

ANGELA BONJORNO ARANTES

**DESENVOLVIMENTO DE DENTIFRÍCIOS COM EXTRATOS FLUIDOS DE
CALENDULA OFFICINALIS L., (ASTERACEAE) E
CASEARIA SYLVESTRIS Sw., (FLACOURTIACEAE),
DESTINADO AO TRATAMENTO DE PERIODONTIAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas - Área insumos, medicamentos
e correlatos, Setor de Ciências da Saúde,
Universidade Federal do Paraná.

Orientadora:

Prof.^ª Dr.^ª Mayumi Eliza Otsuka Sato

Co-orientador:

Prof. Dr. Cid Aimbiré de Moraes Santos

CURITIBA

2002

ANGELA BONJORNO ARANTES

**DESENVOLVIMENTO DE DENTIFRÍCIOS COM EXTRATOS FLUIDOS DE
CALENDULA OFFICINALIS L., (ASTERACEAE) E
CASEARIA SYLVESTRIS Sw., (FLACOURTIACEAE), DESTINADO AO
TRATAMENTO DE PERIODONTIAS**

**Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre
em Ciências Farmacêuticas – Área
insumos, medicamentos e correlatos ,
Setor de Ciências da Saúde,
Universidade Federal do Paraná**

**Orientador: Prof^a Dra. Mayumi Eliza
Otsuka Sato**

**Co-orientador: Prof. Dr. Cid Aimbiré de
Moraes Santos**

**CURITIBA
2002**

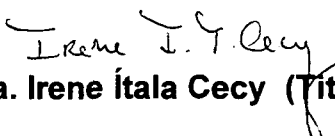
“Desenvolvimento de dentifrícios com extratos fluidos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) e *Casearia sylvestris* SW. (Flacourtiaceae), destinado ao tratamento de periodontias.

por

ANGELA BONJORNO ARANTES

**Dissertação aprovada como requisito parcial
para obtenção do grau de mestre no Programa de
Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, pela Comissão
formada pelos Professores**


Profa. Dra. Mayumi Eliza Otsuka Sato (Orientadora/Presidente)


Profa. Dra. Irene Ítala Cecy (Titular/PUC-PR)


Profa. Dra. Tomoe Nakashima (Titular/UFPR)

Curitiba, 21 de março de 2002

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
AGRADECIMENTOS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	viii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. PERIODONTIAS.....	3
2.1.1. Periodontia placa-dependente.....	3
2.1.2. Periodontia placa-independente.....	7
2.1.3. Fatores predisponentes.....	8
2.1.4. Meios para controle e prevenção.....	9
2.2. DENTIFRÍCIOS.....	10
2.2.1. Generalidades.....	10
2.2.2. Composição básica de um dentifício.....	12
2.2.2.1. Espessantes.....	12
2.2.2.2. Abrasivos.....	13
2.2.2.3. Umectantes.....	15
2.2.2.4. Tensoativos.....	16
2.2.2.5. Flavorizantes.....	18
2.2.2.6. Edulcorantes.....	18
2.2.2.7. Conservantes e sequestrantes.....	19
2.2.2.8. Corantes.....	20
2.2.2.9. Agentes terapêuticos.....	20
2.2.3. Propriedades.....	24
2.2.3.1. Abrasividade.....	24
2.2.3.2. Espuma.....	25
2.2.3.3. Consistência.....	26

2.2.3.4. pH.....	27
2.2.3.5. Comportamento reológico.....	28
2.4. ASPECTOS GERAIS SOBRE <i>Casearia sylvestris</i> Sw. (<i>C. sylvestris</i>).....	30
2.5. ASPECTOS GERAIS SOBRE <i>Calendula officinalis</i> L. (<i>C. officinalis</i>).....	37
2.6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	43
3. OBJETIVOS.....	44
3.1. OBJETIVO GERAL.....	44
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1. MATERIAL BOTÂNICO.....	45
4.2. CONTROLE DA QUALIDADE DA DROGA.....	45
4.2.1. Determinação do teor de cinzas totais.....	45
4.2.2. Determinação de cinzas insolúveis em ácidos.....	45
4.2.3. Determinação do teor de umidade.....	45
4.2.4. Determinação do teor de flavonóides totais.....	46
4.2.4.1. Adaptação da metodologia para análise de <i>C. sylvestris</i>	46
4.3. PREPARO DOS EXTRATOS FLUIDOS.....	46
4.3.1. Controle da qualidade do extrato fluido.....	46
4.3.1.1. Características organolépticas.....	47
4.3.1.2. Determinação do pH.....	47
4.3.1.3. Determinação da densidade.....	47
4.3.1.4. Determinação do teor de flavonóides.....	47
4.4. PREPARO DO DENTIFRÍCIO.....	47
4.4.1. Fórmula.....	47
4.4.2. Procedimento.....	48
4.5. CONTROLE DA QUALIDADE DO PRODUTO ACABADO.....	49
4.5.1. Determinação do pH.....	49
4.5.2. Avaliação da consistência.....	49
4.5.3. Verificação da vida útil.....	49
4.5.4. Avaliação do índice de espuma.....	50

4.5.5. Avaliação das características reológicas.....	50
4.5.5.1. Fórmulas.....	50
4.6. TESTES DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	51
5. RESULTADOS.....	53
5.1. CONTROLE DA QUALIDADE DAS DROGAS.....	53
5.2. CONTROLE DA QUALIDADE DOS EXTRATOS FLUIDOS.....	53
5.2.1. Características organolépticas.....	53
5.2.2. Determinação do pH e densidade.....	53
5.2.3. Determinação do teor de flavonóides totais.....	53
5.3. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO.....	54
5.4. CONTROLE DA QUALIDADE DO PRODUTO ACABADO.....	58
5.4.1. Verificação da vida útil.....	58
5.4.2. Características reológicas	59
5.5. TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	60
6. DISCUSSÃO	66
7. CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS.....	80

RESUMO

A *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) e a *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), são exemplares da flora medicinal que possuem propriedades terapêuticas destacando-se as atividades antiinflamatória, antimicrobiana e cicatrizante, atribuídas ao sinergismo de seus constituintes químicos. No intuito de usufruir destes benefícios desenvolveu-se uma formulação dentifrícia, na forma gel, com seleção criteriosa de matérias-primas e excipientes que atendessem os requisitos farmacotécnicos e as restrições legislativas. Incorporou-se extratos fluidos destas plantas e verificou-se a capacidade inibitória *in vitro* frente a microorganismos frequentemente encontrados em periodontias. Efetuou-se controles para a avaliação da qualidade das drogas, quantificando como marcadores químicos, os flavonóides. Os extratos fluidos foram elaborados segundo critérios da Farm. Bras. II, onde foram pesquisados os mesmos marcadores. Formulou-se dentifrícios com as designações CO (contendo 10% de extrato fluido de *C. officinalis*); CS (10% de extrato fluido de *C. sylvestris*), CC (extrato fluido de *C. officinalis* e extrato fluido de *C. sylvestris* 1:1). Nestas formulações avaliou-se a capacidade inibitória frente a microorganismos específicos do processo de formação de placa bacteriana, *S. mutans* (ATCC 25175) e os freqüentemente encontrados em quadros de infecções orais, *S. aureus* (ATCC 8538) e *C. albicans* (ATCC 10231). Foi empregado o método proposto pela FIOCRUZ/INCQS para a avaliação da atividade inibitória de preparações nas formas sólidas. Os dentifrícios CO, CS e CC demonstraram atividade inibitória, verificando-se maior sensibilidade do *S. mutans* e *S. aureus* frente ao dentifrício CC e uma sensibilidade maior em CS e CC frente a *C. albicans*. Os resultados foram caracterizados pelo aparecimento de uma zona clara ao redor da preparação, justificando a associação dos extratos fluidos de *C. officinalis* e *C. sylvestris* propostos na formulação CC.

