



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

RENÉ MONTEIRO ARAÚJO

**Desenvolvimento de gel mucoadesivo para o tratamento de candidíase
oral a partir do extrato de *Schinopsis brasiliensis* Engler.**

**CAMPINA GRANDE
2017**

RENÉ MONTEIRO ARAÚJO

**Desenvolvimento de gel mucoadesivo para o tratamento de candidíase oral a partir
do extrato de *Schinopsis brasiliensis* Engler**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para o curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

Coorientadora: Profa. Dra. Francinalva Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE

2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

A659d Araújo, René Monteiro.
Desenvolvimento de gel mucoadesivo para o tratamento de candidíase oral a partir do extrato de *Schinopsis brasiliensis* Engler [manuscrito] / René Monteiro Araújo. - 2017.
55 p.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.
"Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia".
"Co-Orientação: Profa. Dra. Francinalva Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia".
1. Candidíase oral. 2. *Schinopsis brasiliensis*. 3. Plantas medicinais. 4. Gel mucoadesivo. I. Título.
21. ed. CDD 615.321

RENÉ MONTEIRO ARAÚJO

Desenvolvimento de gel mucoadesivo para o tratamento de candidíase oral a partir do extrato de *Schinopsis brasiliensis* Engler

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para o curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

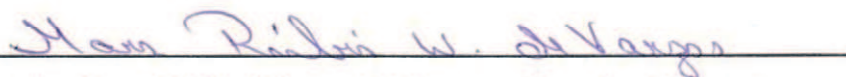
Aprovado em: 16/ 02/ 2017

BANCA EXAMINADORA



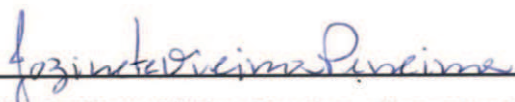
Prof. Ana Cláudia Dantas de Medeiros - Orientadora

Universidade Estadual da Paraíba



Profa. Mara Rúbia Winter de Vargas – Examinadora externa

Faculdade de Medicina Nova Esperança



Profa. Jozinete Vieira Pereira - Examinadora Interna

Universidade Estadual da Paraíba

AGRADECIMENTOS

À Deus por minha vida, saúde e tantas outras bênçãos recebidas.

Aos meus pais, Paulo e Socorro, por terem sempre acreditado em mim e por terem colocado os meus sonhos à frente dos seus. Vocês são os meus maiores exemplos!

Aos meus irmãos Jerry e Natyelly por toda paciência e apoio.

Às minhas orientadoras, professoras Ana Cláudia Dantas de Medeiros e Francinalva Dantas de Medeiros, por todo o tempo dedicado a mim durante todos esses anos, por todo o aprendizado e pela amizade. Vocês são as minhas referências acadêmica e profissional!

À banca examinadora, por sua disponibilidade e contribuições para este trabalho.

Às minhas grandes amigas de laboratório e de vida: Alinne, Fernanda e Iana. Sem seu apoio as dificuldades seriam dobradas!

Aos meus grandes amigos de sempre e pra sempre: Gilmara, Erik, Mônica e Gabriela. Vocês foram tão necessários neste trabalho como são em minha vida!

À Raickson, pelo apoio moral e técnico.

Aos colegas de LABDEM: Cleildo, Laiane, Deysiane, Ravely, Felipe, Fernando, Pedro, Jéssica, Angélica, Paloma, Natália e Milena e Airlla, pelo coleguismo e troca de conhecimentos.

Aos meus colegas de mestrado: Rawny, Yargo, Adriana, Allana e Elaine.

À CAPES pela bolsa concedida.

RESUMO

Das diversas espécies que compõem o gênero *Candida*, algumas têm demonstrado associação com casos de infecção em humanos, sendo que a *Candida albicans* apresenta-se como a principal patogênica, apesar de estudos comprovarem casos de infecção por meio de outras espécies do gênero. Existem diversos fármacos disponíveis para o tratamento da candidíase oral, sendo que a nistatina é o medicamento de primeira escolha, porém, além de seus conhecidos efeitos colaterais, a nistatina não apresenta ação residual considerável, o que prejudica a eficiência do tratamento. Visto isso, este trabalho objetiva desenvolver um gel mucoadesivo para o tratamento de candidíase oral, constituído por extrato de *S. brasiliensis*, encapsulado em nanopartículas de maltodextrina. Após a obtenção do extrato por maceração seguido de evaporação rotativa, foi realizado o ensaio para verificação da atividade antifúngica do mesmo, pelo método de microdiluição em caldo, utilizando microplacas de 96 cavidades. Feito isto, seguiu-se com o ensaio para elucidação do possível mecanismo de ação do extrato sobre a parede e membrana celular fúngica, pelo método de microdiluição. Em seguida, realizou-se a prospecção fitoquímica, buscando os principais fitocomponentes da planta, por espectrofotometria, objetivando associar a presença desses à ação antifúngica do vegetal. Posteriormente, desenvolveu-se as micropartículas de maltodextrina, por *Spray Drier*, encapsulando-se o extrato, variando-se a vazão da bomba. Posteriormente, foi selecionada a micropartícula que melhor apresentou atividade fúngica para que se seguissem as etapas de compatibilidade térmica, formulação e avaliação de sua eficácia.

Palavras-chave: Candidíase oral. *S. brasiliensis*. Gel mucoadesivo.

ABSTRACT

Of the several species that make up the *Candida* genus, some have been shown to be associated with cases of human infection, with *Candida albicans* being the main pathogen, despite studies confirming cases of infection with other species of the genus. There are several drugs available for the treatment of oral candidiasis, and nystatin is the drug of first choice. However, in addition to its known side effects, nystatin does not present considerable residual action, which impairs treatment efficiency. Given this, this work aims to develop a mucoadhesive gel for the treatment of oral candidiasis, constituted by extract of *S. brasiliensis*, encapsulated in maltodextrin nanoparticles. After obtaining the extract by maceration followed by rotary evaporation, the assay was performed to verify the antifungal activity of the same, by the microdilution method in broth, using 96-well microplates. This was done with the assay to elucidate the possible mechanism of action of the extract on the wall and fungal cell membrane, by the microdilution method. Then, the phytochemical prospection was carried out, searching for the main phytocomponents of the plant, by spectrophotometry, in order to associate their presence with the antifungal action of the plant. Subsequently, the microparticles of maltodextrin were developed by *Spray Drier*, encapsulating the extract, varying the flow rate of the pump. Subsequently, the microparticle that had the best fungal activity was selected to follow the steps of thermal compatibility, formulation and evaluation of its effectiveness.

Keywords: Oral candidiasis. *S. brasiliensis*. Mucosadhesive gel.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - <i>Schinopsis brasiliensis</i> | 17 |
| Figura 2A - Curvas de DTA do extrato de <i>S. brasiliensis</i> , maltodextrina e micropartícula de maltodextrina..... | 27 |
| Figura 2B - Curvas de TG do extrato de <i>S. brasiliensis</i> , maltodextrina e micropartícula de maltodextrina..... | 28 |
| Figura 3A - Curvas DTA do metilparabeno, micropartículas e sua mistura binária..... | 29 |
| Figura 3B - Curvas TG do metilparabeno, micropartículas e sua mistura binária..... | 30 |
| Figura 4A - Curvas DTA do propilparabeno, micropartículas e sua mistura binária..... | 31 |
| Figura 4B - Curvas TG do propilparabeno, micropartículas e sua mistura binária..... | 32 |
| Figura 5A - Curvas DTA da trietanolamina, micropartículas e sua mistura binária..... | 33 |
| Figura 5B - Curvas TG da trietanolamina, micropartículas e sua mistura binária..... | 34 |
| Figura 6A - Curvas DTA de carbopol, micropartículas e sua mistura binária..... | 35 |
| Figura 6B - Curvas TG de carbopol, micropartículas e sua mistura binária..... | 36 |
| Figura 7A - Curvas DTA do propilenoglicol, micropartículas e sua mistura binária..... | 37 |
| Figura 7B - Curvas TG do propilenoglicol, micropartículas e sua mistura binária..... | 38 |
| Figura 8A - Curvas DTA da glicerina, micropartículas e sua mistura binária..... | 39 |
| Figura 8B - Curvas TG da glicerina, micropartículas e sua mistura binária..... | 40 |

| | |
|---|----|
| Figura 9 - Espectro de FTIR do extrato rotaevaporado de <i>S. brasiliensis</i> | 41 |
| Figura 10 - Espectro de FTIR da micropartícula de <i>S. brasiliensis</i> a partir da maltodextrina..... | 42 |
| Figura 11 - Espectro de FTIR da mistura binária da micropartícula com propilenoglicol..... | 42 |
| Figura 12 - Espectro FTIR da mistura binária da micropartícula com metilparabeno..... | 43 |
| Figura 13 - Espectro FTIR da mistura binária da micropartícula com propilparabeno..... | 43 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Classes de excipientes utilizados no estudo..... | 21 |
| Tabela 2 – Constituintes e seus percentuais utilizados na preparação do gel..... | 22 |
| Tabela 3 – Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do extrato de <i>S. brasiliensis</i> sobre as cepas de <i>Candida</i> | 24 |
| Tabela 4 – Teor dos constituintes fitoquímicos presentes no extrato de <i>S. brasiliensis</i> . | 27 |
| Tabela 5 – Avaliação da atividade antifúngica das micropartículas..... | 25 |
| Tabela 6A – Dados DTA do extrato de <i>S. brasiliensis</i> , maltodextrina e micropartículas | 27 |
| Tabela 6B – Dados da TG referentes à decomposição do extrato de <i>S. brasiliensis</i> , maltodextrina e micropartículas..... | 28 |
| Tabela 7A – Dados DTA das micropartículas, metilparabeno e sua mistura binária..... | 30 |
| Tabela 7B – Dados TG referentes à decomposição das micropartículas, metilparabeno e sua mistura binária..... | 31 |
| Tabela 8A – Dados DTA das micropartículas, propilparabeno e sua mistura binária..... | 32 |
| Tabela 8B – Dados TG referentes à decomposição das micropartículas, propilparabeno e sua mistura binária..... | 33 |
| Tabela 9A – Dados DTA das micropartículas, trietanolamina e sua mistura binária..... | 34 |
| Tabela 9B – Dados TG referentes à decomposição das micropartículas, trietanolamina e sua mistura binária..... | 35 |
| Tabela 10A – Dados DTA das micropartículas, carbopol e sua mistura binária..... | 36 |
| Tabela 10B – Dados TG referentes à decomposição das micropartículas, carbopol e sua mistura binária..... | 37 |
| Tabela 11A – Dados DTA das micropartículas, propilenoglicol e sua mistura binária..... | 38 |
| Tabela 11B – Dados TG referentes à decomposição das micropartículas, propilenoglicol e sua mistura binária..... | 39 |
| Tabela 12A – Dados DTA das micropartículas, glicerina e sua mistura binária..... | 40 |
| Tabela 12B – Dados TG referentes à decomposição das micropartículas, glicerina e sua mistura binária..... | 41 |

| | |
|--|----|
| Tabela 13 – Avaliação da atividade antifúngica da formulação obtida a partir da micropartícula 04..... | 44 |
|--|----|

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 14 |
| 2.1 Candidíase oral | 14 |
| 2.2 Plantas medicinais | 16 |
| 2.2.1 <i>Schinopsis brasiliensis</i> | 14 |
| 3 OBJETIVOS..... | 19 |
| 3.1 Objetivo geral | 19 |
| 3.2 Objetivos específicos..... | 19 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 20 |
| 4.1 Coleta do material vegetal e preparação do extrato..... | 20 |
| 4.2 Avaliação da atividade antifúngica..... | 20 |
| 4.3 Prospecção fitoquímica..... | 21 |
| 4.3.1 Determinação do teor de polifenóis totais | 21 |
| 4.3.2 Determinação do teor de flavonóides | 21 |
| 4.3.3 Determinação do teor de taninos condensados..... | 22 |
| 4.3.4 Determinação do teor de saponinas totais | 22 |
| 4.4 Produção das Micropartículas | 22 |
| 4.5 Avaliação da atividade antifúngica das micropartículas obtidas..... | 21 |
| 4.6 Estudo de compatibilidade..... | 21 |
| 4.7 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) | 22 |
| 4.8 Desenvolvimento do gel..... | 22 |
| 4.9 Ensaio organoléptico | 24 |
| 4.10 Determinação do pH..... | 25 |
| 4.11 Estresse Térmico..... | 25 |
| 4.12 Análise da eficácia da formulação..... | 25 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 26 |
| 5.1 Avaliação da atividade antifúngica..... | 26 |
| 5.2 Prospecção fitoquímica..... | 26 |
| 5.3 Avaliação da atividade antifúngica das micropartículas obtidas..... | 25 |
| 5.4 Estudo de compatibilidade | 26 |
| 5.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)..... | 41 |
| 5.6 Análise físico-química da formulação..... | 43 |

| | |
|--|----|
| 5.7 Análise da eficácia da formulação..... | 46 |
| 6 CONCLUSÕES | 47 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 48 |

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Candida albicans* é o principal microorganismo associado a candidíase oral. A candidíase oral é uma patologia oportunista, e ocorre quando o paciente é acometido por comprometimento imunológico, doenças sistêmicas do tipo diabetes, presença de deficiências nutricionais, distúrbios hormonais, uso de medicamentos que interfiram na microbiota oral, ocorrência de processos invasivos, entre outros (AKPAN; MORGAN, 2002; CALDERONE; FONZI, 2001).

Esse microorganismo é encontrado na mucosa oral e produz diversas biomoléculas que garantem sua adesão à mucosa, portanto, o tratamento adequado depende da ação de agentes terapêuticos que entram em contato direto com a mucosa bucal. A nistatina, principal fármaco para o tratamento da candidíase oral, apresenta-se na forma de suspensão oral, que possui poder residual pequeno, por isso, sistemas de liberação inovadores vêm sendo desenvolvidos a fim de aumentar a eficiência dos agente antimicrobianos, com destaque para os carreadores nanoestruturados, através do qual também é possível modular suas propriedades físico-químicas, tais como hidrofobicidade, carga superficial, eficiência de incorporação do agente antimicrobiano e seu perfil de liberação, visando otimizar o comportamento *in vivo* desses sistemas (TAVARES, 2001; GILMAN et al., 2003; SALAMAT-MILLER et al., 2005).

Nesse contexto, a procura por produtos naturais com atividade antimicrobiana tem merecido destaque, principalmente com o advento de cepas multirresistentes, além dos inconvenientes apresentados pelos fármacos de origem sintética. O uso de plantas com finalidades terapêuticas é uma prática comum no Brasil, e este conhecimento tem despertado o interesse nacional e internacional pelo potencial terapêutico e econômico que representa (BERG, 1993; SIMÕES et al., 2000). Nos últimos anos houve um aumento do mercado mundial de fitoterápicos, seja pela busca por alternativas terapêuticas ou devido à falta de avanço das terapias convencionais em tratar doenças crônicas ou de fisiopatologia multifatorial (GIULIETTI; FORERO, 1990; PRANCE, 1977; PINTO et al., 2002).

