Durfax 80K; E433; Emrite 6120; Eumulgin SMO; Glycosperse O-20; Hodag PSMO-20; Liposorb O-20; Liposorb O-20K; Montanox 80; polioxiethylene 20 oleate; polissorbato 80; Protasorb O-20; Ritabate 80; (Z)-sorbitano, mono-9-octadecenoato poli (oxyl, 2 - etanodiilo) derivados; Tego SMO 80; Tego SMO 80V; Tween 80.
- Descrição: apresenta-se com um líquido viscoso amarelado e de sabor amargo.
- Categoria funcional: tensoativo não iônico, agente solubilizante, emulsificante e molhante.
- Acidez e alcalinidade: pH = 6,0–8,0 em solução aquosa a 5 % (p/v)
- Solubilidade: solúvel em água e etanol.
- Estabilidade: armazenamento por longo tempo pode levar a peroxidação. É estável em ácidos e bases fracas e podem saponificar em ácidos e bases fortes.
- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em recipiente bem fechado, e local seco e fresco.

1.4.1.5. Edulcorantes

Proporcionam ao dentifrício um sabor adocicado que conseqüentemente mascara sabores insípidos, amargos e irritantes que outros excipientes da formulação podem apresentar. Estas substâncias além de apresentarem compatibilidade com os demais componentes do dentifrício devem ser atóxico para a mucosa oral e não cariogênico. A quantidade de edulcorante da formulação depende do tipo de edulcorante usado, variando de 0,015 a 6% (APPEL & REUS, 2005).

Dentre os agentes edulcorantes podem ser citados:

❖ Aspartame: é um excipiente farmacêutico amplamente utilizado em formulações farmacêuticas orais, produtos alimentares e bebidas. Usado com a finalidade de edulcorante intenso. Geralmente é considerado como uma substância atóxica. No entanto, pelo fato do aspartame formar metabólitos potencialmente tóxicos, a OMS estabelece que o consumo diário aceitável para este excipiente é de até 40 mg/kg de peso corporal. Embora efeitos adversos, tais como, cefaléia, mal estar, perda de memória e outros sintomas gastrointestinais e dermatológicos, terem sido relatados, estudos científicos não comprovaram tais efeitos. O Aspartame apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):

- Fórmula empírica: $C_{14}H_{18}N_2O_5$
- Peso molecular: 294,30 u.a.
- Sinônimos: (3S)-3-Amino-4-[[[(1S)-1-benzil-2-metoxi-2-oxoetil] amino]-4-oxobutanóico, 3-amino-N-ácido (a-carboxyphenethyl) succinâmico N -éster metílico, 3-amino-N-(a-methoxycarbonylphenethyl) - ácido succinâmico; APM; aspartame; aspartil fenilamina éster metílico; Canderel; E951; Equal; metil NLA-aspartil-L-fenilalanina; NatraTaste; NutraSweet; Pal doce; Pal doce Diet; Sanecta; SC-18862; Tri-doce.
- Descrição: apresenta-se como um pó branco, cristalino, quase inodoro e com um sabor doce intenso.
- Categoria funcional: é usado como um agente edulcorante e pode ser usado para mascarar algumas características de sabor desagradável.
- Acidez e alcalinidade: pH = 4,5–6,0 em solução aquosa a 0.8 % (p/v)
- Densidade: 0,2-0,4 g/cm³
- Ponto de fusão: 246–247 °C
- Solubilidade: é ligeiramente solúvel em etanol (95 %) e moderadamente solúvel em água. A solubilidade do aspartame pode aumentar em temperaturas elevadas e com pH de característica ácido.
- Estabilidade: apresenta-se estável em condições secas. Na presença de umidade pode hidrolisar e em tratamentos prolongados de calor pode degradar.
- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, em lugar fresco e seco.

❖ Manitol: é amplamente utilizado nas indústrias farmacêuticas e alimentícia. O uso terapêutico do manitol pode ser por via parenteral como diurético osmótico, como um agente diagnóstico da função renal, como um adjuvante no tratamento de insuficiência renal aguda, como um agente no tratamento de edema cerebral e na redução da pressão intracraniana e intra-ocular. O Manitol apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):

- Fórmula empírica: $C_6H_{14}O_6$
- Peso molecular: 182,17 u.a.
- Sinônimos: Cordycepic acid; C*PharmMannidex; E421; Emprove; maná açúcar; D-manitol; mannite; mannitolum; Mannogem; Pearlitol.
- Descrição: apresenta-se como pó ou grânulos, branco, inodoro e cristalino, com sabor doce.
- Categoria funcional: é usado como diluente; edulcorante; plastificante; agente de tonicidade e agente terapêutico.
- Densidade: $0,430 \text{ g/cm}^3$
- Ponto de fusão: $166\text{--}168 \text{ }^\circ\text{C}$
- Índice de refração: 1,333
- Solubilidade: solúvel em álcalis, etanol (95 %), propan-2-ol, glicerina e água. Praticamente insolúvel em éter.
- Estabilidade: é estável tanto no estado seco quanto em soluções aquosas.
- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado e em lugar fresco e seco.

1.4.1.6. Conservantes

São de extrema importância nos dentifrícios, uma vez que suas formulações costumam apresentar uma grande quantidade de água, o que torna a formulação propícia a contaminação por microorganismos (APPEL & REUS, 2005). Entretanto os dentifrícios que contém elevado conteúdo de sorbitol, umectantes, e de glicerina, geralmente não necessitam de agentes conservantes (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1992). A concentração de conservante pode variar de 0,05 a 2,0% (APPEL & REUS, 2005).

Dentre os agentes conservantes podem ser citados:

❖ Metilparabeno: é um conservante antimicrobiano utilizado em formulações farmacêuticas, produtos alimentícios e cosméticos. Embora tenham sido usados em injeções e preparações oftálmicas, não são mais considerados apropriados para estes tipos de formulações devido ao seu potencial irritante. A OMS estabelece que a ingestão diária total aceitável não deve ultrapassar 10 mg/kg de peso corpóreo. A DL50 determinada por via oral em cão é de 3,0 g/kg e por via intraperitoneal em ratos é de 0,96 g/kg. O Metilparabeno apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007; PRISTA, 1991):

- Fórmula empírica: $C_8H_8O_3$
- Peso molecular: 152,15 u.a.
- Sinônimos: Aseptoform M; CoSept M; E218, 4-hidroxibenzoico, éster metílico; metagin; Metil Chemosept; methylis parahydroxybenzoas; metil p-hidroxibenzoato; Metil Parasept; Nipagin M; Solbrol M; Tegosept M; Uniphen P-23.
- Descrição: é um pó cristalino incolor ou branco
- Categoria funcional: conservante antimicrobiano.
- Densidade: 1,352 g/cm³
- Ponto de fusão: 125–128 °C
- Solubilidade: solúvel em éter, metanol, etanol, glicerina e água. É praticamente insolúvel em óleo mineral.
- Estabilidade: as soluções aquosas de metilparabeno em pH 3-6 apresentam boa estabilidade, porém em pH ≥ 8 essas soluções estão sujeitas a uma rápida hidrólise.
- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, e lugar fresco e seco.

❖ Propilparabeno: é um conservante antimicrobiano utilizado em formulações farmacêuticas, produtos alimentares e cosméticos. Embora tenham sido usados em injeções e preparações oftálmicas, não são mais considerados apropriados para estes tipos de formulações devido ao seu potencial irritante. A OMS estabelece que a ingestão diária total aceitável não deve ultrapassar 10 mg/kg de peso corpóreo. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 6,33 g/kg e intraperitoneal 0,2 g/kg. O Propilparabeno apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007; PRISTA, 1991):

- Fórmula empírica: $C_{10}H_{12}O_3$
 - Peso molecular: 180.20
 - Sinônimos: Aseptofom P; CoSept P; E216; 4-hydroxybenzoic acid propyl ester; Nipagin P; Nipasol M; propagin; Propyl Aseptofom; propyl butex; Propyl Chemosept; propylis parahydroxybenzoas; propyl phydroxybenzoate; Propyl Parasept; Solbrol P; Tegosept P; Uniphen P-23.
 - Descrição: é um pó cristalino branco, inodoro e insípido.
 - Categoria funcional: conservante antimicrobiano
 - Densidade: $0,426 \text{ g/cm}^3$
 - Ponto de fusão: $96-99 \text{ }^\circ\text{C}$
 - Índice de refração: 1,5049
 - Solubilidade: solúvel em etanol, éter, glicerina, óleo mineral e de amendoim, propileno-glicol e água.
 - Estabilidade: as soluções aquosas de metilparabeno em pH 3-6 apresentam boa estabilidade, porém em $\text{pH} \geq 8$ essas soluções estão sujeitas a uma rápida hidrólise.
 - Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado e lugar fresco e seco.
- ❖ Benzoato de sódio: é utilizado principalmente como conservante antimicrobiano em cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos, embora também possam ser usados como lubrificantes em comprimidos. Os sintomas de toxicidade desta substância são semelhantes aos de salicilatos, sua administração oral da forma de ácido livre pode causar irritação gástrica grave, além de urticaria e anafilaxia. Desta forma, a OMS determina que a ingestão diária aceitável de benzoatos totais deve ser cerca de 5 mg/kg de peso corporal. A DL50 determinada por via oral em ratos é de 1,6 - 4,1 g/kg, intramuscular de 2,3 g/kg e intravenoso 1,4 g/kg. O Benzoato de sódio apresenta as seguintes características físico-químicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; GIL & BRANDÃO, 2007):
- Fórmula empírica: $C_7H_5NaO_2$
 - Peso molecular: 144,11 u.a.
 - Sinônimos: Sal sódico do ácido benzóico, benzoato de sódio, E211; natrii benzoas; natrium benzoicum; sobenate; sodii benzoas, ácido benzóico de sódio.

- Descrição: apresenta-se como um pó granular ou cristalino, ligeiramente higroscópico, de coloração branca, inodoro ou com leve odor e sabor de benjoim.
- Categoria funcional: é utilizado como lubrificante e conservante.
- Acidez e alcalinidade: pH = 8,0
- Densidade: 1,497–1,527 g/cm³ em 24 °C
- Solubilidade: solúvel em etanol e água.
- Estabilidade: apresenta boa estabilidade.
- Condições de armazenamento: deve ser armazenado em um recipiente bem fechado, e lugar fresco e seco.

1.5. Estudo de pré-formulação

Da comprovação farmacológica até a elaboração da forma farmacêutica final, diferentes estudos devem ser feitos visando identificar possíveis problemas seja pela presença de excipientes, relacionado ao processo de fabricação ou a sua estabilidade. Essa etapa, denominada de pré-formulação, é conduzida a fim permitir a detecção de mudanças químicas ou físicas nos compostos de uma formulação, mesmo a níveis muito baixos (BORCHARDT, 1998; KIRTANSINH *et al.*, 2011). Essas etapas favorecem um conhecimento mais detalhado dos ingredientes ativos e excipientes, além de diminuir o tempo para que esse produto chegue ao mercado (NIAZI, 2007).

Diferentes etapas compõem o estudo de pré-formulação. Elas começam com a caracterização do ingrediente ativo (solubilidade, pKa, Coeficiente de partição), passando pelos estudos de compatibilidade até os estudos de estabilidade do medicamento final (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

Nesta fase do desenvolvimento farmacotécnico, é fundamental a avaliação da compatibilidade entre ativo e excipientes. Isto porque interações podem afetar a natureza química da composição, conseqüentemente sua segurança e eficácia. Técnicas termoanalíticas são largamente utilizadas em estudos de pré-formulação por possibilitarem a aquisição rápida de informações que indiquem a ocorrência de incompatibilidades entre os componentes da formulação (TITA *et al.*, 2011). Contudo outras técnicas são bastante utilizadas como a Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), a difração de raios X (DRX), as quais em conjunto permitem uma melhor tomada de decisão no

que se refere à escolha de excipientes (FERNANDES *et al.*, 2012; AIGNER *et al.*, 2012; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011; CHAVES *et al.*, 2009).

A análise térmica compreende um grupo de técnicas analíticas, no qual uma determinada propriedade física de uma amostra é medida em função da temperatura ou do tempo, enquanto submetida a um programa controlado de temperatura, sob uma atmosfera específica. As mais comumente utilizadas são Termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (SILVA; PAOLA; MATOS, 2007). Essas técnicas termoanalíticas são utilizadas para pesquisas nas mais diversas áreas, sendo aplicados no desenvolvimento de polímeros, cerâmicas, fármacos, alimentos, entre outros (OSAWA, 2000). No âmbito farmacêutico são de grande utilidade para a caracterização de polimorfismo, umidade, pureza, estabilidade e cinética de degradação (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Também é utilizado na padronização e caracterização de extratos nebulizados, conforme foi demonstrado por diversos autores (MEDEIROS; MEDEIROS; MACÊDO, 2002; SILVA JÚNIOR *et al.*, 2006; ARAGÃO *et al.*, 2002). Além disso podem ser instrumento para avaliação de estabilidade e incompatibilidades entre componentes de uma mesma formulação fitoterápica (MEDEIROS; MEDEIROS; MACÊDO, 2002).

A difração de raios-X (DRX) é uma técnica analítica que utiliza a interação física da radiação eletromagnética com a matéria, para caracterizar padrões de arranjo estrutural da amostra (SCAPIN, 2003). Um feixe de raios x, ao incidir sobre uma determinada amostra sofrera desvio conforme o seu arranjo. Cada tipo de difração é característico de determinadas formas cristalinas. Contudo, as formas amorfas, não apresentam um tipo de desvio definido. Assim é possível analisar as propriedades cristalinas ou amorfas de uma substância, bem como modificações nestas a partir de interações físicas entre os componentes de uma formulação. Oliveira e colaboradores (2010) usaram a DRX para verificar a ocorrência de amorfização da sinvastatina com butilhidroxianisol (BHA) após este apresentar alterações na análise por DSC. Gallo *et al.* (2011) utilizou a DRX para caracterizar a pó obtido das cascas de *Rhamnus purshiana* (cáscara sagrada), além da análise térmica e da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) é uma técnica relativamente simples, porém eficiente na detecção de interações químicas entre fármacos e excipientes. Utilizada como uma técnica complementar as demais, a partir dos espectros de FTIR é possível verificar interações químicas. Aqui, as

evidências de interações entre os componentes são observadas através do desaparecimento de picos de absorvância, ou redução da intensidade destes. Esta técnica permite inclusive a elucidação dos mecanismos químicos de interação (LILTROP *et al.*, 2011). Na análise do Cetoprofeno com excipientes farmacêuticos, o FTIR complementou os dados de DSC, TG e DRX para a visualização da interação fármaco-excipiente (TITA *et al.*, 2011).

1.6. Doseamento da potência antimicrobiana

Para o sucesso terapêutico, de substâncias antimicrobianas no tratamento de infecções, também é necessário que a potência dessas substâncias esteja correta nas apresentações farmacêuticas que serão administradas ao paciente. Se a potência estiver abaixo da necessária, o fármaco pode não atingir no plasma uma concentração capaz de exercer a atividade esperada. Por outro lado, se a concentração estiver muito alta, poderá provocar toxicidade (FARAGO *et al.*, 2005).

Dessa forma a determinação da potência antimicrobiana é extremamente importante para o controle e garantia da qualidade em produtos e preparações farmacêuticos, sendo assim, é necessário o desenvolvimento de práticas e procedimentos econômicas que possa ser aplicado na validação e dosagem de drogas (LOURENÇO & PINTO, 2009).

O ensaio de potência de agente antimicrobiano também tem sido realizado por métodos biológicos, sendo uma alternativa a outros métodos, tais como HPLC que se revelaram serem mais aceitável e têm sido amplamente adotados. Uma das vantagens importante dos métodos físico-químicos é que as determinações químicas são rápidas, embora os equipamentos necessários sejam frequentemente caro (BAIRD; HODGES; DENYER, 2000).

Nos métodos biológicos a potência dos antibióticos geralmente é determinada, comparando-se a dose com a qual se inibe o crescimento de um microrganismo adequado e susceptível com a dose da preparação do antibiótico de referência nas mesmas condições de trabalho. Uma redução na atividade microbiana pode revelar mudanças não demonstráveis por métodos químicos (LOURENÇO & PINTO, 2009).

A Farmacopéia Americana traz recomendação quanto a utilização de procedimentos microbiológicos para a determinação da potência dos antibióticos nas

apresentações farmacêuticas. Geralmente são empregados dois métodos, o do cilindro em placa e o turbidimétrico (ESMERINO *et al.*, 2004).

O primeiro se baseia na difusão do antibiótico contido em um cilindro vertical, através de uma camada de ágar solidificado em uma placa de Petri, em uma extensão tal, que o crescimento do microrganismo agregado se detenha em uma área circular ou “halo de inibição” ao redor do cilindro que contém a solução do antibiótico. Já o método turbidimétrico se baseia na inibição do crescimento de um cultivo microbiano em uma solução uniforme do antibiótico, em um caldo que favorece o seu rápido crescimento na ausência desse fármaco (ESMERINO *et al.*, 2004).

No método turbidimétrico, o meio de cultura líquido é inoculado com microrganismo teste e concentrações seriadas da amostra e do padrão do fármaco, as quais são adicionadas para permitir o contato entre o meio e a solução. A resposta do microrganismo teste a ação do antimicrobiano é evidenciada pela alteração da turvação do meio de cultura, sendo medida em espectrofotômetro. Os resultados obtidos para as soluções da amostra são comparados aos do padrão, permitindo assim, a determinação da concentração ativa do fármaco presente no produto. O método de turbidimetria apresenta a vantagem de ser mais sensível que o por difusão em ágar, já que responde às concentrações menores de antibiótico. Por outro lado, tem desvantagens como: soluções turvas e coloridas interferirem na determinação da resposta; a necessidade das soluções da amostra e do padrão estarem estéreis; a interferência causada pela presença de substâncias inibidoras e ativadoras de crescimento microbiano, como por exemplo, solventes orgânicos utilizados em processos extrativos e substâncias presentes na amostra (HEWITT, 2007).

O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é testado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relacionando o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiando com a concentração da substância ensaiada (OSTROSK, *et al.*, 2009).

O método avalia a capacidade de um dado microrganismo de se multiplicar na presença de concentrações presumíveis de uma substância antimicrobiana aplicado no interior de um cilindro sobre uma camada do ágar em uma placa de *Petri*. O antimicrobiano se difunde no ágar, em concentrações decrescentes, e a cepa bacteriana semeada cresce até encontrar a concentração inibitória mínima, e a partir do ponto de aplicação se forma um halo de inibição ao redor do cilindro. Esse halo é determinado

em milímetros e é diretamente proporcional à concentração da substância antimicrobiana. Assim, à medida que se aumenta a concentração do antimicrobiano, são obtidos halos maiores, até que se esgote a capacidade de difusão do antimicrobiano no ágar. Nesse ponto, o aumento na concentração da substância antimicrobiana não mais aumenta o halo de inibição (FARAGO *et al.*, 2006).

Em muitos ensaios, é necessária uma inspeção preliminar dos dados experimentais para verificar se estes seguem as suposições particulares de cada ensaio. No caso dos doseamentos microbiológicos é considerado que: a relação entre a concentração e a resposta pode ser representada por uma linha reta na faixa empregada; as respostas obtidas para cada concentração são normalmente distribuídas; o desvio padrão de cada resposta é independente do efeito em si e a distribuição dos tratamentos é um processo randômico (HEWITT, 2007).

Entre esses delineamentos destacam-se os delineamentos reto paralelo 3x3, é dito simétrico, pois a razão entre as concentrações adjacentes e o número de concentrações ensaiadas do padrão e da amostra são iguais. Um delineamento de execução mais simples é o retas paralelas 2x2, uma vez que são utilizadas apenas duas concentrações de cada preparação. Contudo é preconizado na farmacopéia brasileira que seu emprego somente possa ser feito após o desenvolvimento do ensaio 3x3. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

A determinação da potência antimicrobiana pode ser realizada empregando-se o delineamento 5x1, conforme descrito na farmacopéia americana (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2008) em que se empregam cinco concentrações do padrão para obtenção da curva analítica e uma da preparação amostra. Portanto, é um ensaio assimétrico.

Neste delineamento cada placa contém apenas dois tratamentos: a solução do padrão correspondente à concentração intermediária da curva analítica (solução de referência) e uma das outras quatro soluções do padrão ou a solução da amostra. Devido à variação entre as placas, as respostas do padrão devem ser corrigidas a partir da resposta da solução de referência presente em todas as placas (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

1.7. Controle da qualidade

Os medicamentos fitoterápicos apresentam em seu desenvolvimento várias etapas, começando desde a origem do vegetal e finalizando com o produto final. A qualidade dessa formulação dependerá do cumprimento dos critérios de qualidade

estabelecidos para cada etapa. Desta forma a Farmacopéia Brasileira estabelece monografias com testes analíticos de controle da qualidade para diversas plantas (SOUZA *et al.*, 2010).

Os testes analíticos que fazem parte do controle de qualidade têm por sua função principal, averiguar e comprovar que tanto os produtos envolvidos em uma formulação quanto à própria formulação finalizada, apresentam os parâmetros de qualidade pré- estabelecidos (BRASIL, 2008). Dentre os testes analíticos estão envolvidos ensaios organolépticos e físico-químicos.

Os ensaios organolépticos avaliam as características gerais dos produtos, tais como cor, odor, aspecto, sabor e tato, os quais são avaliados pelos órgãos de sentido dos profissionais que executam os ensaios. Estes ensaios podem detectar algumas alterações visuais que possam ocorrer nas formulações, como turvação, separação de fases e precipitação de algum componente (BRASIL, 2008; FARMACOPÉIA BRASILEIRA 2010, GIL, 2010).

Os ensaios físico-químicos revelam características dos produtos que não podem ser determinados pelos órgãos de sentidos, por isso é necessário o uso de equipamentos específicos. Por sua vez, estes equipamentos devem estar calibrados para que possam fornecer resultados válidos referente ao ensaio realizado. Entre estes ensaios podem ser citados: granulometria, determinação do pH, densidade, viscosidade, resíduo seco, do teor de cinzas, condutividade, índice de espuma, estabilidade preliminar (teste da centrifuga), espalhabilidade, etc (BRASIL, 2008; FARMACOPÉIA BRASILEIRA 2010, GIL, 2010).

As legislações e/ou que normas tratam do controle de qualidade dos dentífrícios são: Portaria nº 21, de 25 de outubro de 1989, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, que estabeleceu requisitos que asseguram a eficácia e a qualidade dos dentífrícios; O Microbiology Guidelines (1993), da Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, estabeleceu parâmetros microbiológicos para produtos de toaletes e cosméticos; A ISO 11.609 de 1995 - que estabelece parâmetros e métodos de ensaio para verificar as propriedades físicas e químicas e os itens que os dentífrícios devem apresentar em seu rótulo.

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

2.2. Material vegetal

O material vegetal utilizado foram as folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. (Figura 2), coletadas na região do compartimento da Borborema-PB, a partir de plantas adultas, devidamente selecionadas, respeitando o horário e a época ideal para a coleta. A exsicata da planta foi confeccionada para identificação botânica e análise de verificação da autenticidade. A exsicata foi depositada no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, no município de Areia - PB, com registro de número EAN-14049.

Figura 2 - Coleta das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

2.3. Processamento do material vegetal

As folhas da *Schinopsis brasiliensis* Engler previamente coletadas, foram submetidas a secagem em estufa de circulação de ar (Fanem[®] 330), a uma temperatura de 40 °C até a obtenção de um teor de umidade constante. Após a secagem, o material vegetal foi triturado em moinho de facas (SOLAB, modelo SL30) até a obtenção de um pó fino, o qual, posteriormente foi direcionado a produção dos extratos hidroalcoólicos.

2.4. Obtenção dos extratos

A partir do pó das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler, foram preparados cinco extratos hidroalcoólicos pelo método de maceração, usando como solvente uma solução de água/etanol nas concentrações de 10:90, 20:80, 30:70, 50:50, 70:30 (água:etanol), denominados da seguinte forma: EX01, EX02, EX03, EX04 e EX05 respectivamente, seguindo orientações da Farmacopéia Brasileira V edição (2010).

Em seguida os extratos foram acondicionados em frascos, hermeticamente fechado, protegendo-os do ar e da radiação solar e submetido ao screening microbiológico para avaliação de possível atividade antimicrobiana.

O extrato que apresentou melhor atividade antimicrobiana foi submetido a nebulização, em um aparelho *Spray Dryer*, da marca LabPlant, utilizando com estabilizante farmacotécnico Aerosil 200[®] na concentração de 20 %, o qual foi calculado em relação à massa teórica final do resíduo seco. No aparelho, os sistemas de alimentação e atomização são constituídos por uma bomba peristáltica, um atomizador

com agulha injetora (0,5 mm d.i.) sob pressão. O extrato seco foi separado por sedimentação na base de um ciclone e a circulação do fluido aquecido nas temperaturas de entrada a 170 °C assegurada por um sistema de aspiração. Com temperatura de saída variando de 90 – 95 °C, sob um fluxo de alimentação de 7,0 mL.min⁻¹ (Figura 3).

Figura 3 - Nebulização em aparelho *Spray Dryer*. A: mistura do extrato hidroalcoólico com o Aerosil 200[®]. B: Equipamento utilizado. C: Injeção do extrato no equipamento. D: Coletor do pó nebulizado.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

2.5. Screening Microbiológico

2.5.1. Cepas Microbianas

Na avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos obtidos, foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Cepas de bacterianas utilizadas no *Screening* Microbiológico.

| Microorganismos | ATCC |
|------------------------------------|-------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 25923 |
| <i>Streptococcus mutans</i> | 25175 |
| <i>Streptococcus parasanguinis</i> | 903 |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 10557 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 29212 |

2.5.2. Preparação do Inoculo Microbiano

Os microrganismos foram reativados e mantidos em tubos, contendo 10 mL de ágar nutriente inclinado e incubado a 37 ± 0,5 °C, por 24 horas, os *Streptococcus* foram mantidos em câmara de anaerobiose durante o cultivo. A suspensão do microrganismo

foi obtido transferindo a cultura crescida sobre o meio inclinado, com alça estéril, para uma placa contendo o meio de cultura àgar Mueller-Hinton para reativação, e após 24 horas, transferido para um tubo de ensaio contendo 3 mL de solução salina estéril.

O inóculo microbiano foi padronizado, conforme descrito na *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005) e na Farmacopéia Brasileira V edição (2010), em espectrofotômetro, marca Biospectro[®], no comprimento de onda de 625 nm, de modo a obter a transmitância de 85 %.

2.5.3. Ensaio Microbiológico por Difusão em Meio Sólido

Para esse ensaio foi utilizada a técnica dos cilindros ou *template*, recomendada pela Farmacopéia Brasileira V edição (2010), para avaliação da atividade antimicrobiana de antibióticos. Nessa técnica é necessária a preparação de uma camada base e uma camada de superfície de meio de cultura sobre a qual são colocados os cilindros.

A camada base foi preparada através da adição de 20 mL de meio de cultura específico para a bactéria em teste, o qual foi distribuído uniformemente em placas de *Petri*. Após a sua solidificação foi preparado a camada de superfície, a qual foi composta pelo meio de cultura adicionada do inóculo bacteriano. Assim para cada 100 mL de meio de cultura fundido e resfriado entre $48 \pm 0,5$ °C foi adicionado 1 mL do inóculo bacteriano.

O ensaio foi realizado com interpolação em curva de 5 X 1, no qual em cinco cilindros foram adicionados 100 µL de cada concentração dos extratos e no último a mesma concentração do antibiótico utilizado como padrão de referência (controle positivo). O ensaio foi realizado em quintuplicata.

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a $37 \pm 0,5$ °C, por 24 a 48 horas. Após o período de incubação a leitura dos testes foi realizada medindo em milímetro o diâmetro dos halos de inibição ao redor do cilindro com o auxílio de um paquímetro digital, sendo considerado como possuidor de atividade antimicrobiana, halo de inibição acima de 10 mm.

2.6. Doseamento de potência antimicrobiana por difusão em agar

Para determinação da potência antimicrobiana utilizou-se a técnica dos cilindros utilizada no *screening* da atividade antimicrobiana e citada no tópico 2.5.3, utilizando

como revelador o microrganismo que mostrou mais susceptível ao extrato hidroalcoólico. No entanto, este ensaio foi realizada com extrato nebulizado diluído em DMSO a 10%, nas concentrações de 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 50 mg/mL. O antibiótico padrão utilizado neste teste foi cefalotina, uma vez que este é o medicamento de ação sistêmica indicado para o tratamento de infecções da cavidade oral.