Palavras chaves: *Calendula officinalis*, *Casearia sylvestris*, dentifrícios, antimicrobianos.

ABSTRACT

Calendula officinalis L.(Asteraceae) and *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), are both examples of the medicinal flora that have therapeutical properties mainly anti-inflammatory, antimicrobial and tissue repair, attributed to the synergism among their chemical compound. Intending to use these benefits, was developed a dental formulation, in a gel base, with a criterial selection of the raw materials and excipients that would attend pharmacotechnical requirements and legislative restrictions, incorporating fluid extracts of these plants, verifying the inhibitory capacity *in vitro* against microorganisms frequently found in periodontopathies. Tests were done to control the quality of the drugs, establishing and quantifying as chemical markers, flavonoids. With them, fluid extracts were made, following the Farm. Bras. II, quantifying these markers. Were made CO dentifrices (formulated with fluid extract of *C. officinalis*); CS (using fluid extract of *C. sylvestris*), and CC (using fluid extracts of both *C.officinalis* and *C. sylvestris*). With these formulas, the inhibitory capacity against microorganisms specifically found in the bacterial plaque formation process, *S. mutans* (ATCC 25175) and the commonly found in oral infection cases, *S. aureus* (ATCC 8538) e *C. albicans* (ATCC 10231), applying the method proposed by FIOCRUZ/INCQS to evaluate the inhibitory capacity in solid preparations. The dentifrices CO, CS and CC showed inhibitory activity, being able to verify more sensibility of *S. mutans* and *S. aureus* when in contact with CC dentifrices, and a higher sensibility of *C. albicans* of the CS and CC types, characterized by the appearing of a light zone surrounding the preparation, justifying the association of the fluid extracts in the proposed formulas.

Key words: *Calendula officinalis*, *Casearia sylvestris*, dentifrices, antimicrobial.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, por sua presença absoluta em minha vida.

Aos meus pais, pela compreensão de minha ausência, pelo apoio e carinho.

Ao meu querido noivo Benedito Tuoni pela presença carinhosa durante todo percurso, principalmente nos momentos de dificuldades.

À minha professora orientadora e amiga Dra. Mayumi Eliza O. Sato pela atenção, compreensão e dedicação.

Ao professor Dr. Cid Aimbiré M. dos Santos, pela concessão das instalações e equipamentos do laboratório de Farmacognosia e pelo seu apoio e atenção como co-orientador.

Ao programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Farmácia, UFPR, que tornou possível a realização deste trabalho.

À minha amiga Klézia M. da Silva Belleti, pela participação, apoio e troca de experiências.

Ao professor Márcio Chimelli pela concessão de equipamentos para realização das análises viscosimétricas.

À farmacêutica Marisa de Moura S. da Luz e sua colaboradora Ronicilene Melo dos Santos pelo auxílio na realização dos testes de atividade antimicrobiana e suas sugestões valiosas para este trabalho.

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

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

ABREVIATURAS E SIMBOLOS

ABO	- Associação Brasileira de Odontologia
ATCC	- American Type Culture Collection dos Estados Unidos da América
<i>C. albicans</i>	- <i>Candida albicans</i>
<i>C. officinalis</i>	- <i>Calendula officinalis</i>
<i>C. sylvestris</i>	- <i>Casearia sylvestris</i>
CC	- dentifrício com 10% de extrato fluido de <i>C. officinalis</i> e 10% de extrato fluido <i>C. sylvestris</i>
CO	- dentifrício com 10% de extrato fluido de <i>C. officinalis</i>
CS	- dentifrício com 10% de extrato fluido <i>C. sylvestris</i>
CLAE	- cromatografia líquida de alta eficiência
cm	- centímetro
CMC	- carboximetilcelulose sódica
CTFA	- Cosmetics Toiletries Fragrance Association
DNA	- ácido desoxirribonucléico
DL ₅₀	- dose letal 50%
EDTA	- ácido etilenodiaminotetracético
FIOCRUZ	- Fundação Instituto Osvaldo Cruz
g	- grama
GL	- Gay Lussac
ID	- dose inibitória
INCQS	- Instituto Nacional de Controle de Qualidade de Saneantes
kg	- quilograma
mg	- miligrama
ml	- mililitro
mm ²	- milímetro quadrado
η	- viscosidade aparente
placa	- placa bacteriana
R	- reagente

RNA	- ácido ribonucléico
rpm	- rotações por minuto
<i>S. aureus</i>	- <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. mutans</i>	- <i>Streptococcus mutans</i>
SNC	- sistema nervoso central
Tr	- tensão de cisalhamento
UFC	- unidades formadoras de colônias
UVA	- ultravioleta A
UVB	- ultravioleta B
v/v	- volume/volume
%	- porcentagem
µm	- micrômetro
®	- marca registrada

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	ENSAIOS PARA DETERMINAÇÃO DE CINZAS TOTAIS, CINZAS INSOLÚVEIS EM ÁCIDOS E UMIDADE.....	53
TABELA 2 -	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONÓIDES TOTAIS.....	53
TABELA 3 -	DETERMINAÇÃO DO pH E DENSIDADE.....	54
TABELA 4 -	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONÓIDES TOTAIS.....	54
TABELA 5 -	DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO DE DENTIFRÍCIOS.....	55
TABELA 6 -	DETERMINAÇÃO DO pH, AVALIAÇÃO DA CONSISTÊNCIA E ÍNDICE DE ESPUMA DA AMOSTRA DE DENTIFRÍCIO COM 10% EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> e 10% EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i>	58
TABELA 7 -	DETERMINAÇÃO DO pH, AVALIAÇÃO DA CONSISTÊNCIA E ÍNDICE DE ESPUMA DA AMOSTRA DE DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> e 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> APÓS 72 HORAS DE ENVELHECIMENTO DRÁSTICO.....	58
TABELA 8 -	DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS E DA VISCOSIDADE APARENTE DE DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> e 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i>	59
TABELA 9 -	INTERPRETAÇÃO DOS TESTES DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	60

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - <i>Casearia sylvestris</i>	30
FIGURA 2 - <i>Calendula officinalis</i>	37
FIGURA 3 - COMPORTAMENTO REOLÓGICO.....	59
FIGURA 4 - DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> FRENTE AO <i>S. aureus</i>	61
FIGURA 5 - DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> FRENTE AO <i>S. mutans</i>	61
FIGURA 6 - DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> FRENTE A <i>C. albicans</i>	62
FIGURA 7 - DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> FRENTE AO <i>S. aureus</i>	62
FIGURA 8 - DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> FRENTE AO <i>S. mutans</i>	63
FIGURA 9 - DENTIFRÍCIO COM 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> FRENTE A <i>C. albicans</i>	63
FIGURA 10 - DENTIFRÍCIO COM ASSOCIAÇÃO 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> e 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> FRENTE AO <i>S. aureus</i>	64
FIGURA 11 - DENTIFRÍCIO COM ASSOCIAÇÃO 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> e 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> FRENTE AO <i>S. mutans</i>	64
FIGURA 12 - DENTIFRÍCIO COM ASSOCIAÇÃO 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. officinalis</i> e 10% DE EXTRATO FLUIDO DE <i>C. sylvestris</i> FRENTE A <i>C. albicans</i>	65
FIGURA 13 - DENTIFRÍCIO COM 0,4% DE TRICLOSAN FRENTE A <i>E. coli</i>	65

1. INTRODUÇÃO

De longa data, as periodontias acometem grande parte da população mundial.

A gengivite é uma condição inflamatória reflexa, induzida na maioria dos casos pelo acúmulo de placa bacteriana na extensão da margem gengival. Pode apresentar vermelhidão, edema do tecido gengival, sangramento, mudança no contorno e consistência da gengiva. Trata-se de uma patologia com diferentes etiologias e níveis de severidade (ARMITAGE, 1999).