O bioma caatinga, predominante na região semiárida brasileira, é uma promissora fonte de recursos vegetais a serem explorados do ponto de vista farmacêutico. A importância de se avaliar esse potencial, diz respeito não só a

descoberta de novas substâncias e seus potenciais fitoterápicos, como também a valorização ecológica dessa região, pois o conhecimento dessas espécies possibilita a elaboração de um plano de gestão para a conservação da fitodiversidade da região, através do estímulo a exploração sustentável dessas plantas.

Além do desenvolvimento de novos produtos fitoterápicos é importante, também, aumentar a eficiência dessas formulações propostas. O uso de polímeros vem auxiliar nessas inovações, auxiliando na sua proteção frente à degradação, modificando suas características físico-químicas, controlando sua liberação nos fluidos biológicos e aumentando sua eficácia terapêutica (LOPES et al., 2010; REIS et al., 2006). Em particular, polímeros com características bioadesivos, tais como a maltodextrina, podem ser considerados promissoras ferramentas para o tratamento da candidíase oral, uma vez que permitiriam o contato íntimo entre o composto ativo e o agente infeccioso (AVADI et al., 2003; BERNKOP-SCHNURCH, 2001; ILLUM, 1998).

Dessa forma, e considerando a inexistência de formulação similar na literatura, o presente projeto objetiva desenvolver e caracterizar um gel mucoadesivo, constituído por extrato obtido a partir de planta, encapsulado em micropartículas de maltodextrina, visando o tratamento de candidíase oral.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Candidíase oral

A espécie *Candida albicans* é o principal microorganismo associado à candidíase oral, e pode apresentar-se sob as formas de leveduras, pseudo-hifas e hifas (AKPAN; MORGAN, 2002). Sua patogenia está relacionada a alguns fatores de virulência, como a aderência às células epiteliais do hospedeiro, o dimorfismo, a variabilidade fenotípica e a secreção de enzimas extracelulares (CALDERONE; FONZI, 2001).

Aproximadamente 200 espécies compõem o gênero *Candida*, mas apenas 20 tem demonstrado associação com casos de infecção humana, sendo que sua identificação se dá através da análise de suas características morfológicas e perfis bioquímicos (BENNETT, 2009). Destas, as consideradas de interesse clínico são: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. lusitanae*. (COLEMAN et al., 1998).

Cerca de 20-40% dos indivíduos normais apresentam colonização da via oral por espécies do gênero *Candida*, sendo que, entre as 20 espécies patogênicas, *Candida albicans* é a mais prevalente, sendo responsável por mais de 90% dos casos encontrados (VANDEN ABEELE et al., 2008). Portanto, são conhecidos sua patogenicidade e fatores de virulência, incluindo sua capacidade de se aderir a membranas e mucosas, sua termotolerância, bem como produção de enzimas (HILLER et al., 2011).

As infecções causadas pelo gênero *Candida* são do tipo oportunista, já que essa espécie faz parte da microbiota humana. Essa patologia pode apresentar um quadro agudo, subagudo ou crônico, sendo ainda superficial ou profunda (AKPAN; MORGAN, 2002; FARAH et al., 2000). Os estágios da doença compreendem inflamação, formação de pus e resposta granulomatosa, e os locais mais comumente acometidos são as mucosas orofaríngea e vaginal, pele e anexos, brônquios e pulmões e trato gastrointestinal. A doença pode se tornar sistêmica nas septicemias, endocardites, meningites, candidemias ou ainda candidíases disseminadas (DAVIES et al., 2006; EGGIMANN et al., 2003).

A candidíase oral é a infecção bucal mais comum no homem, ocorrendo em 10 a 50% dos indivíduos sadios (EGGIMANN et al., 2003), e naqueles imunocomprometidos, principalmente portadores do vírus HIV, cerca de 74%

apresentam lesões na mucosa bucal (BACCAGLINI et al., 2007). A manifestação da doença está associada a três fatores: o estado imunológico do paciente, o ambiente da mucosa oral e os fatores de virulência das espécies de *Candida* (SOOL, 2002). Outros fatores, como o uso de medicamentos que diminuem a resposta imunológica, condições nutricionais, processos cirúrgicos invasivos, alterações hormonais, algumas doenças sistêmicas, como o diabetes não-tratado ou mal controlado, neoplasia, AIDS e imunossupressão, predispõe a candidíase oral (AKPAN; MORGAN, 2002; DAVIES et al., 2006; EGGIMANN et al., 2003; ELLEPOLA; SAMARANAYAKE, 2000; KADIR et al., 2007). Em casos de imunossupressão, o indivíduo poderá desenvolver a doença, constituindo-se a candidíase oral a mais prevalente infecção oportunista em pacientes portadores de AIDS, sendo considerada ainda marcadora de progressão de portadores dessa síndrome (JOHNSON et al., 2010). Constitui-se como uma espécie sensível aos antifúngicos sistêmicos, porém existem relatos de casos de resistência aos azóis (BEN-AMI et al., 2011).

Dentre as manifestações clínicas apresentadas pela candidíase oral, disfagia, odinofagia e queimação retroesternal são as principais, podendo ainda haver complicações que incluem hemorragia e perfuração (THOM et al., 2006)

Em virtude de várias outras doenças oportunistas que podem afetar a cavidade oral o diagnóstico a candidíase em pessoas portadoras de AIDS é feito através de investigação laboratorial, avaliando-se alterações morfológicas nas lesões, obtenção de amostras para cultura e biópsia dos tecidos (SUGAR, 2004).

Para o tratamento tópico os agentes terapêuticos mais empregados são os polienos e os azóis, sob a forma de soluções e suspensões para bochechos, pastilhas medicamentosas, comprimidos bucais e cremes e géis de uso oral (ERNST et al., 2000; PATTON, 2001; DOROCCA-BOBKOWSKA et al., 2003). Como forma tratamento, diversas opções estão disponíveis, entre elas miconazol, clotrimazol, cetoconazol e imidazol, aplicados localmente, porém tem uso limitado por apresentarem potencial risco de efeitos colaterais como, por exemplo, vômitos e diarreia. Outros fármacos pertencentes à classe dos azóis também estão disponíveis, clotrimazol e cetoconazol são exemplos. A nistatina é o agente mais utilizado no tratamento da candidíase oral, estando disponível sob a forma de suspensão oral e, além dos efeitos colaterais (náuseas, vômito e diarreia) esta apresentação não exibe ação residual considerável (COLOMBO et al., 2003; DIGNANI et al., 2003).

A eficácia desses tratamentos está relacionada com seu tempo de contato com a mucosa oral, onde se encontra o agente causador da infecção, por isso faz-se necessário o uso de várias doses do fármaco ao longo do dia (CODD; DEASY, 1998). Por outro lado, a resistência fúngica aos tratamentos farmacológicos disponíveis vem aumentando devido ao crescimento da população imunocomprometida e do uso frequente de profilaxia e automedicação (EVANS; GRAY, 2003). Outro fator que pode contribuir com o aumento da resistência é o tempo prolongado para o tratamento da candidíase, que pode variar de alguns dias, até mais que 6 meses (AZUL; TRANCOSO, 2007).

2.2 Plantas medicinais

Diante dos problemas apresentados pelos tratamentos convencionais surge a necessidade de novos tratamentos, que não apresentem os inconvenientes apresentados pelas drogas disponíveis no mercado. Nesse contexto, as plantas medicinais vem como possíveis alternativas ao tratamento das mais diversas enfermidades, tendo seu uso bastante difundido no Brasil, muitas vezes em decorrência da utilização na cultura popular, fazendo com que a fitoterapia seja uma terapêutica bastante adotada nos dias de hoje, sendo reconhecida pela Organização Mundial e Saúde (OMS) desde 1978 (VEIGA, 2008).

A região do semiárido nordestino é composta por uma vegetação fonte de muitos recursos, porém é pouco estudada, apesar da grande diversidade. No entanto, essa situação começa a mudar à medida que os pesquisadores começaram a perceber o potencial dessa região e, assim, realizar mais estudos tendo em vista o suprimento das necessidades da população. Muitas espécies de plantas da Caatinga são conhecidas, amplamente utilizadas na medicina popular e, ainda, na produção de comercial de medicamentos fitoterápicos em decorrência de sua comprovada ação antifúngica (ALBUQUERQUE et al., 2007).

2.2.1 *Schinopsis brasiliensis*

Conhecida popularmente como braúna, *Schinopsis brasiliensis* (Figura 1), pertencente à família Anacardiaceae é uma planta nativa do nordeste e componente do bioma Caatinga. Diversos estudos demonstram sua atividade antimicrobiana, além de

outras propriedades terapêuticas, sendo este vegetal utilizado na medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades (CARVALHO, 2011; SARAIVA et al., 2013).

Em seu estudo, Saraiva et al. (2011) observaram o potencial antimicrobiano do extrato da folha da *S. brasiliensis* frente a cepas de *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase-negativa, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Klebisella pneumoniae*, *Salmonella typhymurium*, *C. albicans* e *C. krusei* pelo método de difusão em agar. O extrato foi capaz de inibir o crescimento de todas as 31 cepas testadas, diferentemente dos controles utilizado (Tetraciclina e Gentamicina). O extrato testado apresentou altos níveis de compostos fenólicos e de atividade antioxidante. Os resultados, segundo os autores, estimulam outros estudos para isolar e identificar compostos das folhas da planta, tendo em vista a alta atividade antimicrobiana, principalmente contra cepas patogênicas, como *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Figura 1. *Schinopsis brasiliensis*



Fonte: EMBRAPA, 2010.

Chaves et al. (2011) verificaram o potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e etanólico da folha da *S. brasiliensis*, através do teste de difusão em meio sólido. Eles observaram inibição de cepas de *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*. Os autores apontaram a presença de tanino pirogálico fenóis, flavonoides, resinas e alcaloides em ambos os extratos e concluíram que a planta em questão apresenta perspectiva para obtenção de um antibiótico natural.

Em outro estudo com extrato de folhas da *S. brasiliensis*, Saraiva et al. (2013) utilizaram o método de difusão em ágar para testar duas misturas de frações em 16 cepas de *S. aureus* Meticilina Resistente, três *S. aureus* Meticilina Sensível, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *Salmonella* spp, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Os resultados mostraram forte atividade antimicrobiana frente a todas as cepas testadas. Além disso, os autores realizaram o teste de sinergismo-antagonismo dos extratos em conjunto com tetraciclina, mostrando efeito aditivo ou sinérgico para todos os microrganismos testados. Os autores concluíram que a atividade dos extratos da folha de *S. brasiliensis* foi promissora, fornecendo dados suficientes para a continuação das pesquisas.

Donati et al. (2014) avaliaram, através do método de difusão em ágar, a atividade do óleo essencial da folha da *S. brasiliensis* frente a *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. parapsilosis*. Contudo, o óleo essencial só mostrou atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*. Esta atividade está relacionada a presença de mirceno, um monoterpene acíclico com potencial redutor. Além do mirceno que foi o composto majoritário, o óleo essencial da folha apresentou estragole, β -cariofileno, β -elemeno, α -humuleno, aromadendreno, α -pineno, isocarvestreno, eucaliptol, linalol, terpine-4-ol, terpineol, ledeno, globulol, guaiol.

Além de comprovar a atividade biológica de uma planta e propor um fitoterápico, faz-se necessário garantir a eficiência dessa formulação, fazendo uso da nanotecnologia, por exemplo, modificando as características do composto bioativo e, dessa forma, aumentando sua eficácia.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Obter um gel mucoadesivo com o extrato das folhas de *Schinopsis brasiliensis* para o tratamento da candidíase oral.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- a) obter o extrato das folhas de *S. brasiliensis*;
- b) avaliar atividade antifúngica do extrato frente às cepas de *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, e *C. krusei*.
- c) determinar os principais constituintes químicos presentes no extrato;
- d) obter as micropartículas do extrato, encapsuladas em maltodextrina;
- e) Avaliar o comportamento do extrato e de suas misturas binárias com excipientes farmacêuticos, utilizando técnicas termoanalíticas (termogravimetria e análise térmica diferencial);
- f) Avaliar os perfis espectroscópicos do extrato e das misturas na região do infravermelho (FT-IR);
- g) Desenvolver uma formulação de gel mucoadesivo a partir do extrato de *S. brasiliensis*;
- h) Avaliar os parâmetros físico-químicos da formulação;
- i) Analisar a eficácia da formulação *in vitro*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal e preparação do extrato

As folhas de *S. brasiliensis* foram coletadas na região do compartimento da Borborema, (7° 13' 50" S, 35° 52' 52" W) no estado da Paraíba. O material foi identificado no Herbário Professor Jaime Coelho de Moraes no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba no campus de Areia – PB, onde foi depositada a exsicata de número EAN – 14049. O material vegetal foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar, à 40 °C e posteriormente pulverizado em moinho de facas com malha de 10 mesh. O extrato hidroalcoólico foi obtido pelo método de maceração, utilizando como solvente uma solução de água/etanol na proporção 50:50 (v/v), seguida de concentração em evaporador rotativo à 40°C, obtendo-se o extrato bruto.

4.2 Avaliação da atividade antifúngica

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos obtidos, a partir da espécie vegetal coletada, foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) de *Candida albicans* (18804), *C. tropicalis* (13803), *C. glabrata* (15545) e *C. krusei* (34135) as quais foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em placas de 96 cavidades, usando caldo Sabouraud Dextrose. O inóculo microbiano foi padronizado, conforme descrito na *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010), em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 530 nm, para fungos, de modo a obter uma concentração final de 10^3 UFC mL⁻¹. Foram realizadas diluições seriadas do extrato em um intervalo de concentrações entre 2000 a 0,0078 µg mL⁻¹. As placas foram incubadas a 30 ± 1 °C durante 48 horas. O crescimento do microrganismo foi indicado pela adição de 20 µL de solução aquosa de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01 %, com nova incubação a 30 ± 1 °C durante 2 h. A CIM foi definida como a menor concentração onde não houve crescimento microbiano visível. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.3 Prospecção fitoquímica

Para a determinação dos metabolitos, foram realizadas as quantificações de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados através da espectrofotometria na região do UV-visível. Para os ensaios foi utilizado o espectrofotômetro Shimadzu UV mini-1240.