Com as medidas dos halos de cada concentração avaliada, foi traçado uma curva buscando a reta de melhor ajuste entre os pontos, onde o eixo das abscissas representa a concentração da substância teste (mg/mL) e o eixo das ordenadas representa a medida dos halos de inibição (mm). Essa curva foi utilizada como referência para se determinar a potência antimicrobiana do extrato nebulizado.

Foi obtida a resposta da menor dose (L) e a resposta da maior dose (H), em relação à resposta do padrão utilizado, através cálculos abaixo, no qual a dose menor estabelecida deverá dar como resposta um halo de inibição maior que L e doses acima da dose correspondente de H darão respostas equivalentes, independente do aumento da dose.

Resposta em baixa dose (L):

$$L = \frac{[(3 \times 1c)] + (2 \times 2c) + (3c - 5c)}{5}$$

Resposta em alta dose (H):

$$H = \frac{[(3 \times 5c)] + (2 \times 4c) + (3c - 1c)}{5}$$

1c = Média dos halos obtido da menor concentração;

2c = Média dos halos obtidos da segunda menor concentração;

3c = Média do padrão utilizado (antibiótico);

4c = Média dos halos obtidos da segunda maior concentração;

5c = Média dos halos obtidos da maior concentração.

A menor dose a ser estabelecida deverá dar como resposta um halo de inibição maior que o valor encontrado em L e doses acima da dose correspondente de H dará a respostas equivalentes, independente do aumento da dose. A estimativa de diferença (E)

das respostas obtidas através do cálculo de L e H é calculada pela seguinte fórmula (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010):

$$E = H - L$$

E: Estimativa de diferença;

H: Maior resposta e

L: Menor resposta.

2.7. Teste de Toxicidade Aguda

2.7.1. Ensaio de Toxicidade Aguda com *Artemia salina*

Para realização do teste foi utilizado o método de toxicidade por *Artemia salina* (TAS), baseado na metodologia de Fontenele (1988). Cerca de 0,3 g de ovos de *A. salina* foram cultivados, numa cuba de vidro, em solução salina contendo 34,2 g de Cloreto de Sódio; 1,425 g de Sulfato de Magnésio; 4,75 g de Bicarbonato de Sódio e 951 mL de água destilada, com pH ajustado para 9,0, utilizando-se uma solução de 2 mol/L de Hidróxido de sódio. O sistema foi submetido à luz artificial, temperatura ambiente (29 °C) e com saturação de oxigênio até o período de eclosão das larvas, o qual se completa após cerca de 48 horas do início do experimento. As larvas de *A. salinas* recém eclodidas foram distribuídas em tubo de ensaio (10 larvas por tubo), sendo cada tubo com 10 mL de solução do extrato nas concentrações 2000, 1500, 1000, 500, 250 µg/mL. Um grupo controle também fora preparado nas mesmas condições sem a presença dos extratos. As culturas de *A. salina* foram incubadas a 25 °C, sendo realizada a leitura do número de sobreviventes e mortos após 24 e 48 horas, e calculado o percentual de mortalidade para cada uma das concentrações testadas e controles. Foram consideradas larvas mortas todas que não apresentarem qualquer movimento ativo em cerca de vinte segundos de observação.

Para o cálculo da concentração letal média (CL₅₀) dos extratos, foi utilizado o método PROBIT. O programa estatístico utilizado foi o *StatPlus® Portable* e o nível de significância foi de 0,05.

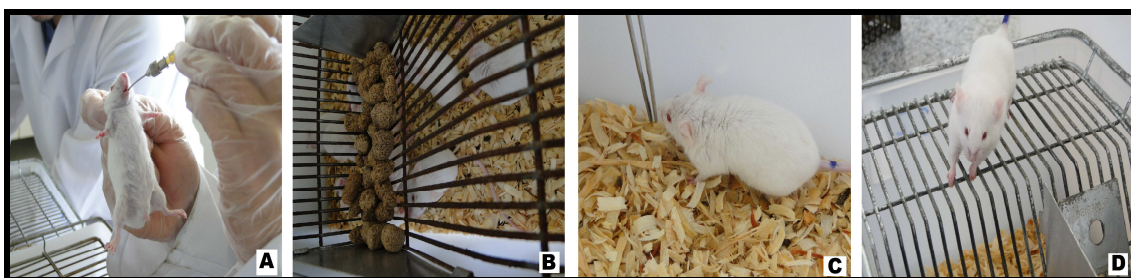
2.7.2. Ensaio de Toxicidade Aguda em Camundongos

O ensaio de toxicidade foi realizado com camundongos Wistar albinos (*Mus musculus*) adultos (80 dias de vida), com peso entre 131 e 258 g. Esses animais foram

fornecidos pelo Biotério da faculdade de Medicina da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Os animais foram mantidos em ciclo de luz claro/escuro de 12 horas, com temperatura de 22 ± 3 °C e umidade relativa do ar de $50\% \pm 20\%$, em grupos de cinco por gaiola. Os animais foram alimentados com ração e água potável *ad libitum* conforme preconizado na RDC 90/2004 da ANVISA.

Para a realização do ensaio os animais foram submetidos a jejum de 12 horas. Após esse período foi administrado por via oral (gavage) (Figura 4A) a concentração de 2000 mg do extrato nebulizado para cada 1kg de peso corpóreo do animal. Após a administração do extrato os animais foram colocados em caixas de polipropileno, com tampa-grade sobre as quais foram colocados água e alimento *ad libitum* (Figura 4B).

Figura 4 – Ensaio de toxicidade aguda em camundongos. A: Administração do extrato em testes. B: Camundongos em caixas após tratamento. C: Teste do reflexo corneal. D: teste da resposta ao aperto da calda.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

No período de 30 min., 1, 2 e 4 horas após a administração dos extratos, os animais foram mantidos em vigilância constante, com a finalidade de se observar o surgimento de sinais tóxicos como: atividade geral, frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, reflexo corneal (Figura 4C), resposta aperto da cauda (Figura 4D), contorção, posição trem posterior, reflexo endireitamento, tônus do corpo, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, tremores, convulsões, *straub*, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia, morte; realizadas a intervalos variados logo após a administração da droga com base na metodologia preconizada por Almeida *et al.*, (1999). Segundo a metodologia aplicada, às 24, 48 e 72 horas da administração do extrato deveriam ser contabilizadas as mortes, mensurados o consumo de água e ração e o peso dos animais. O referido consumo foi avaliado diariamente e contabilizado por grupo, registrando-se os valores médios de cada grupo.

Um grupo controle foi tratado com solução salina, a mesma solução utilizada para diluir o extrato.

Após o período de observação, os animais sobreviventes foram sacrificados por deslocamento cervical, procedendo-se a dissecação e pesagem das vísceras (fígado, rins, coração, baço e pulmões) (Figura 5) que também foram analisadas macroscopicamente.

Figura 5 - Sacrificação dos camundongos para análise das vísceras.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

Para o cálculo da dose letal média (DL_{50}) dos extratos, foi utilizado o método PROBIT. O programa estatístico utilizado foi o *StatPlus® Portable* e o nível de significância foi de 0,05.

2.8. Análise dos Parâmetros Físico-Químicos do extrato nebulizado

2.8.1. Análise granulométrica

A análise granulométrica foi realizada seguindo as recomendações da Farmacopéia Brasileira V edição (2010), onde cerca de 25 g gramas do pó nebulizado é transferido de forma uniforme para um tamis superior de orifício 710 μm , seguido de outros com tamanho 355 μm , 180 μm , 150 μm , 75 μm , 38 μm e um fundo coletor (Figura 6). O aparelho foi acionado por cerca de 15min, com vibração adequada. Após término desse tempo, a amostra retida na parte superior de cada tamis foi coletado e submetido à pesagem, este procedimento foi realizado em todas as malhas e no coletor.

Figura 6 - Análise granulométrica do extrato em pó nebulizado das folhas da *Schinopsis brasiliensis* Engler.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

O cálculo do percentual retido em cada tamis foi determinado pela seguinte equação:

$$\% \text{ Retido pelo tamis} = \frac{P1}{P2} \times 100$$

P1: peso da amostra retida em cada tamis.

P2: soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor.

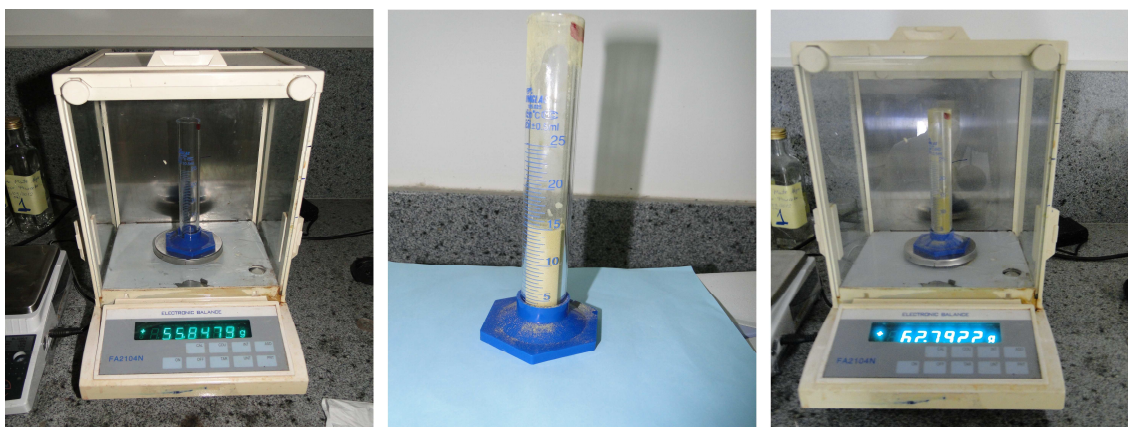
2.8.2. Análise das partículas

Foram avaliados parâmetros físicos, como circunferência, raio, diâmetro e área, das partículas do pó, pela técnica de vídeo microscopia, utilizando um microscópio óptico digital de marca Hirox[®], modelo KH - 770. Essas medidas foram determinadas pela média de vinte medições.

2.8.3. Determinação da densidade

A densidade dos pós foi determinada pelo método descrito por Lachman, Lieberman & Kaning (2001) o qual consiste em determinar a densidade utilizando uma proveta de 25 mL, previamente pesada. O pó foi então transferido até completar o volume de 15 mL da proveta de forma que partículas de ar não ficassem presentes entre os pós. Em seguida a proveta com o pó foi pesada (Figura 7).

Figura 7 - Determinação da densidade do extrato em pó nebulizado das folhas da *Schinopsis brasiliensis* Engler.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

A massa do pó foi determinada pela diferença de massas entre a proveta cheia e a seca, permitindo que a densidade fosse calculada pela seguinte equação:

$$\text{Densidade} = \frac{\text{massa do pó}}{\text{volume da proveta usada}}$$

2.8.4. Determinação da Perda por Dissecação

Este ensaio consiste em determinar a quantidade de substâncias voláteis de qualquer natureza pelo método descrito na Farmacopéia Brasileira V (2010), onde uma cápsula de porcelana foi calcinada por 30 min em estufa a 105 °C (Quimis[®]), resfriada em dissecador e pesada com 1 g do pó, em seguida foi novamente submetida à calcinação por 2 h a 105 °C, resfriada e pesada. Este procedimento foi repetido até peso constante da amostra. O percentual de perda por dissecação foi determinado pela seguinte equação:

$$\% \text{ de perda por dissecação} = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100$$

Pa: peso da amostra.

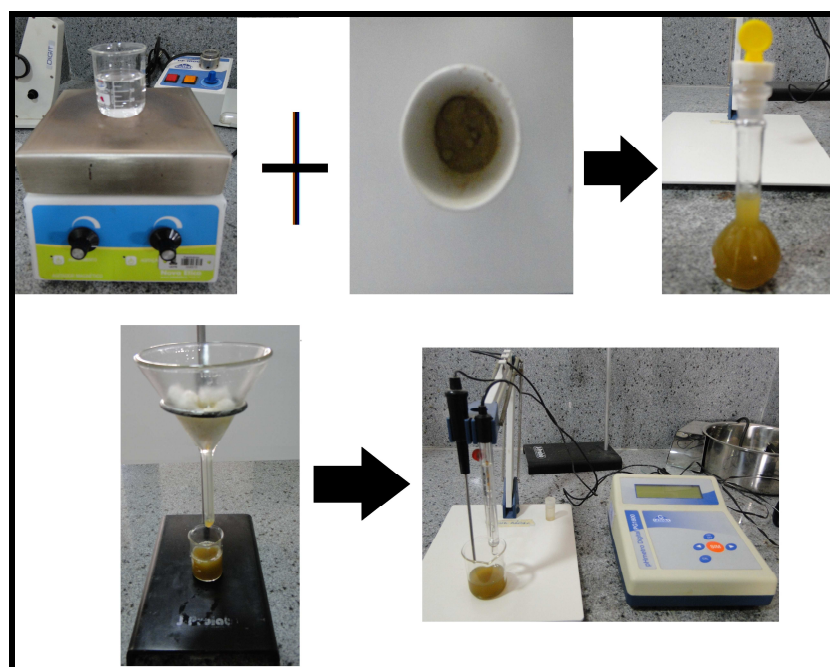
Ps: peso da cápsula contendo a amostra após a dissecação.

Pu: peso da cápsula contendo a amostra antes da dissecação.

2.8.5. Determinação do pH

A determinação do pH consiste em determinar se a substância em teste apresenta um caráter ácido, neutro ou básico. Seguindo esse princípio o pH do pó nebulizado foi determinado pelo método descrito na Farmacopéia Brasileira V (2010), onde uma solução a 1% (p/v) foi preparada com o pó e água destilada, aquecida em chapa-elétrica, marca Quimis[®] e mantida por 5min em ebulição. Em seguida essa solução foi filtrada e após resfriamento o pH foi medido em potenciômetro calibrado, marca Gehaka[®] (Figura 8), com solução tampão pH 4,0 e 7,0. Os resultados foram obtidos pela média de três determinações.

Figura 8 - Determinação do pH do extrato nebulizado das folhas da *Schinopsis brasiliensis* Engler.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

2.9. Estudo de Pré-Formulação

O estudo de pré-formulação é o primeiro passo no desenvolvimento de uma substância em forma farmacêutica. Mas, antes de transformar um fármaco em forma farmacêutica é necessário que ele seja química e fisicamente caracterizado. Nesse estudo usou-se o sistema de misturas binárias, que objetivou apenas esclarecer eventuais incompatibilidades que possam surgir no processo de desenvolvimento farmacotécnico.

Assim foram produzidas misturas binárias entre o extrato nebulizado que apresentou melhor atividade antimicrobiana e os excipientes farmacêuticos utilizados na produção de um dentifrício semissólidos.

2.9.1. Obtenção das Misturas Binárias

O extrato de nebulizado de *S. brasiliensis* Engler. foi testado quanto à sua compatibilidade com excipientes farmacêuticos. As misturas binárias foram produzidas na proporção de 1:1, para as análises calorimétricas e de 1:1, 1:2, e 2:1, para as análises termogravimétricas. As misturas utilizadas no desenvolvimento do dentifrício foram preparadas tendo na sua composição agentes espessantes, abrasivos, umectantes, tensoativos, edulcorantes e conservantes. Assim foram produzidas misturas com cerca de dois os três desses agentes, nas seguintes proporções:

- Extrato nebulizado + carboximetilcelulose sódica \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + hidroxietilcelulose 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + carbopol 2020[®] \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + carbonato de cálcio \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + bicarbonato de sódio \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + glicerina \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + sorbitol \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + propilenoglicol \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;;
- Extrato nebulizado + Lauril sulfato de sódio \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + Polissorbato 80 \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + Manitol \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + Aspartame \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + Metilparabeno \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + propilparabeno \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;
- Extrato nebulizado + Benzoato de sódio \Rightarrow 1:1, 1:2 e 2:1;

2.9.1.1. Análise do comportamento térmico do pó nebulizado e de excipientes usados no dentifrício

2.9.1.1.1. Termogravimetria (TG)

As curvas de TG das amostras foram obtidas, utilizando-se uma termobalança, marca TA, com razão de aquecimento de 10 °C/min até temperatura de 900°C, em uma atmosfera de ar de nitrogênio, padrão analítico, com fluxo constante de 10 mL/min. A massa utilizada foi de 8,0 ± 2,0 mg, a qual foi acondicionada num porta amostra de alumina (Figura X). Os dados foram analisados usando o *software* próprio do equipamento.

2.9.1.1.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas calorimétricas (DSC) das amostras serão obtidas num calorímetro, marca TA, no qual será utilizado um fluxo de nitrogênio, padrão analítico, de 50 mL/min., como gás de purga da amostra. A programação utilizada será de 25 até 500 °C, com razão de aquecimento de 5 °C/min. A amostra será acondicionada em um porta-amostra de alumínio. A massa utilizada será de 2 ± 1,0 mg.

As misturas binárias que apresentaram provável incompatibilidade foram analisadas pelas técnicas de caracterização de partícula, Difração de Raios-X (DRX) e Espectroscopia na Região do Infravermelho, com Transformada de Fourier (FT-IR). A partir desses resultados também foram selecionadas quais excipientes iriam fazer parte da formulação do dentifrício.

2.9.1.2. Análise da caracterização de partícula do pó nebulizado e de excipientes usados em dentifrício

2.9.1.2.1. Difração de Raios-X (DRX)

As análises de DRX foram realizadas em um difratômetro 6000 DRX (Shimadzu), com varrimento de 10° a 70° (2 θ / min), na escala 2θ, e radiação Cu (Kα1). O equipamento foi operado a tensão de 40,0 kV e corrente de 30,0 mA. Os dados foram analisados utilizando o *software* Origin® versão 8.1.

2.9.1.2.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

As análises de FT-IR foram realizadas em um aparelho Perkin-Elmer modelo 1600, utilizando discos KBr, no intervalo de 4000 - 400 cm^{-1} .

2.10. Desenvolvimento do dentifrício

Formulações de dentifrícios foram desenvolvidas seguindo um planejamento experimental, do tipo Brereton, usando a concentração de pó proveniente do extrato vegetal nebulizado determinado no estudo de potência microbiológica. Foram selecionadas ainda três concentrações diferentes de excipientes, com base no indicado pela literatura especializada na área, com exceção a uma classe onde uma única concentração foi utilizada. As classes de excipientes e as concentrações usadas de cada uma encontram-se na tabela 2. Além do extrato nebulizado e dos excipientes foi utilizado na formulação água purificada em q.s.p.

Tabela 2 - Classes e concentrações dos excipientes utilizados para formular o dentifrício.

| Classes | Concentrações (%) |
|-------------|-------------------|
| Abrasivo | 20.0, 35.0 e 40.0 |
| Espessante | 0.5, 2.5 e 4.0 |
| Tensoativo | 1.0, 1.5 e 2.0 |
| Umectante | 20.0, 25.0 e 30.0 |
| Edulcorante | 6.0 |
| Conservante | 0.05, 0.15 e 0.25 |

Foram formuladas nove formulações de dentifrícios seguindo o planejamento experimental de Brereton a fim de, com poucas formulações, garantir uma homogeneidade das concentrações, citadas na tabela 2. Entretanto, o total de dentifrícios manipulados foi de dezoito, visto que nove continha excipientes, extrato vegetal e água, e as outras nove continha apenas os excipientes e a água.

O desenvolvimento farmacotécnico do dentifrício seguiu as orientações farmacotécnicas, para manipulação de uma pasta dental base (APPEL & REUS, 2005). São elas:

- Fase 01: Pesar e medir os componentes da formulação.
- Fase 02: Homogeneizar o Espessante em 30 % da água a temperatura ambiente.
- Fase 03: Aquecer 70 % da água até 90°C.
- Fase 05: Incorporar na fase 03 o edulcorante e o Abrasivo
- Fase 06: Acrescentar a fase 02 na fase 05, sob agitação constante utilizando um mixer até homogeneização completa.
- Fase 07: Acrescentar o Tensoativo no Umectante e homogeneizar.
- Fase 08: Acrescentar a fase 07 na fase 06 e homogeneizar manualmente de forma lenta.

Após formular os dentifrícios, os mesmos foram mantidos em repouso por 24h. Em seguida foi incorporado a concentração determinada do extrato nebulizado em nove das dezoito formulações.

2.11. Análise dos parâmetros físico-químicos das formulações de dentifrícios

2.11.1. Avaliação das características organolépticas

As características organolépticas dos dentifrícios, citadas abaixo, foram observadas após 24 h de formuladas, após o teste de centrifugação e após o teste do estresse térmico.

Aparência: foi observando se as amostras apresentavam separação de fases, precipitação e/ou turvação. As amostras eram classificadas seguindo os seguintes critérios:

- Normal, sem alteração;
- Levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e
- Separado, precipitado ou turvo.

Cor: foi observando se a cor inicial foi modificada ou não. As amostras eram classificadas seguindo os seguintes critérios:

- Normal sem alteração;
- Levemente modificada;
- Modificada e
- Intensamente modificada.

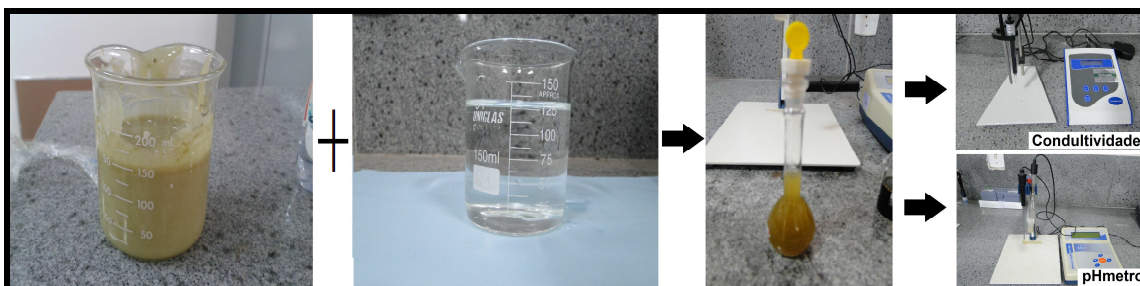
Odor: observando se o odor inicial foi modificado ou não. As amostras eram classificadas seguindo os seguintes critérios:

- Normal sem alteração;
- Levemente modificada;
- Modificada e
- Intensamente modificada.

2.11.2. Determinação do pH e da condutividade

A determinação do pH e da condutividade de cada formulação foram realizadas após 24 h de formuladas, após centrifugação e estresse térmico em estufa. Para as duas determinações foram preparadas uma suspensão de 5 ml do dentifrício em 15ml de água destilada (ABO 1999) (Figura 9). O phmetro e o condutivimetro, ambos da marca Gehaka[®], foram devidamente calibrados seguindo as recomendações do fabricante e as medições das formulações foram realizadas em triplicatas.

Figura 9 - Procedimento para medição do pH e da condutividade das formulações.

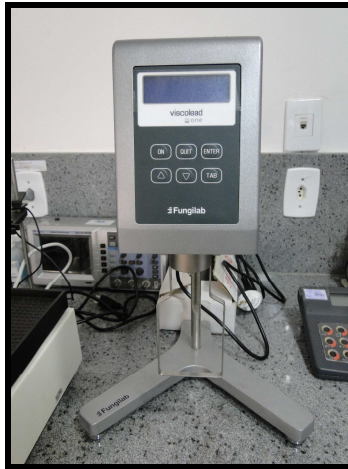


Fonte: Ravelly Lucena Santos.

2.11.3. Viscosidade

A determinação da viscosidade foi realizada após 24 que os dentifrícios foram formulados e acondicionados à temperatura de 24 ± 2 °C. As leituras foram realizadas em triplicata segundo metodologia recomendada por ASTM D2196-05(ANSI, 2005), empregando viscosímetro rotativo, marca Fungilab, tipo Brookfield, de 6 velocidades (Figura 10). Selecionou-se a velocidade de 6 rpm e spindler número 4. Foi considerado como valor válido, a leitura que apresentasse confiabilidade entre 15 e 95 %, conforme recomendação do fabricante do equipamento.

Figura 10 - Viscosímetro rotativo.



Fonte: Ravelly Lucena Santos.

2.11.4. Estresse Térmico

Após 24h que os dentifrícios foram formulados, uma alíquota de cada amostra foi submetida ao efeito do estresse térmico a 40, 50 e 60 °C, durante 30 minutos em cada temperatura (BRASIL, 2008). Em seguida foram avaliados parâmetros organolépticos, tais como cor, odor e aparência, além de pH e condutividade.

2.11.5. Teste da centrifugação

Após 24h que os dentifrícios foram formulados, uma alíquota de cada amostra foi submetida à centrifugação, em uma micro-centrifuga de bancada, marca NOVA, modelo NI 1801, durante 30 minutos a uma rotação de 3.000 rpm (BRASIL, 2008). Em seguida foram avaliados parâmetros organolépticos, tais como cor, odor e aparência, além de pH e condutividade.

2.11.6. Teste da espalhabilidade

Para determinação da espalhabilidade, 10 pratos (diâmetro = 20 cm e espessura = 0,3cm) foram colocados, subsequentemente, sobre a amostra a intervalos de um minuto. As áreas de espalhamento da amostra foram medidas em milímetros nos eixos horizontal e vertical. Os resultados foram expressos em termos de área de espalhamento em função da massa aplicada, de acordo com a seguinte equação:

$$S_i = (d^2) \times (\pi/4)$$

Onde S_i é a área de espalhamento (mm^2) resultante da massa aplicada i (g), e d é o diâmetro médio (mm) alcançado pela amostra. A área de espalhamento foi plotada contra o peso do prato para obtenção dos perfis de espalhamento (LANGE; HEBERLE; MILAO, 2009).

2.11.7. Avaliação dos resultados

Todos os dados obtidos nas análises do item 2.11.2 à 2.11.5, foram analisados em triplicatas individualmente e os seus resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) usando o Excel 2007.

CAPÍTULO III

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Screening* Microbiológico

Os resultados do *screening* microbiológico com *S. brasiliensis* Engl. (Folha), mostram que os 05 extratos apresentam atividade frente aos microorganismos testados. Entretanto pode-se observar na tabela 3, que o extrato 03 se destaca entre os demais por apresentar os maiores halos de inibição, o que pode indicar uma melhor atividade antimicrobiana. Embora esta planta tenha inibido todos os microorganismos testados, seus melhores resultados foram contra o *Streptococcus mutans*.

Tabela 3 - Atividade antimicrobiana de *Schinopsis brasiliensis* Engler. frente a bactérias do biofilme.

| Extratos Hidroalcoólicos / Controles | Zona de Inibição (mm) | | | | |
|--|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | <i>Cepas Bacterianas</i> | | | | |
| <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl (Folha) | <i>S.a.</i> | <i>E.f.</i> | <i>S.m.</i> | <i>S.p.</i> | <i>S.o.</i> |
| Extrato 01 | 13,82 | 14,27 | 17,20 | 12,91 | 11,42 |
| Extrato 02 | 13,96 | 12,28 | 17,15 | 13,37 | 11,83 |
| Extrato 03 | 15,95 | 14,11 | 18,95 | 14,76 | 13,44 |
| Extrato 04 | 14,37 | 12,97 | 16,49 | 14,44 | 14,02 |
| Extrato 05 | 14,68 | 12,98 | 14,45 | 15,58 | 13,30 |
| Cefalotina* | 23,47 | - | - | - | - |
| Clorexidina* | - | 14,51 | 12,95 | 12,51 | 12,63 |
| Controle negativo** | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Legenda: *S.a* - *Staphylococcus aureus*; *E.f* - *Enterococcus faecalis*; *S.m* - *Streptococcus mutans*; *S.p* - *Streptococcus parasanguis*; *S.o* - *Streptococcus oralis*;

* controle positivo; **solventes usados na produção dos extratos.