Segundo PADER (1988), considera-se consensualmente, que a melhor maneira de aplicar um agente terapêutico na cavidade bucal é através de um dentífrico. Esta afirmação está confirmada na comparação entre o uso de dentífricos e enxaguatórios bucais. Os dentífricos associados à escova dental são eficazes na limpeza dos dentes, atributo que os enxaguatórios bucais isoladamente não conseguem alcançar, sendo até hoje considerados produtos complementares a higienização bucal. Estima-se que 67% do mercado de produtos para higiene oral está baseado nos produtos dentífricos e apenas 37% correspondem aos demais itens como escova dental, enxaguatório bucal e fio dental (PADER, 1988).

A legislação que atualmente regulamenta a classificação dos produtos para higiene dental e bucal é a RDC nº 79 de 28 de agosto de 2000 (ANVISA, 2000), classificando-os na categoria de produto de higiene. O grau de risco atribuído a estes produtos pode ser diferenciado em 1 ou 2 dependendo do fim a que se destina. Produtos para fins especiais como antiplaca, anticárie, antitártaro, clareador químico e anti-séptico, obrigatoriamente se enquadram no grau de risco 2 (produto com risco potencial).

Os métodos químicos para controle da placa, cárie e das doenças periodontais, tem sido exaustivamente estudados, empregando-se uma extensa variedade de agentes com atividade anti-séptica, cicatrizante, antiinflamatória e anticárie.

Os fluoretos são os mais amplamente aplicados e também investigados, possuindo propriedade anticárie pelo aumento da resistência dos dentes ao ataque dos

ácidos produzidos pela fermentação das bactérias. Como anti-séptico destacam-se a clorexidina, cloreto de cetil-piridíneo e triclosan.

Estima-se que o consumo anual de dentifrícios nos Estados Unidos da América é de aproximadamente um milhão de kg ou cerca de 0,5 kg por pessoa (NUNES, 1996). No Brasil, as empresas fabricantes de dentifrícios consideram estes dados como confidenciais.

Atualmente, uma outra alternativa tem despertado interesse dos pesquisadores, sendo que a utilização de produtos fitoterápicos tem se mostrado uma alternativa eficiente na prevenção e controle de periodontias. A fitoterapia resgatou aos poucos seu legado cultural e a confiabilidade da população, deixando de ser apenas um recurso terapêutico viável ao poder aquisitivo, passando a existir como prática oficial da medicina e a ser reconhecida e utilizada pelos órgãos de saúde pública.

Os dentifrícios com agentes terapêuticos oriundos de plantas buscam promover as propriedades destas, utilizando-se de conhecimentos empíricos e científicos já observados e citados em literaturas especializadas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. PERIODONTIAS

A Academia Americana de Periodontologia classifica as doenças periodontais agudas em dois grupos:

- Doenças gengivais induzidas por acúmulo de placa bacteriana (periodontia placa-dependente);
- Lesões gengivais não induzidas por placa bacteriana: causadas por microorganismos de origem específica (periodontia placa-independente) (ARMITAGE, 1999).

2.1.1. Periodontia placa-dependente

Segundo JORGE (1995), estudos revelaram três fases de modificações da microbiota oral num período de duas semanas. Durante a primeira fase, a microbiota é dominada por cocos gram-positivos e cocos gram-negativos. Durante a segunda fase, surgem microorganismos filamentosos e, durante a terceira fase, espirilos e espiroquetas. Quando a gengivite se estabelece, o cultivo das bactérias a partir das áreas infectadas revela um aumento no número de anaeróbicos, em relação às bactérias anaeróbicas facultativas.

O conhecimento do mecanismo de formação da placa na região dentogengival é de suma importância para o estudo da doença periodontal. A placa pode ser classificada como supragengival, quando se deposita nas coroas dos dentes e subgengival quando localizada no sulco gengival ou na bolsa periodontal. Pode ser clinicamente observada quando atinge uma determinada espessura e então, aparece como uma camada branca amarelada, composta de 70 a 80% por microorganismos. Estão presentes ainda, polissacarídeos, células epiteliais descamadas, leucócitos, enzimas, sais minerais, glicoproteínas salivares, pigmentos e restos alimentares que se depositam na superfície dos dentes. A placa pode ser de difícil identificação quando presente em pequenas quantidades e neste caso, sua presença pode ser verificada pela

raspagem da superfície dentária ao longo da margem gengival. Para isso utiliza-se a extremidade de uma ferramenta denominada sonda exploradora ou então utiliza-se também uma solução reveladora. Esta solução pode ser um corante comum que cora a placa, ou um corante fluorescente que pode ser revelado pela luz ultravioleta (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991; SHAFER; HINE; LEVY, 1979).

As alterações inflamatórias na gengiva surgem após dois dias do crescimento bacteriano não perturbado (suspensão dos hábitos de higiene). Inicialmente observa-se alterações discretas de cor e de textura dos tecidos marginais. Após dez a vinte dias de acúmulo da placa, é possível verificar o aparecimento de gengivite na maioria dos indivíduos submetidos ao teste. O quadro inicial caracteriza-se por vermelhidão, tumefação gengival e tendência aumentada no sangramento dos tecidos moles. Se a placa bacteriana for removida nesta fase e medidas eficazes de controle forem instituídas, o quadro tende a regredir, caso contrário, ocasionará alterações profundas na integridade da rede de microcirculação e ocorrerá a proliferação de células inflamatórias no tecido conjuntivo, sob o epitélio dentogengival, evoluindo a um quadro de periodontite avançada. (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991; PAPANOU, 1996).

Estudos realizados sobre a microbiologia da placa dental mostraram que em cada 1 ml de placa pesando 1 mg, foram contadas mais de 10^8 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml). Diferentes espécies microbianas participam da constituição da placa. O cultivo e a identificação destas é fundamental para a avaliação e seleção de medicamentos, solucionando assim grande número de doenças que afetam a cavidade oral (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

Para uma melhor avaliação do processo de formação da placa e dos tipos microbianos predominantes em cada fase, estudos com indução intencional (através da suspensão dos hábitos de higiene pessoal) foram realizados, possibilitando compreender melhor a participação dos microorganismos como uma das causas da gengivite humana.

No primeiro dia de suspensão da escovação não ocorreu nenhum tipo de alteração significativa observando-se predomínio de células epiteliais descamadas e

algumas bactérias por entre as células. Destes microorganismos, cerca de 90% eram cocos e bastonetes gram-positivos.

No segundo dia, verificou-se um aumento do número total de bactérias e modificação da distribuição proporcional destes, com aumento significativo de cocos e bastonetes gram-negativos.

A partir do terceiro dia constatou-se o aparecimento e proliferação de bactérias fusiformes e filamentosas.

Do quinto ao nono dia observou-se o aparecimento de espirilos e espiroquetas proliferando-se de forma evidente. Após o sétimo dia, aproximadamente, os diversos grupos de bactérias se proliferaram de tal maneira que os cocos e bastonetes, que inicialmente predominavam, constituíam quantidades inferiores à 50% da flora total.

À medida que a camada da placa dentogengival aumentava de espessura, ocorriam alterações no meio que favoreciam aos microorganismos anaeróbicos, permitindo o desenvolvimento de grande número de bastonetes gram-negativos, principalmente nas regiões mais profundas do dente (LEHNER, 1996).

Segundo BURNETT; SCHERP; SCHUSTER (1991), pacientes acometidos de gengivite branda a moderada por um período mínimo de dois meses, os estreptococos compreendem cerca de 25% da microbiota da placa subgengival, dentre eles *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mutans*.