4.3.1 Determinação do teor de polifenóis totais

Para a determinação do teor de polifenóis totais, utilizou-se o método descrito por Chandra e Mejía (2004). Dessa forma, adicionou-se 1 mL da solução aquosa do extrato a 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 1N, e esta mistura permaneceu em repouso por 2 minutos. Em seguida, adicionou-se 2 mL de uma solução aquosa de Na₂CO₃ a 20% (p/v), e a mistura permaneceu em repouso por mais 10 minutos. Em seguida, foi feita a leitura da absorbância a 757 nm em espectrofotômetro, contra um branco composto por água destilada, reagente de Folin-Ciocalteu e solução a 20% de Na₂CO₃. Para a obtenção da curva analítica, uma solução padrão de 100 µg/mL de ácido gálico foi preparada pela dissolução de 10 mg do padrão em 100 mL de água destilada. A partir dessa solução foram feitas diluições em triplicata, de forma a obter soluções de 1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35, e 40 µg/mL. A concentração de polifenóis foi expressa em miligramas equivalentes de ácido gálico. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.2 Determinação do teor de flavonóides

A determinação do conteúdo de flavonóides totais seguiu o método de Meda et al. (2005). A 5 mL de cada solução (em metanol) do extrato foi adicionado o mesmo volume de uma solução (em metanol) de AlCl₃ a 2% (p/v). A mistura permaneceu em repouso por 10 minutos antes da leitura da absorbância a 415 nm, contra um branco composto pela solução de AlCl₃. A curva de calibração foi obtida a partir de uma solução padrão a 100 µg/mL, preparada pela dissolução de 10 mg de quercetina em 100 mL de metanol. A partir dessa solução, foram feitas diluições em triplicata, obtendo-se soluções de quercetina nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 22, 26, 28 e 30 µg/mL. A concentração de flavonóides foi expressa em miligramas equivalentes de quercetina. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.3 Determinação do teor de taninos condensados

O teor de taninos condensados foi quantificado utilizando-se o método de Makkar e Becker (1993), no qual 0,5 mL da amostra do extrato vegetal foi adicionado a 3 mL de uma solução de vanilina (4% p/v em metanol); em seguida, adicionou-se 1,5 mL de HCl concentrado (37%). A reação ocorreu em tubos de ensaio, mergulhados em água a cerca de 22 °C. A leitura foi feita a 500 nm, contra um branco composto pela solução de vanilina, HCl e uma solução de etanol 50% (v/v) em água. A curva de calibração para este ensaio foi obtida a partir de uma solução padrão de catequina obtida pela dissolução de 10 mg do padrão em 100 mL de metanol. A partir dessa solução, foram realizadas diluições em triplicata, de forma a obter soluções de catequina nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg/mL. A concentração de taninos condensados foi expressa em miligramas equivalentes de catequina. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.4 Determinação do teor de saponinas totais

A quantificação de saponinas totais seguiu o método descrito por Makkar, Siddhuraju e Becker (2007). Adicionou-se 250 µL de uma solução de vanilina (8% em etanol) a 250 µL da solução do extrato (em metanol 80%), em seguida, adicionou-se 2,5 mL de sulfúrico (72%). Os tubos foram incubados a 60 °C em banho-maria por 10 minutos, sendo transferido para um banho de gelo, onde permaneceram por 4 minutos. Foi feita a leitura da absorvância a 544 nm, contra um branco composto pela solução de vanilina, metanol 80% e ácido sulfúrico. A curva de calibração foi obtida a partir de uma solução padrão a 500 µg/mL, preparada pela dissolução de 10 mg de disogenina em 20 mL de metanol a 80%. A partir dessa solução, foram feitas diluições em triplicata, obtendo-se soluções de quercetina nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500 µg/mL. A concentração de flavonóides foi expressa em miligramas equivalentes de quercetina. As análises foram realizadas em triplicata.

4.4 Produção das Micropartículas

As micropartículas foram preparadas a partir de uma solução aquosa de maltodextrina numa concentração de 20% com posterior adição do extrato semissólido levando-se em consideração o resíduo seco da planta. A solução foi seca em um

aparelho *Spray Drier* (MSD 0.5, Labmaq do Brasil Ltda.) com a finalidade de se produzir as micropartículas, com temperatura de entrada do ar de 100 °C e vazão do ar comprimido de 45L/h⁻¹. O único parâmetro que teve variação foi a vazão da bomba (0,30, 0,40 e 0,50 mL/min⁻¹), pois esta modifica o tamanho das micropartículas obtidas.

4.5 Avaliação da atividade antifúngica das micropartículas obtidas

Com o intuito de selecionar a micropartícula com melhor ação sobre os patógenos causadores da candidíase oral, realizou-se o ensaio microbiológico, pelo método de microdiluição, já descrito no tópico 4.2.

4.6 Estudo de compatibilidade

Foi realizado estudo de compatibilidade no intuito de avaliar a compatibilidade entre as micropartículas obtidas a partir do extrato de *S. brasiliensis* e excipientes farmacêuticos comumente utilizados na produção de gel. O estudo utilizou o sistema de misturas binárias, as quais foram produzidas na proporção 1:1. As misturas binárias foram analisadas pelas técnicas de DTA e TG. As misturas que se mostraram incompatíveis foram analisadas por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). A tabela 1 informa os excipientes utilizados no estudo.

Tabela 1 – Classes dos excipientes utilizados no estudo.

| Função | Excipiente |
|---------------|-------------------------------|
| Gelificantes | Trietanolamina; Carbopol |
| Umectante | Propilenoglicol; Glicerina |
| Conservante | Metilparabeno; Propilparabeno |

4.7 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

As amostras indicadas como incompatíveis pelas técnicas termoanalíticas, foram analisadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier. Para as análises foi utilizado um espectrofotômetro Spectrum 400 (Perkin Elmer®)

FTIR/FTNIR Spectrometer. As varreduras das amostras foram realizadas entre os comprimentos de onda de 4000 e 650 cm^{-1} .

4.8 Desenvolvimento do gel

Para o desenvolvimento do gel, foram selecionados aqueles excipientes que melhor se comportaram após o estudo de compatibilidade por análise térmica e espectroscopia de infravermelho. Para o preparo do gel foram determinados os percentuais dos constituintes para 100 g da formulação, indicados na Tabela 2. Iniciou-se com água aquecida a 70 °C para a solubilização dos componentes da formulação na sequência (sem o carbopol e trietanolamina). Acrescentou-se lentamente o carbopol, agitando-se com velocidade moderada, até a dispersão completa, ajustando-se o pH para a faixa entre 6,5-7,0 após 24 horas com a trietanolamina. O gel foi acondicionado em recipiente plástico opaco, com tampa de rosca, em temperatura ambiente (BRASIL, 2012).

Tabela 2 - Constituintes e seus percentuais utilizados na preparação do gel.

| SUBSTÂNCIA | CONCENTRAÇÃO (%) |
|-----------------|------------------|
| Carbopol | 1,5 |
| Trietanolamina | 1,2 |
| Glicerina | 7,0 |
| Metilparabeno | 0,1 |
| Micropartículas | 10,0 |
| Água destilada | q.s.p. 100 |

4.9 Ensaios organolépticos

Os aspectos organolépticos do creme foram avaliados após 24 horas de formulado, após os ensaios de centrifugação e estresse térmico.

Aspecto: Foram observadas características macroscópicas, turvação e precipitação.

Cor: Por meio de leitura visual foi avaliado se ocorreu mudanças na coloração inicial do produto.

Odor: Foi observado se houve mudança no odor inicial do produto.

4.10 Determinação do pH

O pH das amostras foram verificados após 24 horas de formulado, após os ensaios de centrifugação e estresse térmico. Antes da realização dos ensaios as amostras foram diluídas em água destilada na proporção 1:10. Para a determinação do pH foi utilizado o pHmetro da marca Gehaka[®] (mPA-210), inserindo o eletrodo diretamente na amostra diluída. O teste foi realizado em triplicata.

4.11 Estresse Térmico

O ensaio consistiu em submeter alíquotas do gel à diferentes temperaturas (40, 50 e 60 °C) por um período de 30 minutos. Posteriormente foram avaliados os aspectos organolépticos e pH das amostras.

4.12 Análise da eficácia da formulação

O gel desenvolvido foi submetido à ensaio microbiológico, utilizando a técnica de microdiluição. Para a análise, foi preparada uma solução à 2 mg de extrato/ ml de água destilada, procedendo-se o ensaio de acordo com a metodologia já descrita no tópico 4.2, com o objetivo de avaliar se foi mantida a atividade antifúngica do extrato de *S. brasiliensis*, quando incorporado à formulação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da atividade antifúngica

O extrato de *S. brasiliensis* mostrou-se eficaz sobre todas as cepas avaliadas, quando submetido ao ensaio de atividade antifúngica (Tabela 3).

Tabela 3 - Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do extrato de *S. brasiliensis* sobre as cepas de *Candida*.

| Cepas | CIM (mg/mL) |
|--|-------------|
| <i>Candida albicans</i> (ATCC 18804) | 0,25 |
| <i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803) | 0,12 |
| <i>Candida glabrata</i> (ATCC 15545) | 1,00 |
| <i>Candida krusei</i> (ATCC 34135) | 0,12 |

De acordo com Duarte et al. (2007), produtos naturais são potenciais inibidores da ação microbiana, podendo apresentar CIM menor que 500 µg/mL. Visto isso, nota-se que o extrato de *S. brasiliensis* apresenta grande potencial como inibidor fúngico, demonstrando-se eficaz contra as quatro espécies submetidas, sendo *Candida tropicalis* e *Candida krusei* as mais sensíveis.

Valores de CIM diferentes, para as mesmas espécies, foram encontrados por Guimarães et al. (2010) em outro estudo realizado. No entanto, isto pode ser explicado pela época de coleta da planta, onde a sazonalidade desta vai interferir diretamente na presença e concentração de seus metabólitos ativos, envolvidos no processo de inibição da atividade fúngica.

5.2 Prospecção fitoquímica

A Tabela 4 expressa os principais constituintes fitoquímicos de *S. brasiliensis*, bem como as concentrações nas quais foram encontrados.

Tabela 4 - Teor dos constituintes fitoquímicos presentes no extrato de *S. brasiliensis*.

| Constituintes fitoquímicos | Concentração (µg/mg) |
|----------------------------|----------------------|
| Polifenóis totais | 216,78 ¹ |
| Flavonóides | 70,03 ² |
| Taninos | 13,15 ³ |
| Saponinas | 145,71 ⁴ |

Legenda: ¹Equivalente a ácido gálico (EAG); ²Equivalente a quercetina (EQ); ³Equivalente a catequina (EC); ⁴ Equivalente a diogenina (ED)

Os extratos vegetais tem a capacidade inibir o desenvolvimento de microrganismos por meio de diversos mecanismos. O caráter hidrofóbico de membros existentes na solução com maior interação da bicamada lipídica da membrana celular pode levar ao aumento da fragilidade do microrganismo ao antibiótico. (BURT, 2004; MATIAS et al., 2013).

É possível constatar que o teor de polifenóis totais apresenta-se como o maior dentre todos os compostos pesquisados. Estes, juntamente com os flavonoides estão presentes em diversas espécies vegetais, tendo sua ação antimicrobiana já constatada, além da anti-inflamatória e da atividade antioxidante (CORRADINIET et al., 2011; FERNANDES et al., 2015). Polifenóis e flavonoides são metabólitos úteis à planta no que diz respeito à sua defesa contra patógenos, dessa forma, fica comprovada sua ação antimicrobiana (ROCHA et al., 2011; DAGLIA, 2012).

5.3 Avaliação da atividade antifúngica das micropartículas obtidas

Na tabela 5 estão contidos os dados obtidos a partir do ensaio microbiológico a que foram submetidas as três micropartículas.

Tabela 5 - Avaliação da atividade antifúngica das micropartículas.

| Cepas | CIM (mg/mL ⁻¹) |
|-------------------------|----------------------------|
| <i>Candida albicans</i> | |
| Micropartícula 03 | 0,1250 |
| Micropartícula 04 | 0,0625 |
| Micropartícula 05 | 0,1250 |

| <i>Candida krusei</i> | |
|---------------------------|--------|
| Micropartícula 03 | 1,000 |
| Micropartícula 04 | 1,000 |
| Micropartícula 05 | 1,000 |
| <i>Candida tropicalis</i> | |
| Micropartícula 03 | 0,250 |
| Micropartícula 04 | 0,125 |
| Micropartícula 05 | 0,250 |
| <i>Candida glabrata</i> | |
| Micropartícula 03 | 0,0078 |
| Micropartícula 04 | 0,0078 |
| Micropartícula 05 | 0,0078 |

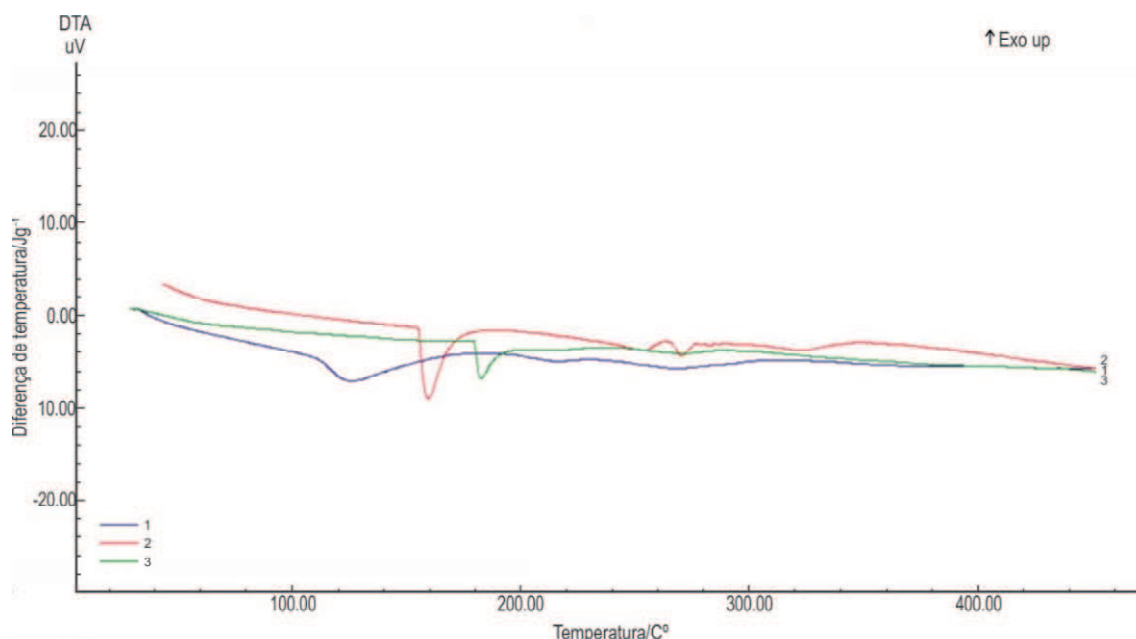
De acordo com os resultados obtidos, observou-se que as micropartículas obtidas nas três vazões de bomba se mostraram eficazes contra os patógenos testados, sendo que a micropartícula obtida pela vazão intermediária ($0,40 \text{ mL}/\text{min}^{-1}$) foi a que apresentou melhor eficácia, sendo então submetida aos ensaios seguintes. Caliskan (2013) realizou ensaio semelhante, no entanto obtendo melhores resultados a partir da menor vazão utilizada.

5.4 Estudo de compatibilidade

Micropartícula

As figuras 2A e 2B trazem as curvas DTA e TG do extrato de *S. brasiliensis* e sua mistura com a maltodextrina, avaliando-se a compatibilidade entre os mesmos.

Figura 2A- Curvas de DTA do extrato de *S. brasiliensis* (1), maltodextrina (2) e da micropartícula 04 (3).