Em trabalhos semelhantes a este, Saraiva *et al.* (2011), realizou um estudo microbiológico utilizando o extrato das folhas desta planta diluído em uma solução aquosa de dimetilsulfóxido frente a cepas de *E. faecalis*, e observou, assim como neste estudo, que o extrato era capaz de inibir o crescimento deste microrganismo. Saraiva 2007, testou extratos metanólico também das folhas de *S. brasiliensis* frente a *S. aureus*, entretanto observaram zonas de inibições maiores do que a apresentada neste estudo. Esta diferença pode ser explicada baseando-se na utilização dos diferentes solventes usados em ambos os estudos, pois embora tenham sido utilizadas técnicas seguindo o mesmo princípio de difusão em ágar, o tipo de solvente influencia consideravelmente na extração dos ativos de um vegetal que poderão ser responsáveis pela ação farmacológica.

3.2. Estudo potência microbiológica

A determinação da potência de um antibiótico, através de um método microbiológico baseia-se no seu efeito inibitório sobre o crescimento de microrganismos sensíveis, em condições adequadas. Através da comparação entre o efeito causado por uma substância padrão de referência e por um teste, que se deseja

analisar, é possível obter a potência do antibiótico em questão. Este se constitui o princípio dos métodos de doseamento microbiológicos mais empregados, como o difusão em ágar e o turbidimétrico (BARBOSA, 2009).

O estudo de potência foi realizado utilizando o extrato nebulizador de *S. brasiliensis* obtido frente a cepa de *S. mutans*. Desta forma, os valores obtidos neste estudo estão demonstrados na tabela 4.

Tabela 4 - Média dos halos de inibição obtido no estudo de potência microbiológica do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler. e do antibiótico padrão frente a *Streptococcus mutans*.

| Doses avaliadas (mg/mL) | Zona de Inibição (mm) / Substâncias testadas | |
|----------------------------|--|------------|
| | Extrato nebulizado | Cefalotina |
| 500 | 16,52 | - |
| 450 | 15,84 | - |
| 400 | 15,07 | - |
| 350 | 14,82 | - |
| 300 | 13,42 | - |
| 250 | 12,87 | - |
| 200 | 12,53 | 23,08 |
| 150 | 11,64 | - |
| 100 | 10,60 | - |

Legenda: - = não testado; mm = milímetros.

Para a construção da curva de calibração e para se determinar o cálculo de potência foram escolhidos apenas quatro halos de inibição, os quais estão situados no intervalo de 250 a 400 mg/mL. Segundo Leonel *et al.*, (2012), normalmente dois ou três doses por preparação são utilizados, e a razão entre doses adjacentes deve ser constante para todas tratamentos de ensaio.

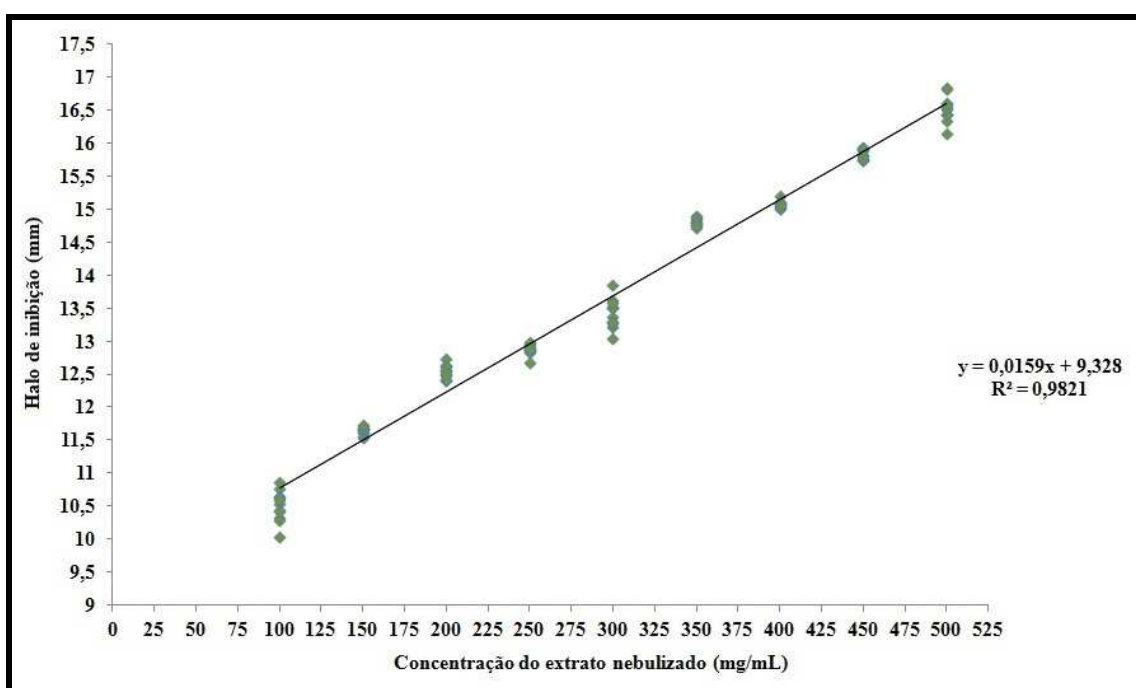
Assim, a estimativa de diferença (E) das respostas obtidas neste estudo, através do cálculo de L e H mostrou que a margem de variação das respostas obtidas, com esse extrato em relação ao antibiótico variou em 2,32 mm de diâmetro entre a menor e a maior resposta.

O diâmetro do halo obtido após o cálculo da resposta da menor dose foi de 14,69 mm. Com isso, a menor dose obtida que possui efeito significativo baseado na equação

da reta, da curva de calibração (Figura 11) foi de 337,23. Enquanto que, o diâmetro do halo obtido após o cálculo da resposta da maior dose foi de 17,01 mm, o qual corresponde a uma dose de 483,00 mg.

Com essa curva de calibração também foi possível observar a linearidade do método aplicado e dos resultados obtidos, uma vez que o coeficiente de correlação (r^2) calculado a partir da reta traçada na curva obteve como resultado 0,9817, demonstrando a linearidade do ensaio.

Figura 11 - Curva de calibração obtida com o extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler.



A determinação de concentrações terapêuticas com a capacidade de matar ou inibir o crescimento bacteriano é necessário para que seja administrada uma dose correta do antimicrobiano (ESMERINO *et al.*, 2004). O modelo utilizado neste estudo foi adaptado da Farmacopéia Brasileira V (2010), a qual preconiza que se deve determinar a potência ou atividade de um produto contendo antibiótico, comparando a dose que inibe o crescimento de um microrganismo susceptível em relação à dose de uma substância padrão que produz inibição similar.

Dessa forma, este estudo pretendeu aplicar este modelo, pois segundo Pinto, Kaneko & Pinto (2010), o ensaio microbiológico para determinação da potência dos antibióticos é indicado também para substâncias ou preparações cujo teor não pode ser

definido por métodos físico-químicos, como produtos de origem natural que podem conter misturas de substâncias. Essa potência pode ser demonstrada sob condições adequadas através de seu efeito inibitório sobre o crescimento microbiano, utilizando um microrganismo como revelador.

Alguns estudos são encontrados na literatura acerca do estudo de potência antimicrobiana, porém apenas com fármacos sintéticos.

Esmerino *et al.*, (2004) determinaram a potência de três antimicrobianos: cefalexina, ciprofloxacina e eritromicina. Para o ensaio com a cefalexina e ciprofloxacina utilizou-se o *Staphylococcus aureus*, como microrganismo-teste e as curvas obtidas apresentaram coeficiente de correlação próximo da unidade com $r^2 = 0,9754$ e $r^2 = 0,9885$, respectivamente. No teste para eritromicina utilizou-se *Micrococcus luteus*, obtendo-se coeficiente de correlação $r^2 = 0,9907$.

Farago *et al.*, 2006 avaliaram a potência de três amostras de Amoxicilina (referência, similar e genérico), obtendo o coeficiente de correlação também para *S. aureus* próximo da unidade, $r^2 = 0,9914$ e as concentrações determinadas foram de 251,6; 251,6 e 244,74 mg/mL, respectivamente. Todavia não foram determinadas maior (H) e menor (L) resposta e sim as doses em comparação com a potência declarada comercialmente, mostrando que as suspensões comerciais analisadas apresentaram valores de potência dentro dos limites preconizados pela Farmacopéia.

No estudo proposto utilizaram-se concentrações do extrato nebulizado maiores do que a concentração comercial do antibiótico, empregado neste teste, devido ao fato de se tratar de um produto de origem vegetal e não de uma substância pura e/ou isolada, como as dos estudos citados acima.

3.3. Teste de Toxicidade Aguda

3.3.1. Ensaio de Toxicidade Aguda com *Artemia salina*

Devido a simplicidade de manuseio, rapidez e baixo custo, o teste com *Artemia salina* é adotado em muitos estudos. Ademais, é bastante utilizado em análises preliminares de toxicidade geral, uma vez que através dele é possível determinar a concentração média letal (CL₅₀), que causa 50% de mortalidade na população estudada (LUNA *et al.*, 2005).

Ao investigar a toxicidade do extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler utilizando *Artemia salina*, seguiu-se a escala de Meyer *et al.* (1982),

onde valores de CL50 <500 µg/mL indicam toxicidade, entre 500-1000 µg/mL denotam toxicidade moderada e >1000 µg/mL sugerem a ausência de toxicidade. Baseando-se nessa relação o extrato obtido das folhas da *Braúna* apresentou toxicidade considerada moderada, uma vez que o valor da CL50 foi de 511,90 µg/mL.

Assim como nesse estudo, Saraiva *et al.*, 2011 também observaram em seus experimentos que as folhas da *S. brasiliensis* apresentavam toxicidade moderada, quando avaliadas frente a *Artemia salina*, embora o tipo de extrato avaliado fosse diferente. Silva *et al.*, 2012 avaliaram extrato da casca de *S. brasiliensis* e observaram que este apresentava uma CL50 de 428 µg/mL, o que determina ser tóxico. A diferença da toxicidade vista ao comparar estes estudos, pode ser explicada pela presença e pela concentração de compostos químicos presentes no material analisado (SANTOS *et al.*, 2010).

3.3.2. Ensaio de Toxicidade Aguda em camundongos

No ensaio de toxicidade aguda, os camundongos utilizados não apresentaram alterações de comportamento após a administração do extrato nebulizado de *Schinopsis brasiliensis* Engler, na dose de 2000 mg/kg administrados por via oral pela técnica de gavagem. O consumo de ração e água se manteve estável tanto no grupo tratado com os extratos quanto no grupo controle. Durante as 72 horas após a administração dos extratos, não ocorreram mortes entre os animais testados, não sendo possível a determinação da dose letal média (DL₅₀). Desta forma, sugere-se que extrato nebulizado das folhas de *S. brasiliensis* apresentou baixa toxicidade nas condições avaliadas.

Silva (2011) avaliou extrato das cascas de *S. brasiliensis* e relatou que durante o experimento não houve morte de nenhum animal usado nos testes, o que também sugere baixa toxicidade do extrato das cascas deste vegetal. Algumas pesquisas encontradas na literatura mostram que ao realizarem avaliação toxicológica com plantas pertencentes à mesma família da *S. brasiliensis*, a Anacardiaceae, não foi observado nenhum sinal de toxicidade e nem morte nos animais tratados com essas plantas (AYOCA *et al.* 2006; KONAN *et al.* 2007).

Quanto aos órgãos vitais, coração, rins, baço, fígado e pulmão, avaliados após os animais serem sacrificados, não foram observados diferenças morfológicas e de peso ao comparar os órgãos provenientes do grupo de animais tratado com o extrato nebulizado e o grupo controle. Entretanto estudos histopatológicos ainda devem ser realizados para comprovar este resultado.

3.4. Análise dos Parâmetros Físico-Químicos do extrato nebulizado

Embora normalmente se veja extratos vegetais na forma fluida, é somente após a retirada do solvente extrator que estes são utilizados em formas farmacêuticas sejam elas sólidas, semi-sólidas ou líquidas (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2006). Uma forma de retirar esse solvente é submetendo o extrato líquido a secagem em *spray dryer*, obtendo assim o extrato nebulizado. Vasconcelos *et al.*, 2005, relatam que extratos secos por essa técnica têm sido utilizados tanto como produtos intermediários para o desenvolvimento de diversas formas farmacêuticas, assim como utilizados como produtos finais.

A RDC nº 10 de 2010 apresenta critérios que devem ser seguidos a fim de garantir a qualidade da droga vegetal, independente se ela será utilizada como matéria-prima que irá compor a fórmula farmacêutica desejada ou se será o próprio produto farmacêutico. A Farmacopéia Brasileira V (2010) descreve testes que podem ser utilizados para caracterizar uma droga vegetal, como a determinação granulométrica, pH, perda por dissecação, teor de cinzas, etc.

Neste estudo foi realizada a padronização do extrato nebulizado das folhas de *S. brasiliensis*, a qual iniciou-se pela análise granulométrica.

De acordo com a Farmacopéia Brasileira V (2010), na análise granulométrica um pó pode ser caracterizado como:

- Pó grosso: - aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 710 μm e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 355 μm ;
- Pó moderadamente grosso: aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 710 μm e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 250 μm ;
- Pó semi-fino: aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis de abertura nominal de malha de 355 μm e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μm ;
- Pó fino: - aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μm e Pó finíssimo: aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 125 μm .

Porém analisando a tabela 5, observa-se que o extrato nebulizado de *S. brasiliensis* não se enquadra em nenhuma destas especificações, o que pode sugerir que esse extrato não apresenta tamanho de partículas uniformes.

Tabela 5. Determinação granulométrica do extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler.

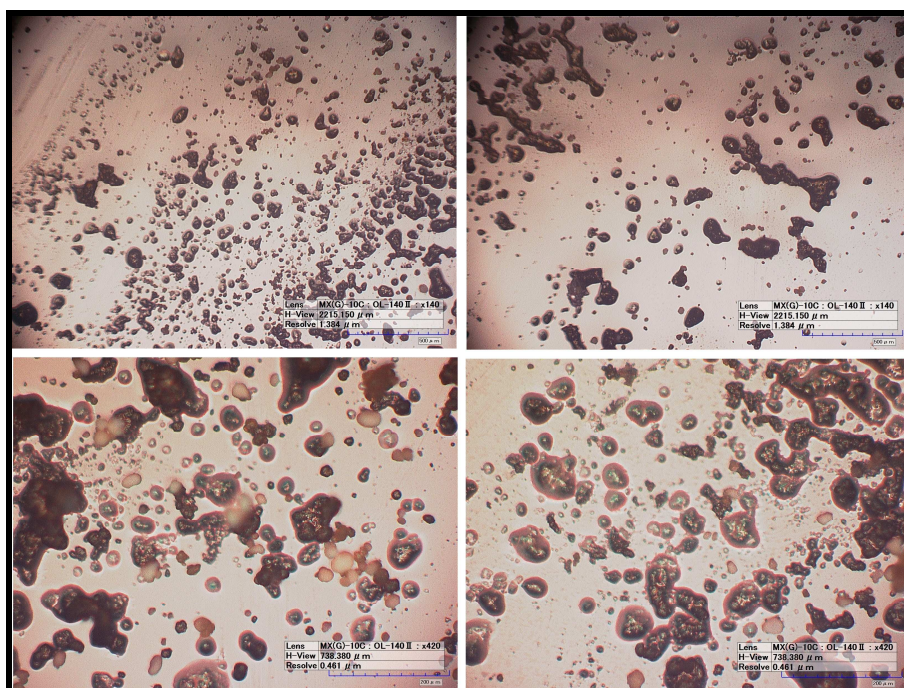
| Abertura das malhas (μm) | Retenção (g) | Retenção (%) | Passagem (g) | Passagem (%) |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 710 | 7,15 | 28,6 | 17,85 | 71,40 |
| 355 | 1,36 | 5,44 | 16,49 | 65,96 |
| 180 | 0,57 | 2,28 | 15,92 | 63,68 |
| 150 | 0,15 | 0,60 | 15,77 | 63,08 |
| 75 | 3,70 | 14,8 | 12,07 | 48,28 |
| 38 | 7,00 | 28,00 | 5,07 | 20,28 |
| Coletor | 5,07 | 20,28 | - | - |

Entretanto ao analisar as partículas do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* por vídeo microscopia, pode-se concluir a partir dos dados apresentados na tabela 6 que média do tamanho das partículas demonstra que elas são pequenas, o que pode sugerir que esse pó se enquadra na categoria de pós finos. Além disso, pós de droga vegetal obtidos por *spray drying* são caracterizados como pós muito finos (PETROVICK, 2006). Imagens do vídeo microscopia do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* podem ser visualizadas na figura 12.

Tabela 6 - Determinação do tamanho de partícula do extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler.

| Parâmetros avaliados | Resultados obtidos |
|----------------------------------|--------------------|
| Circunferência (μm) | 307,71 |
| Raio | 49,77 |
| Diâmetro | 97,45 |
| Área (μm^2) | 8.029,50 |

Figura 12 - Imagem da do vídeo microscopia do extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler.



Quanto aos parâmetros físico-químicos avaliados, a tabela 7 apresenta os valores de densidade, perda por dissecação e pH encontrados no extrato nebulizado das folhas de *S. brasiliensis*.

Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos avaliados com o extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler.

| Parâmetros avaliados | Resultados obtidos ± Desvio padrão |
|--------------------------|------------------------------------|
| Densidade (g/mL) | 0,36 ± 0,0001 |
| Perda por Dissecação (%) | 4,53 ± 0,0002 |
| pH | 4,85± 0,0236 |

A densidade determinada neste estudo apresentou resultado semelhante ao obtido por Costa *et al.*, 2009, que ao avaliar o pó das folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) por esse mesmo método, determinaram uma densidade de 0,32±0,02. Embora esses autores tenham estudado uma planta diferente da deste estudo os resultados da densidade de ambos os pós provenientes de folhas foram semelhantes.

A determinação da Perda por dissecação de uma substância é de grande importância do ponto de vista tecnológico de produção, uma vez que grandes quantidades de água comprometem a estabilidade química e microbiológica do produto. Um elevado teor de umidade proporciona à matéria-prima ou a formulação a proliferação de microorganismos ou rápidas reações químicas de hidrólise (NUNES *et al.*, 2009). Alguns estudos avaliaram o teor de água presente em pó de plantas medicinais e assim como este estudo observaram que suas amostras estão dentro das recomendações da Farmacopéia Brasileira IV (1988), pois a perda por dessecação das drogas vegetais foram inferiores a 14%.

O pH em solução aquosa a 1% (p/v), do extrato nebulizado foi de 4,85. Assim essa solução pode ser considerada fracamente ácida, pois segundo a Farmacopéia Brasileira V (2010), visto que uma solução é considerada ácida quando o pH está entre 1,0 a 6,6; fracamente ácida entre 4,0 a 6,6; fortemente ácida entre 1,0 a 4,0; alcalina entre 7,6 a 13,0; fracamente alcalina entre 7,6 a 8,8; e fortemente alcalina entre 9,3 a 10,5.

3.5. Estudo de pré-formulação

3.5.1. Extrato nebulizado de *Schinopsis brasiliensis* Engler.

As curvas de TG e DSC do extrato nebulizado de *Schinopsis brasiliensis* Engler encontram-se na figura 13. Os resultados referentes aos percentuais de perda de massa e variação de temperatura em cada evento ocorrido no processo estão descritos na tabela 8, e os dados referentes aos picos endotérmicos estão descritos na tabela 9.

Figura 13 - Curvas TG (A) e DSC (B) do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler.

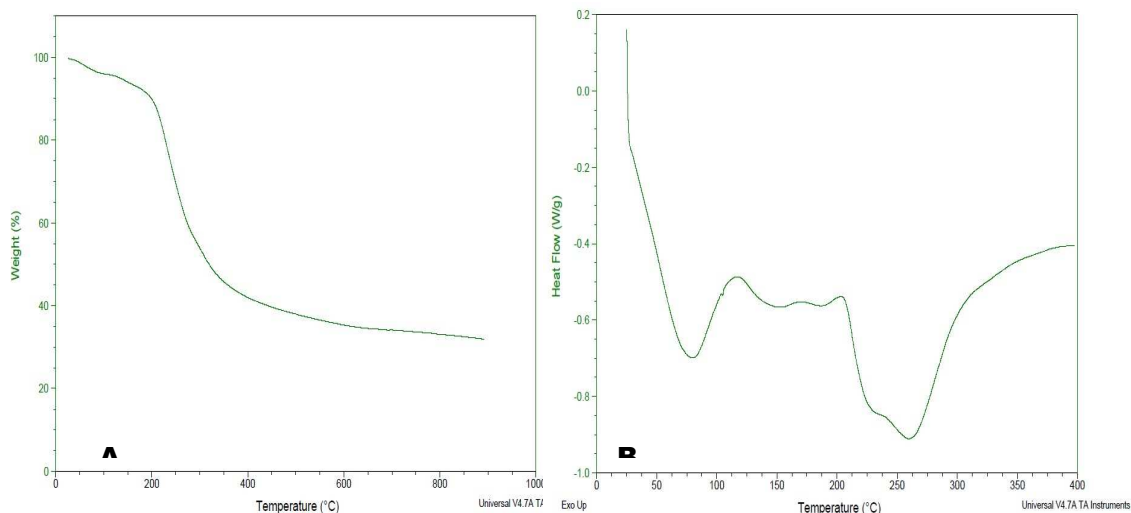


Tabela 8 - Dados termogravimétricos do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler.

| Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |

Na curva TG, o extrato apresentou uma etapa de perda de umidade entre as temperaturas de 28,33 e 106,61 °C, a qual corresponde a 3,83% de sua massa. A segunda etapa, cuja temperatura situou-se entre 109,84 a 168,74 °C foi atribuída ao início da decomposição térmica do extrato. A partir desta etapa ocorreu uma progressiva perda de massa da amostra, que correspondeu ao seu processo de decomposição. No final deste processo, em torno de 890,97 °C verificou-se a presença de um resíduo mineral, o qual não se decompõe, na sua totalidade, até 900 °C. Esse resíduo corresponde ao teor de cinzas da amostra, que foi de 23,41 %, ocorrido numa faixa de temperatura de 28,33 a 890,97 °C. Este resíduo pode ser atribuído ao teor de Aerosil® contido na amostra que foi de 20,00 %.

Tabela 9 - Dados DSC referentes aos picos endotérmicos do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler.

| Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |

A curva de DSC do extrato de *S. brasiliensis* Engl. mostrou que os processos térmicos ocorreram entre 31,52 a 207,51 °C. O primeiro pico endotérmico ocorreu na temperatura de 73,81 °C ($\Delta H = 102,1$ J/g) e provavelmente está relacionado com a perda de constituintes voláteis da amostra, como a água e possivelmente o etanol, tendo em vista que o extrato nebulizado foi produzido a partir de uma solução hidroalcoólica a 70 %. O processo de decomposição térmica ocorreu com formação de mais eventos endotérmicos a partir de 145,60 °C. Esta decomposição pode estar associada a uma grande variedade de metabólitos secundários, presentes em matérias-primas de origem vegetal, principalmente compostos fenólicos.

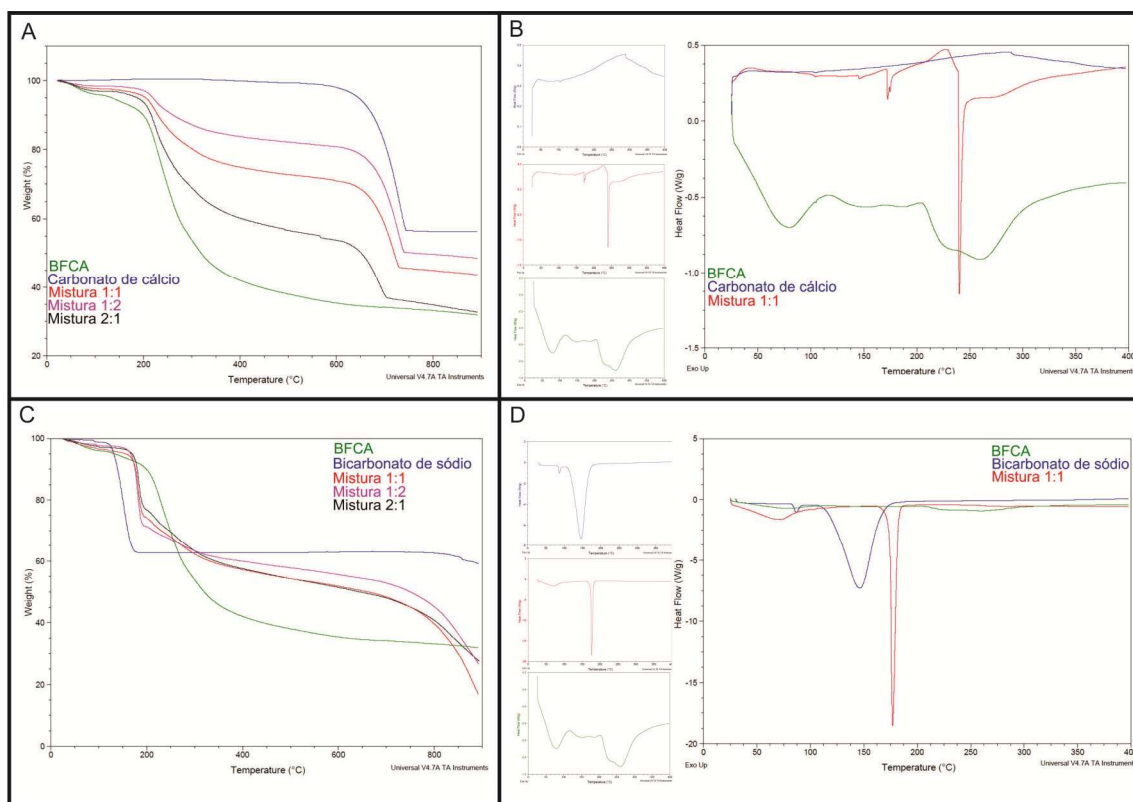
3.5.2. Misturas binárias

O estudo de pré-formulação é o primeiro passo no desenvolvimento de uma substância em forma farmacêutica. Esse estudo avalia as propriedades físicas e químicas de um fármaco isolado ou associado a diversos excipientes. Para isso, usa-se o sistema de misturas binárias, que visa apenas esclarecer eventuais incompatibilidades que possam surgir. Assim foram desenvolvidas misturas com os excipientes usados na formulação de um dentifrício e o extrato nebulizado de *S. brasiliensis*.

3.5.2.1. Agentes abrasivos

Como agentes abrasivos foram estudados o carbonato de cálcio e o bicarbonato de sódio, a fim de avaliar qual destes apresentou melhor comportamento com o extrato. As curvas TG e DSC das misturas binária extrato + excipientes encontram-se nas figuras 14.

Figura 14 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do carbonato de Cálcio; C e D - curvas do bicarbonato de sódio.



A curva termogravimétrica do carbonato de cálcio apresentou uma etapa de decomposição térmica. E suas misturas três (1:1 e 1:2) e cinco (2:1). A primeira refere-

se a uma faixa de temperatura de 26,60 a 87,77 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 2,18 %; 21,60 a 71,10 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 1,13 %; e 24,76 a 100,58 °C, com perda de massa de 3,13 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição das misturas binárias ocorreu nas temperaturas de 146,31 °C (1:1), 185,89 °C (1:2), 139,55 °C (2:1) (Tabela 10). Desta forma observa-se que nas concentrações 1:1 e 2:1 o processo de decomposição é antecipado, visto que nesse misturas ocorre em 146,31°C e 139,55°C e no extrato isolado ocorre em 169,55°C.

Tabela 10 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbonato de cálcio.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|---------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Carbonato de cálcio | Primeira | 568,16 | 749,76 | 42,24 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 26,60 | 87,77 | 2,18 |
| | Segunda | 146,31 | 396,30 | 22,25 |
| | Terceira | 594,73 | 25,38 | 735,61 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 21,60 | 71,10 | 1,13 |
| | Segunda | 185,89 | 364,91 | 13,10 |
| | Terceira | 588,17 | 740,87 | 30,74 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 24,76 | 100,58 | 3,13 |
| | Segunda | 139,55 | 295,67 | 27,16 |
| | Terceira | 295,67 | 480,57 | 12,30 |
| | Quarta | 524,79 | 591,78 | 2,09 |
| | Quinta | 591,78 | 716,65 | 14,40 |

A curva DSC do carbonato de cálcio não apresentou picos endotérmicos. A mistura binária apresentou dois processos de transições de fases, sendo o primeiro referente à vaporização da amostra 172,45 °C ($\Delta H = -3,69$ kJ/kg) (Tabela 11). Entretanto observa-se que embora a última etapa de decomposição visualizada do extrato inicie em 260°C e em mistura em 240°C, esta permanece mais tempo até chegar ao fim.