Embora todas as espécies tenham potencial cariogênico para provocar sulcos e fissuras nos dentes, o *S. mutans* parece ser o único capaz de iniciar o processo de adesão e permitir o acúmulo de outras bactérias na superfície dentária. Esta propriedade específica do *S. mutans* é explicada pela existência de algumas enzimas capazes de sintetizar glucanos a partir da glucose. Os glucanos são polímeros viscosos e pegajosos produzidos na superfície da célula bacteriana e atuam como um cimento que possibilita a adesão dos agregados de bactérias (PELCZAR et al. 1997). Conseqüentemente quando se realiza o controle do crescimento do *S. mutans*, ocorre significativa redução da formação de placa, conforme descrito por PARK (1998) e KOO (1999) que comprovaram que o própolis reduz a aderência da placa no dente, devido à inibição deste microorganismo.

Os *S. mutans* são cocos imóveis catalase negativos, gram-positivos, crescendo como colônias convexas e opacas. No ágar sangue algumas cepas produzem hemólise do tipo alfa e são altamente acidogênicas, alcançando um pH final de 3,4 em um período de 18 a 24 horas de crescimento em meio de cultura. Quando cultivados em presença de sacarose, apresentam-se envolvidas por glucanos. Fermentam o manitol e o sorbitol. Evidências acumuladas da ecologia do grupo *mutans* mostram que estes microorganismos podem sobreviver na boca somente em superfícies sólidas como dentes ou próteses (TRABULSI et al., 1999).

A concentração média de estreptococos do grupo *mutans* na saliva humana apresentam uma variação que vai desde não detectável até 10^7 UFC/ml e uma concentração média de 10^5 UFC/ml de saliva. Quando presente em maior número, a síntese dos glucanos também será maior, conseqüentemente facilitando uma adesão maior dos constituintes da placa (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

Após a deposição da placa na superfície dental, os microorganismos presentes na placa iniciam a produção de enzimas (hialuronidase, colagenase, condroitin-sulfatase, protease, DNase, RNase, neuraminidase, hemolisina, coagulase, etc), levando a degradação das células da região periodontal. Com o agravamento da doença periodontal outros mecanismos envolvidos são ativados, tais como:

- Estimulo da proliferação dos linfócitos B;
- Estimulo da produção de anticorpos;
- Ativação do sistema complemento;
- Ativação dos macrófagos;
- Estimulo da síntese de fator de necrose tecidual por macrófagos;
- Estimulo da produção de fatores de crescimento celular;
- Estimulo da produção de interleucinas, prostaglandinas e interferon.

Paralelamente, desenvolve-se a instalação do processo inflamatório, levando ao aumento da permeabilidade vascular e liberação de histamina. O aumento da permeabilidade resulta em aumento do fluxo gengival, considerado por muitos autores

como o sinal clínico mais precoce de alteração inflamatória nos tecidos periodontais (BIER, 1976; BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991; LEHNER, 1996).

2.1.2. Periodontia placa-independente

A gengivite pode estar associada não somente ao aumento da placa bacteriana, mas também a um desequilíbrio da microbiota normal onde alguns dos microorganismos presentes em pequena quantidade podem oportunamente desenvolver-se de forma significativa, manifestando-se na forma de periodontopatias mais severas como no caso da *Candida albicans*, que pode ser encontrada ocasionalmente em indivíduos saudáveis.

A *C. albicans* encontra condições favoráveis ao crescimento principalmente em pacientes debilitados pelo tratamento com antibióticos e imunossuppressores, portadores de doenças crônicas e por disfunções causadas pelo estresse. A candidíase da mucosa oral, também conhecida por estomatite cremosa ou sapinho caracteriza-se pelo aparecimento de placas brancas, isoladas ou confluentes, aderentes a mucosa, com aspecto membranoso, às vezes rodeada por halo eritematoso (TRABULSI et al., 1999).

Conforme citado por NEVES (2000), têm sido descritas quatro apresentações clínicas distintas da candidíase oral:

- Candidíase aguda pseudomembranosa – caracterizada por placas brancas que quando removidas deixam uma área lesionada eritematosa, observada com maior frequência em crianças, idosos, diabéticos e imunodeprimidos;
- Candidíase aguda atrófica – mostra uma área de ulceração rasa e extensa, sem presença de membrana aparente, muito dolorosa e com sensação de queimação;
- Candidíase crônica atrófica – é caracterizada por eritema crônico, comumente vista no palato e na comissura labial. Ocorre principalmente em idosos ou pela deficiência de complexo B. Recebe também a denominação de queilite angular por candidíase;

- Candidíase crônica hiperplásica - também denominada leucoplásica por apresentar placas brancas que não se destacam, observada com certa frequência em pacientes usuários do tabaco, sendo associada à redução de imunoglobulina A salivar.

A candidíase gengival generalizada é comumente crônica, sendo observada em pacientes com deficiências nutricionais e em imunodeprimidos (portadores de HIV). Apresentam-se na forma de lesões eritematosas crostosas e com exsudatos, e em casos mais avançados, pode levar a candidíase sistêmica, doença muito grave e de difícil diagnóstico devido ao polimorfismo das lesões. As principais localizações da candidíase sistêmica são nos rins, cérebro, coração, trato digestivo, brônquios, pulmões e sangue, causando febre, mal estar geral, dor muscular, erupção cutânea, e também endocardite. O isolamento do microorganismo no sangue nem sempre é conseguido (TRABULSI et al., 1999).

O *Staphylococcus aureus* é um agente altamente patogênico frequentemente encontrado em infecções piogênicas. Apresenta alguns componentes de superfície que os tornam mais resistentes à fagocitose. É produtor de peptídeoglicanos (semelhante a uma endotoxina), enzimas e toxinas extracelulares (coagulases, catalases, proteases, betalactamases, hemolisinas e leucocidinas) (TRABULSI et al., 1999).

Em indivíduos debilitados por doenças crônicas, traumas físicos, queimaduras, ou imunossupressão, este microorganismo pode causar infecções de caráter mais grave. A presença de um foco de infecção na região bucal pode ocorrer em consequência da lesão tecidual, desencadeada por processos cirúrgicos, extração dentária, ou em casos onde a gengivite provocar a lesão dos tecidos periodontais. Isto pode levar a um quadro de agravamento da periodontopatia (necrose tecidual), formação de abscessos e a manifestação de doenças sistêmicas (JORGE, 1995; TRABULSI et al., 1999).

2.1.3. Fatores predisponentes

a) Fumo: o tabaco tende a agravar o estado de higiene oral. Além disso pode provocar também a contração dos vasos periféricos, fenômeno sugerido como mecanismo de predisposição a um quadro avançado de gengivite. Tem ainda

influência sobre os leucócitos polimorfonucleares orais, onde os dos fumantes são menos eficazes que os dos não fumantes, além de que nos fumantes ocorre um aumento da deposição de placa dental, que induz a uma deterioração adicional da higiene oral (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

b) Fatores psicossociais (estresse emocional): diversos mecanismos sugerem que o estresse pode influenciar nas condições dos tecidos gengivais, principalmente na mudança de hábitos de higiene e nutrição do paciente. Outro fator seria a diminuição da resistência tecidual do hospedeiro, sob alteração do sistema nervoso autônomo e glândulas endócrinas, de modo a afetar a gengiva e fluxo salivar. Além disso, os corticoesteróides associados com o estresse podem ainda modificar a composição da flora bacteriana (SILVA; NEWMAN; OAKLEY, 1995; BREVIK et al., 1996).

As doenças gengivais podem ser consideravelmente modificadas também por alguns fatores sistêmicos como, por exemplo, quando associada a alterações do sistema endócrino (diabetes, gravidez), à discrasias sanguíneas (leucemias) por medicações (anticoncepcionais) à má nutrição (avitaminoses) (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991; CASTRO; MORAES; FURUSE, 1995).