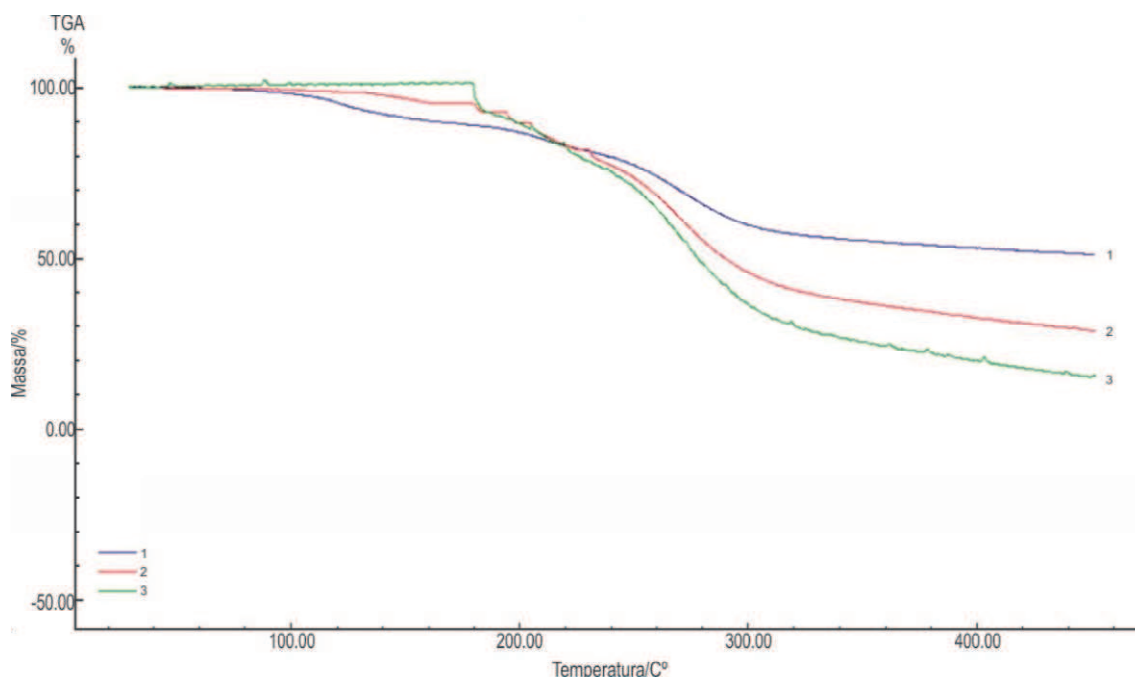
A curva de DTA do extrato apresentou três eventos endotérmicos, sendo o primeiro evento detectado entre 113,40-158,05 °C (ΔH -135,95 J/g), o segundo evento entre 197,96-226,24 °C (ΔH -11,11 J/g) e o terceiro evento entre 245,95-301,25 °C (ΔH -49,71 J/g). Na curva DTA da maltodextrina, ocorreram quatro eventos endotérmicos, sendo o primeiro decorrente da fusão do excipiente, ocorrendo em 159,66 °C (ΔH -172,77 J/g), valor semelhante ao encontrado por Sritham (2016). Os eventos seguintes ocorreram a partir de 246,38 °C. O primeiro evento da micropartícula incidiu em temperatura superior, ocorrendo em 180,02-189,09 °C (ΔH -117,71 J/g). Os eventos posteriores ocorreram em 207,51-225,71 °C (ΔH -5,49 J/g) e 244,36-282,75 °C (ΔH -47,22 J/g), com perfil térmico semelhante ao encontrado nas amostras isoladas, indicando compatibilidade térmica entre o extrato e o excipiente.

Tabela 6A – Dados DTA do extrato de *S. brasiliensis*, maltodextrina e micropartícula.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|------------------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| <i>S. brasiliensis</i> | Primeiro | 113,40 - 158,05 | 126,28 | - 135,95 |
| | Segundo | 197,96 - 226,24 | 215,51 | - 11,11 |
| | Terceiro | 245,95 - 301,25 | 267,96 | - 49,71 |
| Maltodextrina | Primeiro | 155,69 - 168,38 | 159,66 | - 172,77 |
| | Segundo | 246,38 - 259,46 | 254,15 | - 13,14 |

| | | | | |
|-----------------|----------|-----------------|--------|----------|
| | Terceiro | 267,00 - 275,74 | 270,56 | - 20,75 |
| | Quarto | 306,80 - 333,52 | 323,65 | - 29,43 |
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |
| | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |

Figura 2B- Curvas TG do extrato de *S. brasiliensis* (1), maltodextrina (2) e da micropartícula 04 (3).



A curva termogravimétrica do extrato aponta três eventos térmicos, sendo o primeiro responsável pela liberação de compostos voláteis e perda de umidade, ocorrendo na faixa entre 111,68 e 133,31 °C, com perda de massa de 7,89%. Os eventos seguintes ocorreram a partir de 200,25 e 278,11 °C, correspondendo à decomposição térmica do extrato, atingindo perda de massa de 21,22%. A maltodextrina apresenta um evento térmico considerável partindo de 150,19 °C com perda de massa de 40,17%. Já a micropartícula apresenta duas etapas iniciando a primeira em temperatura superior àquelas observadas nas substâncias isoladas, sendo a primeira iniciando em 160,29 °C e a segunda em 271,23 °C, com perdas de 21,58 e 43,09%, respectivamente.

Tabela 6B – Dados da TG referentes à decomposição do extrato de *S. brasiliensis*, maltodextrina e micropartículas.

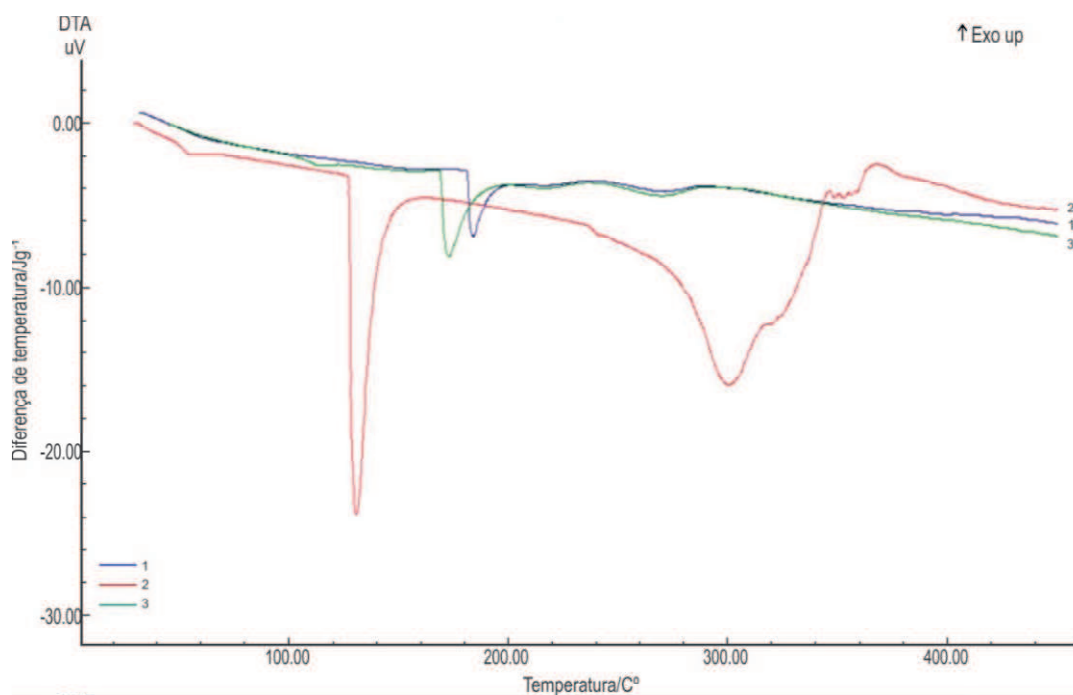
| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| <i>S. brasiliensis</i> | 111,68 | 133,31 | 7,89 |
| | 200,25 | 205,46 | 6,99 |

| | | | |
|-----------------|--------|--------|-------|
| | 278,11 | 294,21 | 21,22 |
| Maltodextrina | 150,19 | 156,45 | 40,17 |
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |

Conservantes

Foram analisados os agentes conservantes metilparabeno e propilparabeno, no intuito de avaliar qual destes é o mais compatível termicamente junto às micropartículas. Nas figuras 3 e 4 encontram-se as curvas de TG e DTA correspondentes aos excipientes isolados e a mistura binária destes com as micropartículas.

Figura 3A- Curvas DTA do metilparabeno (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).

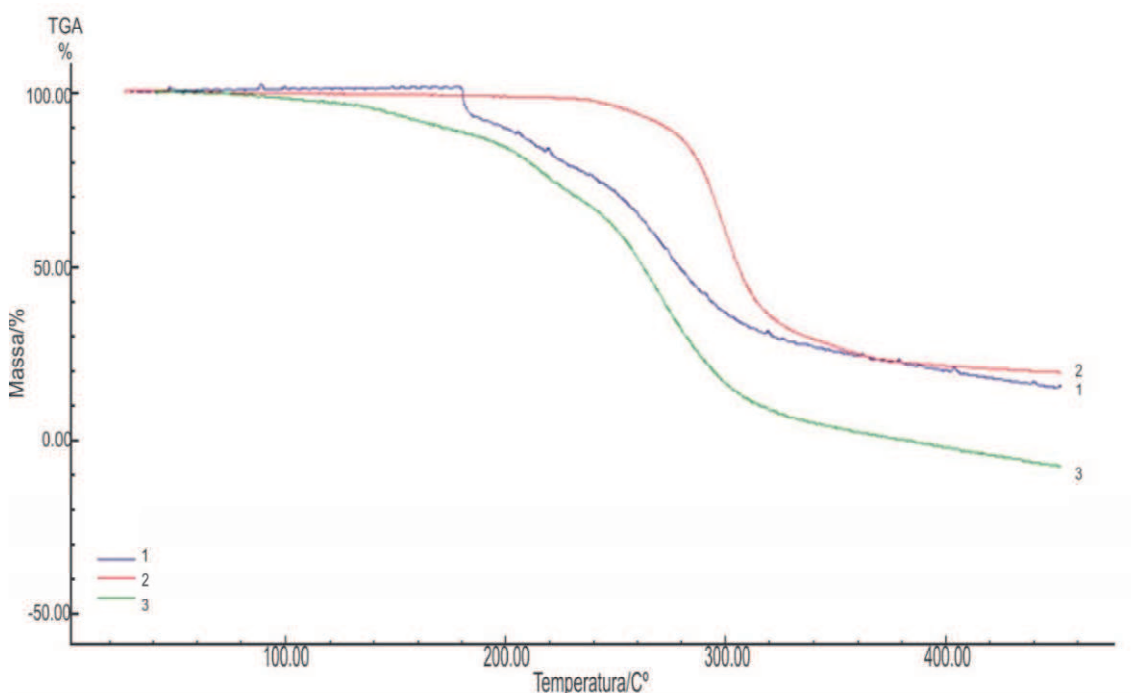


A curva DTA do metilparabeno apresenta três eventos térmicos significativos, um deles exotérmico, sendo o primeiro evento decorrente da fusão do excipiente compreendendo a faixa de 125,75-138,11 °C (ΔH -260,76 J/g), no entanto, partindo-se para a mistura binária, é possível observar apenas dois eventos endotérmicos, sendo e um perfil térmico semelhante ao observado na micropartícula, levando a crer que a mesma causou a supressão do pico de fusão do excipiente, como evidenciado por Neto (2009) ao testar uma mistura de parabenos.

Tabela 7A – Dados DTA da micropartícula 04, metilparabeno e sua mistura binária.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|------------------------------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |
| | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |
| Metilparabeno | Primeiro | 125,75 - 138,11 | 128,80 | - 260,76 |
| | Segundo | 284,21 - 313,28 | 300,21 | - 150,92 |
| | Terceiro | 347,43 - 362,88 | 352,94 | - 17,46 |
| Micropartículas + Metilparabeno | Primeiro | 167,79 - 181,29 | 171,31 | - 224,23 |
| | Segundo | 257,69 - 285,41 | 269,17 | - 59,61 |

Figura 3B- Curvas TG do metilparabeno (2), micropartículas 04 (1) e sua mistura binária (3).

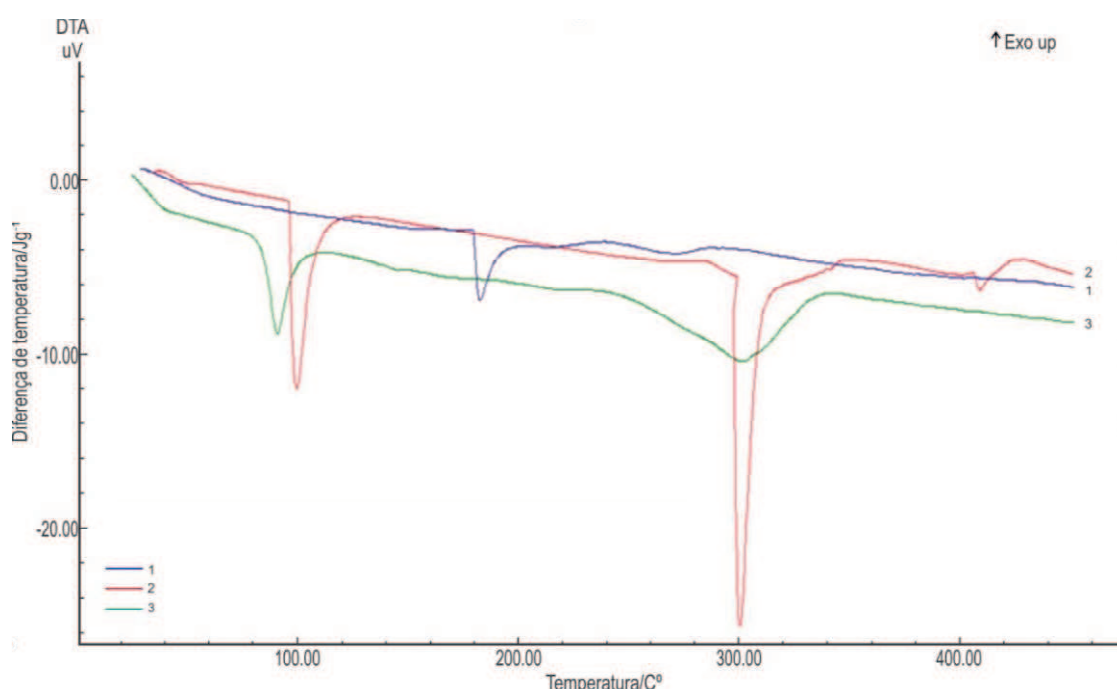


Na curva TG da mistura binária nota-se um evento de perda de massa de maneira antecipada, partindo de 282,99 °C e 74,25% de massa perdida, quando comparado ao excipiente isolado e a micropartícula, dando indício de incompatibilidade.

Tabela 7B – Dados TG referentes à decomposição da micropartícula 04, metilparabeno e sua mistura binária.

| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|---------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |
| Metilparabeno | 282,99 | 314,51 | 74,25 |
| Metilparabeno + micropartículas | 196,97 | 225,98 | 26,12 |
| | 258,57 | 291,79 | 57,23 |

Figura 4A- Curvas DTA do propilparabeno (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).