Tabela 11 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbonato de cálcio.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|---------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Carbonato de cálcio | — | — | — | — |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 172,45 | 171,80 | 3,69 |
| | Segundo | 240,16 | 229,10 | 28,77 |

A curva termogravimétrica do bicarbonato de sódio apresentou três etapas de decomposição térmica, a primeira na faixa de 84,99 a 115,31°C com perda de massa de 0,99%, e suas misturas seis (1:1 e 2:1) e cinco (1:2). A primeira refere-se a uma faixa de temperatura de 25,55 a 110,44 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 3,60 %; 31,08 a 98,48 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 1,73 %; e 26,01 a 104,80 °C, com perda de massa de 2,63 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição do excipiente ocorreu em 118,34 °C, e para as misturas binárias ocorreu nas temperaturas de 110,44 °C (1:1), 98,11 °C (1:2), 104,83 °C (2:1) (Tabela 12).

Analisando a curva termogravimétrica é possível notar que a degradação das misturas ocorre em várias etapas distintas e que essas etapas de decomposição retratam etapas tanto do extrato como do excipiente. Isto pode indicar que um componente não interferiu no perfil de estabilidade do outro. Assim, a primeira etapa pode ser atribuída à degradação do excipiente e a segunda, à degradação do extrato.

A curva DSC do carbonato de cálcio e da mistura binária apresentou dois picos endotérmicos, sendo o primeiro referente à perda de umidade da amostra, que ocorreu na temperatura de 86,86 °C ($\Delta H = -18,89$ kJ/kg) e 64,93 °C ($\Delta H = -281,80$ kJ/kg, respectivamente; e o último corresponde a sua decomposição, que ocorreu em 146,85 °C e 177,02 °C, para o excipiente e a mistura, respectivamente (Tabela 13).

Tabela 12 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Bicarbonato de sódio.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|----------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Bicarbonato de Sódio | Primeira | 84,99 | 115,31 | 0,99 |
| | Segunda | 118,34 | 194,9 | 35,87 |
| | Terceira | 802,10 | 891,94 | 3,42 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 25,55 | 110,44 | 3,60 |
| | Segunda | 110,44 | 129,49 | 0,56 |
| | Terceira | 129,49 | 200,12 | 21,74 |
| | Quarta | 200,12 | 239,36 | 5,05 |
| | Quinta | 239,36 | 469,17 | 14,01 |
| | Sexta | 659,75 | 891,59 | 33,00 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 31,08 | 98,48 | 1,73 |
| | Segunda | 98,11 | 129,49 | 0,16 |
| | Terceira | 130,07 | 199,58 | 26,29 |
| | Quarta | 200,12 | 365,34 | 10,62 |
| | Quinta | 684,24 | 892,48 | 26,80 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 26,01 | 104,80 | 2,63 |
| | Segunda | 104,83 | 145,19 | 0,42 |
| | Terceira | 145,19 | 201,68 | 20,22 |
| | Quarta | 202,36 | 240,48 | 5,66 |
| | Quinta | 239,36 | 426,57 | 14,30 |
| | Sexta | 672,08 | 893,57 | 21,54 |

Tabela 13 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Bicarbonato de sódio.

| Bicarbonato de Sódio | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|-----------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Excipiente | Primeiro | 86,86 | 83,34 | 18,89 |
| | Segundo | 146,85 | 106,36 | 1259 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 64,93 | 25,13 | 281,80 |
| | Segundo | 177,02 | 161,06 | 5333,90 |

As misturas com Bicarbonato de Sódio, por sua vez, demonstraram eventos muito diferentes do esperado. O processo endotérmico que ocorre no excipiente a partir da temperatura de 146,85 °C é deslocado para temperaturas ao redor de 177,00 °C, envolvendo uma entalpia menor. Esse deslocamento pode significar um incremento na estabilidade deste excipiente. Nestas misturas é possível também verificar os processos típicos do extrato, o que demonstra sua compatibilidade com este, entretanto em nenhuma das curvas foi visualizado o pico de fusão do bicarbonato de sódio que deveria ser em 270,00 °C (SHESKEY; ROWE; QUINN, 2009).

Com bases nos resultados apresentados para os sugere-se o bicarbonato de sódio apresenta um comportamento mais adequado do que o carbonato de cálcio. Desta forma, o bicarbonato de sódio foi escolhido para compor a formulação do dentifrício como agente abrasivo.

3.5.2.2. Agentes espessantes

Com agentes espessantes foram estudados o Carbopol 940, Carboximetilcelulose e a Hidroxietilcelulose, a fim de avaliar qual destes excipientes apresentaram melhor comportamento térmico com o extrato nebulizado. As curvas de TG e DSC dos espessantes, das misturas binárias e do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler encontram-se na figura 15.

A curva termogravimétrica do carbopol 940 e das suas misturas binárias apresentaram cinco e quatro etapas de decomposição térmica, respectivamente. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 27,66 a 81,43 °C, com perda de massa de 3,66 %, para o carbopol 940; 27,73 a 85,17 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 6,81 %; 27,62 a 86,42 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 7,25 %; e 27,50 a 87,74 °C, com perda de massa de 7,67 %, para a mistura 1:2. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 185,86 °C para o carbopol 940 e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 145,58 °C (1:1), 149,36 °C (1:2), 146,84 °C (2:1) (Tabela 14). Percebe-se que a etapa três visualizada no extrato isolado é representada na etapa dois nas misturas, mostrando uma antecipação do processo quanto extrato esta associado ao excipiente.

A curva DSC do carbopol 940 apresentou dois picos endotérmicos principais corresponde a transições de fases. O primeiro, a 74,60 °C ($\Delta H = -129,70$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra e o segundo relacionado a sua decomposição final em 344,15 °C ($\Delta H = -30,63$ kJ/kg). A mistura binária 1:1

apresentou três processos de transições de fases, sendo o primeiro referente à perda de umidade a 66,56 °C e o último a decomposição final da amostra a 355,26 °C (Tabela 15). Observa-se que a mistura apresenta comportamento característicos dos dois componentes e que a última etapa de decomposição visualizada ocorre em temperatura mais alta do que quando o extrato está isolado. O pico endotérmico que aparece tanto no excipiente, quanto na mistura em 245,38 °C e 252,22 °C, respectivamente, pode ser referente a antecipação do processo de decomposição do excipiente, pois segundo Rowe, Sheskey & Quinn (2009), sua decomposição ocorre em 260 °C.

Figura 15 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do carbopol 940; C e D - curvas do carboximetilcelulose; E e F – curvas do hidroxietilcelulose.

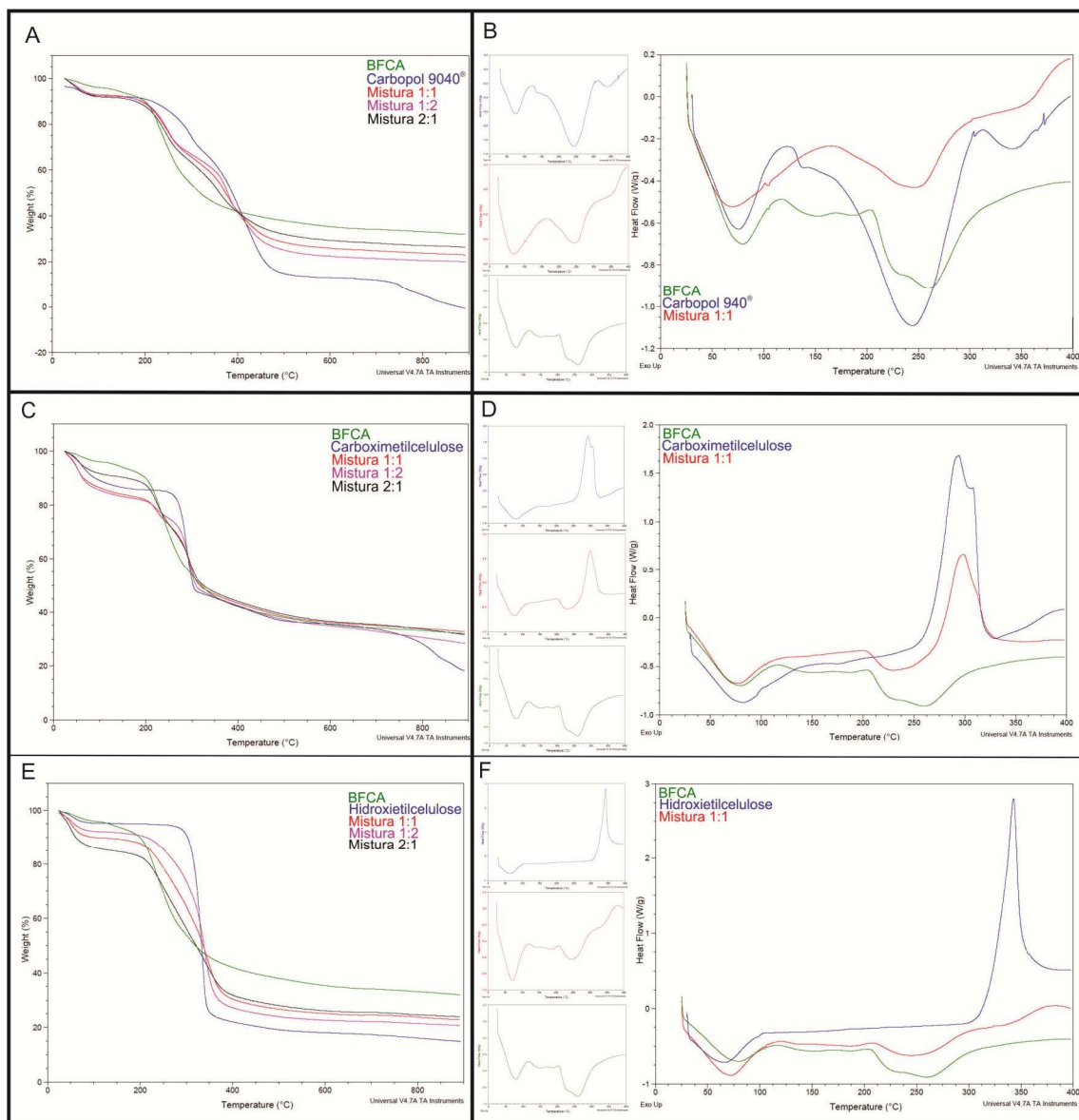


Tabela 14. Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbopol 940.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|-----------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato seco | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Carbopol 940 | Primeira | 27,66 | 81,43 | 3,66 |
| | Segunda | 185,86 | 328,09 | 23,79 |
| | Terceira | 327,92 | 516,90 | 53,55 |
| | Quarta | 649,66 | 775,22 | 5,70 |
| | Quinta | 775,22 | 880,59 | 7,02 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 27,73 | 85,17 | 6,81 |
| | Segunda | 145,58 | 294,11 | 25,68 |
| | Terceira | 294,29 | 413,12 | 27,37 |
| | Quarta | 413,12 | 706,83 | 14,58 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 27,62 | 86,42 | 7,25 |
| | Segunda | 149,36 | 295,37 | 24,45 |
| | Terceira | 295,37 | 412,00 | 29,08 |
| | Quarta | 412,00 | 767,37 | 17,68 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 27,50 | 87,74 | 7,67 |
| | Segunda | 146,84 | 289,80 | 26,39 |
| | Terceira | 290,33 | 408,63 | 24,89 |
| | Quarta | 408,63 | 747,19 | 12,66 |

Tabela 15 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carbopol 940.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,3 | 172,54 | 1,80 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Carbopol 940 | Primeiro | 74,6 | 31,39 | 129,7 |
| | Segundo | 136,64 | 123,05 | 1,20 |
| | Terceiro | 245,38 | 145,43 | 391,81 |
| | Quarto | 344,15 | 304,05 | 30,63 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 66,56 | 27,52 | 143,70 |
| | Segundo | 252,22 | 167,45 | 103,40 |
| | Terceiro | 355,26 | 306,69 | 23,82 |

A curva termogravimétrica do carboximetilcelulose e das suas misturas binárias apresentaram quatro etapas de decomposição térmica. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 27,12 a 153,24 °C, com perda de massa de 13,59 %, para o carboximetilcelulose; 26,37 a 73,25 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 10,91 %; 26,37 a 73,25 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 10,91 %; e 24,07 a 128,18 °C, com perda de massa de 9,18 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 232,22 °C, para o carboximetilcelulose, e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 74,58 °C (1:1), 75,20 °C (1:2), 128,18 °C (2:1) (Tabela 16).

Tabela 16 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carboximetilcelulose.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|----------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Carboximetilcelulose | Primeira | 27,12 | 153,24 | 13,59 |
| | Segunda | 232,22 | 323,80 | 38,68 |
| | Terceira | 325,95 | 544,89 | 10,64 |
| | Quarta | 693,48 | 891,24 | 15,56 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 26,37 | 73,25 | 10,91 |
| | Segunda | 74,58 | 172,39 | 5,46 |
| | Terceira | 172,39 | 246,09 | 9,83 |
| | Quarta | 246,28 | 537,57 | 36,07 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 25,81 | 75,73 | 12,32 |
| | Segunda | 75,92 | 187,13 | 5,65 |
| | Terceira | 187,99 | 245,91 | 6,47 |
| | Quarta | 246,09 | 359,98 | 30,77 |
| | Quinta | 360,70 | 559,63 | 9,16 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 24,07 | 128,18 | 9,18 |
| | Segunda | 128,18 | 256,81 | 19,55 |
| | Terceira | 256,81 | 408,22 | 27,87 |
| | Quarta | 408,22 | 692,28 | 8,16 |

As curvas DSC do carboximetilcelulose e da mistura binária a 1:1 apresentaram três picos, respectivamente, correspondentes às transições de fases das amostras. O primeiro, a 79,99 °C ($\Delta H = -145,40$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra e o último, exotérmico, relacionado a sua decomposição final em 320,93 °C ($\Delta H = -325,26$ kJ/kg), para o excipiente; e a 67,71 °C ($\Delta H = -123,80$ kJ/kg) e 298,65 °C ($\Delta H = -151,80$ kJ/kg), para mistura binária 1:1 (Tabela 17).

As curvas termogravimétricas das misturas binárias produzidas com o carboximetilcelulose + extrato demonstram uma antecipação no seu processo final de degradação, quando comparado com o do excipiente. Já, a curva calorimétrica da mistura binária apresenta características semelhantes à do excipiente farmacêutico, mostrando, assim, provável interação entre o excipiente e o extrato nebulizado.

Tabela 17 - Dados DSC referentes aos processos transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + carboximetilcelulose.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|----------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,3 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,5 |
| Carboximetilcelulose | Primeiro | 79,99 | 31,81 | 145,4 |
| | Segundo | 290,08 | 248,04 | 59,25 |
| | Terceiro | 320,93 | 307,72 | 325,26 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 67,71 | 26,51 | 123,80 |
| | Segundo | 232,97 | 202,73 | 68,18 |
| | Terceiro | 298,65 | 271,71 | 151,80 |

A curva termogravimétrica do hidroxietilcelulose apresentaram duas etapas de decomposição térmica. E suas misturas três (1:1 e 2:1) e duas (1:2). A primeira refere-se a uma faixa de temperatura de 26,87 a 83,73 °C, com perda de massa de 4,17 %, para o hidroxietilcelulose; 24,83 a 88,94 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 9,62 %; 24,75 a 93,98 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 6,90 %; e 26,94 a 137,56 °C, com perda de massa de 14,99 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 265,15 °C, para o hidroxietilcelulose, e para as

suas misturas binárias nas temperaturas de 165,72 °C (1:1), 195,93 °C (1:2), 137,56 °C (2:1) (Tabela 18).

Tabela 18 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Hidroxietilcelulose.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|---------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Hidroxietilcelulose | Primeira | 26,87 | 83,73 | 4,17 |
| | Segunda | 265,15 | 385,98 | 71,84 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 24,83 | 88,94 | 9,62 |
| | Segunda | 165,72 | 272,89 | 16,86 |
| | Terceira | 274,23 | 471,19 | 44,77 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 24,75 | 93,98 | 6,90 |
| | Segunda | 195,93 | 430,05 | 64,95 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 26,94 | 137,56 | 14,99 |
| | Segunda | 137,56 | 412,24 | 53,89 |
| | Terceira | 412,24 | 649,40 | 5,45 |

As curvas DSC do hidroxietilcelulose e da mistura binária a 1:1 apresentaram dois e três processos de transições de fases, respectivamente. O primeiro, a 65,60 °C ($\Delta H = -104,20$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra e o último, exotérmico, relacionado a sua decomposição final em 342,74 °C ($\Delta H = -258,10$ kJ/kg), para o excipiente; e a 68,96 °C ($\Delta H = -148,40$ kJ/kg) e 189,95 °C ($\Delta H = -3,51$ kJ/kg), para mistura binária 1:1 (Tabela 19).

As curvas termogravimétricas das misturas binárias produzidas com o hidroxietilcelulose + extrato demonstram uma antecipação no seu processo final de degradação, quando comparado com o do excipiente. Já, a curva calorimétrica da mistura binária apresenta comportamento característico do extrato nebulizado.

Tabela 19 - Dados referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + hidroxietilcelulose.

| Amostra | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|---------------------|-----------------------|-----------|------------|-------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,8070 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Hidroxietilcelulose | Primeiro | 65,60 | 31,39 | 104,20 |
| | Segundo | 342,74 | 300,30 | 258,10 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 68,96 | 27,02 | 148,40 |
| | Segundo | 189,95 | 170,47 | 3,512 |
| | Terceiro | 252,43 | 211,25 | 66,05 |

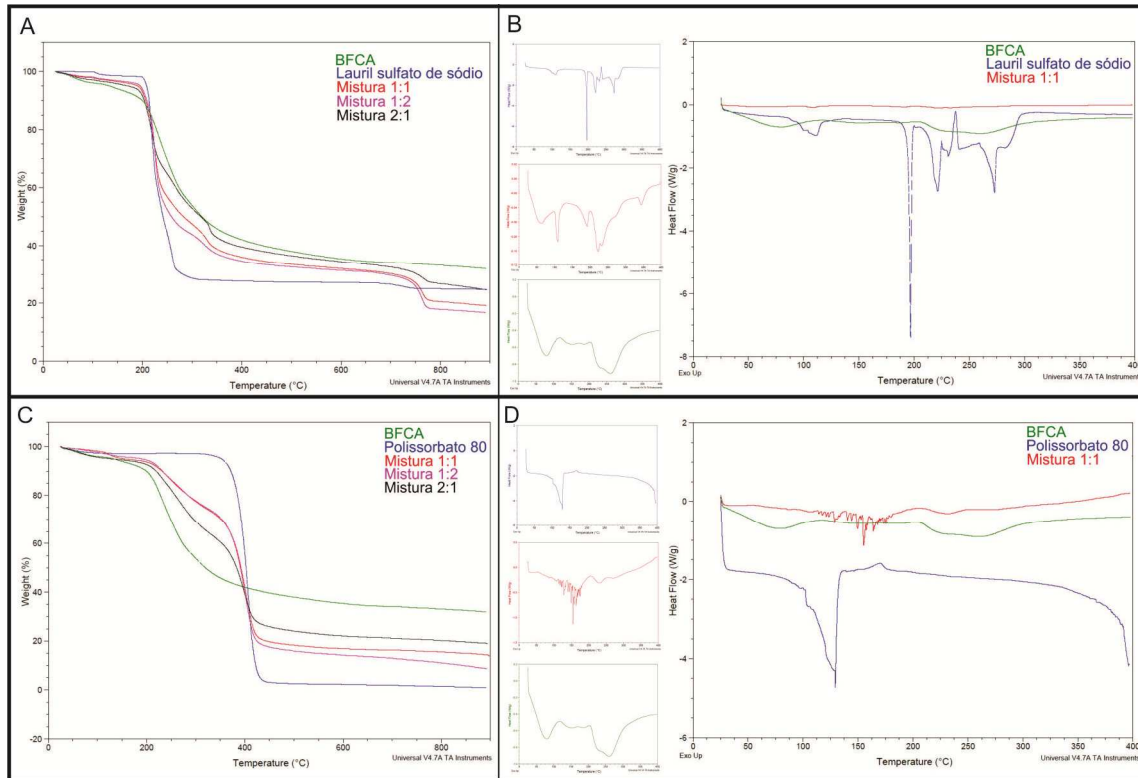
Assim, com bases nos resultados apresentados sugere-se que entre esses três, nas condições analisadas, o hidroxietilcelulose apresentou um comportamento térmico mais adequado para compor a formulação do dentífrico como agente espessante.

3.5.2.3. Agentes tensoativos

Como tensoativos foram estudados o lauril sulfato de sódio e polissorbato 80, a fim de avaliar qual destes excipientes apresentariam melhor comportamento térmico com o extrato nebulizado. As curvas de TG e DSC dos tensoativos, das misturas e do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler encontram-se na figura 16.

A curva termogravimétrica do lauril sulfato de sódio e das suas misturas binárias apresentaram quatro etapas de decomposição térmica, com exceção da 1:2 que apresentou cinco processos. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 99,92 a 124,40 °C, com perda de massa de 1,01 %, para o lauril; 26,35 a 118,80 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 2,78 %; 27,69 a 122,82 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 2,51 %; e 26,21 a 76,36 °C, com perda de massa de 2,35 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 188,38 °C para o lauril e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 166,49 °C (1:1), 170,97 °C (1:2), 162,72 °C (2:1) (Tabela 20).

Figura 16 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B –curvas do Lauril Sulfato de Sódio; C e D - curvas do Polissorbato 80.



Em todas as misturas, a etapa principal de degradação se inicia à mesma faixa de temperatura, entre 162,72 e 170,97 °C, entretanto a última etapa de decomposição visualizada ocorre com uma antecipação com cerca de 100°C ao compará-las com o extrato isolado. Na curva DSC do excipiente é possível visualizar o início da fusão do lauril sulfato de sódio em 205,82 °, pois segundo Sheskey; Rowe; Quinn (2009), seu processo de fusão ocorre entre 205 a 207 °C. Já, a curva calorimétrica da mistura binária apresenta características semelhantes à do excipiente farmacêutico.

Tabela 20 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Lauril Sulfato de sódio.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|-------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Lauril Sulfato de Sódio | Primeira | 99,92 | 124,40 | 1,01 |
| | Segunda | 188,38 | 248,77 | 53,28 |
| | Terceira | 248,86 | 319,95 | 16,95 |
| | Quarta | 658,78 | 768,65 | 2,01 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 26,35 | 118,80 | 2,783 |
| | Segunda | 166,49 | 293,17 | 47,64 |
| | Terceira | 293,17 | 396,30 | 12,38 |
| | Quarta | 692,26 | 786,43 | 9,70 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 27,69 | 122,82 | 2,51 |
| | Segunda | 170,97 | 290,75 | 51,60 |
| | Terceira | 291,65 | 379,54 | 9,40 |
| | Quarta | 711,41 | 786,80 | 11,25 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 26,21 | 76,36 | 2,35 |
| | Segunda | 162,72 | 246,09 | 29,46 |
| | Terceira | 246,09 | 314,36 | 15,30 |
| | Quarta | 314,36 | 420,73 | 11,83 |
| | Quinta | 714,68 | 793,15 | 5,19 |

Tabela 21 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Lauril Sulfato de sódio.

| Amostra | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|-------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,807 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,5 |
| Lauril Sulfato de Sódio | Primeiro | 111,51 | 85,76 | 53,37 |
| | Segundo | 196,84 | 184,15 | 95,14 |
| | Terceiro | 221,08 | 205,82 | 73,80 |
| | Quarto | 237,37 | 231,04 | 32,42 |
| | Quinto | 272,80 | 259,45 | 51,41 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 53,92 | 28,62 | 6,56 |
| | Segundo | 131,22 | 97,48 | 2,70 |
| | Terceiro | 191,89 | 157,86 | 2,30 |
| | Quarto | 223,32 | 200,84 | 15,44 |
| | Quinto | 345,07 | 336,60 | 1,40 |

A curva termogravimétrica do Polissorbato 80 e das suas misturas binárias apresentaram duas, quatro e três etapas de decomposição térmica, respectivamente. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 26,87 a 89,00 °C, com perda de massa de 2,28 %, para o polissorbato; 25,32 a 101,38 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 1,82 %; 24,76 a 147,97 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 3,99 %; e 26,87 a 102,69 °C, com perda de massa de 4,32 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 315,42 °C para o excipiente e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 101,64 °C (1:1), 183,78 °C (1:2), 164,25 °C (2:1) (Tabela 22), e embora a última etapa de decomposição visualizada nas misturas estejam sendo finalizadas antes da temperatura em que ocorre quando extrato está isolado, esta etapa inicia-se em todas as misturas em temperaturas maiores.

Tabela 22 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + polissorbato 80.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Polissorbato 80 | Primeira | 26,87 | 89,00 | 2,28 |
| | Segunda | 315,42 | 455,11 | 94,05 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 25,32 | 101,38 | 1,82 |
| | Segunda | 101,64 | 184,45 | 3,82 |
| | Terceira | 184,83 | 326,48 | 20,54 |
| | Quarta | 461,80 | 326,66 | 54,52 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 24,76 | 147,97 | 3,99 |
| | Segunda | 183,78 | 321,12 | 20,30 |
| | Terceira | 321,19 | 493,39 | 58,87 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 26,87 | 102,69 | 4,32 |
| | Segunda | 164,25 | 331,84 | 30,68 |
| | Terceira | 332,40 | 503,92 | 39,56 |

As curvas DSC do polissorbato e da mistura binária a 1:1 apresentou um pico endotérmico em 129,41 °C ($\Delta H = -288,83$ kJ/kg). E a mistura binária apresentou nove picos referente aos processos de transições de fases da amostra, o primeiro em 28,77 °C ($\Delta H = -16,43$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra e

o último relacionado a sua decomposição final em 283,72°C ($\Delta H = - 5,20$ kJ/kg (Tabela 23).

Na mistura 1:1 com o Polissorbato 80 foram observados vários picos endotérmicos consecutivos causados por reações de natureza desconhecida, uma vez que nem o extrato nem o excipiente isolados apresentaram este comportamento. Entretanto, estas alterações não comprometeram a estabilidade da mistura, pois o último pico de decomposição ocorreu acima de 260,00 °C, não mostrando assim antecipação da decomposição do extrato.