2.1.4. Meios para controle e prevenção

Para prevenir o agravamento das periodontias é necessário:

- Eliminar a placa detectável clinicamente para inibir a progressão da doença periodontal;
- Tentar alterar a composição microbiana da placa, combatendo de forma seletiva espécies consideradas virulentas;
- Evitar a adesão de microorganismos à superfície dentária e conseqüentemente impedir a formação da película de aderência (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

2.2. DENTIFRÍCIOS

O hábito de limpeza e desinfecção dos dentes é conhecido desde os tempos das civilizações gregas e romanas. Os povos dessa época utilizavam para isso caules, raízes de plantas, substâncias de origem mineral previamente pulverizadas, em virtude destes materiais possuírem propriedades abrasivas. Os caules, além da atividade abrasiva continham em alguns casos, compostos com atividades adstringentes e aromatizantes. Os dentífricos em pó foram evoluindo gradativamente transformando-se em misturas complexas e cuidadosamente elaboradas (PRISTA; BAHIA, VILAR, 1995).

Em 1873, surgiu no mercado norte americano o primeiro produto na forma de pasta dental lançado pela empresa COLGATE. Inicialmente não teve grande aceitação devido a seu elevado custo. Registros mostram que um estudo realizado por volta de 1910 na Alemanha, comparava o preço de uma pasta dentífrica, correspondendo a aproximadamente dois dias de trabalho de um operário (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

A limpeza dos dentes e da cavidade bucal assentou sua proposta durante muito tempo nos dentes brancos, hálito refrescante e agradável. Essa necessidade estava mais dirigida à condição cosmética. Posteriormente, as pastas e géis dentais tornaram-se preparações de baixo custo, de elevada segurança, fundamentais à higiene diária, destinadas também à prevenção e tratamento de doenças orais (NUNES, 1996).

2.2.1. Generalidades

A rápida evolução e conscientização da cárie e gengivite para a condição de doença promoveram um grande impacto no setor de dentífricos. Este despertar trouxe novas responsabilidades e desafios às indústrias, pois ao invés de utilizar um cosmético apenas para a limpeza dos dentes, iniciou-se a busca por alternativas terapêuticas, incorporando-se ativos para o controle da placa bacteriana e de outros microorganismos causadores de doenças periodontais (SAXER; JASCHOUZ; LEY, 1994; SAXER et al., 1995).

Concentradas neste objetivo as indústrias têm procurado associar em um único produto uma série de substâncias com atividades determinadas e correlatas antiplaca, antiinflamatória, anti-séptica, antitártaro, resultando em dentifrícios de ação global, ação total, utilizando-se do potencial de substâncias terapêuticas, associadas a ação abrasiva dos mesmos.

Segundo PRISTA; BAHIA; VILAR (1995), dentifrícios são preparações destinadas a promover a higiene oral e a garantir a conservação e integridade funcional dos dentes.

A função primária dos dentifrícios é remover impurezas aderentes à superfície dura da cavidade bucal com o mínimo dano para a mesma (HARRY, 1989).

Para produzir consistência, suavidade e atratividade na formulação, os dentifrícios são geralmente constituídos de espessantes, abrasivos, umectantes, tensoativos, flavorizantes, edulcorantes, conservantes e princípios ativos (PADER, 1988).

Considerado-se que o dentifrício continua sendo a melhor maneira de aplicar um agente terapêutico em manifestações patológicas da cavidade bucal, as empresas de dentifrícios apresentam atualmente diferentes composições para estes produtos, visando atender às preferências pessoais e as necessidades dos diversos tipos de consumidores:

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

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

2.2.2. Composição básica de um dentifrício

2.2.2.1. Espessantes

Na formulação básica, em pasta ou gel, os dentifrícios devem conter um agente espessante, visando conferir corpo e aparência, manter a consistência e a estabilidade da formulação.

Os espessantes são produtos semi-sólidos, transparentes, de consistência gelatinosa e de fácil aplicação, compostos de partículas coloidais que não se sedimentam, isto é, ficam dispersos. Possuem dimensões que variam de 0,001 a 0,01 μm , contendo alta proporção de solvente em relação ao agente espessante. As substâncias formadoras de géis são polímeros que quando dispersos em meio aquoso, assumem conformação capaz de aumentar a viscosidade da formulação. O agente espessante organiza-se de tal modo a formar uma estrutura em rede coloidal tridimensional. Esta rede limita o escoamento do fluido pelo enredamento e imobilização do solvente sendo responsável também pela resistência do gel à deformação (LABA, 1993).

Quanto aos agentes espessantes, há várias substâncias com tais finalidades e são classificadas de acordo com a origem e estrutura química. Os empregados nas preparações dos dentifrícios são em geral compostos naturais, como o amido, as gomas, os alginatos e as pectinas, ou ainda compostos de origem sintética, como a polivinilpirrolidona, os derivados de celulose e os ácidos carboxivinílicos. O amido e as gomas (adraganta, arábica e caraia) estão em desuso, devido principalmente ao fato de não possuírem características organolépticas satisfatórias e por apresentarem ligeiras variações na composição química, e além disso, as mucilagens presentes nestes compostos, são facilmente contaminados por microorganismos (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Algumas vezes os espessantes são usados isoladamente, outras associados para compor uma formulação adequada à estabilidade e desempenho desejado. Um exemplo comum é a associação de agentes espessantes de diferentes origens aos derivados de celulose (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

O sistema espessante deve ser cuidadosamente selecionado para conferir propriedades reológicas adequadas, uma fácil dispersibilidade durante a escovação, assim como a liberação do sabor e a manutenção de um nível adequado de espuma. No entanto, estas propriedades são secundárias quando se têm em vista o papel deste sistema de manter a integridade do produto durante o prazo de validade, em diversas condições de estocagem e distribuição. Os pontos negativos que podem estar relacionados com este sistema são:

- Sensação de pegajosidade;
- Não uniformidade e aparência de granulado;
- Dificuldade de aplicação na escova, por apresentar-se muito espesso ou muito fluido (PADER, 1988).

O comportamento e modo de formação destes géis têm importância no envase do produto, no processo de enchimento dos tubos, na remoção do produto da embalagem em função do orifício de saída, na manutenção da forma sobre as cerdas e na biodisponibilidade de seus princípios ativos (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Paralelamente, HARRY (1989) observou que os derivados de celulose são os agentes espessantes mais utilizados em dentifrícios. Após a sua obtenção sintética conseguiu-se aprimorar vários tipos com diferentes graus de dispersibilidade, sem coloração, não tóxicos e relativamente sem sabor.

2.2.2.2. Abrasivos

Os agentes abrasivos, também denominados agentes de polimento, são componentes fundamentais em pastas e dentifrícios em pó, capazes de remover da superfície dos dentes, manchas, placa dentária e resíduos alimentares, sem danificar o esmalte e a dentina. A intensidade abrasiva de um composto é condicionada pela dureza, pelo tamanho e forma das partículas do pó.

O carbonato de cálcio precipitado foi um dos compostos mais utilizados como abrasivos em dentifrícios. Existem algumas particularidades que os distinguem, podendo apresentar variações na forma cristalina, tamanho de partícula e densidade. Quanto à forma cristalina, além de não apresentarem cristais de forma regular,

possuem elevada percentagem de cristais de quartzo, fato que os torna contraindicados como abrasivos por serem demasiadamente agressivos para o esmalte dos dentes. Para a utilização destes, impõe-se a necessidade de realização de ensaios para controle do grau de abrasividade. Por este motivo, foram sendo substituídos por outros compostos abrasivos que apresentam maior segurança e facilitam seu emprego na formulação. Destacam-se entre eles os compostos à base de fosfato de cálcio, entre os quais o fosfato dicálcico di-hidratado, o fosfato dicálcico anidro, o fosfato tricálcico e o pirofosfato de cálcio. O fosfato dicálcico anidro é cinco vezes mais abrasivo que seu similar di-hidratado sendo muito utilizado quando se deseja uma ação de polimento mais intensa. O pirofosfato de cálcio é três vezes mais abrasivo do que o fosfato dicálcico di-hidratado, sendo extremamente útil na formulação de pastas dentifricias que incorporam fluoretos, por não reagirem com estes compostos, contrariamente aos demais compostos de cálcio. O carbonato de magnésio é um abrasivo muito suave, que apesar de se apresentar sob forma de pó branco, confere aspecto acinzentado à formulação final (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Na década de 50, as sílicas abrasivas foram apresentadas ao mercado, com inúmeras vantagens e trazendo muitos benefícios à tecnologia. São química e fisiologicamente inertes, inodoras e insípidas. Constituem-se de partículas muito pequenas com imenso poder de adsorção, possibilitando a formulação de produtos com excelente aspecto e baixa densidade. Dois tipos básicos de sílicas são usadas nos dentifricios, a sílica abrasiva e a sílica espessante, quimicamente idênticas, mas que se diferenciam quanto as características físicas e por serem obtidas por processos diferentes. Ensaio mostram que a associação de sílicas abrasivas e espessantes podem promover um efeito sinérgico da propriedade abrasiva (PEDRAZZI; LARA; PANZERI, 1999).