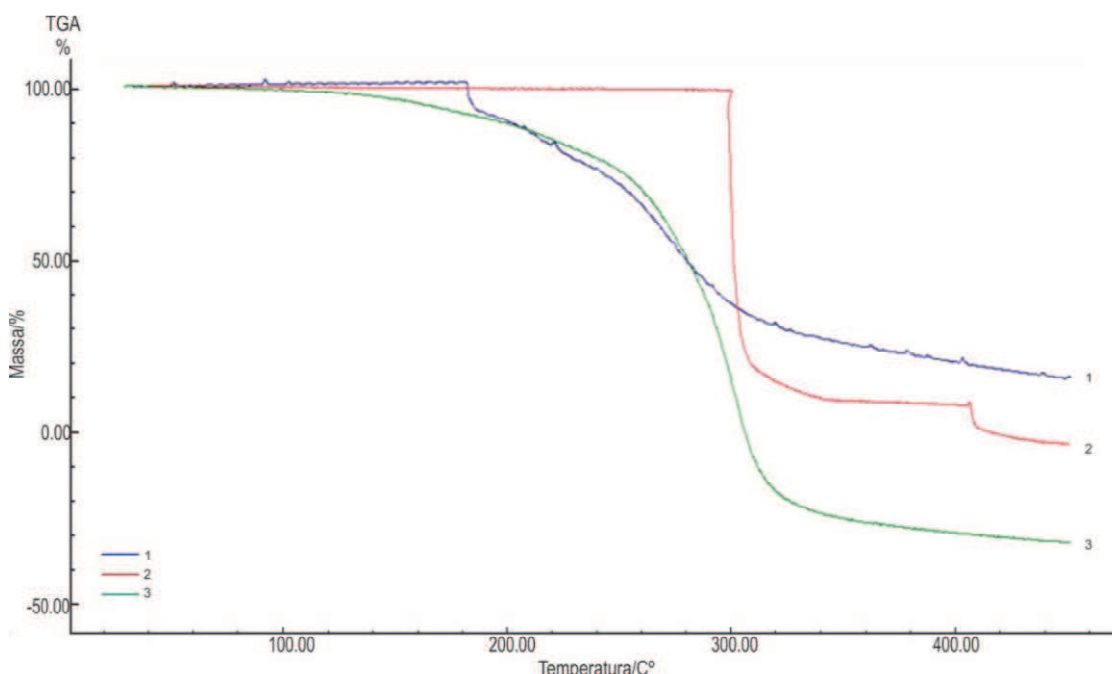


O propilparabeno apresenta três eventos endotérmicos em seu perfil, sendo o primeiro decorrente de sua fusão ocorrendo na faixa de 96,72-106,86 °C (ΔH -283,01 J/g). Partindo-se para a mistura binária, observa-se que esse pico foi antecipado, ocorrendo em 84,37-97,33 °C (ΔH - 185,35 J/g), causando degradação precoce do excipiente devido a possível interação física com as micropartículas, como observado por Lira et al., (2007), indicando provável incompatibilidade. Além disso, um forte evento endotérmico do excipiente foi alargado pela mistura, ocorrendo na faixa de 278,49-327,06 °C, com pico em 302,16 °C (ΔH -577,08 J/g).

Tabela 8A – Dados DTA da micropartícula 04, propilparabeno e sua mistura binária.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|-------------------------------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |
| | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |
| Propilparabeno | Primeiro | 96,72-106,86 | 99,69 | - 283,01 |
| | Segundo | 268,91-307,58 | 300,21 | - 529,99 |
| | Terceiro | 406,55-414,55 | 408,84 | - 27,16 |
| Micropartículas + Propilparabeno | Primeiro | 84,37-97,33 | 90,88 | - 185,35 |
| | Segundo | 278,49-327,06 | 302,16 | - 577,08 |

Figura 4B- Curvas TG do propilparabeno (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).



A curva TG do propilparabeno apresenta dois eventos de perda de massa, sendo o primeiro partindo de 299,90 °C com perda de massa de 11,06% e o segundo a partir de 406,67 °C e perda de massa de 33,96%. Ao comparar com a mistura binária, uma antecipação da perda de massa, que começa em 282,89 °C e perda final de 94,43%, dando indícios de incompatibilidade entre o excipiente testado e as micropartículas.

Tabela 8B – Dados TG referentes à decomposição da micropartícula 04, propilparabeno e sua mistura binária.

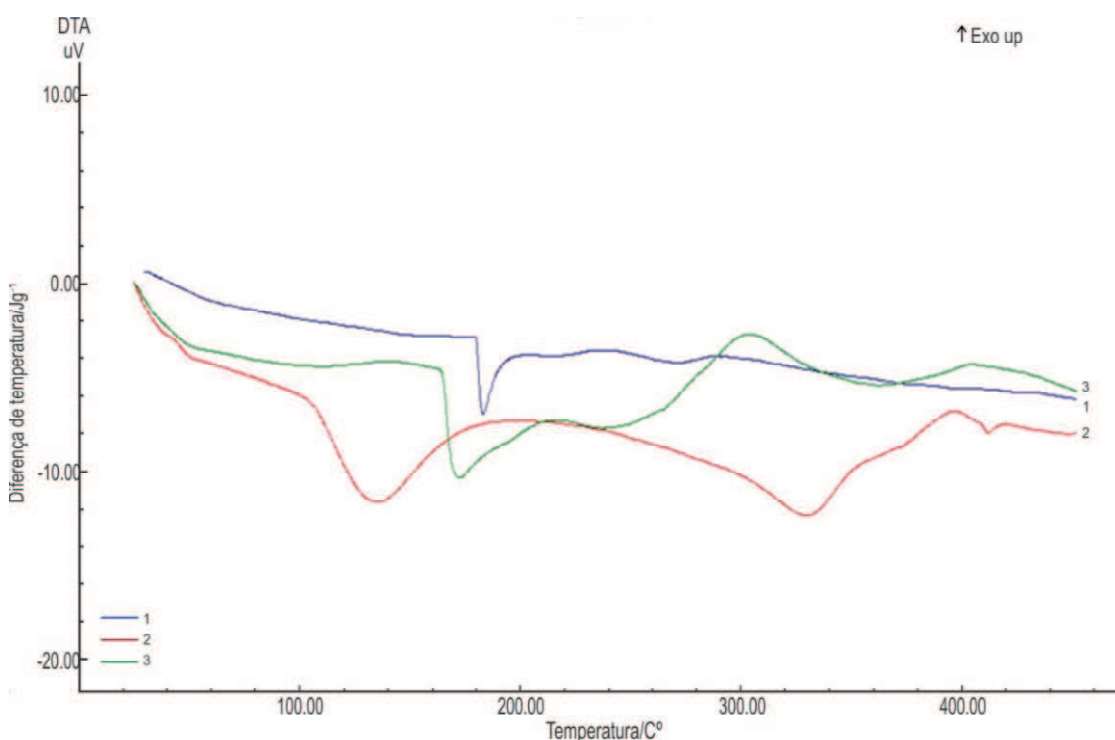
| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|-----------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |

| | | | |
|----------------------------------|--------|--------|-------|
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |
| Propilparabeno | 299,90 | 305,57 | 33,97 |
| | 406,67 | 409,24 | 11,06 |
| Propilparabeno + micropartículas | 282,89 | 309,42 | 94,43 |

Gelificantes

Foram analisados os agentes emulsificantes trietanolamina e carbopol, no intuito de avaliar qual destes é o mais compatível termicamente junto às micropartículas. Nas figuras 5 e 6 encontram-se as curvas de TG e DTA correspondentes aos excipientes isolados e a mistura binária destes com as micropartículas.

Figura 5A- Curvas DTA da trietanolamina (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).



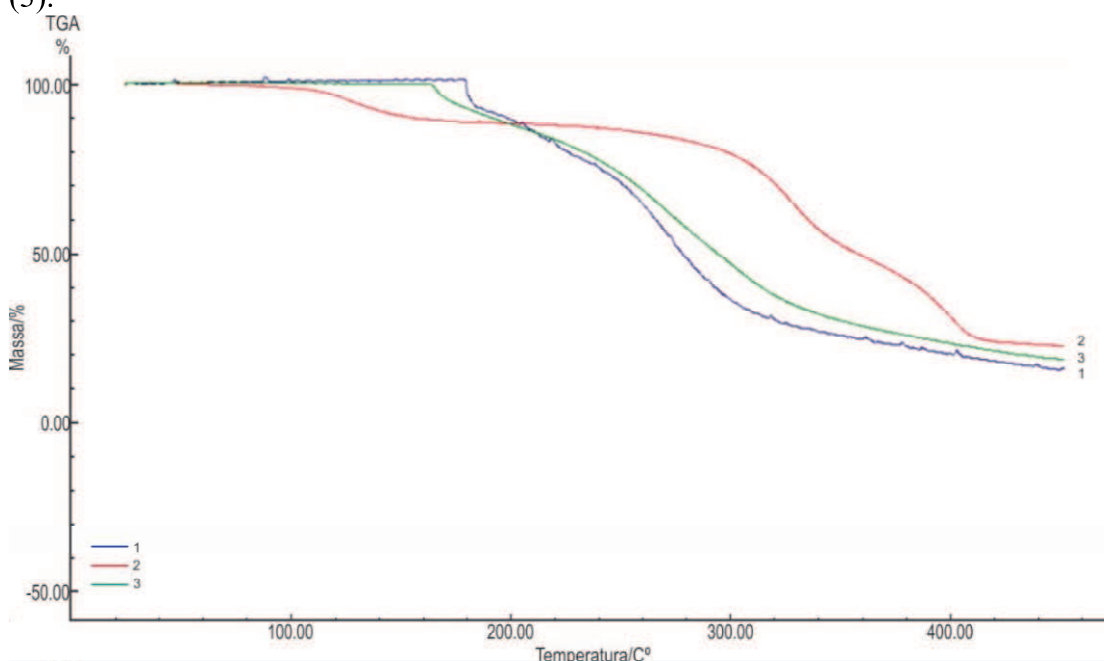
Em sua curva DTA, a trietanolamina apresenta três eventos significativos, dois endotérmicos e um exotérmico, sendo o primeiro iniciando em 108,22 e indo até 162,46 °C (ΔH -265,61 J/g), o segundo compreendendo a faixa de 309,20-348,60 °C (ΔH -111,65 J/g) e o terceiro evento, exotérmico, iniciando em 377,18 até 419,72 °C (ΔH 32,50 J/g). Perfil diferente é observado na curva da mistura binária, onde o primeiro evento é retardado, acontecendo na faixa de temperatura de 164,36-185,47 °C (ΔH -

186,62 J/g), assim como o desaparecimento do segundo evento. Mudança e desaparecimento dos picos, além de variações endotérmicas ou exotérmicas são consideradas interações físicas (DANIEL et al., 2013).

Tabela 9A – Dados DTA da micropartícula 04, trietanolamina e sua mistura binária.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|-------------------------------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |
| | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |
| Trietanolamina | Primeiro | 108,22 - 162,46 | 134,84 | - 265,61 |
| | Segundo | 309,20 - 348,60 | 329,06 | - 111,65 |
| | Terceiro | 377,18 - 419,72 | 395,59 | 32,50 |
| | Quarto | 414,31 - 425,28 | 419,94 | 3,07 |
| Micropartículas + Trietanolamina | Primeiro | 164,36 - 185,47 | 171,84 | - 186,62 |
| | Segundo | 266,03 - 329,67 | 303,42 | 241,85 |

Figura 5B- Curvas TG da trietanolamina (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).

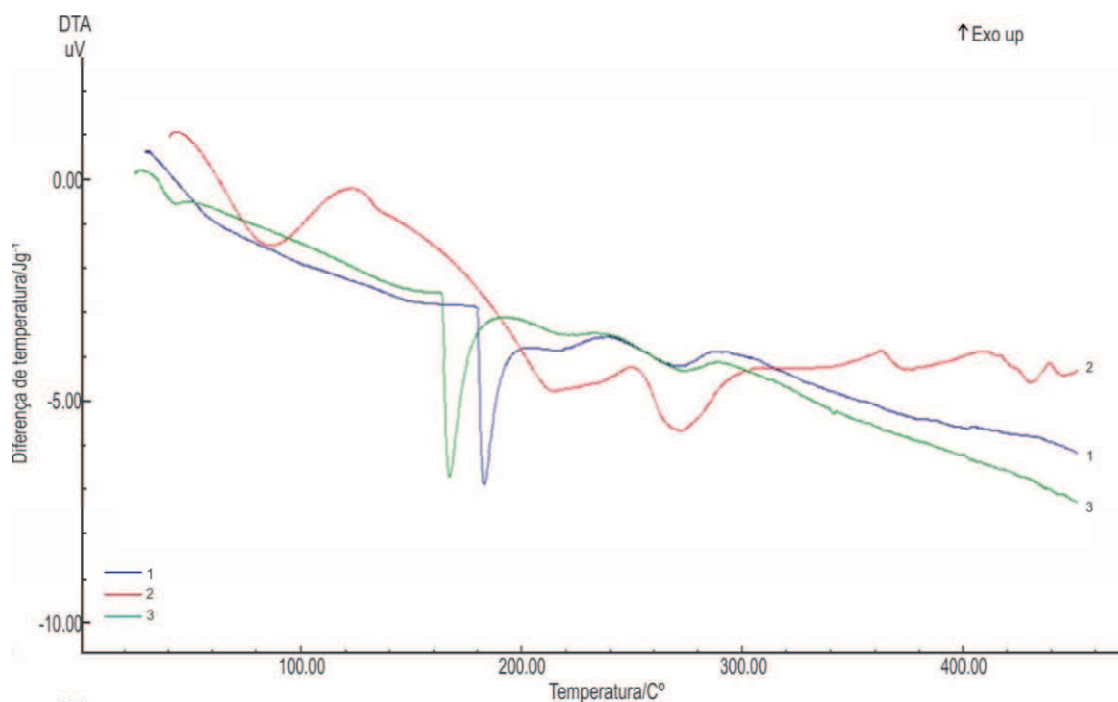


A trietanolamina apresenta dois eventos de perda de massa, o primeiro a partir de 117,08 °C, com perda de 10,09% e o segundo evento a partir de 306,21 °C, com perda de 61,47%. A mistura binária apresenta apenas um evento de perda de massa, que acaba sendo retardado, acontecendo em 174,47 °C, com perda de massa de 63,43%.

Tabela 9B – Dados TG referentes à decomposição da micropartícula 04, trietanolamina e sua mistura binária.

| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|----------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |
| Trietanolamina | 117,08 | 138,18 | 10,09 |
| | 306,21 | 376,85 | 61,47 |
| Trietanolamina + micropartículas | 174,47 | 217,15 | 63,43 |

Figura 6A- Curvas DTA da carbopol (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).