Tabela 23 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + polissorbato 80.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,807 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Polissorbato 80 | Primeiro | 129,41 | 80,08 | 288,83 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 28,77 | 25,72 | 16,43 |
| | Segundo | 128,73 | 127,75 | 6,70 |
| | Terceiro | 140,41 | 139,60 | 1,64 |
| | Quarto | 144,15 | 143,51 | 1,62 |
| | Quinto | 148,06 | 149,66 | 5,18 |
| | Sexto | 154,33 | 155,18 | 10,61 |
| | Sétimo | 163,89 | 163,10 | 13,22 |
| | Oitavo | 231,33 | 212,40 | 17,71 |
| | Nono | 283,72 | 261,76 | 5,20 |

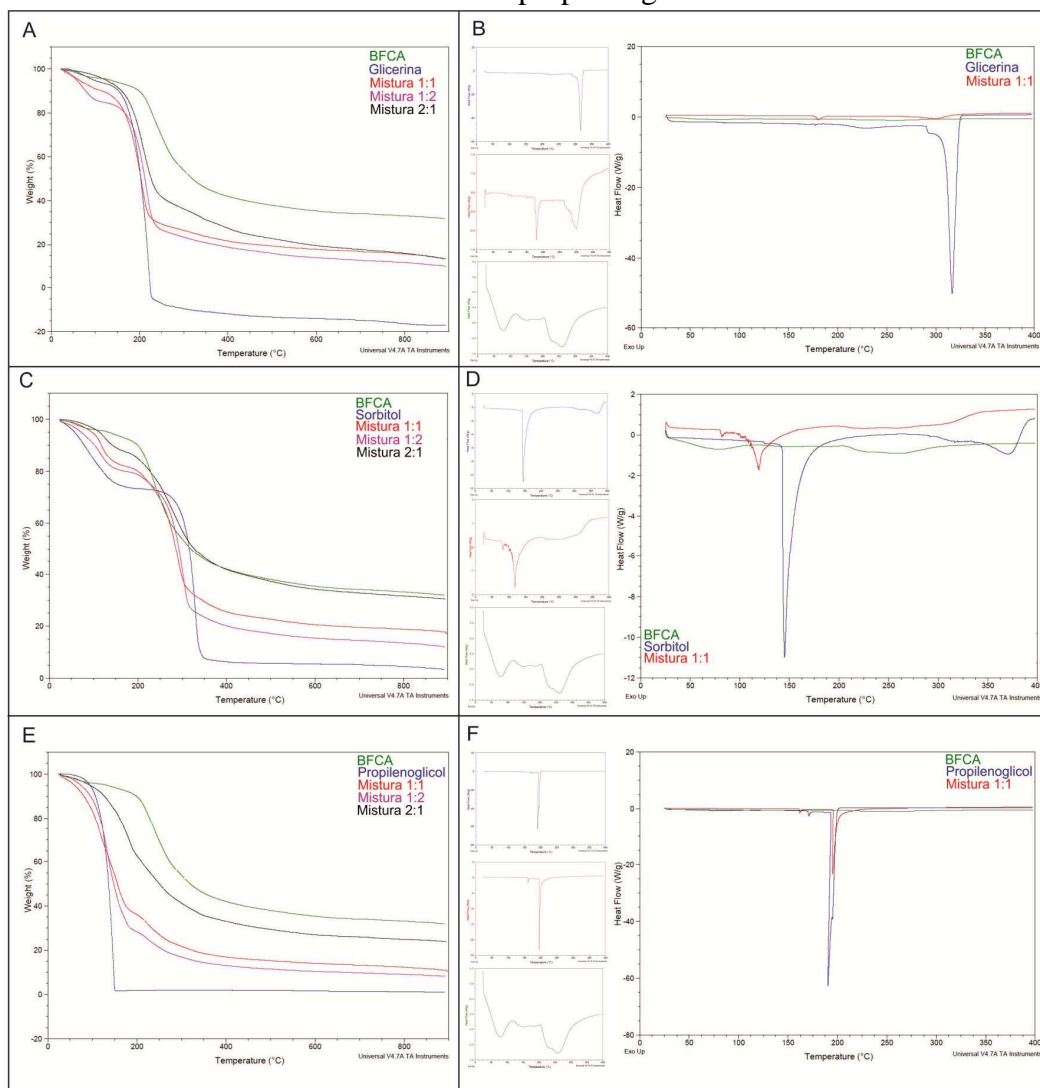
Com bases nos resultados apresentados sugere-se que, nas condições analisadas, o polissorbato 80 apresentou um comportamento mais adequado do que o lauril sulfato de sódio. Desta forma, o polissorbato 80 foi escolhido para compor a formulação do dentifrício como agente tensoativo.

3.5.2.4. Agentes umectantes

Como umectantes foram estudados a glicerina, sorbitol e propilenoglicol, a fim de avaliar qual destes excipientes apresentariam melhor comportamento térmico com o

extrato nebulizado. As curvas de TG e DSC dos umectantes, das misturas e do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler encontram-se na figura 17.

Figura 17 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas da glicerina; C e D - curvas do sorbitol; E e F – curvas do propilenoglicol.



A curva termogravimétrica da glicerina e das suas misturas binárias apresentaram duas, três (1:1; 1:2) e duas (2:1) etapas de decomposição térmica, respectivamente. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 23,67 a 116,12 °C, com perda de massa de 6,35 %, para a glicerina; 22,65 a 107,96 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 9,57 %; 28,97 a 120,59 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 14,36 %; e 23,49 a 282,27 °C, com perda de massa de 62,02 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 116,12 °C para a glicerina e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 108,19 °C (1:1), 120,59 °C (1:2), 282,78 °C (2:1) (Tabela 24).

Tabela 24 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + glicerina.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Glicerina | Primeira | 23,67 | 116,12 | 6,35 |
| | Segunda | 116,12 | 235,37 | 99,76 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 22,65 | 107,96 | 9,57 |
| | Segunda | 108,19 | 265,14 | 61,99 |
| | Terceira | 265,14 | 638,45 | 10,95 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 28,97 | 120,59 | 14,36 |
| | Segunda | 120,59 | 272,99 | 59,79 |
| | Terceira | 273,29 | 577,91 | 10,67 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 23,49 | 282,27 | 62,02 |
| | Segunda | 282,78 | 610,54 | 18,63 |

As curvas DSC da glicerina e da mistura binária a 1:1 apresentaram um e dois picos, respectivamente, correspondentes às transições de fases das amostras (Tabela 25).

Tabela 25 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + glicerina.

| Amostra | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Glicerina | Primeiro | 316,48 | 289,09 | 2644 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 179,84 | 177,84 | 42,92 |
| | Segundo | 301,50 | 256,22 | 217,40 |

A glicerina se mostrou compatível com o extrato vegetal. Este excipiente apresenta um forte evento endotérmico a 316,48 °C, que não foi detectado na mistura 1:1. A supressão deste evento, aliado à conservação das demais características térmicas da mistura, pode caracterizar uma melhora na estabilidade dos componentes.

A curva termogravimétrica do sorbitol e das suas misturas binárias apresentaram duas e quatro etapas de decomposição térmica, respectivamente. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 23,71 a 187,99 °C, com perda de massa de 26,52 %, para o sorbitol; 38,59 a 173,73 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 17,52 %; 23,71 a 169,70 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 19,52 %; e 23,02 a 165,70 °C, com perda de massa de 12,13 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 234,33 °C para a glicerina e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 173,73 °C (1:1), 169,71 °C (1:2), 165,88 °C (2:1) (Tabela 26).

As curvas DSC do sorbitol e da mistura binária a 1:1 apresentou um pico endotérmico em 145,04 °C ($\Delta H = -656,60$ kJ/kg). E a mistura binária apresentou cinco picos referente aos processos de transições de fases da amostra, o primeiro em 81,74 °C ($\Delta H = -5,66$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra e o último relacionado a sua decomposição final em 313,12°C ($\Delta H = -27,31$ kJ/kg (Tabela 27).

Tabela 26 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + sorbitol.

| Sorbitol | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Sorbitol | Primeira | 23,71 | 187,99 | 26,52 |
| | Segunda | 234,33 | 373,38 | 66,06 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 38,59 | 173,73 | 17,52 |
| | Segunda | 173,73 | 225,99 | 6,48 |
| | Terceira | 225,99 | 338,54 | 44,62 |
| | Quarta | 338,54 | 631,98 | 10,56 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 23,71 | 169,70 | 19,52 |
| | Segunda | 169,71 | 230,01 | 5,25 |
| | Terceira | 230,01 | 341,22 | 50,50 |
| | Quarta | 341,22 | 581,06 | 8,66 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 23,02 | 165,70 | 12,13 |
| | Segunda | 165,88 | 228,67 | 8,20 |
| | Terceira | 228,67 | 440,37 | 39,97 |
| | Quarta | 440,37 | 715,05 | 7,10 |

Tabela 27 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + sorbitol.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Sorbitol | Primeiro | 145,04 | 138,33 | 656,60 |
| | Segundo | 316,70 | 291,42 | 6,69 |
| | Terceiro | 374,87 | 342,47 | 161,00 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 81,74 | 79,01 | 5,66 |
| | Segundo | 119,07 | 86,82 | 204,50 |
| | Terceiro | 212,45 | 194,81 | 9,34 |
| | Quarto | 265,77 | 248,53 | 6,35 |
| | Quinto | 312,12 | 285,02 | 27,31 |

Na mistura 1:1 com Sorbitol, um pequeno evento endotérmico, provavelmente relacionado ao início da decomposição do excipiente, é detectado à temperatura de 81,70 °C. Por sua vez, outro evento endotérmico, causado pela decomposição do excipiente, é antecipado para a temperatura de 119,07 °C.

A curva termogravimétrica do propilenoglicol apresentou uma etapa de decomposição térmica em 44,77 a 151,13 °C, com perda de massa de 98,42 %. E suas misturas binárias apresentaram quatro (1:1 e 2:1) e três (1:2) etapas de decomposição térmica. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura de 26,87 a 133,49 °C, com perda de massa de 36,48 %, para a mistura 1:1; 24,76 a 169,71 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 64,40 %; e 28,97 a 141,58 °C, com perda de massa de 13,61 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 133,49 para as misturas (1:1), 169,71 °C (1:2), 141,58 °C (2:1) (Tabela 28).

As curvas DSC do propilenoglicol e da mistura binária a 1:1 apresentou dois picos referente aos processos de transições de fases da amostra em 177,56 °C ($\Delta H = -16,94$ kJ/kg) e 161,74°C ($\Delta H = -13,92$ kJ/kg) (Tabela 29).

A mistura 1:1 com Propilenoglicol demonstra a compatibilidade entre o extrato e este excipiente, uma vez que os eventos que ocorrem às temperaturas de 161,74 e 195,09 °C são característicos do excipiente, sendo detectados dentro de suas faixas de temperatura normais, com consumo de calor proporcional à concentração do excipiente

na amostra. Além disso, o ultimo pico de decomposição da mistura ocorre a uma temperatura muito inferior ao ultimo pico visualizado na curva do extrato.

Tabela 28 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilenoglicol.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Propilenoglicol | Primeira | 44,77 | 151,13 | 98,42 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 26,87 | 133,49 | 36,48 |
| | Segunda | 133,49 | 203,48 | 27,66 |
| | Terceira | 203,48 | 292,05 | 13,25 |
| | Quarta | 292,05 | 577,91 | 8,10 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 24,76 | 169,71 | 64,40 |
| | Segunda | 169,71 | 196,51 | 7,00 |
| | Terceira | 196,51 | 496,65 | 14,20 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 28,97 | 141,58 | 13,61 |
| | Segunda | 141,58 | 207,23 | 25,46 |
| | Terceira | 207,23 | 313,08 | 21,14 |
| | Quarta | 313,08 | 600,81 | 12,67 |

Tabela 29 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilenoglicol.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,811 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Propilenoglicol | Primeiro | 177,56 | 168,17 | 16,94 |
| | Segundo | 190,29 | 190,20 | 1276 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 161,74 | 159,29 | 13,92 |
| | Segundo | 195,09 | 193,38 | 543,1 |

Com bases nos resultados apresentados sugere-se que, nas condições analisadas, o propilenoglicol apresentam um comportamento térmico mais adequado e, portanto, foi escolhido para compor a formulação do dentifrício como agente umectante.

3.5.2.5. Agentes edulcorantes

Com agentes edulcorante foram estudados o aspartame e o manitol, a fim de avaliar qual destes excipientes apresentaram melhor comportamento térmico com o extrato nebulizado. As curvas de TG e DSC dos edulcorantes, das misturas binárias e do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler encontram-se na figura 18.

A curva termogravimétrica do aspartame e das suas misturas binárias apresentaram quatro, seis e cinco etapas de decomposição térmica, respectivamente. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 27,96 a 67,94 °C, com perda de massa de 3,30 %, para o aspartame; 27,48 a 83,53 °C, para a mistura 1:1, com perda de massa de 3,79 %; 27,27 a 65,03 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 3,14 %; e 41,11 a 86,42 °C, com perda de massa de 2,30 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição ocorreu na temperatura de 174,30 °C para o aspartame e para as suas misturas binárias nas temperaturas de 150,79 °C (1:1), 165,72 °C (1:2), 136,39 °C (2:1) (Tabela 30).

A curva DSC do aspartame e a mistura binária 1:1 apresentou quatro e cinco picos endotérmicos, respectivamente, corresponde as transições de fases das amostras. O primeiro, a 69,03 °C ($\Delta H = -61,69$ kJ/kg), para o aspartame; e 73,14 °C ($\Delta H = -131,80$ kJ/kg), para a mistura 1;1, provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra. E o último relacionado a sua decomposição final em 328,32 °C ($\Delta H = -203,00$ kJ/kg), para o excipiente e 329,15 °C, para a mistura binária 1:1 (Tabela 31).

Na mistura do extrato BFCA com o excipiente Aspartame, não foram detectadas quaisquer alterações que caracterizassem incompatibilidade entre estes dois componentes. O perfil da mistura, conforme mostrado na figura, expressa o processo de perda de água pela amostra, que ocorre numa faixa próxima para ambos os componentes. O pico endotérmico expresso pela mistura em cerca de 185,00 °C é característico do desprendimento de metanol pelo excipiente, e este evento não é deslocado de sua faixa normal. A fusão do excipiente sofre uma antecipação, entretanto, sua degradação não é antecipada, o que indica a conservação de sua estabilidade.

Figura 18 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do aspartame; C e D - curvas do manitol.

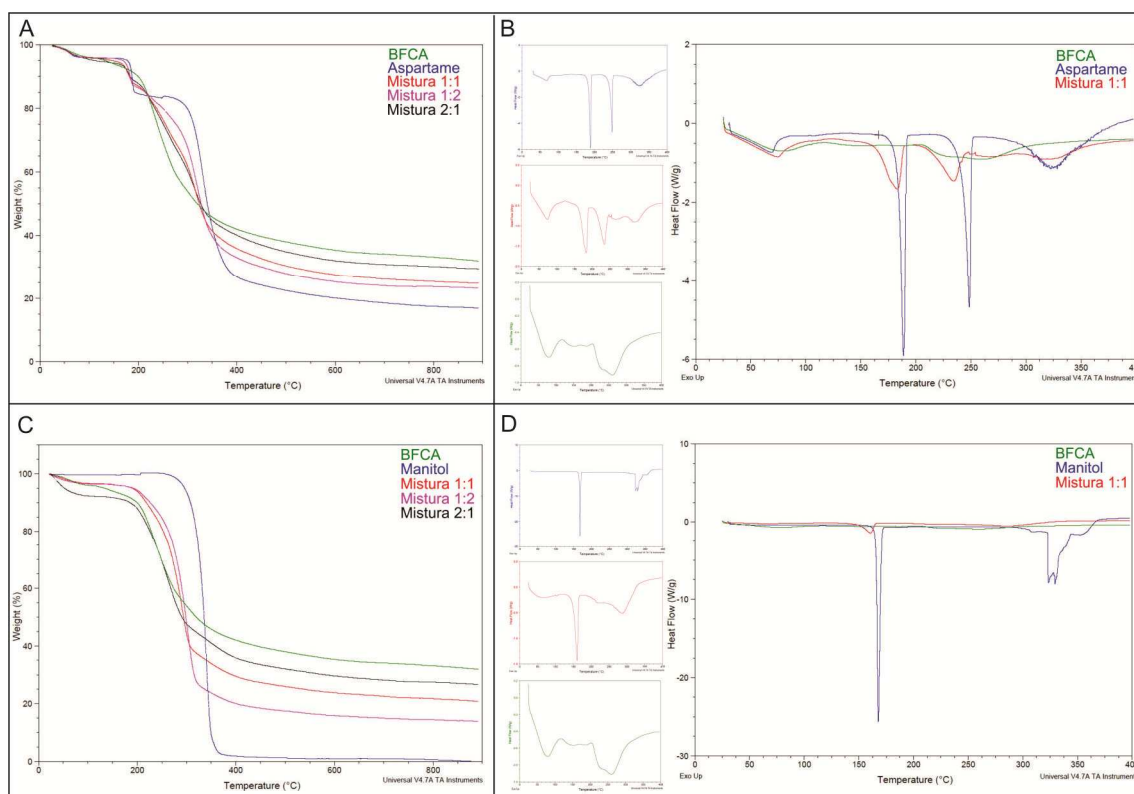


Tabela 30 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + aspartame.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|------------------------|-------------|------------|-----------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Aspartame | Primeira | 27,96 | 67,94 | 3,30 |
| | Segunda | 174,30 | 203,79 | 10,89 |
| | Terceira | 257,50 | 433,36 | 58,88 |
| | Quarta | 433,36 | 767,20 | 7,12 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 27,48 | 83,53 | 3,79 |
| | Segunda | 150,79 | 196,67 | 7,59 |
| | Terceira | 196,76 | 233,785 | 6,57 |
| | Quarta | 233,75 | 276,35 | 11,70 |
| | Quinta | 276,35 | 370,18 | 30,53 |
| | Sexta | 370,18 | 704,59 | 12,39 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 27,27 | 65,03 | 3,14 |
| | Segunda | 165,72 | 190,90 | 8,08 |

| | | | | |
|-------------|----------|--------|--------|-------|
| | Terceira | 191,15 | 239,36 | 5,56 |
| | Quarta | 239,36 | 410,88 | 49,28 |
| | Quinta | 410,88 | 755,04 | 8,47 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 41,11 | 86,42 | 2,30 |
| | Segunda | 136,39 | 193,26 | 5,99 |
| | Terceira | 193,26 | 236,93 | 9,55 |
| | Quarta | 236,93 | 276,36 | 11,57 |
| | Quinta | 276,36 | 746,14 | 36,92 |

Tabela 31 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases das misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + aspartame.

| Amostra | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Aspartame | Primeiro | 69,03 | 32,48 | 61,69 |
| | Segundo | 188,81 | 166,03 | 178,80 |
| | Terceiro | 248,53 | 220,38 | 165,30 |
| | Quarto | 328,32 | 288,77 | 203,00 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 73,14 | 26,75 | 131,80 |
| | Segundo | 182,66 | 123,05 | 125,40 |
| | Terceiro | 234,06 | 200,13 | 92,68 |
| | Quarto | 267,17 | 255,05 | 6,75 |
| | Quinto | 329,15 | 293,91 | 58,72 |

A curva termogravimétrica do manitol e das suas misturas binárias apresentaram uma, três (1:1; 2:1) e duas (1:2) etapas de decomposição térmica, respectivamente. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 22,33 a 109,42 °C, com perda de massa de 3,28 %, para a mistura 1:1; 25,20 a 65,83 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 2,80 %; e 24,76 a 94,27 °C, com perda de massa de 7,58 %, para a mistura 2:1 (Tabela 32).

Tabela 32- Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + manitol.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Manitol | Primeira | 246,97 | 377,55 | 97,92 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 22,33 | 109,42 | 3,28 |
| | Segunda | 109,42 | 338,54 | 61,40 |
| | Terceira | 338,54 | 649,72 | 12,00 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 25,20 | 65,83 | 2,80 |
| | Segunda | 178,51 | 408,09 | 75,96 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 24,76 | 94,27 | 7,58 |
| | Segunda | 144,81 | 326,48 | 48,08 |
| | Terceira | 328,05 | 609,23 | 14,30 |

A curva DSC do manitol e a mistura binária 1:1 apresentou três e quatro picos endotérmicos, respectivamente, corresponde a fusão do excipiente e as transições de fases das amostras. O primeiro em 167,76 °C ($\Delta H = -471,78$ kJ/kg), para o manitol, que corresponde ao seu processo de fusão, o qual ocorre em uma faixa de temperatura de 166,00 a 168,00 °C; e 57,36 °C ($\Delta H = -33,15$ kJ/kg), para a mistura 1;1, provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra. E o último relacionado a sua decomposição final em 358,36 °C ($\Delta H = -48,43$ kJ/kg), para o excipiente e 289,10 °C ($\Delta H = -102,10$ kJ/kg), para a mistura binária 1:1 (Tabela 33).

Na mistura binária com Manitol, é possível notar uma antecipação brusca da degradação do excipiente, onde o evento que ocorreria à temperatura de 329,40 °C passa a ocorrer em temperaturas inferiores nas misturas. Entretanto o extrato aparentemente permanece mais estável na mistura e seu último pico de decomposição é retardado em aproximadamente 28°C.

Tabela 33 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + Manitol.

| Manitol | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|-----------------------|-----------|------------|-------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Excipiente | Primeiro | 167,76 | 155,38 | 471,78 |
| | Segundo | 329,40 | 322,76 | 441,60 |
| | Terceiro | 358,36 | 345,39 | 48,43 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 57,36 | 26,33 | 33,15 |
| | Segundo | 160,77 | 126,61 | 78,15 |
| | Terceiro | 217,13 | 183,32 | 5,25 |
| | Quarto | 289,10 | 238,14 | 102,10 |

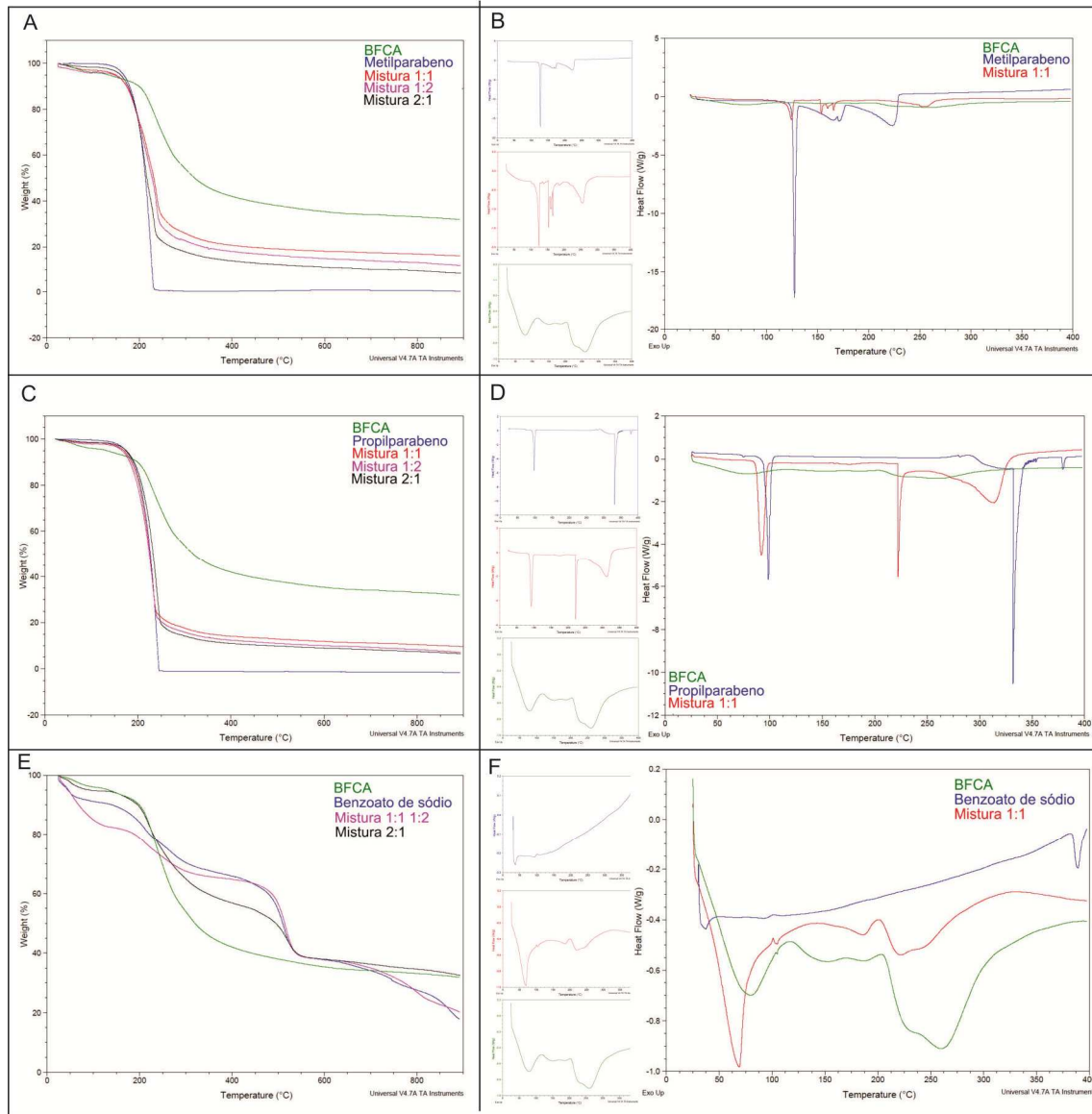
Com bases nos resultados apresentados referentes ao aspartame e ao manitol, sugere-se entre esses dois, nas condições analisadas, que o manitol apresenta um comportamento mais adequado que os demais ao se misturarem com o extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. Desta forma o manitol foi escolhido para compor a formulação do dentífrico como agente edulcorante.

3.5.2.6. Agentes conservantes

Como conservantes foram estudados o metilparabeno, o propilparabeno e o benzoato de sódio, a fim de avaliar qual destes excipientes apresentaram melhor comportamento térmico com o extrato nebulizado. As curvas de TG e DSC dos corantes, das misturas binárias e do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* Engler. encontram-se na figura 19.

A curva termogravimétrica do metilparabeno apresentou apenas uma etapa de decomposição térmica. E das suas misturas binárias apresentaram cinco e três etapas, respectivamente, para as misturas 1:1, 1:2 e 2:1. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 27,07 a 73,49 °C, com perda de massa de 2,45 %, para a mistura 1:1; 23,86 a 78,87 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 2,75 %; e 36,74 a 92,57 °C, com perda de massa de 1,09 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição das misturas binárias ocorreu na temperatura de 108,19 °C para o (1:1), 129,22 °C (1:2) e 102,72 °C (2:1) (Tabela 34).

Figura 19 - Curva TG e DSC do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, excipiente e as misturas binárias produzidas: A e B – curvas do metilparabeno; C e D - curvas do propilparabeno; E e F – curvas do benzoato de sódio.



As curvas termogravimétricas das misturas binárias mostraram uma antecipação nas suas etapas de decomposição, quando comparado com do extrato de BFCF.

Tabela 34 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + metilparabeno.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Metilparabeno | Primeira | 122,93 | 234,95 | 98,73 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 27,07 | 73,49 | 2,45 |
| | Segunda | 108,19 | 203,48 | 24,23 |
| | Terceira | 203,48 | 224,78 | 16,82 |
| | Quarta | 224,78 | 289,80 | 29,15 |
| | Quinta | 289,80 | 483,74 | 7,46 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 23,86 | 78,87 | 2,75 |
| | Segunda | 129,22 | 216,94 | 36,26 |
| | Terceira | 216,94 | 360,43 | 40,36 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 36,74 | 92,57 | 1,09 |
| | Segunda | 102,72 | 221,94 | 55,09 |
| | Terceira | 221,94 | 396,06 | 29,25 |

A curva DSC do metilparabeno e a mistura binária 1:1 apresentou três e seis picos endotérmicos, respectivamente, corresponde a fusão do excipiente e as transições de fases das amostras. O primeiro em 127,20 °C ($\Delta H = -241,00$ kJ/kg), para o excipiente, que corresponde ao seu processo de fusão, o qual ocorre em uma faixa de temperatura de 125,00 a 128,00 °C; e 57,36 °C ($\Delta H = -33,15$ kJ/kg). Para a mistura 1;1, o primeiro pico ocorre em uma temperatura de 124,31 °C ($\Delta H = -58,18$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra. E o último relacionado à sua decomposição final em 223,64 °C ($\Delta H = -363,10$ kJ/kg), para o excipiente e 256,20 °C ($\Delta H = -97,97$ kJ/kg), para a mistura binária 1:1 (Tabela 35).

A mistura do excipiente metilparabeno com o extrato seco mostrou que os picos dos componentes isolados foram antecipados na mistura, o que pode comprometer a estabilidade principalmente do extrato nebulizado.

Tabela 35 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + metilparabeno.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Metilparabeno | Primeiro | 127,20 | 116,31 | 241,00 |
| | Segundo | 170,91 | 131,58 | 171,60 |
| | Terceiro | 223,64 | 177,40 | 363,10 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 124,31 | 101,03 | 58,12 |
| | Segundo | 130,93 | 127,88 | 0,67 |
| | Terceiro | 138,67 | 135,93 | 1,68 |
| | Quarto | 153,56 | 152,34 | 53,00 |
| | Quinto | 187,21 | 182,66 | 3,25 |
| | Sexto | 256,20 | 214,83 | 97,97 |

A curva termogravimétrica do propilparabeno apresentou apenas uma etapa de decomposição térmica. E das suas misturas binárias apresentaram duas etapas, respectivamente, para as misturas 1:1, 1:2 e 2:1. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 29,03 a 85,30 °C, com perda de massa de 1,07 %, para a mistura 1:1; 26,36 a 116,12 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 1,81 %; e 23,67 a 133,54 °C, com perda de massa de 1,07 %, para a mistura 2:1. O início do processo de decomposição das misturas binárias ocorreu na temperatura de 124,16 °C para o (1:1), 116,38 °C (1:2) e 134,26 °C (2:1) (Tabela 36).