Após 1960, os abrasivos isentos de cálcio passaram a receber maior atenção, optando-se pela segurança e funcionalidade das sílicas.

Os fatores físicos que determinam as propriedades abrasivas e o procedimento para avaliar o grau de abrasividade têm sido uma preocupação constante dos formuladores.

Aspectos a serem considerados na formulação:

- Presença indispensável de agentes abrasivos nos dentifrícios;
- Efeitos biológicos adversos de uma abrasividade excessiva;
- Nível ideal de abrasividade segundo as diferentes necessidades;
- Influência da interação dentifrício-escova de dentes.

A necessidade de utilização de um agente abrasivo é reconhecida há muito tempo, tanto pelo aspecto clínico quanto comercial. A remoção mecânica das manchas oriundas do depósito de substâncias corantes encontradas nos alimentos como chá, café e até mesmo no cigarro, são removidas de forma segura, com a utilização de um abrasivo. Considerando-se anos de estudos com o objetivo de se descobrir métodos químicos para remoção de manchas e sem o aparecimento de um produto efetivo, o dentifrício com abrasivo continua sendo ainda o método mais indicado, seguro e fácil de ser usado pelo público em geral, (PANZERI et al., 1979).

Segundo HARRY (1989), o abrasivo usado em dentifrícios deve possuir a habilidade de limpar a superfície do dente de forma a não causar danos à mesma. Conforme definição da American Dental Association (ADA), o dentifrício não deve ser mais abrasivo do que o necessário para manter o dente limpo, isto é, livre de placa acessível, impurezas e manchas superficiais. O grau de abrasividade deve cumprir esta proposta podendo existir pequenas variações individuais.

Um único produto pode apresentar diferentes graus de abrasividade dependendo da composição do gel base, principalmente pela interação com o agente espessante utilizado. A carboximetilcelulose sódica e o alginato de sódio são os espessantes que conferem um aumento significativo da abrasividade nas fórmulações (PANZERI et al., 1979).

2.2.2.3. Umectantes

Segundo PRISTA; BAHIA; VILAR (1995), os umectantes têm como função principal impedir ou retardar a evaporação dos constituintes líquidos da preparação. Quando um dentifrício perde água por evaporação, sofre uma alteração na sua viscosidade, registrando aumento da consistência. Esta perda pode representar uma

significativa alteração na estabilidade físico-química do produto final. Além desta função os umectantes conferem brilho às pastas e influenciam a sua edulcoração. Os umectantes mais empregados são a glicerina e o sorbitol, que apresentam basicamente as seguintes propriedades:

- Mantém a umidade do produto, prevenindo o ressecamento pela exposição prolongada ao ar;
- Conferem dulçor e outros benefícios organolépticos.

Além da glicerina e do sorbitol, tem-se ainda, o propilenoglicol e o polietilenoglicol. Os umectantes utilizados em dentifrícios são selecionados baseados em sua cariogenicidade, isto é, na possibilidade de ser fermentável por microorganismos da cavidade bucal, em particular pelos que compõem a placa bacteriana (BURNET; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

Nos dentifrícios na forma de gel transparente, o sistema umectante tem fundamental participação, pois dependendo das substâncias selecionadas e da adequação de suas concentrações na formulação, torna-se possível obter a transparência do produto. Neste tipo de dentifrício a quantidade de água geralmente é mínima, chegando no máximo a 10% e as quantidades de umectantes (principalmente sorbitol 70%) são altas, em torno de 50 a 70% (NUNES, 1996).

2.2.2.4. Tensoativos

Os tensoativos estão presentes nos dentifrícios com a finalidade de auxiliar na remoção dos depósitos presentes na superfície dos dentes, além de atender um requisito indispensável segundo as exigências do consumidor, que é a capacidade de produzir espuma (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995). A presença deste agente tem como finalidade primordial a emulsificação dos resíduos, facilitando a sua remoção (LARA; PANZERI, 1998).

Estes compostos, tanto quanto os antigos sabões de sódio e potássio também não estão isentos dos mesmos inconvenientes, como potencial irritante, pH elevado, e algumas incompatibilidades, mas as quantidades necessárias para se obter o mesmo resultado são significativamente menores, sendo menos agressivos à mucosa oral. São

encontrados na concentração de 0,5 a 2,0%, dependendo da intensidade de espuma que se pretende. O tensoativo ideal necessita ser inodoro, não tóxico e não irritante à mucosa oral. A qualidade da espuma é importante pelo impacto direto na sensação subjetiva de limpeza por parte do consumidor (PADER, 1988).

Alguns agentes tensoativos podem ter propriedades profiláticas ou terapêuticas (catiônicos), mas o que define a escolha é a sua capacidade de detergência e seu poder espumante (PADER, 1988).

Segundo HARRY (1989), o lauril sulfato de sódio é provavelmente o tensoativo mais utilizado em todos os dentifrícios e satisfaz quase todos os requisitos. A denominação “lauril” vem do radical alquil R derivado de um álcool C_{12} em $ROSO_3Na$. O sabor pode se apresentar desagradável, sendo influenciado diretamente, pelo conteúdo de álcool livre. A baixa concentração de sais inorgânicos também é desejável. Outros tensoativos como lauril éter sulfato de sódio, ricinoleato de sódio e sulforricinoleato de sódio também podem ser utilizados (HARRY, 1989).

HIDAKA e ABE (1992), apresentaram os resultados de testes realizados durante o armazenamento de dentifrício, onde mostraram a ação oxidativa do lauril sulfato de sódio sobre o fosfato de cálcio, causando a conversão do produto à hidroxiapatita.

HERLOFSON; BRODIN; AARS (1996), estudaram o efeito da solução a 1,5% de lauril sulfato de sódio sobre a microcirculação gengival, mostrando propriedades desnaturantes, causando aumento da permeabilidade e descamação dos tecidos da mucosa oral.

HERLOFSON; BARKOVOLL (1996), realizaram testes comparativos entre dentifrícios contendo lauril sulfato de sódio (LSS), cocoamidopropilbetaina (anfótero) e sem agente tensoativo. Um grupo de pacientes foi selecionado por apresentar freqüentes lesões (tipo afta). Após seis semanas de aplicação, observaram que o número de lesões do grupo que utilizava o dentifrício com LSS era muito superior ao grupo que utilizou o produto contendo cocoamidopropilbetaina e o grupo com o placebo, recomendando deste modo a utilização de produtos sem tensoativos ou contendo em tensoativos anfotéricos para pacientes com aftas.

Os tensoativos denominados anfotéricos apresentam simultaneamente, propriedades ácidas e alcalinas, ou seja, capacidade de ceder ou captar prótons na mesma molécula. Em soluções ácidas, formam compostos catiônicos e em soluções alcalinas formam compostos aniônicos (REBELLO, 2001).

Os poliglucosídeos, derivados do amido de milho, são tensoativos não iônicos, com excelentes propriedades espumantes e elevada compatibilidade com a pele e mucosas, possibilitando a formulação de produtos mais suaves, podendo ser usado em associação a um tensoativo primário (HENKEL, 1993; COLGATE PALMOLIVE, 1997).