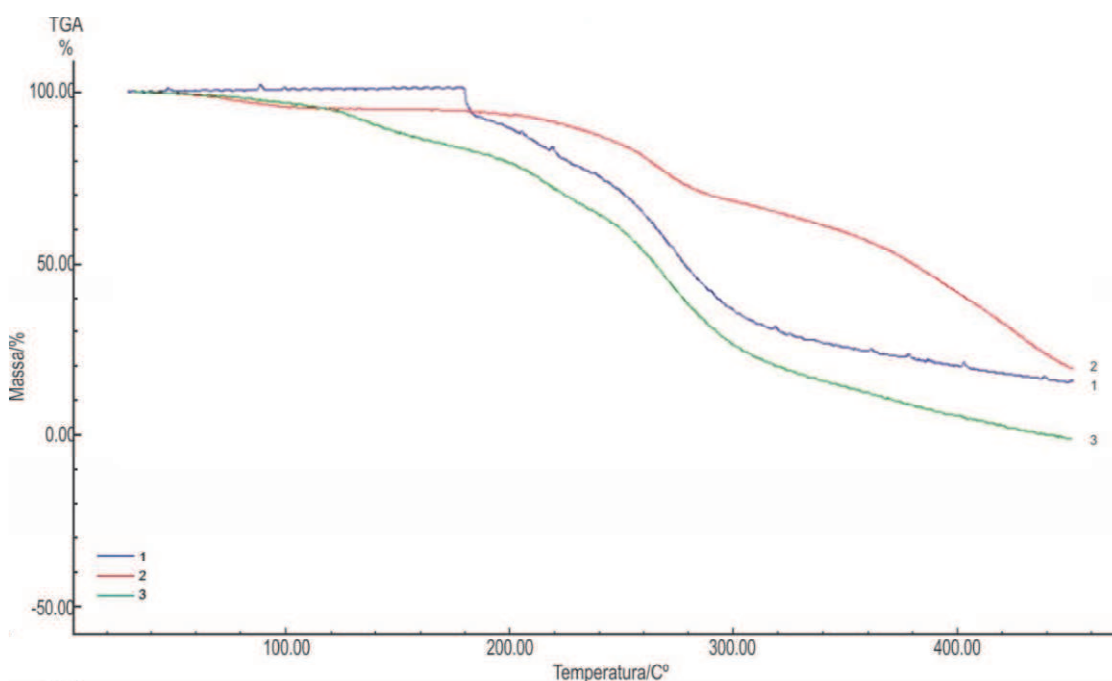


O carbopol apresenta um total de cinco eventos térmicos, sendo o primeiro compreendendo a faixa de 54,19-112,33 °C (ΔH -174,76 J/g), provavelmente decorrente de perda de umidade, uma vez que o processo de decomposição ocorre apenas a partir dos 260 °C (DESHPANDE et al., 1989), o que corresponde ao terceiro evento encontrado, que compreende a faixa de 255,27-291,66 °C (ΔH -96,34 J/g). A mistura binária apresenta perfil semelhante ao evidenciado pelas micropartículas, cujo primeiro pico foi antecipado e parte de 163,91 até 174,65 °C (ΔH -329,28 J/g).

Tabela 10A – Dados DTA da micropartícula 04, carbopol e sua mistura binária.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|----------------------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |
| | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |
| Carbopol | Primeiro | 54,19 - 112,33 | 86,63 | - 174,76 |
| | Segundo | 175,36 - 245,63 | 213,91 | - 185,02 |
| | Terceiro | 255,27 - 291,66 | 272,20 | - 96,34 |
| | Quarto | 353,47 - 369,41 | 362,72 | 12,48 |
| | Quinto | 425,66 - 437,94 | 430,23 | - 14,40 |
| Micropartículas + Carbopol | Primeiro | 163,91 - 174,65 | 167,13 | - 329,28 |
| | Segundo | 250,24 - 282,99 | 272,80 | - 62,32 |

Figura 6B- Curvas TG da carbopol (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).



O carbopol apresenta apenas um evento de perda de massa em sua curva termogravimétrica, sendo que a mesma inicia em 246,68 e vai até 275,11 °C, com perda de massa de 24,38%. Já a mistura binária, apresenta dois eventos de perda de massa, sendo que o primeiro é antecipado, em relação ao excipiente isolado, partindo de 207,72 até 289,13 °C, com perda de 11,94%.

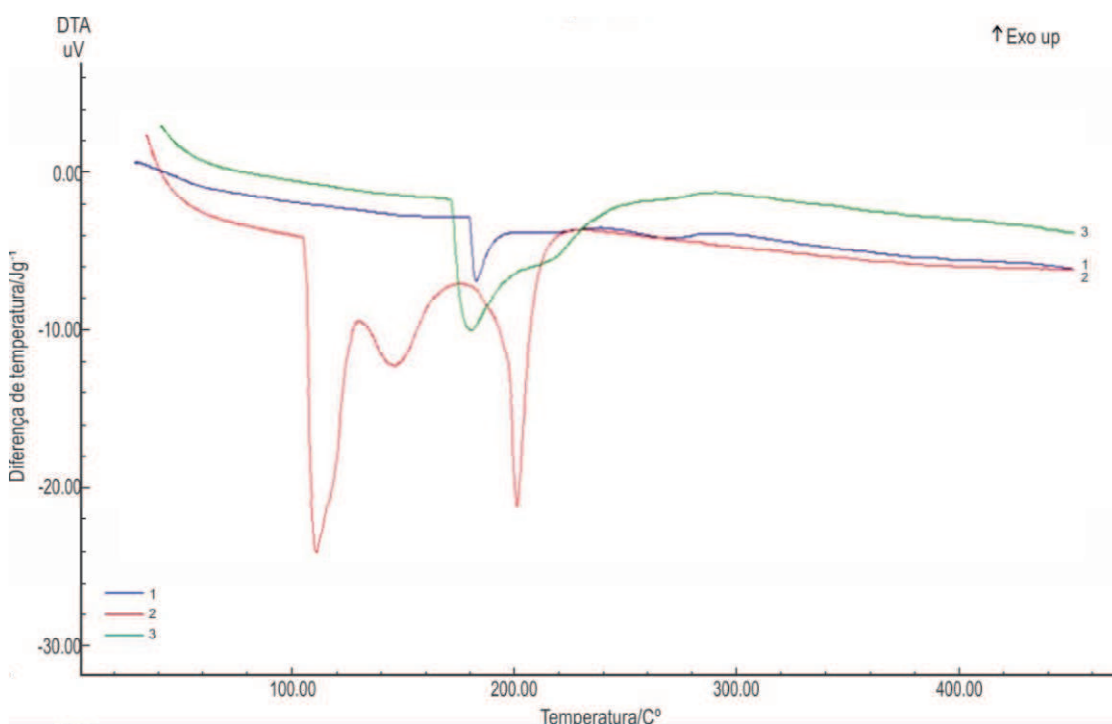
Tabela 10B – Dados TG referentes à decomposição da micropartícula 04, carbopol e sua mistura binária.

| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|----------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |
| Carbopol | 246,68 | 275,11 | 24,38 |
| Carbopol + micropartículas | 186,49 | 207,72 | 11,94 |
| | 254,97 | 287,70 | 49,89 |

Umectantes

Foram analisados os agentes umectantes propilenoglicol e glicerna, no intuito de avaliar qual destes é o mais compatível termicamente junto às micropartículas. Nas figuras 7 e 8 encontram-se as curvas de TG e DTA correspondentes aos excipientes isolados e a mistura binária destes com as micropartículas.

Figura 7A- Curvas DTA do propilenoglicol (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).

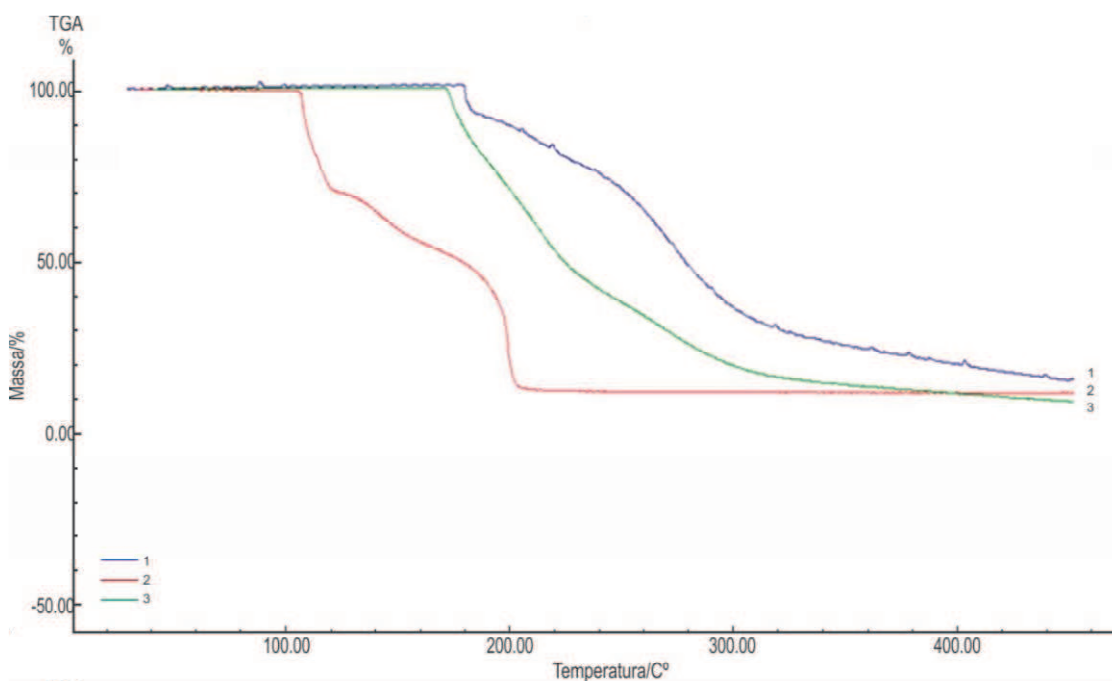


O primeiro evento endotérmico da mistura foi retardado ocorrendo entre 171,80-203,00 °C (ΔH -658,57 J/g), com provável junção de dois picos endotérmicos presentes nas curvas de propilenoglicol, podendo esta ser considerada uma interação física (DANIEL et al., 2013).

Tabela 11A – Dados DTA das micropartículas, propilenoglicol e sua mistura binária.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|--------------------------------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |
| | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |
| Propilenoglicol | Primeiro | 106,35 - 123,95 | 110,75 | - 434,40 |
| | Segundo | 133,63 - 163,33 | 145,85 | - 139,04 |
| | Terceiro | 197,55 - 207,88 | 201,06 | - 287,21 |
| Micropartículas + Propilenoglicol | Primeiro | 171,80 - 203,00 | 180,41 | - 658,57 |
| | Segundo | 284,44 - 323,66 | 290,31 | 119,25 |

Figura 7B- Curvas TG do propilenoglicol (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).

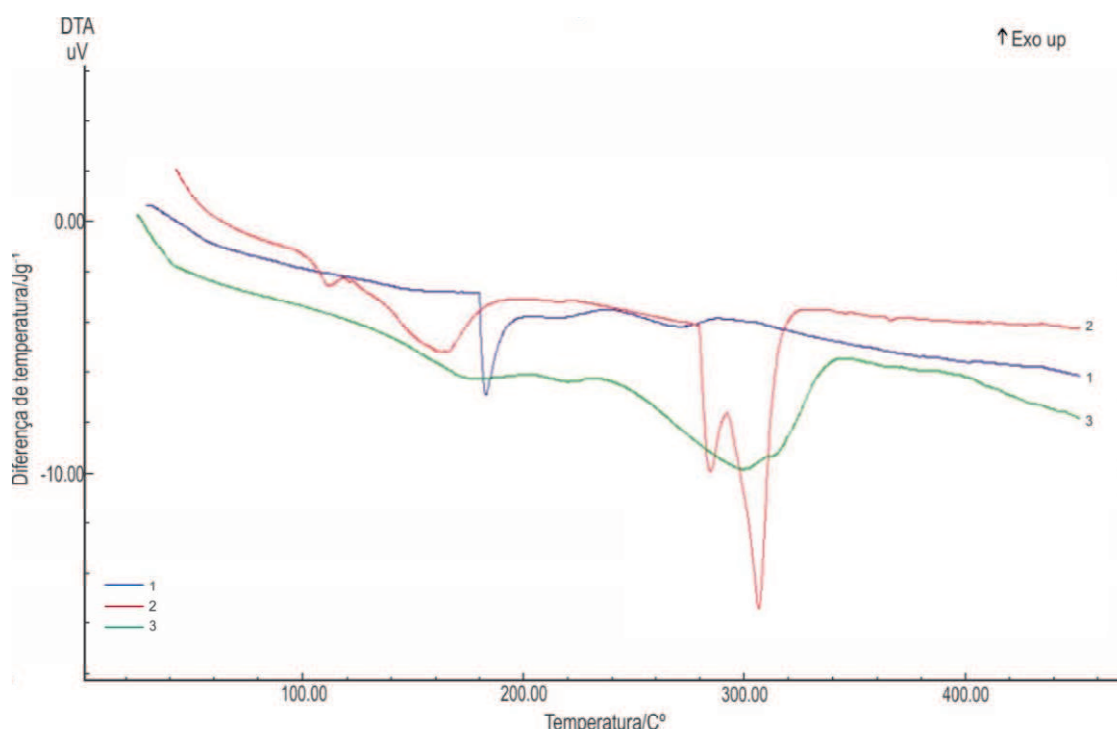


A curva termogravimétrica do propilenoglicol apresentou duas etapas, com início de decomposição em 106,95 °C (31,21 % perda de massa). Na mistura binária apenas uma etapa de decomposição é evidenciada, incidindo em temperatura superior, ocorrendo entre 172,45-215,41 °C (82,70%).

Tabela 11B – Dados TG referentes à decomposição das micropartícula 04, propilenoglicol e sua mistura binária.

| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|-----------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |
| Propilenoglicol | 106,95 | 115,81 | 31,22 |
| | 195,83 | 201,78 | 42,17 |
| Propilenoglicol + micropartículas | 172,45 | 215,41 | 82,70 |

Figura 8A- Curvas DTA da glicerina (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).



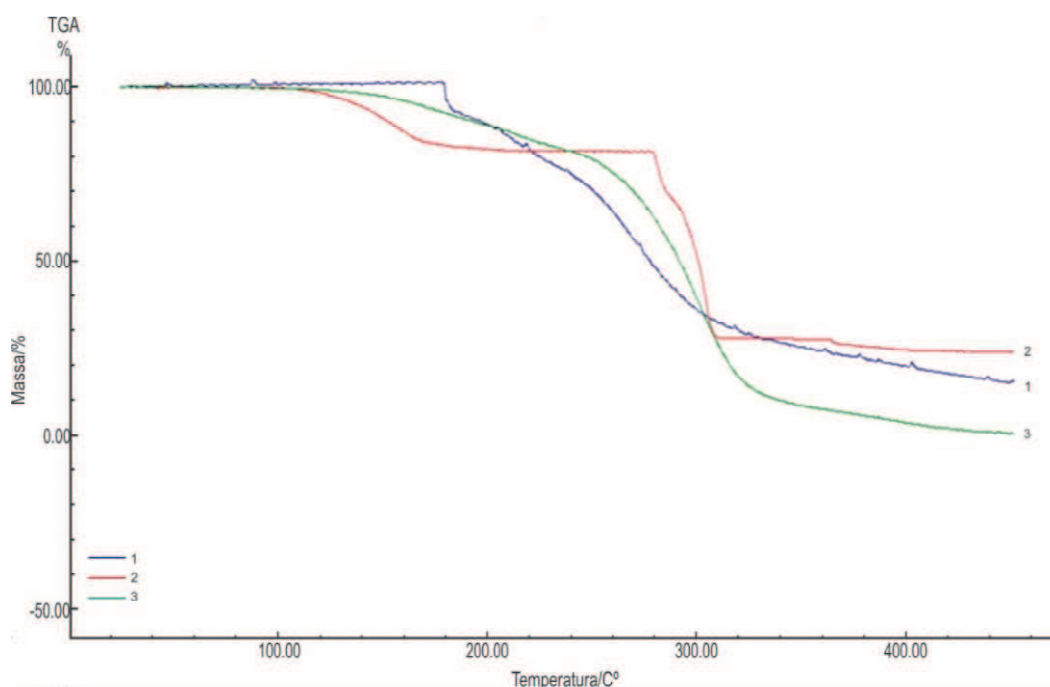
A curva DTA da glicerina apresentou quatro processos de transições de fases. Na curva da mistura binária foi possível observar que houve retardo no primeiro pico endotérmico ocorrendo em 249,45-332,43 °C (ΔH -353,13 J/g). É possível observar que um forte evento endotérmico do excipiente foi suprimido na mistura com as micropartículas, sendo indicativo de interação física (MENDONÇA et al., 2014).