A curva DSC do propilparabeno e a mistura binária 1:1 apresentou quatro e três picos endotérmicos, respectivamente, corresponde a fusão do excipiente e as transições de fases das amostras. O primeiro em 98,43 °C ($\Delta H = -134,50$ kJ/kg), para o excipiente, que corresponde ao seu processo de fusão, o qual ocorre em uma faixa de temperatura de 96,00 a 99,00 °C. Para a mistura 1:1, o primeiro pico ocorre em uma temperatura de 91,89 °C ($\Delta H = -169,10$ kJ/kg), provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra. E o último relacionado à sua decomposição final em 379,33 °C ($\Delta H = -7,61$ kJ/kg), para o excipiente e 314,22 °C ($\Delta H = -385,60$ kJ/kg), para a mistura binária 1:1 (Tabela 37).

Tabela 36 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilparabeno.

| Amostras | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|-----------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato seco | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Propilparabeno | Primeira | 151,88 | 246,28 | 99,07 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 29,03 | 85,30 | 1,07 |
| | Segunda | 124,16 | 418,94 | 84,42 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 26,36 | 116,12 | 1,81 |
| | Segunda | 116,38 | 440,37 | 86,07 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 23,67 | 133,54 | 1,07 |
| | Segunda | 134,26 | 314,25 | 84,81 |

Tabela 37 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + propilparabeno.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Propilparabeno | Primeiro | 98,43 | 73,33 | 134,50 |
| | Segundo | 304,32 | 293,75 | 34,26 |
| | Terceiro | 331,75 | 331,73 | 178,90 |
| | Quarto | 379,33 | 378,22 | 7,61 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 91,89 | 81,50 | 169,10 |
| | Segundo | 222,07 | 221,76 | 67,93 |
| | Terceiro | 314,22 | 255,54 | 385,60 |

A curva termogravimétrica do benzoato de sódio apresentou seis etapas de decomposição térmica, sendo a primeira no intervalo de 24,76 a 61,62 °C, com perda de massa de 6,00 %. E das suas misturas binárias apresentaram seis, cinco e seis etapas, respectivamente, para as misturas 1:1, 1:2 e 2:1. A primeira refere-se a uma faixa de temperatura que foi de 24,76 a 76,36 °C, com perda de massa de 6,72 %, para a mistura 1:1; 27,92 a 130,06 °C, para a mistura 1:2, com perda de massa de 16,04 %; e 27,48 a 117,16 °C, com perda de massa de 5,30 %, para a mistura 2:1. O início do processo de

decomposição das amostras ocorreu na temperatura de 92,50 °C, para o excipiente; 116,12 °C, para a mistura 1:1; 130,06 °C, 1:2; e 116,12 °C (2:1) (Tabela 38).

Tabela 38 - Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, excipiente e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + benzoato de sódio.

| Amostra | Etapas de decomposição | Início (°C) | Final (°C) | Perda (%) |
|--------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Extrato nebulizado | Primeira | 28,33 | 106,61 | 3,83 |
| | Segunda | 109,84 | 168,74 | 2,96 |
| | Terceira | 169,55 | 293,02 | 37,57 |
| | Quarta | 293,02 | 890,97 | 23,41 |
| Benzoato de Sódio | Primeira | 24,76 | 61,62 | 6,00 |
| | Segunda | 92,50 | 234,87 | 13,24 |
| | Terceira | 234,87 | 335,90 | 9,91 |
| | Quarta | 335,90 | 575,67 | 30,10 |
| | Quinta | 575,67 | 797,64 | 10,51 |
| | Sexta | 797,64 | 892,02 | 9,77 |
| Mistura 1:1 | Primeira | 24,76 | 76,36 | 6,72 |
| | Segunda | 116,12 | 240,73 | 13,29 |
| | Terceira | 240,73 | 401,52 | 11,76 |
| | Quarta | 401,52 | 570,34 | 27,44 |
| | Quinta | 570,34 | 789,13 | 10,65 |
| | Sexta | 789,13 | 892,02 | 9,77 |
| Mistura 1:2 | Primeira | 27,92 | 130,06 | 16,04 |
| | Segunda | 130,06 | 243,84 | 9,75 |
| | Terceira | 243,84 | 362,67 | 7,62 |
| | Quarta | 362,67 | 568,94 | 27,05 |
| | Quinta | 568,94 | 858,17 | 15,96 |
| Mistura 2:1 | Primeira | 27,48 | 117,16 | 5,30 |
| | Segunda | 117,16 | 420,97 | 38,87 |
| | Terceira | 420,97 | 580,15 | 17,62 |
| | Quarta | 580,15 | 862,66 | 4,85 |

A curva DSC do benzoato de sódio e a mistura binária 1:1 apresentou três picos endotérmicos, respectivamente, corresponde as transições de fases das amostras. O primeiro em 32,81 °C ($\Delta H = -12,26$ kJ/kg), para o excipiente; e 101,03 °C ($\Delta H = -109,60$ kJ/kg), para a mistura 1:1. O primeiro pico provavelmente está relacionado a perda de umidade da amostra. E o último relacionado à sua decomposição final em

389,39 °C ($\Delta H = - 5,78$ kJ/kg), para o excipiente e 241,33 °C ($\Delta H = - 57,34$ kJ/kg), para a mistura binária 1:1 (Tabela 39).

Tabela 39 - Dados DSC referentes aos processos de transições de fases do extrato, excipientes e misturas binária produzidas com o extrato nebulizado + benzoato de sódio.

| Amostras | Picos de decomposição | Pico (°C) | Onset (°C) | Calor (J/g) |
|--------------------|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Extrato nebulizado | Primeiro | 73,81 | 31,52 | 102,10 |
| | Segundo | 145,60 | 123,29 | 6,81 |
| | Terceiro | 188,30 | 172,54 | 1,81 |
| | Quarto | 260,68 | 207,51 | 173,50 |
| Benzoato de Sódio | Primeiro | 32,81 | 30,58 | 12,26 |
| | Segundo | 93,08 | 81,61 | 0,63 |
| | Terceiro | 389,39 | 384,48 | 5,78 |
| Mistura 1:1 | Primeiro | 101,03 | 27,15 | 109,60 |
| | Segundo | 185,95 | 147,56 | 7,79 |
| | Terceiro | 241,33 | 201,20 | 57,34 |

Nas curvas termogravimetria foi observado que a degradação do extrato e do excipiente se dá de forma independente, dentro de suas respectivas faixas de temperaturas. Já, ao analisarem-se as curvas calorimétricas observou-se que a mistura binária parece assumir o formato do extrato de BFCA.

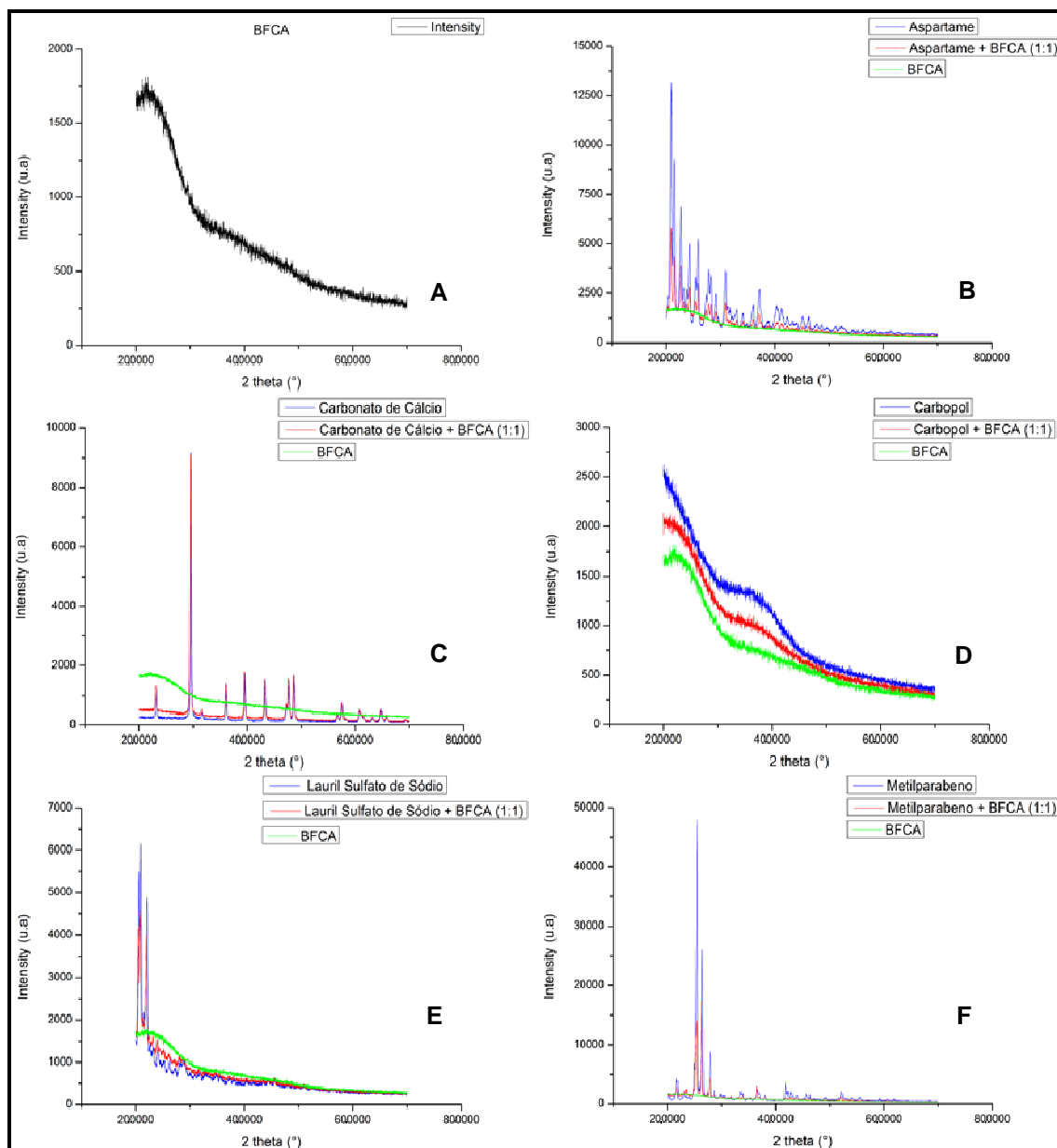
Com base nos resultados apresentados referentes aos conservantes sugere-se, nas condições analisadas, que o propilparabeno apresenta um comportamento térmico mais adequado que os demais. Desta forma o propilparabeno foi escolhido para compor a formulação do dentifrício como agente conservante.

3.6. Análise da caracterização de partícula do extrato nebulizado e de excipientes usados em dentifrício

3.6.1. Difração de Raios-X (DRX)

O difratograma relativo ao extrato BFCA caracteriza-se por uma curva em forma de ruído (Figura 20), indicando sua natureza amorfa. A amorfização do extrato se deve à grande variedade de compostos em sua constituição, não havendo capacidade de formação de retículos cristalinos.

Figura 20 - Difratoogramas relativos às misturas 1:1 (vermelho) do extrato BFCA (verde) com os excipientes farmacêuticos (azul): Extrato nebulizado BFCA (A), Aspartame (B), Carbonato de Cálcio (C), Carbopol (D), Lauril Sulfato de Sódio (E) e Metilparabeno (F).



Gallo *et al.* (2011) na realização do difratograma de *Rhamnus purshiana* (Cáscara-sagrada) encontrou um comportamento semelhante ao de BFCA, fenômeno este também mencionado por Fernandes *et al.*, (2012) ao caracterizar os extratos obtidos das cascas de *Ximenia americana* L. e *Schinopsis brasiliensis* Engler.

A mistura na proporção 1:1 do extrato BFCA com aspartame indicou uma leve amorfização na mistura, entretanto, todos os picos cristalinos dos excipientes foram mantidos, mostrando que não houve alteração física deste excipiente nem do extrato

seco. O mesmo foi observado para os excipientes carbonato de cálcio, carbopol e lauril sulfato de sódio. Em relação ao metilparabeno, alguns picos cristalinos na região entre $2\theta = 35^\circ$ e $2\theta = 40^\circ$, deixaram de ser detectados na mistura.

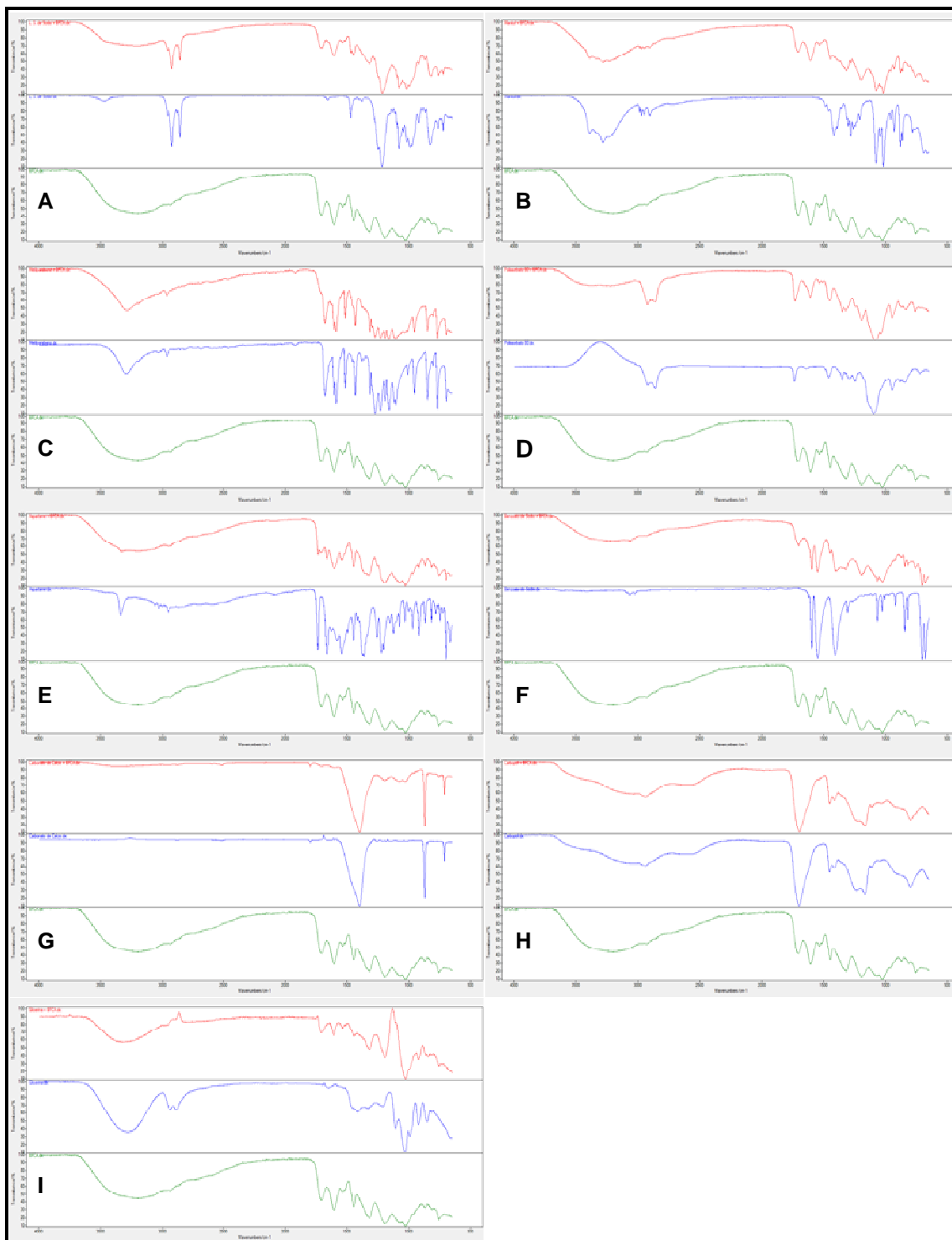
3.6.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

No espectro de infravermelho relativo ao extrato BFCA, é possível notar um alargamento de banda acima de 3000 cm^{-1} , característico do estiramento de hidroxilas em compostos como ácidos carboxílicos e fenóis. Dois picos de baixa intensidade são observados em 2930 e 2855 cm^{-1} , e estes são atribuídos ao estiramento de ligações C-H em compostos orgânicos. O pico apresentado em 1705 cm^{-1} está associado ao estiramento de carbonilas (Figura 21).

Em 1605 cm^{-1} encontra-se um pico relativo à deformação de ligações C=C em anéis aromáticos. Em 1447 cm^{-1} , a deformação ocorre em ligações C-H em alcenos. De 1319 a 1026 cm^{-1} encontram-se os picos relativos a ligações C-O em compostos como ésteres, ácidos carboxílicos e éteres. Os picos seguintes, entre 1026 e 808 cm^{-1} , são relativos a deformação de ligações envolvendo oxigênio presentes em ácidos carboxílicos. O último pico do espectro, em 760 cm^{-1} , pode ser associado a deformação de ligações C-H em anéis aromáticos.

Os achados no espectro do extrato BFCA estão em concordância com o fato de este ser composto por uma variedade de compostos orgânicos com diferentes grupos funcionais. Os mais esperados, dada a composição do extrato, seriam as ligações carbono-hidrogênio, características de compostos orgânicos, e as ligações que indiquem compostos aromáticos, dada a variedade de metabólitos vegetais que possuem estruturas deste tipo. Camelo (2010), ao analisar o extrato seco por liofilização de *Vismia guianensis* (Aubl) Choisy encontrou absorção na faixa de 3200 (característica da deformação axial da hidroxila de álcoois e fenóis), 1600 (ligação C=C proveniente de aromáticos) e 1000 cm^{-1} (ligação C-O de álcoois ou fenóis). Fernandes *et al.* (2012) ao analisar os espectros do extrato seco das cascas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. encontrou absorção nas regiões de 2800 (característico de ligações carbono-hidrogênio) e $1300-1000$ (referentes a ligação carbono-oxigenio), ligações estas presentes em diferentes metabólicos secundários como taninos, alcaloides e flavonoides.

Figura 21 - Espectros no infravermelho relativos às misturas 1:1 (vermelho) do extrato BFCa (verde) com os excipientes farmacêuticos (azul): Lauril Sulfato de Sódio (A), Manitol (B), Metilparabeno (C), Polissorbato 80 (D), Aspartame (E), Benzoato de Sódio (F), Carbonato de Cálcio (G), Carbopol (H) e Glicerina (I).



No que se refere às misturas ingrediente ativo-excipiente, assim como nas curvas de DSC, os espectros de FT-IR devem ser um somatório das curvas de cada componente, onde será possível a visualização de possíveis interações (TITA *et al.*,

2011). Na mistura com aspartame todos os picos característicos do extrato e do excipiente de apresentaram-se de forma coerente, não havendo evidências da alteração de grupos funcionais. O mesmo foi observado para a mistura com benzoato de sódio, lauril sulfato de sódio e polissorbato 80.

Entretanto, na mistura com carbonato de cálcio, ocorre uma diminuição da intensidade da banda relativa as hidroxilas, além do desaparecimento dos picos em 1535 e 1321 cm^{-1} . Na mistura com carbopol, apresenta uma supressão dos picos do extrato em 1605, 1319, 1194 e 1026 cm^{-1} . Em relação à mistura com manitol, os picos do excipiente desaparecem em 1420 e 1280 cm^{-1} . Na mistura com metilparabeno, a maioria dos picos do extrato é suprimida.

Na mistura com glicerina, surge um pico em 2857 cm^{-1} que não consta em nenhum de seus componentes, sendo provavelmente produto de uma reação entre o extrato e o excipiente. Além disso, observa-se a supressão de um pico do excipiente em 1107 cm^{-1} .

3.7. Desenvolvimento do dentifrício

Os excipientes utilizados no desenvolvimento dos dentifrícios, selecionados a partir dos resultados das técnicas termoanalíticas foram: bicarbonato de sódio, hidroxiethylcelulose, polissorbato 80, propilenoglicol, manitol e propilparabeno. As formulações manipuladas com esses excipientes e o extrato nebulizado das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. encontram-se na tabela 40. Essas formulações foram manipuladas em duplicatas, onde em uma não foi incorporado o extrato (Formulação A) e na outra foi incorporado o extrato (Formulação B).

Após 24h que formulações foram manipuladas pode-se observar que as formulações 1, 4 e 5 tanto incorporadas com o extrato quanto as não incorporadas, apresentaram aparência normal (Tabela 41), ou seja não separaram de fases e nem ficaram turvas. Pode-se sugerir que as demais formulações apresentaram separação de fases devido à quantidade de tensoativos e de umectantes que estas continham. Quanto a cor e ao odor, todas as formulações A e B apresentaram-se nos parâmetros de normalidade.

Os valores de pH, após 24h (Tabela 41) em que as formulações haviam sido manipulada, mantiveram-se dentro da faixa indicada pela ABO (1990), que recomenda pH entre 5,0 a 10,15. Foi verificada diferença estatística significativa nos valores de pH entre as formulações antes da incorporação do extrato (A) com $p < 0,05$ e F calculado

(12,57) maior que o F tabelado (2,51). A mesma situação foi observada após incorporação do extrato (B) F calculado (77, 26) maior que o F tabelado (2,51). Tais resultados sugerem que as diferentes composições influenciaram nesta resposta, havendo assim a necessidade de estudos posteriores que avaliem com mais detalhes quais os componentes das formulações que são responsáveis pelas modificações nos valores de pH. Em relação à interferência do extrato nos valores de pH, se observou que para as formulações 1, 6, 7, 8, e 9 os valores de pH sofreram modificações estatisticamente significativas com $p < 0,05$ após incorporação do extrato, sendo que para formulação 6 houve diminuição e nas demais aumento dos valores, mantendo-se dentro da faixa de valores recomendada. Costa (2010) ao desenvolver um gel a partir de *Heliotropium indicum* L. com hidroxietilcelulose obteve um pH inicial entre 6 e 7, mantendo-se entre esta faixa após 24 horas. Melo *et al.* (2012) ao desenvolver um creme dental a partir do extrato de *Passiflora edulis* Sims, obteve um pH entre 6 e 7.

A condutividade é uma resposta cuja mensuração dá indícios da estabilidade dos sistemas e da quantidade de água dos mesmos. Avaliando a condutividade após 24h (Tabela 41) em que as formulações haviam sido manipulada, as formulações sem incorporação do extrato (A) mostraram repostas estaticamente diferentes com $p < 0,05$ e F calculado (1746,44) maior que o F tabelado (2,51), os valores de condutividade das formulações que continham o extrato (B) também foram significativamente diferentes com F calculado (309,97) é muito maior que o F tabelado (2,51), havendo aumento nos valores. Estes resultados estão em consonância aos do pH indicando que os diferentes componentes das formulações influenciam nestas repostas. A interferência da presença do extrato na formulação sobre esta resposta foi verificada para todas as formulações com $p < 0,05$.

Após as amostras serem submetidas a técnicas que avaliam a estabilidade, tais como centrifugação e estresse térmico, observou que as amostras 1A, 1B, 5A e 5B permaneceram de forma homogênea sem precipitar, entretanto as amostra 4A e 4B que antes desses testes não haviam separado de fases apresentaram separação (Tabela 42 e 43). Quanto à cor e ao odor, a maioria das formulações A e B permaneceram nos parâmetros de normalidade (Tabela 42 e 43), com exceção as seguintes formulações: 7, 8 e 9 A e B na temperatura de 40 e 60°C levemente separaram de fases, assim como modificaram a coloração.

Observou-se que o processo de centrifugação resultou em valores com alterações estatisticamente significativamente de pH, exceto para a formulação 5A ($p > 0,05$). Já

para as formulações B não houve variações significativas. Todos os valores de condutividade das formulações A apresentaram alterações estatisticamente significativamente após a centrifugação e para as formulações B o mesmo ocorreu com exceção da 4B.

Nas formulações 1A, 2A, 3A, 4A, 7A, 8A e 9A e em todas as formulações B os valores de pH após o estresse térmico sofreram modificações estatisticamente significativas com $p < 0,05$, no entanto mantiveram-se dentro da faixa de uso recomendadas. A condutividade tanto nas formulações A quanto nas B os valores após o estresse térmico sofreram alterações com significância estatística. Tais informações são importantes uma vez que mesmo as formulações nas quais não foram apresentadas alterações macroscópicas, as modificações nos parâmetros pH e condutividade devem ser consideradas podendo indicar possível instabilidade das formulações após o estresse térmico. Costa (2010) ao realizar testes térmicos em seu gel de hidroxietilcelulose notou que nenhuma das suas formulações apresentaram problema, porém todas as formulações apresentavam a mesma concentração de hidroxietilcelulose (1,5%).