2.2.2.5. Flavorizantes

Após a aplicação do dentifrício, as sensações de aroma e sabor devem manter-se durante algum tempo na cavidade oral. Este aspecto condiciona uma boa ou má aceitação do produto por parte dos consumidores.

Dois aspectos sobre o aroma de dentifrícios devem ser levados em consideração:

- Auxiliar na escolha do produto pela satisfação de utilizá-lo;
- Mascarar outros sabores desagradáveis (veículo base).

Os aromas mais utilizados são divididos em três grupos:

- Cítricos: essências de laranja, limão, tangerina e bergamota;
- Balsâmicos: mentol, cânfora, borneol, eucaliptol e timol;
- Frutais: essências de groselha, framboesa, ananás e banana.

As concentrações de uso variam entre 1 a 3%, respeitando a solubilidade da essência no veículo aquoso (LARA; PANZERI, 1999).

A preferência nos países com climas semelhantes ao do Brasil é de aromas refrescantes como menta, eucalipto e frutas cítricas (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

2.2.2.6. Edulcorantes

As substâncias edulcorantes são incorporadas aos produtos dentifrícios com o objetivo de eliminar o sabor insípido dos abrasivos, corrigir o sabor amargo e irritante

transmitido geralmente pelos detergentes, e, disfarçar o sabor dos princípios ativos como principalmente de extratos vegetais.

As formulações com elevadas porcentagens de glicerina e sorbitol podem eventualmente dispensar os edulcorantes por conferirem sabor doce ao produto acabado.

Os edulcorantes permitidos segundo a portaria nº 35 de 11/10/90 (ANVISA, 1990) são:

- ácido ciclohexilsulfâmico e sais de glicerina: glicirrizinato de amônio, mono e dissacarídeos;
- sacarina e sais, sorbitol, manitol e xilitol;
- esteviosídeos: uso do extrato purificado de folhas de *Stevia rebaudiana* (com no mínimo 60% de esteviosídeos) e do esteviosídeo puro (isento de seus produtos de hidrólise – steviol e isosteviol) em produtos de higiene oral.

Devido aos reconhecidos efeitos deletérios dos hidratos de carbono na saúde oral, na seleção dos agentes edulcorantes, deve-se considerar a escolha de produtos com baixo potencial cariogênico (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

2.2.2.7. Conservantes e sequestrantes

A necessidade ou não da utilização de agentes conservantes é caracterizada de acordo com a composição da formulação. Os dentifrícios contendo elevada quantidade de água são freqüentemente invadidos por microorganismos, necessitando então da ação bactericida e fungicida dos conservantes para evitar contaminações. Os produtos contendo elevado conteúdo de glicerina e sorbitol, normalmente utilizados como umectantes na formulação não necessitam destes agentes (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Entre os compostos mais utilizados com propriedades específicas para conservação de dentifrícios tem-se: ésteres do ácido *p*-hidroxibenzoico (máximo 0,4%, expresso como ácido), ácido sórbico (máximo 0,6%, expresso como ácido), formaldeído (máximo 0,1%) de acordo com os limites determinados na RDC nº 162 de 11 de setembro de 2001 (ANVISA, 2001).

O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é um agente quelante que possui uma função efetiva na prevenção do processo de deposição de placa. Segundo JORGE (1995), a agregação de bactérias como *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mitis* são decorrentes da presença de constituintes mucilaginosos, onde os íons cálcio tornam-se fundamentais para que ocorra a agregação destas bactérias. O EDTA não só inibe a agregação como inclusive, desagrega as bactérias previamente aglutinadas.

2.2.2.8. Corantes

Atualmente o mercado de produtos coloridos tem conquistado o consumidor. Mesmo as pastas dentífricas brancas, algumas vezes tem sua cor enaltecida pela adição de dióxido de titânio ou apresentam listras coloridas, associando suas cores a diferentes apelos mercadológicos.

Os corantes permitidos para uso em produtos de uso oral, devem seguir a RDC nº 79 de 28 de agosto de 2000 (ANVISA, 2000), que regulamenta entre outros, a utilização destes para produtos de higiene oral, entre os quais, os enxaguatórios bucais e os géis dentais. Os mais usuais são o azul FD&C 1, verde FD&C 3, vermelho FD 3 (eritrosina), amarelo FD&C 37 (tartarazina), amarelo FD&C 20, vermelho FD&C 33 e FD&C 37 e o dióxido de titânio (MEDEIROS; COIMBRA, 2000).

2.2.2.9. Agentes terapêuticos

A idéia de se utilizar agentes antimicrobianos na prevenção e controle da placa bacteriana, não é recente, porém existiam fatores restritivos na aplicação de agentes anti-sépticos, pois os mesmos apresentavam características acentuadamente cáusticas e intoleráveis pelas mucosas, considerando-se que as bactérias patogênicas especificamente causadoras da placa não haviam sido identificadas para que se procedesse a uma supressão seletiva destas. Os métodos químicos para controle da placa tem sido exaustivamente estudado há muitas décadas visando o controle das periodontites e da formação da cárie dentária (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Segundo CALFIELD; NAVIA (1984), qualquer agente químico selecionado para controle das bactérias da cavidade oral devem possuir as seguintes propriedades:

- Segurança: qualquer agente quimioterápico para uso tópico intra-oral não deve ser absorvido pela mucosa; se deglutido acidentalmente, não deve manifestar toxicidade sistêmica; não deve induzir reações de hipersensibilidade nem provocar irritação tecidual;
- Ação rápida de modo que não ocorra a seleção de bactérias resistentes;
- Ação seletiva, não perturbando o equilíbrio natural entre a flora saprófita e o hospedeiro;
- Capaz de penetrar na placa bacteriana e conservar-se no ambiente oral por tempo prolongado;
- Estável em solução, biodegradável, ativo em amplo espectro de pH e em concentrações variadas;
- Sabor aceitável, não provocar alterações no paladar e descoloração dos dentes ou mucosas.

NEWBRUN (1990), destacou duas formas principais para controle da placa: o mecânico através da escovação e do uso do fio dental; e o químico, com duas finalidades:

- Terapêutica: para manter-se um equilíbrio ecológico da microbiota não cariogênica e a da perindontopatogênica;
- Profilática: para minimizar a quantidade e a velocidade de formação da placa dental.

MEDEIROS; COIMBRA (2000), mostraram que a ação mecânica da escova com dentifício em relação à escova sem dentifício, não apresentou significativa diferença na eficiência para remoção da placa. A análise estatística mostra claramente que a utilização do dentifício foi indiferente no controle mecânico da placa bacteriana, uma vez que com ou sem sua utilização, foi possível um controle similar em todos os grupos pesquisados.

Paralelamente à ação mecânica dos dentifícios, vários estudos evidenciaram que a escovação com dentifícios contendo agentes para o controle químico da placa mostraram-se altamente eficientes na prevenção de sua formação, ou reduzindo significativamente sua velocidade de formação (HARRY, 1989).

Os principais agentes utilizados para controle químico da placa são: clorexedina, cloreto de cetilpiridíneo, produtos à base de sais de quaternários de amônio, triclosan e fármacos vegetais (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Atualmente os dentifrícios comercializados podem conter agentes terapêuticos com propriedades anticáries, antiplacas e para tratamento de periodontias.

Em 1996, DRAKE apresentou resultados comprovando a ação inibitória do bicarbonato de sódio sobre o *Streptococcus mutans*, sendo recomendado seu uso em produtos dentífricos para controle da placa e deste microrganismo.

- Íons fluoreto

Os íons fluoreto exercem sua proteção ligando-se fortemente aos tecidos mineralizados, aumentando a resistência dos dentes ao ataque cariogênico (NEWBRUN, 1990).