Tabela 12A – Dados DTA da micropartícula 04, glicerina e sua mistura binária.

| Amostra | Evento | Início – Final (°C) | Pico (°C) | ΔH (J/g) |
|-----------------|----------|---------------------|-----------|------------------|
| Micropartículas | Primeiro | 180,02 - 189,09 | 182,71 | - 117,71 |
| | Segundo | 207,51 - 225,71 | 216,02 | - 5,49 |

| | | | | |
|--------------------------------|----------|-----------------|--------|----------|
| Glicerina | Terceiro | 244,36 - 282,75 | 270,87 | - 47,22 |
| | Primeiro | 107,23 - 116,87 | 111,52 | - 11,02 |
| | Segundo | 145,44 - 178,80 | 162,39 | - 216,30 |
| | Terceiro | 279,60 - 288,78 | 284,24 | - 76,29 |
| | Quarto | 299,11 - 311,90 | 306,20 | - 272,81 |
| Micropartículas + Glicerina | Primeiro | 249,45 - 332,43 | 298,69 | - 353,13 |
| | Terceiro | 342,04 - 379,41 | 346,54 | 46,43 |

Figura 8B- Curvas TG da glicerina (2), micropartícula 04 (1) e sua mistura binária (3).



Na curva termogravimétrica da glicerina foi possível detectar duas etapas de decomposição, com o primeiro evento ocorrendo entre 139,86 e 163,42 °C com perda de massa de 14,76%. A mistura binária possui um perfil térmico característico da glicerina e extrato, com um pequeno retardo no processo inicial de degradação, quando comparado as amostras isoladas, ocorrendo entre 153,28 e 157,35 °C e perda de massa de 15,20%. A segunda etapa de decomposição teve início em 274,43 °C.

Tabela 12B – Dados TG referentes à decomposição da micropartícula 04, glicerina e sua mistura binária.

| Amostra | Temperatura inicial (°C) | Temperatura final (°C) | Perda de massa (%) |
|-----------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Micropartículas | 160,26 | 223,57 | 21,58 |
| | 271,23 | 289,13 | 43,09 |

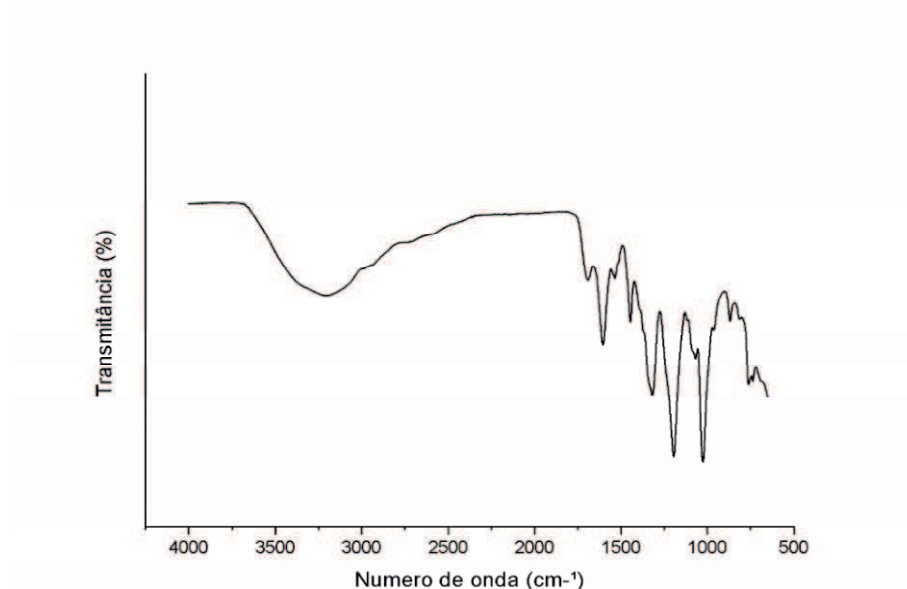
| | | | |
|-----------------------------|--------|--------|-------|
| Glicerina | 139,12 | 169,89 | 16,48 |
| | 292,42 | 307,20 | 52,84 |
| Glicerina + micropartículas | 278,06 | 317,13 | 69,13 |

5.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Essa técnica foi utilizada para avaliar a compatibilidade entre alguns excipientes e a micropartícula 04, sendo eles, o propilenoglicol, metilparabeno e propilparabeno. A espectroscopia no infravermelho auxilia na confirmação de possíveis incompatibilidades observadas nas técnicas termoanalíticas (PANI et al., 2012).

No espectro de FTIR do extrato rotaevaporado de *S. brasiliensis* (Figura 9) observou-se uma banda larga em 3226 cm^{-1} sugestiva de estiramento da ligação O-H (hidroxila), picos observados nas regiões de 1606 e 1530 cm^{-1} são sugestivos de estiramento de ligação C=C de compostos aromáticos, os picos observados em 1196 , 1313 e 1026 cm^{-1} , sugestivo de estiramento C-O (LIMA et al., 2013).

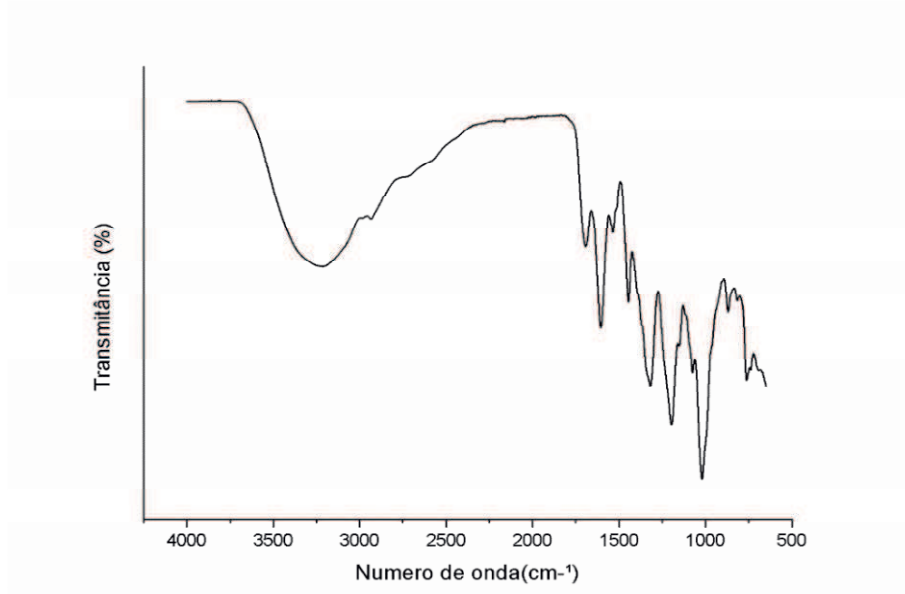
Figura 9- Espectro de FTIR do extrato de *S. brasiliensis*.



O espectro da micropartícula 04 obtida a partir do extrato e de solução de maltodextrina apresentou os picos característicos do extrato de *S. brasiliensis*, bem como os picos característicos dos grupos funcionais presentes na maltodextrina, observa-se, por exemplo, em 3212 cm^{-1} uma banda larga e intensa sugestiva de

hidroxila, em 2925 cm^{-1} uma banda de pequena intensidade sugestiva de estiramento de ligação C - H (PAULINO et al., 2011), como podemos observar na Figura 10.

Figura 10 – Espectro de FTIR da micropartícula de *S. brasiliensis* a partir da maltodextrina.



O espectro da mistura binária da micropartícula 04 com o propilenoglicol (Figura 11) não apresentou diferenças nas características da micropartícula, como por exemplo, o surgimento de novas bandas, indicando que não há incompatibilidade com este excipiente farmacêutico (TITA et al., 2011). Perfil semelhante foi observado nas misturas binárias com o metilparabeno (Figura 12) e propilparabeno (Figura 13).

Figura 11 – Espectro de FTIR da mistura binária da micropartícula 04 com o propilenoglicol.

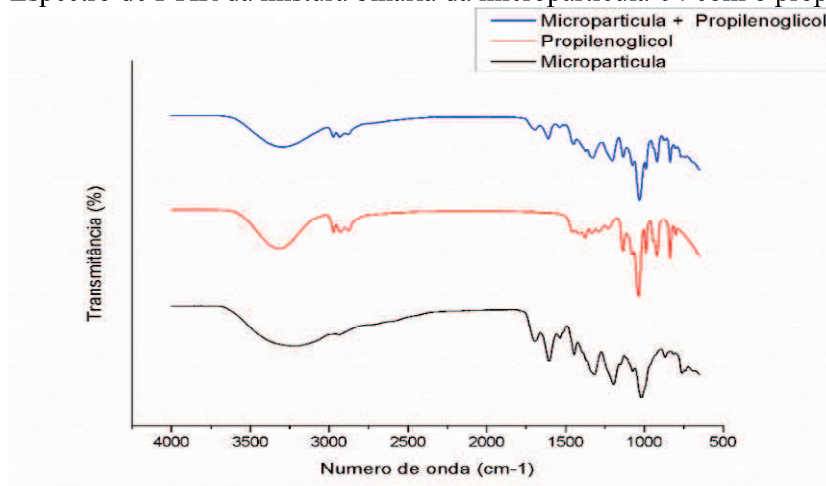


Figura 12 – Espectro de FTIR da mistura binária da micropartícula 04 com o metilparabeno.

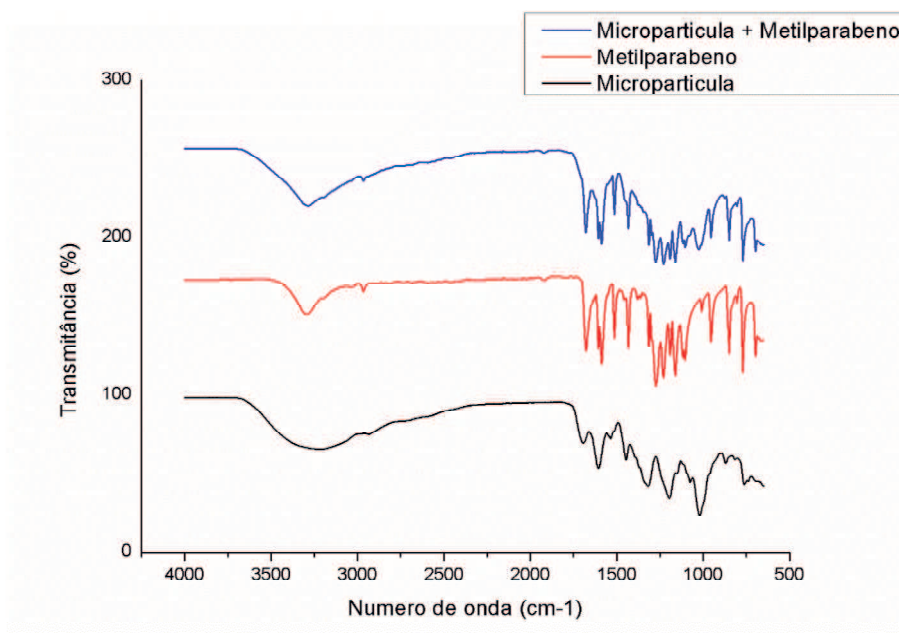
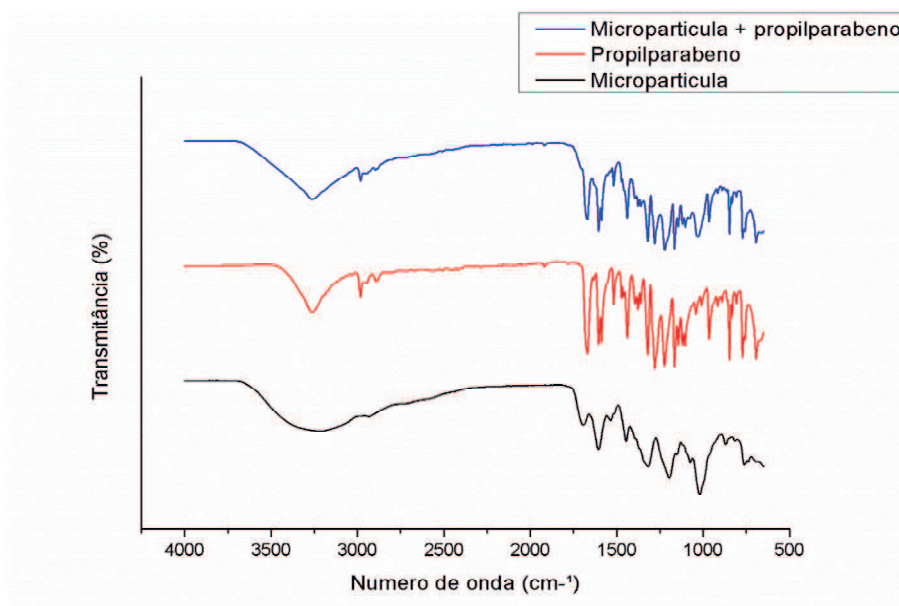


Figura 13 - Espectro de FTIR da mistura binária da micropartícula 04 com o propilparabeno.



5.6 Análise físico-química da formulação

A formulação apresentou coloração marrom castanho, com odor característico do extrato de *S. brasiliensis*. Após o período de 24 horas o gel mostrou-se estável macroscopicamente, sem ocorrência de precipitação ou turvação, com coloração e odor dentro da normalidade. Para a determinação de pH do branco foi preparado uma

amostra do gel sem adição das micropartículas, apresentando pH de 6,3. Na amostra de gel com as micropartículas incorporadas, o pH da formulação ficou em torno de $6,7 \pm 0,0550$ permanecendo em conformidade com o preconizado no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2012), pois a faixa de pH ideal para géis é de 6 a 7.

A estabilidade após a centrifugação e estresse térmico não detectou mudanças na aparência do gel, permanecendo homogêneo, sem separação de fases ou precipitação, com cor e odor dentro da normalidade. As leituras de pH após o processo de centrifugação não apresentaram variações significativas ($P < 0,05$).