Tabela 40- Excipientes das formulações de dentifrícios desenvolvidos.

| Formulações | Excipientes da formulação (mg) | | | | | | | Água |
|-------------|--------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------------|----------------|---------------------------------|------|
| | Abrasivo | Espessante | Tensoativo | Umectante | Edulcorante | Conservante | Extrato nebulizado | |
| | Bicarbonato de sódio | Hidroxietilcelulose | Polissorbato 80 | Propilenoglicol | Manitol | Propilparabeno | Schinopsis brasiliensis (folha) | |
| 1A | 35,0 | 2,5 | 1,5 | 25,0 | 6,0 | 0,15 | 0,34 | 40,0 |
| 1B | 35,0 | 2,5 | 1,5 | 25,0 | 6,0 | 0,15 | 0,34 | 40,0 |
| 2A | 20,0 | 4,0 | 2,0 | 25,0 | 6,0 | 0,25 | 0,34 | 49,0 |
| 2B | 20,0 | 4,0 | 2,0 | 25,0 | 6,0 | 0,25 | 0,34 | 49,0 |
| 3A | 40,0 | 4,0 | 1,5 | 30,0 | 6,0 | 0,05 | 0,34 | 26,0 |
| 3B | 40,0 | 4,0 | 1,5 | 30,0 | 6,0 | 0,05 | 0,34 | 26,0 |
| 4A | 40,0 | 2,5 | 2,0 | 20,0 | 6,0 | 0,05 | 0,34 | 38,0 |
| 4B | 40,0 | 2,5 | 2,0 | 20,0 | 6,0 | 0,05 | 0,34 | 38,0 |
| 5A | 35,0 | 4,0 | 1,0 | 20,0 | 6,0 | 0,15 | 0,34 | 40,0 |
| 5B | 35,0 | 4,0 | 1,0 | 20,0 | 6,0 | 0,15 | 0,34 | 40,0 |
| 6A | 40,0 | 0,5 | 1,0 | 25,0 | 6,0 | 0,05 | 0,34 | 34,0 |
| 6B | 40,0 | 0,5 | 1,0 | 25,0 | 6,0 | 0,05 | 0,34 | 34,0 |
| 7A | 20,0 | 0,5 | 1,5 | 20,0 | 6,0 | 0,25 | 0,34 | 60,0 |
| 7B | 20,0 | 0,5 | 1,5 | 20,0 | 6,0 | 0,25 | 0,34 | 60,0 |
| 8A | 20,0 | 2,5 | 1,0 | 30,0 | 6,0 | 0,25 | 0,34 | 49,0 |
| 8B | 20,0 | 2,5 | 1,0 | 30,0 | 6,0 | 0,25 | 0,34 | 49,0 |
| 9A | 35,0 | 0,5 | 2,0 | 30,0 | 6,0 | 0,15 | 0,34 | 33,0 |
| 9B | 35,0 | 0,5 | 2,0 | 30,0 | 6,0 | 0,15 | 0,34 | 33,0 |

Tabela 41- Resultados dos parâmetros avaliados nas formulações. após 24H dentifrícios.

| Formulações | Parâmetros avaliados após 24h de formulados | | | | |
|-------------|---|--------|--------|--------------------------------------|---------------|
| | Características organolépticas | | | Média dos parâmetros ± Desvio padrão | |
| | Aparência | cor | odor | pH | condutividade |
| 1A | Normal | Normal | Normal | 8,47±0,0100 | 20,59±0,2899 |
| 1B | Normal | Normal | Normal | 8,54±0,0058 | 22,48±0,8137 |
| 2A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,43±0,0702 | 14,48±0,1079 |
| 2B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,50±0,0058 | 16,29±0,1400 |
| 3A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,32±0,0513 | 20,91±0,2397 |
| 3B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,35±0,0200 | 24,31±0,1900 |
| 4A | Normal | Normal | Normal | 8,18±0,0503 | 27,18±0,5467 |
| 4B | Normal | Normal | Normal | 8,23±0,0265 | 29,13±0,4613 |
| 5A | Normal | Normal | Normal | 8,29±0,0929 | 17,02±0,1528 |
| 5B | Normal | Normal | Normal | 8,36±0,0208 | 23,18±1,3179 |
| 6A | Separada | Normal | Normal | 8,36±0,0208 | 29,40±0,2237 |
| 6B | Separada | Normal | Normal | 8,19±0,0473 | 32,20±0,2211 |
| 7A | Separada | Normal | Normal | 8,34±0,0100 | 16,56±0,0404 |
| 7B | Separada | Normal | Normal | 8,52±0,0173 | 17,53±0,0473 |
| 8A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,38±0,0208 | 11,86±0,1665 |
| 8B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,46±0,0058 | 17,31±0,0854 |
| 9A | Separada | Normal | Normal | 8,21±0,0058 | 25,91±0,0954 |
| 9B | Separada | Normal | Normal | 8,39±0,0351 | 27,86±0,1966 |

Tabela 42- Resultados dos parâmetros avaliados após centrifugação das formulações.

| Formulações | Parâmetros avaliados após centrifugação | | | | |
|-------------|---|--------|--------|---|---------------|
| | Características organolépticas | | | Média dos parâmetros ± Desvio padrão | |
| | Aparência | cor | odor | pH | condutividade |
| 1A | Normal | Normal | Normal | 8,82±0,0200 | 8,95±2,0793 |
| 1B | Normal | Normal | Normal | 8,73±0,0351 | 9,78±3,3779 |
| 2A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,73±0,0058 | 9,80±0,7978 |
| 2B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,75±0,0693 | 3,99±0,1620 |
| 3A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,70±0,0300 | 6,68±0,7826 |
| 3B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,76±0,0808 | 15,37±1,7766 |
| 4A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,66±0,0462 | 24,69±0,0289 |
| 4B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,57±0,0252 | 29,73±0,1914 |
| 5A | Normal | Normal | Normal | 8,47±0,0153 | 20,23±0,0814 |
| 5B | Normal | Normal | Normal | 7,97±1,1547 | 26,59±0,7142 |
| 6A | Separada | Normal | Normal | 8,93±0,0058 | 13,16±0,1758 |
| 6B | Separada | Normal | Normal | 8,78±0,0100 | 29,66±0,2663 |
| 7A | Separada | Normal | Normal | 8,77±0,0153 | 5,34±2,3482 |
| 7B | Separada | Normal | Normal | 9,03±0,0436 | 8,66±0,0252 |
| 8A | Levemente separada | Normal | Normal | 8,62±0,0608 | 7,95±0,2762 |
| 8B | Levemente separada | Normal | Normal | 8,75±0,0153 | 11,68±0,2666 |
| 9A | Separada | Normal | Normal | 8,73±0,0513 | 22,31±0,2409 |
| 9B | Separada | Normal | Normal | 8,45±0,0058 | 21,17±0,0889 |

Tabela 43- Resultados dos parâmetros avaliados após formulações serem submetidas ao estresse térmico.

| Form. | Parâmetros avaliados após estresse térmico | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|--|------|------|------|------|------|------|------|------|--------------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| | Características organolépticas | | | | | | | | | Média dos parâmetros ± Desvio padrão | | | | | |
| | Aparência | | | Cor | | | Odor | | | pH | | | Condutividade | | |
| | 40°C | 50°C | 60°C | 40°C | 50°C | 60°C | 40°C | 50°C | 60°C | 40°C | 50°C | 60°C | 40°C | 50°C | 60°C |
| 1A | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,25± 0,0404 | 8,15± 0,0520 | 8,30± 0,0265 | 20,73± 0,2916 | 21,05± 0,2937 | 21,57± 0,2163 |
| 1B | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,03± 0,0100 | 8,13± 0,0208 | 8,24± 0,0757 | 18,35± 0,2003 | 20,82± 0,4215 | 22,80± 0,4503 |
| 2A | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,33± 0,0755 | 8,21± 0,0153 | 8,36± 0,0723 | 13,51± 0,3406 | 13,98± 0,0200 | 15,17± 0,1706 |
| 2B | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,20± 0,0289 | 8,50± 0,0306 | 8,40± 0,0115 | 12,84± 0,2234 | 13,32± 0,0874 | 13,40± 0,0529 |
| 3A | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,16± 0,0321 | 8,22± 0,0300 | 8,31± 0,0153 | 16,11± 0,1504 | 16,88± 0,2013 | 23,94± 0,2773 |
| 3B | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,16± 0,0757 | 8,25± 0,0200 | 8,32± 0,0153 | 19,51± 0,3293 | 22,86± 1,3139 | 24,40± 0,0981 |
| 4A | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,34± 0,0058 | 8,37± 0,0115 | 8,40± 0,0907 | 30,86± 0,2307 | 29,83± 0,3235 | 28,40± 0,3499 |
| 4B | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,14± 0,0436 | 8,31± 0,0503 | 8,26± 0,0473 | 21,83± 0,2577 | 28,88± 0,1290 | 28,42± 0,4326 |
| 5A | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,31± 0,0500 | 8,35± 0,0361 | 8,43± 0,1644 | 20,48± 0,1744 | 18,05± 0,2250 | 21,52± 0,3630 |
| 5B | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,17± 0,0000 | 8,17± 0,0153 | 8,35± 0,0757 | 16,34± 0,3579 | 15,66± 0,2081 | 21,72± 0,1205 |
| 6A | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,41± 0,0379 | 8,38± 0,0306 | 8,60± 0,3109 | 30,86± 0,2524 | 28,91± 0,0208 | 31,44± 0,1137 |
| 6B | N | N | N | N | N | N | N | N | N | 8,47± 0,0300 | 8,53± 0,0208 | 8,51± 0,0252 | 32,15± 0,1735 | 33,07± 0,1682 | 33,87± 0,1973 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---|----|----|---|----|----|---|---|---|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 7A | N | LS | LS | N | LM | LM | N | N | N | 8,57± 0,0289 | 8,77± 0,0173 | 8,85± 0,0153 | 15,82± 0,0200 | 15,36± 0,2003 | 15,74± 0,1514 |
| 7B | N | LS | LS | N | LM | LM | N | N | N | 8,67± 0,0252 | 8,77± 0,0058 | 8,78± 0,0252 | 17,4± 0,1124 | 17,65± 0,1353 | 17,29± 0,0416 |
| 8A | N | LS | LS | N | LM | LM | N | N | N | 8,57± 0,0173 | 8,68± 0,0058 | 8,51± 0,0416 | 12,27± 0,0839 | 10,71± 0,2219 | 11,85± 0,1079 |
| 8B | N | LS | LS | N | LM | LM | N | N | N | 8,22± 0,0306 | 8,66± 0,0321 | 8,59± 0,0781 | 8,71± 0,0404 | 12,28± 0,2157 | 13,55± 0,1001 |
| 9A | N | LS | LS | N | LM | LM | N | N | N | 8,69± 0,0173 | 8,63± 0,0351 | 8,36± 0,0115 | 24,58± 0,1179 | 25,48± 0,1332 | 24,57± 0,2001 |
| 9B | N | LS | LS | N | LM | LM | N | N | N | 8,33± 0,0173 | 8,40± 0,0351 | 8,35± 0,0000 | 25,90± 0,2043 | 25,64± 0,1323 | 26,07± 0,2345 |

Legenda: Form: formulação; N: normal; LS: levemente separada; LM: levemente modificada.

A viscosidade de todas as formulações foram avaliadas no viscosímetro rotativo de Brookfield de seis velocidades, no entanto não foi possível determinar a viscosidade de algumas formulações, visto que o equipamento recomenda que seja considerados apenas os resultados expressos dentro de um intervalo de confiabilidade entre 15 e 95%, valor este expresso pelo equipamento na hora da leitura de cada formulação. Este fato foi mencionado por Melo *et al.* (2012), onde também não foi possível verificar a viscosidades dos géis. As formulações nas quais foram possíveis determinar a viscosidade apresentaram os seguintes resultados: 1A: 3300 cP, 1B: 3259 cP, 2A: 4019 cP, 2B: 5748 cP, 4A: 5301 cP, 4B: 5424 cP, 8A: 2971 cP e 8B: 3836 cP. Observa-se com esses resultados que o fato da formulação está ou não incorporado com o extrato nebulizado não faz com que o equipamento não determine a viscosidade, uma vez que para as formulações citadas anteriormente foi possível expressar a viscosidade.

As análises de viscosidade e espalhabilidade avaliam as caracterização reológica da formulação, verificando a capacidade que a formulação tem de se espalhar por uma determinada área (Melo *et al.*, 2012). As figuras 22 e 23 apresentam o comportamento de espalhabilidade das formulações A e B, respectivamente. Observa-se nas formulações A uma diferença estatística significativa nos fatores de espalhabilidade, uma vez que os resultados estatísticos mostraram que $p < 0,05$ e que o F calculado (16,95767) é maior que o F tabelado (3,229583), este mesmo comportamento é observado nas formulações B, onde o $p < 0,05$ e o F calculado (91,8327) é maior que o F tabelado (3,229583). Desta forma além de observar que houve uma diferença significativa no comportamento de espalhabilidade ao comparar as formulações incorporadas com as não incorporadas, observa-se também nas 6B e 9B que houve aumento desse fator e que na formulação 8B houve diminuição. Entretanto Arantes (2002), ao desenvolver formulações de dentifrícios com extratos vegetais não observou diferença na espalhabilidade ao comparar as formulações que tinham extrato com as que não tinham.

Figura 22 - Perfil de espalhabilidade das formulações A.

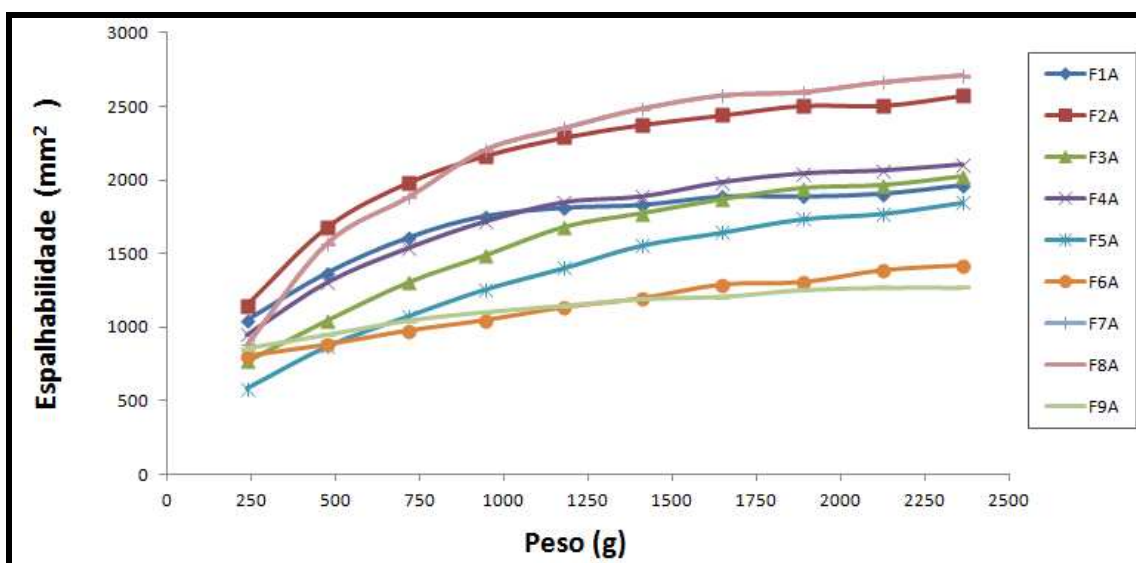
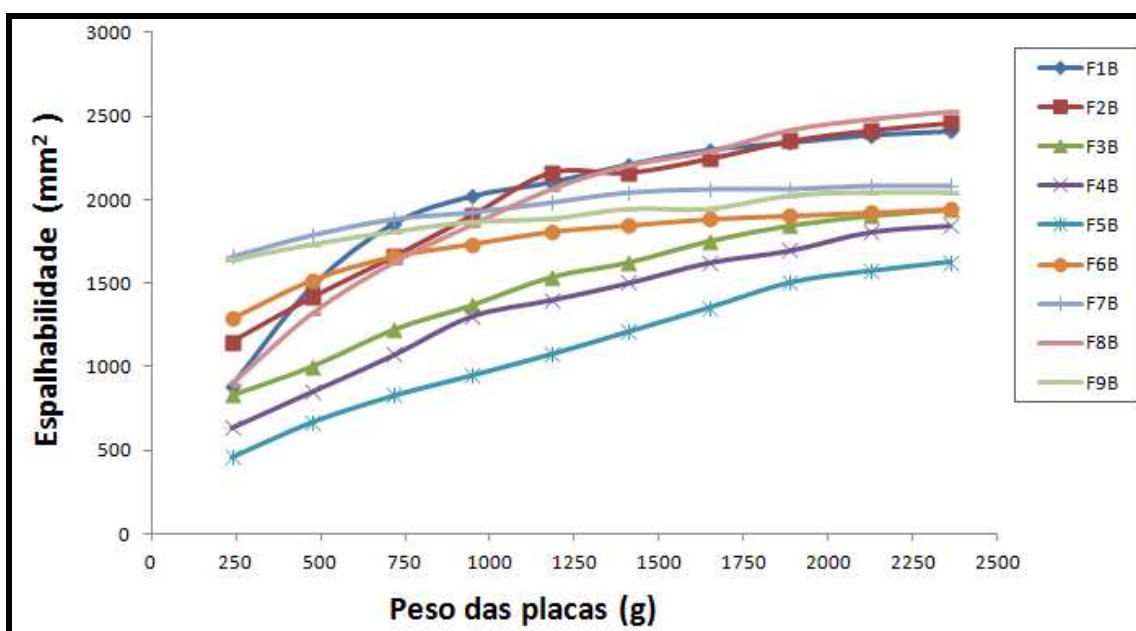


Figura 23 - Perfil de espalhabilidade das formulações B.



Embora a norma da ABO (1999) não apresente limites consistência para dentífrico, este fator pode influenciar diretamente no desempenho do produto e comprometer a aceitação do dentífrico pelo consumidor, uma vez que a consistência influencia tanto no fluxo do produto ao ser aplicado sobre a escova dental, como também na dispersão durante a escovação.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

- Dentre os cinco extratos hidroalcoólicos produzidos com as folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler., o extrato 03, se destacou entre os demais por apresentarem melhor resultados no *screening* microbiológico com cepas de *Streptococcus mutans*;
- O doseamento de potência antimicrobiana por difusão em ágar pode determinar que o método usado na avaliação deste parâmetro e seus resultados apresentam linearidade e que a concentração recomendada do extrato nebulizado é de 337,00 mg/mL;
- Quanto a toxicidade aguda determinada com *Artemia salina*, demonstra que o extrato nebulizado apresenta uma moderada toxicidade, entretanto com camundongos o extrato não apresentou-se tóxicos;

- As análises dos parâmetros físico-químicos do extrato nebulizado mostraram que o extrato vegetal estudado é um pó fino, característico do processo pelo qual ele foi obtido, apresenta densidade baixa, pH fracamente ácido e perda por dissecação dentro dos parâmetros recomendados pela farmacopeia;
- Os perfis térmicos e calorimétricos do extrato e dos excipientes utilizados nas formulações de dentifrício, mostraram que algumas misturas provocaram antecipação da decomposição do extrato ou retardamento desta, enquanto outras mantiveram o perfil térmico tanto do extrato quanto do excipiente, não causando nenhum tipo de interação;
- Os excipientes bicarbonato de sódio, hidroxietilcelulose, polissorbato 80, propilenoglicol, manitol e propilparabeno mostram melhor comportamento nas curvas térmicas de TG e DSC com o extrato nebulizado, sendo os escolhidos para compor as formulações dos dentifrícios;
- Os resultados físico-químicos mostraram que as formulações 1, 4 e 5, com e sem o extrato, foram as que apresentaram melhor estabilidade após 24h de formuladas, uma vez que estas não apresentaram separação de fase, e quanto ao pH, verificado após este tempo, as formulações 4 e 5 não apresentaram diferenças significativas;
- Após o teste de centrifugação e de estresse térmico apenas as formulações 1 e 5, com e sem o extrato, permaneceram sem separar de fases. Quanto ao pH após estes testes, concluiu-se que após o testes de centrifugação a formulação 5 foi a única que não teve diferença significativa e após o estresse térmico as formulações 1A, 2A, 3A, 4A, 7A, 8A e 9A e todas as formulações B os valores sofreram modificações estatisticamente significativas de pH;
- Embora os resultados estatísticos tenham mostrado diferenças significantes em algumas formulações durante estes testes, os valores de pH sempre se mantiveram dentro das recomendações da Associação Brasileira de Odontologia;

- Quanto a cor e ao odor todas as formulações apresentaram-se normais após 24h e após o teste de centrifugação e estresse térmico, com exceção apenas das 7, 8 e 9 com e sem o extrato;
- O teste de viscosidade mostrou que algumas formulações apresentaram uma alta viscosidade, não sendo possível ser determinada pelo equipamento utilizado na análise.
- O teste de espalhabilidade mostrou que houve uma diferença significativa no comportamento ao comparar as formulações incorporadas como as não incorporadas.
- Embora não tenha sido possível determinar a viscosidade da formulação 5 percebe-se que esta foi a que apresentou melhor comportamento nos testes físico-químicos, uma vez que foi aprovada nos testes de 24h, após centrifugação e após estresse térmico.

CAPÍTULO V

PROPOSTAS FUTURAS

- Avaliar a atividade antimicrobiana das formulações de dentifrícios desenvolvidas frente a *S. mutans*;
- Determinar a potência microbiológica do dentifrício desenvolvido;
- Determinar o marcador químico da *S. brasiliensis*;
- Refazer as curvas de TG e DSC das misturas binárias em diferentes razões de aquecimento, a fim de visualizar novos eventos;
- Realizar o estudo de estabilidade térmica do extrato nebulizado e da formulação desenvolvida;
- Modificar as concentrações dos excipientes presentes na formulação tipo 05, a fim de melhorar sua viscosidade, uma vez que esta foi a que apresentou melhor estabilidade;

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M. D. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 472–508, 2008.

AIGNER, Z.; BERKESI, O.; FARKAS, SZAVÓ-RÉVÉZS, P. DSC, X-ray and FTIR studies of a gemfibrozil/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complex produced by co-grinding. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 57, p. 62-67 2012.

ALBUQUERQUE, U. P. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n. 30, p. 1–10, 2006.

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the

caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325–354, 2007.

ALMEIDA C. F. C. B. R.; SILVA T. C. L.; AMORIM E. L. C.; MAIA, M. B. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the *caatinga* (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, n.1, p.127–142, 2005.

ALMEIDA R. B. A.; CARRETTO, C. F. P.; SANTANA, R. S.; FURLAN, M. R.; JUNQUEIRA, J. C.; JORGE, A. O. C. Atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf sobre *Candida* spp. **Revista de Odontologia da UNESP**, n.37, v.2, p. 147-153, 2008.

ALMEIDA, R. N. *et al.* Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 80, p.72-76, 1999.

ALVES P. M.; QUEIROZ, L. M. G.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.2, p.222-224, 2009.

ANSI – American National Standards Institute. **ASTM D2196-05 Standard test methods for rheological properties of non-newtonian materials by rotational (brookfield type) viscometer**. New York: ANSI, 2005.

APPEL, G.; REUS, M. Formulações aplicadas a odontologia. Editora Ravine, segunda edição, p.607, 2005.

ARAGÃO, C. F. S.; SOUZA, F. S.; BARROS, A. C. S.; VERAS, J. W. E.; BARBOSA FILHO, J. M.; MACEDO, R. O. Application of thermogravimetry (TG) in quality control of milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 12, p. 60-61, 2002.

ARANTES, A. B. Desenvolvimento de dentifrícios com extratos fluidos de *Calendula officinalis* L., (Asteraceae) e *Casearia Sylvestris* SW., (Flacourtiaceae), destinado ao tratamento de periodontias. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2002.

ARAÚJO, C. R. F.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; ALVES, P. M.; HIGINO, J. S.; MARTINS, A. B. Concentração Mínima Bactericida do Extrato do Cajueiro sobre Bactérias do Biofilme Dental. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.9, n.2, p.187-191, 2009.

Associação Brasileira de Odontologia - ABO. **Dentifrício**. Norma ABO nº1, 1999.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R. O.; IWALEWA, E. O.; AKANMUB, M. A.; UKPONMWAN, E. O. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 166–175, 2006.

BARBOSA, E. A. Teor de apramicina: Desenvolvimento e validação do método empregando cromatografia líquida de alta eficiência comparativamente a um doseamento microbiológico. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, 2009.

BORCHARDT, R. T. Value of Pharmaceutical Sciences. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 16, p. 1387-1401, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Segunda edição, Brasília, 120 p., 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria n. 21 de 25 de outubro de 1989**. Estabelece requisitos para assegurar a qualidade e a eficácia dos cremes dentais. Brasília, 1989.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº90 de 16 de janeiro de 2004**. Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos, Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 48 de 16 de março de 2004**. Registro de medicamentos fitoterápicos, Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRIGHENTI, F. L.; GAETTI-JARDIM JR., E.; DANELON, M.; EVANGELISTA, G. V.; DELBEM, A. C. B. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on enamel demineralisation and dental biofilm composition in situ. **Archives of oral biology**, v. 57, p. 1034–1040, 2012.

CARDOSO, M. P. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Brasil, p.106, 2001.

CARELLI, G.; MACEDO, S. M. D.; VALDUGA, A. T.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V.; FRANCESCHI, E.; VIDAL, R.; JASKULSKI, M. R. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO₂ supercrítico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.110-115, 2011.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326–342, 2010.

CARVALHO, P. E. R. Braúna-do-Sertão *Schinopsis brasiliensis*. Net, [S.I], 2009. Disponível em:< <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/CT222.pdf> > Acesso em 01 de março de 2012.

CAVALCANTI, A. L.; MENESES, R. O.; SILVA, K. F.; SÁ, S. C. V. L.; ALMEIDA, L. F. D.; CASTRO, R. D. Atividade antifúngica in vitro de enxaguatórios bucais sobre *Candida* spp. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 5, p. 313-317, 2009.

CHAVES, J. S.; COSTA, F. B.; FREITAS, L. A. P. Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). **Brazilian Journal Pharmaceutical Science**, v. 45, n. 3, p. 573-584, 2009.

CHAVES, T. P. *et al.* Atividade antimicrobiana das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.05, n.2, 2011.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 618-644, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactérias de crescimento aeróbico**. Sexta edição, v. 23, p. 17, 2005.

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. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.3, p. 395-404, 2006.

COSTA, A. C. B. P.; PEREIRA, C. A.; FREIRE, F.; JUNQUEIRA, J. C.; JORGE, A. O. C. Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 2, p. 111-116, 2009.

COSTA, R. S. da. Estudos de Pré-Formulação e Formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará, 2010.

DANTAS, I. C. O raizeiro e suas raízes: um novo olhar sobre o saber popular. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual da Paraíba. 2002.

DENARDI, B. B. O uso da clorexidina na prática odontológica. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v.48, n.2, p.1279-84, 1994.

DINIZ, D. N.; MACÊDO-COSTA, M. R.; PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, J. V.; HIGINO, J. S. Efeito antifúngico in vitro do extrato da folha e do caule de *Myrciaria cauliflora* berg. sobre microrganismos orais. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 39, n. 3, p. 151-156, 2010.

DUKE'S, J. (1994). **Phytochemical and ethobotanical databases**. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/duke>>. Acesso em: 15/08/2012.

ESMERINO, L. A.; PEREIRA, A. V.; ADAMOWICZ, T.; BORGES, D. M.; TALACIMON, E. A.; SCHELESKY, M. E. Método microbiológico para determinação da potência de antimicrobianos. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 10, n. 1, p. 53-60, 2004.

ESTEVAM, C. S.; JEFERSON, M. S.; ALISSON, M. C. I. **Estudo do efeito antioxidante do extrato e partições da Baraúna contra a redução do radical do 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e determinação de polifenóis total**. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 28ª, Sergipe - UFS, 2005.

FARAGO, P. V.; ESMERINO, L. A.; PAULA, J. P.; JACOB, J. S.; SERVAT, L. Método microbiológico para o doseamento da potência da amoxicilina em suspensões orais. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 25, n. 1, p. 112-116, 2006.

FARIAS, B. C.; ANDRADE, F. B. M.; GONDIM, V. M. L.; SOARES, R. S. C.; GUSMÃO, E. S.; CIMÕES, R. Redução do índice de cálculo supragengival: dentifrício anticálculo versus dentifrício convencional. **Periodontia**, v. 21, n. 1, p. 44-59, 2011.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Quinta edição, Editora Atheneu, 2010.

FERNANDES, F. H. A.; SANTANA, C. P.; SANTOS, R. L.; CORREIA, L. P.; CONCEIÇÃO, M. M.; MACEDO, R. O.; MEDEIROS, A. C. D.; Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. **Journal Thermal Analysis and Calorimetric**. Doi: 10.1007/s10973-012-2807-3, 2012.

FONTENELE, A. F. *et al.* Avaliação da Toxicidade de Extratos de Plantas Mediciniais através de Bioensaios com *Artemia salina*. *Leach. Ciência e Cultura*, v. 40, n.11, p. 09-11, 1988.

FRANCISCO, K. S. F. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, v. 4, n.1, p. 18–24, 2010.

FREIRES, I. A.; ALVES, L. A.; JOVITO, V. C.; ALMEIDA, L. F. D.; CASTRO, R. D.; PADILHA, W. W. N. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Scientific Clinical Odontology**, v. 9, n. 2, p. 139-143, 2010.

GALLO, L.; LLABOT, J. M.; ALLEMANDI, D.; BUCALÁ, V.; PIÑA, J. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract powder physical properties. **Powder Technology**, v. 208, p. 205-214, 2011.

GIL, E.S. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. Editora Pharmabooks, Terceira edição, p. 509, 2010.

GUNSOLLEY, J. C. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. **The Journal of the American Dental Association**, v. 137, p. 1649–1657, 2006.

HALAWANY, H. S. A review on miswak (*Salvadora persica*) and its effect on various aspects of oral health. **The Saudi Dental Journal**, v.24, p. 63–69, 2012.

HARRY, R. G. **Cosmetologia de Harry**. Madrid: Ediciones Diaz de Santos, 1990.

HEWITT, W. **Microbiological Assay for Pharmaceutical Analysis: A Rational Approach**. Primeira edição. Editora Interpharm, 1 ed., 260 p., 2007.

HOFFMANN, C. H. **Dentifrícios em periodontia**. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Periodontia, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção de título de Especialista em Periodontia. Prof' MSc. Ariadne Cristiane Cabral Cruz : Florianópolis, 2008.

ISHNAVA, K. B.; CHAUHAN, J. B.; GARG, A. A.; THAKKAR, A. M. Antibacterial and phytochemical studies on *Calotropis gigantea* (L.) R. Br. Latex against selected cariogenic bacteria. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.19, p. 87–91, 2012.

KIRTANSINH, G.; PIYUSHBHAI, P.; NATUBHAI, P.; Application of Analytical Techniques in Preformulation Study: A Review. **International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives**, v. 2, n.5, 2011.

KONAN, N. A.; BACCHI, E. M.; LINCOPAN, N.; VARELA, S. D.; VARANDA, E. A. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of a hydroethanolic extract of the cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.30-38, 2007.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING TEORIA, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Editora Fundação Calouste Gulbenkian, v.1, 2001.

LANGE, M. K.; HEBERLE, G.; MILAO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 145-151, 2009.

LEONEL, M. F. V.; SOARES, C. D. V.; SIQUEIRA, A. L. Comparison of pharmacopeial statistical methods applied in microbiological assay for antibiotics

potency determination using parallel lines and three-dose level. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.48, n.3, 2012.

LILTORP, K.; LARSEN, T. G.; WILLUMSEN, B.; HOLM, R. Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 424-428, 2011.

LOBO, P. L. D.; FONTELES, C. S. R.; CARVALHO, C. B. M.; NASCIMENTO, D. F.; FONSECA, S. G. C.; JAMACARUA, F. V. F.; MORAES, M. E. A. Dose–response evaluation of a novel essential oil against Mutans streptococci in vivo. **Phytomedicine**, v.18, p. 551–556, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. São Paulo: Instituto Plantarum. Ltda, p. 191, 2002.

LOURENÇO, F. R.; PINTO, T. J. A. Comparison of three experimental designs employed in gentamicin microbiological assay through agar diffusion. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, p. 559-566, n. 3, 2009.

LUNA, J. S.; LIMA, M. R.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. N. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 199-206, 2005.

MEDEIROS, A. C. D.; MEDEIROS, I. A.; MACÊDO, R. O. Thermal studies of Albizia inopinata crude extract in the presence of cyclodextrin and Aerosil by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochimica Acta**, v. 392-393, p. 93-98, 2002.

MELO, A. F. de; MURICY, J. M. T. C.; SANTOS, R. F. Desenvolvimento de um gel gengival a partir do extrato bruto seco de Passiflora Edulis Sims. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.11, n.3, p. 1-15, 2012.

MEYER, A. C. A; TERA, T. M.; ETO, Y. **Manual odontológico de formulações manipuladas**. Editora Santos, p. 182, 2007.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp, a convenient general bioassay for active-plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

NADIA, T. L.; MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Polinização de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) e análise da partilha de polinizadores com *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae), espécies frutíferas e endêmicas da caatinga. **Revista Brasil**, v.30, n.1, p.89-100, 2007.

NIAZI, S. K. **Handbook of Preformulation: Chemical, biological and botanical drugs**. Editora Informa HealthCare, 2007.

NUNES, J. **Desenvolvimento de dentifrícios específicos para diferentes faixas etárias**. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, p. 155, 1996.

NUNES, K. M.; BARBOSA, W. L. R.; OZELA, E. F.; SILVA JUNIOR, J. O. C. Padronização da tintura de *Calendula officinalis* L. para seu emprego em formulações semi-sólidas fitoterápicas. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 3, p. 344-350, 2009.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.; MUSSEL, W. N.; VIANNA-SOARES, C. D.; PIANETTI, G. A. Análise térmica aplicada a caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1653-1657, 2010.

OLIVEIRA, M. C. P.; OLIVEIRA, G. J. Superação da dormência de sementes de *Schinopsis brasiliensis*. **Ciência Rural**, v.38, n. 1, p. 251- 254, 2008.

OLIVEIRA, P. T. B et al. Florística e fitossociologia de quatro remanescentes vegetacionais em áreas de serra no Cariri paraibano. **Revista Caatinga**, v.22, n.4, p.169-178, 2009.

OSAWA, T. Thermal analysis – review and prospect. **Thermochimica Acta**, v. 355, p. 35-42, 2000.

OSTROSKY, E. A. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 2, p. 301-307, 2009.

PAOLINI, V. B. *et al.* Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Pathology**, v.113, p. 253–261, 2003.

PARRY, J.; SMITH, A. J.; SUFI, F.; REES, G. D. Effect of simulator design on in vitro profilometric assessment of toothpaste abrasivity. **Wear**, v. 278–279, p. 34–40, 2012.

PETROVICK, G. F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por spray drying de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Astereceae (macela)**. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 3 ed., Editora Atheneu, p. 780, 2010.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C. E; MORGADO, R. M. R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. 4 ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.2, 1991.

PRISTA, L. N.; BAHIA, M. F.; VILAR, E. **Dermofarmácia e cosmética**. Associação Nacional de Farmacia, Porto, p. 503-551, 1995.

ROSAS-PINÓN, Y.; MEJÍA, A.; DÍAZ-RUIZ, G.; AGUILAR, M. I.; SÁNCHEZ-NIETO, S.; RIVERO-CRUZA, J. F. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, p. 860– 865, 2012.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Editora Pharmaceutical Press, 6 ed., p. 888, 2009.

SANTOS, N. C.; DIAS, C. N.; COUTINHO-MORAES, D. F.; VILANOVA, C. M.; GONÇALVES, J. R. S.; SOUZA, N. S.; ROSA, I. G. Toxicidade e avaliação de atividade moluscicida de folhas de *Turnera ulmifolia* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 4, p. 324-329, 2010.

SARAIVA, A. M. Estudo **Farmacognóstico e Determinação da Atividade Biológica de *Caesalpinia pyramidalis* Tull. E *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a cepas de *Staphylococcus aureus* MRSA Multirresistentes**. Recife, 184 p. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

SARAIVA, A. M.; CASTRO, R. H. A.; CORDEIRO, R. P.; SOBRINHO, T. J. S. P.; CASTRO, V. T. N. A.; AMORIM, E. L. C.; XAVIER, H. S.; PISCIOTTANO, M. N. C. *In vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SCAPIN, M. A. **Aplicação da difração e fluorescência de raios-x (WDXRF): Ensaios em argilominerais**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, p. 80, 2003.

SILVA JÚNIOR, J. O. C.; VIEIRA, J. L. F.; BARBOSA, W. L. R.; PEREIRA, N. L. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16 (Suplemento), p. 671-677, 2006.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V.; MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 347-356, 2007.

SILVA, M. A. P. *et al.* Epífitos vasculares sobre espécimes de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Baraúna) em uma área de caatinga – Alagoinha-PE. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v.1, n.1, 2006.

SILVA, M. S. P. **Ensaio pré-clínicos com extratos de plantas medicinais do semiárido nordestino: contribuição para o tratamento de infecções da cavidade bucal**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual da Paraíba, 2011.

SILVA, M. S. P.; BRANDÃO, D. O.; CHAVES, T. P.; FORMIGA FILHO, A. L. N.; COSTA, E. M. M. B.; SANTOS, V. L.; MEDEIROS, A. C. D. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid northeast: contribution to the control of oral microorganisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012.

SILVA, V. A.; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, M. S. V.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, A. V.; HIGINO, J. S. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n. 4, p. 452-455, 2010.

SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C. B.; LEAL, C.; DRUMOND, M. R. S.; PADILHA, W. W. N. Atividade Antibacteriana *in vitro* da Tintura de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na Descontaminação de Escovas Dentais Contaminadas pelo *S. mutans*. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 7, n. 3, p. 253-257, 2007.

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de

Stryphnodendron adstringens sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciências**, v. 23, n. 2, p. 141-144, 2008.

SOUZA, A. P. T. B.; BARNI, S. T.; FERREIRA, R. A.; COUTO, A. G. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas hidroetanólicas das flores de *calendula officinalis* L. empregando planejamento fatorial. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 1, p. 13-21, 2010.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. Trigesima primeira edição. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2008.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; MARIAN, E.; TITA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, p. 221-227, 2011.

TORRES, C. R. G.; KUBO, C. H.; ANIDO, A. A.; RODRIGUES, J. R. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. **Revista da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos**, v.3, n. 2, p. 43-52, 2000.

VERKAIK, M. J.; BUSSCHER, H. J.; JAGER, D.; SLOMP, A. M.; ABBAS, F.; VAN DER MEI, H. C. Efficacy of natural antimicrobials in toothpaste formulations against oral biofilms in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 39, p. 218-224, 2011.

ANEXO

Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques

Felipe H. A. Fernandes · Cleildo P. Santana ·
Ravelly L. Santos · Lidiane P. Correia · Marta M. Conceição ·
Rui O. Macêdo · Ana Cláudia D. Medeiros

Received: 17 June 2012 / Accepted: 6 November 2012
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2012

Abstract The increased search for herbal products has generated an increasing interest in improving the quality control of dried extracts by pharmaceutical industry since these are raw materials of great importance by their quality and versatility. This work aimed at the application of various analytical techniques (thermal analysis, X-ray diffraction, scanning electron microscopy, and infrared Fourier transform spectroscopy) in the characterization of dried extracts of two plants from the Brazilian semiarid region with medicinal properties. The DSC curves for the dried extracts of *Ximenia americana* L. and *Schinopsis brasiliensis* Engl. showed that thermal processes occur between 33.50 and 118.58 °C and between 39.17 and 126.14 °C. The X-ray powder diffraction revealed high degree of amorphization, but the dried extract of *X. americana* L. showed some diffraction peaks of high intensity. The IR spectra showed high variety of metabolites in the extracts dried. Through this study it was possible to verify the feasibility of applying these techniques in the characterization of raw materials from medicinal plants for use in the herbal medicines production.

Keywords Dried extract · Herbal medicine · Thermal analysis · Analytical techniques

Introduction

Brazil has a great potential for biodiversity and richness of traditional knowledge accumulated by the local people who have direct access to nature and the biodiversity of products. In this sense, the Caatinga (main semiarid's biome) represents the fourth largest area covered by a single vegetation form in Brazil, accounting for about 60 % of the northeast territory [1, 2]. *Ximenia americana* L. (Olacaceae) is a plant mainly found in parts of South America. It is widely used in the folk medicine of these regions as antiseptic, headaches, mental illness [3], antiviral, analgesic, and antimicrobial [2, 4]. The chemical composition of *X. americana* has been scarcely investigated. The sambunigrin compound was isolated in the EtOAc-soluble fraction of alcoholic extract from leaves. Gallic acid, gallotannins, and flavonoids were identified for the first time in the genus *Ximenia* [5]. The *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae) is mainly found in the semiarid region. Some studies have shown its antimicrobial activity [2]. A new alkyl phenol, methyl 6-eicosanyl-2-hydroxy-4-methoxybenzoate and an unusual steroid 5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3- β -ol were found through phytochemical studies [6]. Another study showed that the extract of *S. brasiliensis* contains high levels of phenolic compounds ($825.65 \pm 40.99 \text{ mg g}^{-1}$) of which about $455.81 \pm 50.41 \text{ mg g}^{-1}$ were tannins and $11.29 \pm 0.94 \text{ mg g}^{-1}$ were flavonoids [7].

Most herbal products used as raw materials are dry extracts obtained by spray drying due to their physical, chemical, and microbiological stability, better standardization, higher

F. H. A. Fernandes · C. P. Santana · R. L. Santos ·
L. P. Correia · A. C. D. Medeiros (✉)
Laboratory of Development and Assays of Drugs,
State University of Paraíba. R. Baraúnas, 351 Bodocongó,
Campina Grande, Paraíba 58429-500, Brazil
e-mail: anaclaudia@uepb.edu.br

L. P. Correia · R. O. Macêdo
Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Department
of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pernambuco,
Recife, Pernambuco 50740-521, Brazil

M. M. Conceição
Academic Unit of Education and Health, Federal University
of Campina Grande, Cuité, Campina Grande,
Paraíba 58429-500, Brazil

concentration of active ingredients and compounds, as well as convenience in transforming different dosage forms [8]. The process of drug treatment aims at obtaining a product which attends market requirements as well as provide efficacy, safety, and quality [9, 10].

In the pharmaceutical industry, the use of suitable technological adjuvants along with technology of spray drying represents an important step in the assurance of adequate stability and quality of plant extracts [11]. The incorporation of these dry extracts in formulations is recommended because they are easily obtained, standardized, and embeddable in dosage forms [12].

Analytical methods have been used to characterize compounds from herbal medicine, their products, and extracts [13]. Thermal analysis, infrared spectroscopy, and X-ray diffraction are examples of methodologies used for characterizing drugs and herbal medicines. Several authors have been shown applications of different thermal analysis techniques in pharmaceutical technology and the standardization and characterization of dried extracts of medicinal plants [11, 13–16].

The objective of this study was to characterize the dried extract of medicinal plants by DSC and analytical techniques.

Materials and methods

Herbal material

The medicinal plants were collected from the semiarid region in the State of Paraíba. The voucher specimen was prepared and identified at the Professor Jayme Coelho de Moraes Herbarium (PRU), Federal University of Paraíba under the number EAN-100493 for *X. americana* L. and EAN-14049 for *S. brasiliensis* Engl.

The herbal material was dried at 40 °C. The hydroalcoholic extract was obtained by maceration of powdered bark in water:ethanol (30:70 v/v) solvent system for 72 h and then dried using Spray Dryer (LabPlant), with onset temperature at 140 °C and onset temperature between 90 and 95 °C, under 3.0 mL min⁻¹ flow rate.

Thermal analysis parameter

The DSC curves were obtained on a TA Instruments Calorimeter, model DSC Q20, using aluminum crucibles with about 2 ± 0.1 mg of samples under nitrogen atmosphere, at the flow of 50 mL min⁻¹. Rising temperature experiments were conducted at the temperature range from 25 to 400 °C and heating rate of 10 °C min⁻¹. Indium (m.p. 156.6 °C) was used as standard for equipment calibration.

Data were analyzed using the software TA Instruments Universal Analysis 2000, 4.7A.

The non-isothermal thermogravimetric curves were obtained using a simultaneous thermobalance module TG/DTA, model Q600 (TA-Instruments), using alumina crucibles with about 8 ± 0.1 mg under a nitrogen atmosphere at 50 mL min⁻¹. Rising temperature experiments were conducted at the temperature range from 25 to 900 and 10 °C min⁻¹ heating rate. The apparatus was calibrated with calcium oxalate monohydrate.

The DSC Photovisual was obtained in a calorimeter Shimadzu, model DSC-50, coupled to a photovisual system, at 25–500°C temperature intervals under nitrogen with constant flow of 50 mL min⁻¹.

Fourier transformed infrared spectroscopy (FT-IR)

FT-IR spectra of herbal medicines were recorded on a Perkin-Elmer Model 1600 apparatus using KBr stressed disks in the range of 4000–500 cm⁻¹.

X-ray powder diffraction (XRPD)

The XRPD analysis were carried out in a XRD 6000 diffractometer (Shimadzu) with adopted scanning from 10° to 70° (2° min⁻¹) on the 2θ scale and Cu (Kα1) radiation. The equipment was operated on 40.0 kV and 30.0 mA. The data were plotted by means of the software Origin® version 8.1.

Scanning electronic microscopy (SEM)

The morphological characterization of dried extract was performed by scanning electron microscopy (SEM) using a Hitachi® TM 1000 microscope. Samples were visualized at the 100, 200, 500, 1,000, and 2,000× magnification.

Results and discussion

The DSC curves for dried extract of *X. americana* L. showed that thermal processes occurred between 33.50 and 118.58 °C. The presence of endothermic event at 83.16 °C ($\Delta = 246.60 \text{ J g}^{-1}$) was observed, which is probably related to the loss of volatile constituents of the sample, such as ethanol. The TG curves showed three thermal decomposition processes with a mineral residue of 39.17 % (Fig. 1).

The DSC curves for dried extract of *S. brasiliensis* Engl. showed that thermal processes occur between 39.17 and 126.14 °C. The presence of endothermic event at 80.99 °C ($\Delta = 143.40 \text{ J g}^{-1}$) was observed, which is probably

Fig. 1 DSC and TG curves for the dried extract: **a** *X. americana* L., **b** *Schinopsis brasiliensis* Engl

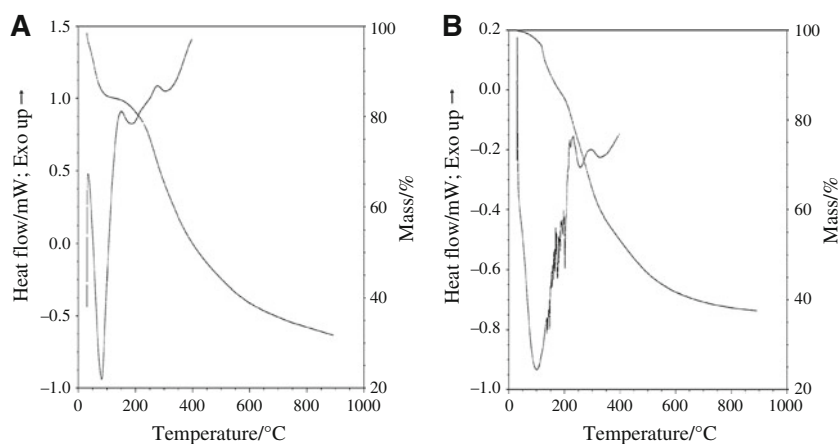
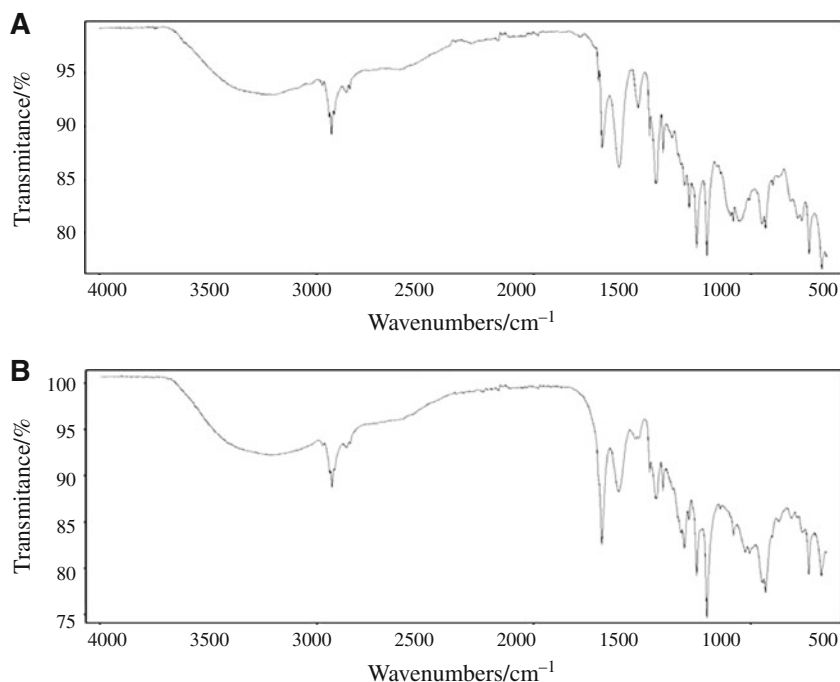


Fig. 2 IR spectra of the dried extract: **a** *X. americana* L., **b** *Schinopsis brasiliensis* Engl



related to the loss of volatile constituents of the sample, such as ethanol. The thermal decomposition occurs with formation of several endothermic and exothermic peaks between 126.14 and 325.50 °C. This decomposition may be associated with a wide variety of secondary metabolites, principally phenolics, present in the dried extract. TG curves showed three thermal decomposition processes with a mineral residue of 37.58 % (Fig. 1).

The DSC photovisual showed the degradation process of samples. In the *X. americana* L. extract, it is possible to observe that until 105.81 °C there is only loss of moisture in the sample. The decomposition processes begin above 208.94 °C. A similar profile can be observed in the extract of *S. brasiliensis* Engl. The samples are similar, once they just suffered moisture loss. The decomposition processes are progressive and starts at 218.42 °C.

One of the difficulties encountered in obtaining reproducible peaks for plant extracts in DSC technique is that these extracts are a mixture of substances interacting with each other, in the plant matrix. Therefore, frequently the degradation products are formed in different concentrations due to various factors such as shape and imperfections, escape of gaseous products, packaging, and heating rate of the sample. The impurity present in plant extracts has a direct effect on the enthalpy obtained for the process and peak width [14].

The FT-IR spectroscopy was used to investigate the possible chemical compounds in the sample. It is the most suitable technique of the non-destructive spectroscopic methods and has become an attractive method in the analysis of pharmaceutical solids since the materials are not subject to thermal or mechanical energy during sample's preparation, therefore

Fig. 3 Scanning electron microscopy (SEM) images of dried extract: **a1***X. americana* L. (magnification $\times 500$), **a2***X. americana* L., (magnification $\times 1,000$), **b1***Schinopsis brasiliensis* Engl. (magnification $\times 100$), and **b2***Schinopsis brasiliensis* Engl. (magnification $\times 200$)

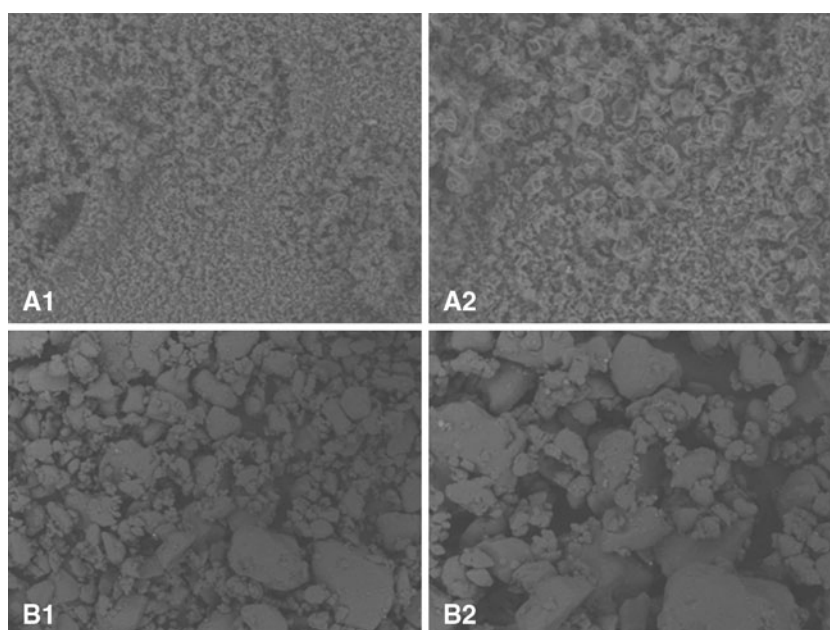
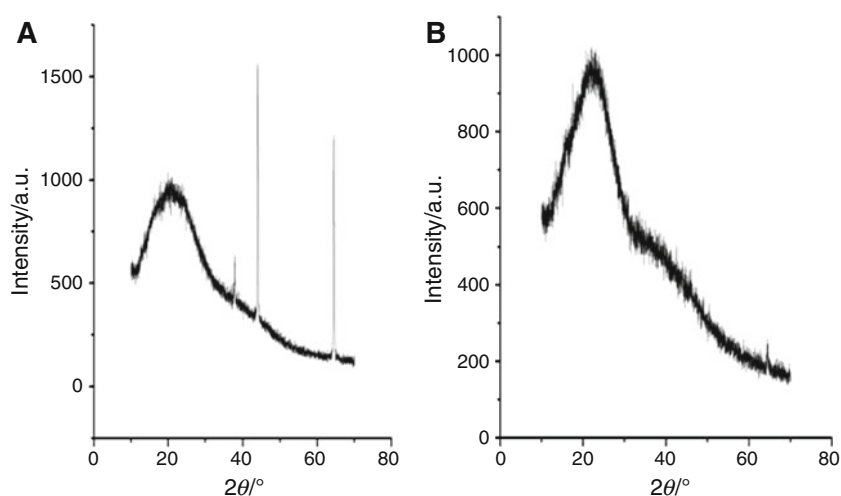


Fig. 4 The XRPD of dried extract: **a***X. americana* L., **b***Schinopsis brasiliensis* Engl



preventing solid-state transformations [17]. The main differences resulting from comparing the spectra are presented in Fig. 2. The spectra related to samples showed similarity in their absorption bands. In both curves are presented peaks in the range $2,974\text{--}2,847\text{ cm}^{-1}$, characteristic of carbon-hydrogen bonds, being attributed to the nature of organic compounds in the extract. The sharp peaks in the region $1,307\text{--}1,025\text{ cm}^{-1}$ related to carbon-oxygen bonds (CO) in this ether, esters, and carboxylic acids are indicative of a wide variety of metabolites, such as tannins, flavonoids, and anthraquinones, among others [13]. This range is also shown by the peaks in the regions $1,702\text{--}1,685\text{ cm}^{-1}$ (carbonyl), $1,607\text{--}1,516\text{ cm}^{-1}$ (C = C bonds in the aromatic rings), and $788\text{--}674\text{ cm}^{-1}$ (aromatic CH bonds on substituted) [18].

Figure 3 shows the diffractograms of samples that showed high degree of amorphization, particularly at angles between 10° and 30° . The presence of a large number of

different intensities noise can be suggested to complex substances which are unidentified on the extract. This effect was also observed in the study of dried extract of *Rhaumnia purshiana* [15]. The dried extract of *X. americana* L. showed high intensity diffraction peaks, but with lower diffraction degree compared to the *S. brasiliensis* Engl. It showed also a slight increase of the peaks in 70° .

Figure 4 shows the SEM images of samples particles at different magnifications. The particles showed shreveled surfaces and irregular shapes, as expected for natural extract. The dried extract of *X. americana* L. showed different behaviors with an agglomerate of particles of different size and morphology. *S. brasiliensis* Engl. showed the better particles uniformity since they were relatively big spherical particles with smooth surfaces. This promotes good flow of the product and good density, classic features of dry extract [19].

Conclusions

The pharmaceutical industry disposes of valuable tools used for quality control of products and raw materials. These tools can be used for products of plant origin, which also require attentive characterization.

This work showed the application of thermal analysis, DSC-photovisual, FT-IR, SEM, and XRPD on a vegetal-derived raw material, obtaining results which provide important information about its stability, standardization, composition, crystalline conformation, and others. This information can be used to establish parameters on the development of phytotherapeutic products, helping to insure its quality and, therefore, its safety and efficacy.

Acknowledgements The authors thank the FAPESQ/PB and PROPESQ/UEPB for their technical support on this research and the CERTBIO/UEPB for analysis.

References

- More G, Tshikalange TE, Lall N, Botha F, Meyer JJM. Antimicrobial activity of medicinal plants against oral microorganisms. *J Ethnopharmacol.* 2008;119:473–7.
- Silva MSP, Brandão DO, Chaves TP, Formiga Filho ALN, Costa EMMB, Santos VL, Medeiros ACD. Study Bioprospecting of Medicinal Plant Extracts of the Semi-arid Northeast: Contribution to the Control of Oral Microorganisms. *Evidence-Based Compl Alternat Med.* 2012;doi:10.1155/2012/681207.
- Mevy J, Bessiere J, Greff S, Zombre G, Viano J. Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. *Biochem Syst Ecol.* 2006;34:549–53.
- Omer MEFA, Elnima EI. Antimicrobial activity of *Ximenia americana*. *Fitoterapia.* 2003;74:122–6.
- Le NHT, Malterud KE, Diallo D, Paulsen BS, Nergard CS, Wangenstein H. Bioactive polyphenols in *Ximenia americana* and the traditional use among Malian healers. *J Ethnopharmacol.* 2012;139:858–62.
- Cardoso MP, David JM, David JP. A new alkyl phenol from *Schinopsis brasiliensis*. *Nat Prod Res.* 2005;19:431–3.
- Saraiva AM, Castro RHA, Cordeiro RP, Peixoto Sobrinho TJS, Castro VTNA, Amorim ELC, Xavier HS, Pisciotano MNC. *In vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). *Afr. J Pharm Pharmacol.* 2011;5:1724–31.
- Petrovick P, Oliveira OW. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. *Rev Bras Farmacogn.* 2010;20:641–50.
- Gupta MM, Saini TR. Preformulation parameters characterization to design, development and formulation of vancomycin hydrochloride tablets for pseudomembranous colitis. *Int J Pharm Res Develop.* 2009;1:1–7.
- Rocha L, Lúcio EMA, França HS, Sharapin N. *Mikania glomerata* Spreng: desenvolvimento de um produto fitoterápico. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2008;18:744–7.
- Medeiros ACD, Medeiros IA, Macêdo RO. Thermal studies of *Albizia inopinata* crude extract in the presence of β -cyclodextrin and aerosil[®] by TG and DSC coupled to the photovisual system. *Therm Acta.* 2002;392–393:93–8.
- Olivia WO, Petrovick PR. Spray-drying of plant extracts: basic remarks and application. *Braz J Pharmacoog.* 2010;20:641–50.
- Correia LP, Procópio JVV, Santana CP, Santos AFO, Cavalcante HMM, Macêdo RO. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using Pyrolysis GC/MS, SEM and thermal techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2011; doi:10.1007/s10973-011-2129-x.
- Costa RS, Negrão CAB, Camelo SRP, Ribeiro-Costa RM, Barbosa WLR, Costa CEF, Silva Júnior JOC. Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC. *J Therm Anal Calorim.* 2011; doi:10.1007/s10973-011-2088-2.
- Gallo L, Llabot JM, Allemandi D, Bucalá V, Piña J. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract powder physical properties. *Powder Technol.* 2011;208:205–14.
- Sansone F, Mencherini T, Picerno P, d'Amore M, Aquino RP, Lauro MR. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *J Food Eng.* 2011;105:468–76.
- Tita B, Fulias A, Bandur G, Marian E, Tita D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *J. Pharm. Biom. Anal.* 2011;56: 221–27.
- Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 6.ed. Livros Técnicos e Científicos; 2006.
- Chaves JS, Da Costa FB, Freitas LAP. Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). *Braz. J Pharm Sci.* 2009;45:573–84.