5.7 Análise da eficácia da formulação

Realizou-se o ensaio para avaliação da eficácia da atividade antifúngica da formulação através da técnica de microdiluição em caldo, os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 13- Avaliação da atividade antifúngica da formulação obtida a partir da micropartícula 04.

| Cepas | CIM (mg/mL^{-1}) |
|---------------------------|-----------------------------|
| <i>Candida albicans</i> | 0,0625 |
| <i>Candida krusei</i> | 1,0000 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 0,1250 |
| <i>Candida glabrata</i> | 0,0078 |

A formulação desenvolvida mostrou-se eficaz contra os patógenos testados, mantendo a ação antifúngica exercida pelo extrato e repetindo aquela apresentada pela micropartícula, permitindo concluir que existe boa liberação do ingrediente ativo vegetal no meio, bem como inferir que os excipientes contidos na formulação em nada interferem na sua eficácia. A avaliação de uma formulação semi-sólida feita por Bittencourt (2008) evidenciou a ação antifúngica de um creme-gel contendo extrato de própolis vermelha pelo método de difusão em agar. O creme-gel apresentou halos de inibição muito pequenos para *C. albicans*, sugerindo uma forte interação entre a base Hostacerin SAF[®] e o extrato de própolis, ocasionando a inativação das substâncias com atividade antimicrobiana. Sendo assim, incompatibilidades entre a base e o extrato podem alterar a ação farmacológica do produto.

6 CONCLUSÕES

Este estudo caracterizou o extrato das folhas de *S. brasiliensis* para o tratamento de candidíase oral. Foi avaliada a ação antifúngica do extrato frente às cepas ATCC, sendo o mesmo eficaz contra todas as espécies analisadas. Tal ação antifúngica pode ser atribuída à constituição química do extrato, que possui alta concentração de polifenóis. Foi avaliado ainda o provável mecanismo de ação do extrato sobre a espécie mais prevalente na infecção oral por *Candida*. Seguido isso, foram produzidas as micropartículas utilizando como agente de secagem a maltodextrina, que após ensaios de compatibilidade térmica com diferentes excipientes para gel, foi desenvolvida a formulação, a qual foi submetida a aos ensaios físico-químicos, preconizados em compêndios oficiais. Em seguida a formulação foi submetida a uma análise de eficácia, onde a mesma foi comprovada, atestando o potencial antifúngico do produto desenvolvido, mostrando-se o mesmo como potencial alternativa ao tratamento da candidíase oral.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.S.; MONTEIRO, J.M.; NETO, E.M.F.L.; 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, p. 325–354, 2007.

AL-QADI, S.; GREHA, A.; CARRION-RECIO, D.; SEIJO, B.; REMUNAN-LOPEZ, C. Microencapsulated chitosan nanoparticles for pulmonary protein delivery: In vivo evaluation of insulin-loaded formulations. **Journal of Controlled Release**, v. 157, n. 3, p. 383-390, 2012.

AKPAN, A.; MORGAN, R. Oral Candidiasis. **Postgraduate Medical Journal**, v. 78, p. 455-459, 2002.

AZUL, A. M.; TRANCOSO, P. F. Patologia mais freqüente da mucosa oral. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 22, p. 369-377, 2007.

BACCAGLINI, L.; ATKINSON, J. C.; PATTON, L. L.; GLICK, M.; FICARRA, G.; PETERSON, D. E. Management of oral lesions in HIV-positive patients. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 103, p. S50.e1-S50.e23, 2007. Supplement 1.

BEN-AMI, R.; GARCIA-EFFRON, G.; LEWIS, R.E. Fitness and virulence costs of *Candida albicans* FKS1 hot spot mutations associated with echinocandin resistance. **Journal of Infectious Disease**, v. 204, p. 626–635, 2011.

BENNETT, R. J. A *Candida*-based view of fungal sex and pathogenesis. **Genome Biology**, v. 10, n. 7, p. 230, 2009.

BERG, M. E.V.D. **Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático**. Belém, 1993.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira. 2º ed. Brasília, 2012.

BITTENCOURT, F. O. **Desenvolvimento e avaliação da atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* de formulações semi-sólidas contendo própolis vermelha**. Dissertação (Programa de pós-graduação em saúde e ambiente) Universidade Tiradentes, 2008.

CALDERONE, R. A.; FONZI, W. A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology**, v. 9, n. 7, p. 327-335, 2001.

CALISKAN, G.; DIRIM, S. N. The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 539-548, 2013.

CARVALHO, P. E. R. Braúna-do-sertão – *Schinopsis brasiliensis*. **Embrapa - Comunicado Técnico 222**. p.1-9, 2009. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/>>. Acesso em: 15 out. 2011.

CESCHEL, G.C.; MAFFEI, P.; MORETTI, M. D. L.; DEMONTIS, S.; PEANA, A. T. In vitro permeation through porcine buccal mucosa of *Salvia desoleana* Atzei & Picci essential oil from topical formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, 195, 171–177, 2000.

CHANDRA, S.; MEJÍA, E. G. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in Comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n.11, p. 3583-3589, 2004.

CHAVES, T. P.; DANTAS, I.C.; FELISMINO, D.C.; VIEIRA, K.V.M.; CLEMENTINO, E. L. C.; COSTA, L. S. Atividade antimicrobiana das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 5, n. 2, p. 11-17, 2011.

CHEN M.C.; MI F. L.; LIAO, Z. X.; HSIAO, C. W.; SONAJE, K., CHUNG, M.F.; HSU, L. W.; SUNG, H. W. Recent advances in chitosan-based nanoparticles for oral delivery of macromolecules. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 33, n.4, p. 463-477, 2012.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana. v. 38, n. 2, p. 111-116, 2009. Suplemento 15.

CODD, J. E. & DEASY, P. B. Formulation and development and in vivo evaluation of a novel bioadhesive lozenge containing a synergistic combination of antifungal agents. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 173, p. 13-24, 1998.

COLEMAN, D.C.; RINALDI, M.G.; HAYNES, K.A. Importance of *Candida* species other than *Candida albicans* as opportunistic pathogens. **Medical Mycology**, v.1, p. 156–165, 1998.

COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 599–607, 2003.

DAGLIA, Maria. Polyphenols as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 174-181, 2012.

DANIEL, J. S. P.; VERONEZ, I. P.; RODRIGUES, L. L.; TREVISAN, M. G.; GARCIA, J. S. Risperidone – Solid-state characterization and pharmaceutical compatibility using thermal and non-thermal techniques. **Thermochimica Acta**, v. 568, p. 148-155, 2013.

DAVIES, A.; BRAILSFORD, S.; BEIGHTON, D. Oral candidosis in patients with advanced cancer. **Oral Oncology**, v. 42, p. 698-702, 2006.

DESHPANDE, S.G.; SHIROLKAR, S. Sustained release ophthalmic formulations of pilocarpine. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 41, n. 3, p. 197–200, 1989.

DIGNANI, M.C.; SOLOMKIN, J.S.; ANAISSIE, E. CANDIDA. In: ANAISSIE E.; MCGINNIS, M.R.; PFALLER, M.A. **Medical mycology**, p. 195–239, 2003.

DONATI M, MONDIN A, CHEN Z, MIRANDA FM, NASCIMENTO JUNIOR BB, SCHIRATO G, PASTORE P, FROLDI G. Radical scavenging and antimicrobial activities of *Croton zehntneri*, *Pterodon emarginatus* and *Schinopsis brasiliensis* essential oils and their major constituents: estragole, trans-anethole, B-caryophyllene and myrcene. **Natural Product Research**, v. 29, n. 10, p. 939-946, 2014.

DOROCCA-BOBKOWSKA, B. KONOPKA, K.; DÜZGÜNES, N. Influence of antifungal polyenes on the adhesion of *Candida albicans* and *Candida glabrata* to human epithelial cells *in vitro*. **Archives of Oral Biology**, v. 48, n. 12, p. 805-814, 2003.

DUCHÊNE, D.; PONCHEL, G. Bioadhesion of solid oral dosage forms, why and how? **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 44, n. 1, p. 15-23, 1997.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically non-immunosuppressed patients. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3, n. 11, p. 685-702, 2003.

ELLEPOLA, A. N. B.; SAMARANAYAKE, L. P. Antimycotics agents in oral candidosis: an overview. **Critical Review in Oral Biology and Medicine**, v. 11, p.172-198, 2000.

ERNST, E. J.; KLEPSE, M. E.; PFFALLER, M. A. Postantifungal effects of echinocandin, azole and polyene antifungal agents against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 44, n. 4, p. 1108-1111, 2000.

EVANS, E. C.; GRAY, M. What interventions are effective for the prevention and treatment of cutaneous candidiasis? **Journal of WOCN**, v. 30, n. 1, p. 11-16, 2003.

FARAH, C. S.; ASHMAN, R. B.; CHALLACOMBE, S. J. Oral candidosis. **Clinics in Dermatology**, v. 18, n. 5, p. 553-562, 2000.

FERNANDES, F. H. A.; BATISTA, R. S. A.; MEDEIROS, F. D.; SANTOS, F. S.; MEDEIROS, A. C. D. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 3, p. 208-211, 2015.

FIGUEIRAS, A.; HOMBACH, J., VEIGAA, F., BERNKOP-SCHNURCH, A. *In vitro* evaluation of natural and methylated cyclodextrins as buccal permeation enhancing system for omeprazole delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 2, p. 339–345, 2009.

GIULIETTI, A.; FORERO, E. Diversidade taxonômica e padrões de distribuição das angiospermas brasileiras. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, p. 3-10, 1990.

HILLER, E.; ZAVREL, M.; HAUSER, N. Adaptation, adhesion and invasion during interaction of *Candida albicans* with the host-focus on the function of cell wall proteins. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, n. 5, p. 384–389, 2011.

JOHNSON, N.W. The mouth in HIV/AIDS: markers of disease status and management challenges for the dental profession. **Australian Dental Journal**, v. 1, p. 85–102, 2010. Supplement 1.

KADIR, T.; GÜMRÜ, B.; UYGUN-CAN, B. Phospholipase activity of *Candida albicans* isolates from patients with denture stomatitis: the influence of chlorhexidine gluconate on phospholipase production. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 7, p. 691-696, 2007.

KOCKISH, S.; REES, G. D.; TSIBOUKLIS, J.; SMART, J. D. Mucoadhesive, triclosan-loaded polymer microspheres for application to the oral cavity: preparation and controlled release characteristics. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 59, n. 1, p. 207-216, 2005.

LANGOTH, N.; KALBE, J.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Development of a mucoadhesive and permeation enhancing buccal delivery system for PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 296, N. 1-2, p. 103-111, 2005.

LIMA, N. G. P. B.; LIMA, I. P. B.; BARROS, D. M. C.; OLIVEIRA, T. S.; RAFFIN, F. N.; LIMA E MOURA, T. F. A.; MEDEIROS, A. C. D.; GOMES, A. P. B.; ARAGÃO, C. F. S. Compatibility studies of trioxsalen with excipients by DSC, DTA, and FTIR. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2311-2318, 2013.

LIRA, A. M.; ARAÚJO, A. A. S.; BASÍLIO, I. D. J.; SANTOS, B. L. L.; SANTANA, D. P.; MACEDO, R. O. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. **Thermochemica Acta**, v. 457, n. 1-2, p. 1-6, 2007.

LOPES, C. M.; MARTINS-LOPES, P.; SOUTO, E. B. Nanoparticulate carriers (NPC) for oral pharmaceutics and nutraceuticals. **Pharmazie**, v. 65, n. 2, p. 75-82, 2010.

MAKKAR, Harinder P. S.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, Klaus. **Plant Secondary Metabolites**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vanillin-HCl method for condensed tannins: Effect of organic solvents used for extraction of tannins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 4, p. 613-621, 1993.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOUUMA, OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 571-577, 2005.

MENDONÇA, C. M. S.; LIMA, I. P. B.; ARAGÃO, C. F. S.; GOMES, A. P. B. Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n.3, p. 2277-2285, 2014.

- NETO, H. S.; NOVÁK, C. S.; MATOS, J. R. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 367–374, 2009.
- PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: Simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720–2722, 2002.
- PANI, N. R.; NATH, L. K.; ACHARYA, S.; BHUNIYA, B. Application of DSC, IST, and FTIR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipientes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 219-226, 2011.
- PATTON, L. L.; BONITO, A. J.; SHUGARS, D. A. A systematic review of the effectiveness of antifungal drugs for the prevention and treatment of oropharyngeal candidiasis in HIV-positive patients. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 92, n. 2, p. 170-179, 2001.
- PAULINO, A. T.; FAJARDO, A. R.; JUNIOR, A. P.; MUNIZ, E. C.; TAMBOURGI, E. B. Two-step synthesis and properties of amagnetic-field-sensitive modified maltodextrin-based hydrogel. **Polymer International**, v. 60, n. 9, p. 1324-1333, 2011.
- PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.
- PRANCE, G.T. Floristic inventory of the tropics: where do we stand? **Missouri Botanic Garden**, v. 64, p. 559-684, 1977.
- REIS, C.P.; NEUFELD, R.J.; RIBEIRO, A.J.; VEIGA, F. Nanoencapsulation. I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine**, v.2, p. 8-21, 2006.
- SARAIVA, A.M.; SARAIVA, C.L.; CORDEIRO, R.P.; SOARES, R.R.; XAVIER, H.S.; CAETANO, N. Atividade antimicrobiana e sinérgica das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a clones multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 15, n. 2, p. 199-207, 2013.
- SARAIVA, A.M.; CASTRO, R.H.A.; CORDEIRO, R.P.; PEIXOTO-SOBRINHO, T.J.S.; CASTRO, V. T. N. A.; AMORIM, E. L. C.; XAVIER, H.S.; PISCIOTTANO M.

N. C. In vitro evaluation of antioxidante, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anarcadiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SARKER, S.D; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v.42, p. 321–324; 2007.

SILVA-ROCHA, W. P.; LEMOS, V. L. B.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; SVIDZISNKI, T. I. E.; MILAN, E. P.; CHAVES, G. M. Effect of the crude extract of *Eugenia uniflora* in morphogenesis and secretion of hydrolytic enzymes in *Candida albicans* from the oral cavity of kidney transplant recipients. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 6, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (2000). **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SOOL, D. R. *Candida* commensalisms and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. **Acta Tropica**, v. 81, n. 2, p. 101-110, 2002.

SUGAR, A.M. Oropharyngeal candidiasis. **AIDS Read**, v. 14, p. 572, 2004.
THOM, K; FORREST, G. Gastrointestinal infections in immunocompromised hosts. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, p. 18–23, 2006.

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.

VANDEN ABBEELE A.; de MEEL H.; AHARIZ, M.; PERRAUDIN, J.P.; BEYER, I.; COURTOIS, P. Denture contamination by yeasts in the elderly. **Gerodontology**, v. 25p. 222–228, 2008.

VEIGA Jr., V.F. Estudo o consumo de plantas medicinais na região Centro-Norte o estão do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais e saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 308-303, 2008.

VLACHOU, D.M.; REKKAS, P.P. DALLAS and CHOULIS, N.H. Development and in vitro evaluation of griseofulvin gels using Franz diffusion cells M.D. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 82, p. 47-52, 1992.

WANG J, TAN H, YU A, LING P, LOU H, ZHAI G, WU J. Preparation of chitosan-based nanoparticles for delivery of low molecular weight heparin. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v, 7, n.5, p. 696-703, 2012.