Acima de 90% dos dentifrícios contém íons fluoreto na forma de fluoreto de sódio ou de monofluorofosfato de sódio e centenas de estudos clínicos têm demonstrado a sua eficácia no controle da cárie dental (NUNES, 1996).

Resumindo-se os dados obtidos nos estudos destes dentifrícios fluoretados ficou evidenciado que numa concentração de 1000 ppm de íon fluoreto em um veículo compatível obtém-se uma redução de 20 a 30% na incidência da cárie (NUNES, 1996). Porém, vários autores admitem que os dentifrícios fluoretados isoladamente não são totalmente eficientes para redução das cáries (NUNES, 1996).

Segundo a RDC nº79 de 28 de agosto de 2000 (ANVISA, 2000) o limite máximo de íons fluoreto não deverá ultrapassar 0,15% em formulações de dentifrícios, expresso em flúor. Este componente não é permitido em formulações de produtos indicados para uso infantil, com idade inferior a 6 anos. Estão disponíveis sob forma de monofluorofosfato (de amônio, cálcio, potássio e sódio), fluoreto (de amônio, cálcio, potássio, sódio, alumínio, estanho, magnésio, hexadecilamônio e octadecenilamônio), dihidroxifluoreto, hidroxifluoreto e fluorsilicato (de sódio, amônio, potássio e magnésio).

- Nitrato de potássio

Segundo PADER (1988), vários dentifrícios atualmente são comercializados contendo agentes terapêuticos, principalmente o nitrato de potássio, visando o alívio da sensibilidade dentária.

O conselho de agentes terapêuticos dentais da American Dental Association (ADA) reconhece os dentifrícios com 5% de nitrato de potássio em base de carbonato de cálcio como “úteis e seguros”. Sua eficácia foi comprovada em oito estudos clínicos PADER (1988).

- Sais de quaternário de amônio

Segundo PADER (1988), o cloreto de cetilpiridíneo faz parte do grupo de substâncias quaternários de amônio, com elevada ação antimicrobiana. Devido a natureza catiônica, tem um alto grau de substantividade com os substratos biológicos, conferindo atividade detergente e anti-séptica. Apresenta ação bacteriostática e bactericida contra diversos microrganismos gram-positivos e alguns gram-negativos. O mecanismo de ação está relacionado com o poder de absorção pela parede celular e interferência no metabolismo bacteriano (HARRY, 1989). Sua atividade clínica foi estudada principalmente em enxaguatório bucal. CIANCIO¹ conforme citado por NUNES (1996), estudaram o efeito de uma solução para enxaguatório bucal comercial contendo 0,05% de cloreto de cetilpiridíneo no acúmulo da placa dental. O produto foi utilizado duas vezes ao dia durante quatorze dias, tendo sido suspensos outros procedimentos de higienização bucal durante esse período. Em comparação a com um grupo placebo a diferença do acúmulo de placa foi estatisticamente significativa.

LLEWELYN (1985), conforme citado por PADER (1988) avaliou o efeito de uma solução 0,05% de cloreto cetilpiridíneo no acúmulo de placa *in vivo*, em um estudo comparativo duplo-cego. Os participantes ficaram durante dez dias sem nenhuma outra higienização bucal. A redução da placa bacteriana foi de aproximadamente 30% em relação ao grupo controle.

Além do cloreto de cetilpiridíneo, outros sais quaternários de amônio são utilizados em higiene bucal como, por exemplo, o cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio e clorexedina (HARRY, 1989).

¹ CIANCIO, M. et al. Effect of chlorhexidine varnish mouthguards on the levels of selected oral microorganisms in pediatric patients. *Pediatric-dentistry*, v. 21, n. 3, p. 169-175, 1999.

Segundo CALFIELD; NAVIA (1984), a clorexidina e as substâncias catiônicas agiriam provavelmente através da sua carga elétrica positiva. Assim, a atividade antiplaca poderia estar relacionada com essa ligação de cargas que alteraria a barreira osmótica da membrana celular, aumentando sua permeabilidade de tal modo que, a célula não mais pudesse manter sua integridade ou, ainda, desnaturando as enzimas da superfície da parede celular.

- Extratos vegetais

No mercado internacional muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de buscar produtos de origem natural, eficazes no controle da placa bacteriana e na atividade antiinflamatória e cicatrizante. Como produto de referência, em virtude do grande número de estudos realizados, cita-se o PARODONTAX F[®] fabricado pelo laboratório Stafford Miller, que atribui suas propriedades antiplaca, antibacteriana e antigengivite à fórmula cuja composição a seguinte:

Cada 100 gramas de produto contém:

Tintura de equinácea, 0,954 g; tintura de camomila, 0,624 g; tintura de sálvia, 0,146 g; tintura de mirra, 0,624 g; tintura de ratânia, 1,248 g; bicarbonato de sódio, 67,26 g; fluoreto de sódio, 0,310 g; excipiente, q.s.p. (GUGGENHEIM; LUTZ; SCHMID, 1997; SAXER; JASCHOUZ; LEY, 1995, SAXER et al., 1994, MULLALLY et al., 1995; YANKELL; EMLING; PERES, 1988 e 1993; RENGGLI, 1988; ITIC; SERFATY, 1988).

2.2.3. Propriedades de um dentifício

2.2.3.1. Abrasividade

A abrasividade dos dentifícios reveste-se de grande importância à medida em que as pessoas estão vivendo mais tempo e têm mantido seus dentes naturais por um tempo maior do que em décadas anteriores. Esses pacientes, particularmente os que adquirem manchas extrínsecas, requerem aconselhamento sobre o dentifício apropriado para minimizar sua incidência e controlar a severidade da abrasividade. Ambos, consumidores e clínicos, receberiam muito bem a declaração do escore de

abrasividade do dentifício impressa no tubo e/ou embalagem externa (PANZERI et al., 1979, parte III).

O grau de abrasividade pode ser avaliado através de testes validados de desgaste provocado por escovação *in vitro*, realizados em superfícies de acrílico (Plex glass[®]) utilizando como controle, uma escovação realizada apenas com água, considerando a ação mecânica da escova sobre a superfície dentária (remoção parcial da placa). Verifica-se a perda de peso sofrida pelo desgaste ocorrido na placa de Plex glass[®]. Após a escovação com água ocorreu uma perda de peso de 0,0023 g. A média de abrasividade dos dentifícios encontrados no mercado variam entre 0,015 – 0,030 g. Por outro lado, existem dentifícios que podem levar ao desgaste excessivo e causar danos ao esmalte e à dentina, causar irritação da mucosa e gengiva, ou ainda capazes de formar flora bacteriana resistente ou também alterar os materiais restauradores (PANZERI et al., 1979; DAWSON et al., 1998).

Segundo LARA; PANZERI (1999) dois métodos são muito utilizados para a determinação da abrasividade nos dentifícios: o radiométrico e o gravimétrico. O método gravimétrico continua sendo o método mais utilizado favorecendo estudos do comportamento da abrasividade dos dentifícios de modo singular, direto, econômico, rápido e de baixo custo e orientando de maneira objetiva.

Limites de abrasividade para classificação dos dentifícios:

- Abrasividade baixa: método gravimétrico < 20;
- Abrasividade média: método gravimétrico 21 a 40;
- Abrasividade alta: método gravimétrico >40.

2.2.3.2. Espuma

O índice de espuma é uma importante característica dos dentifícios atuando como item de aceitação ou não por parte do consumidor. Considerado como sendo um fator psicológico, pode atender aos requisitos de limpeza de modo positivo. O volume de espuma deve ser adequadamente avaliado, pois caso ocorra uma formação exagerada poderá contribuir negativamente para a eficácia do produto, uma vez que expelindo-se a espuma, parte dos demais agentes ativos também serão eliminados,

antes da escovação chegar ao final (NUNES, 1996). Além disso, a espuma em excesso poderá ocasionar náusea, ausência de limpeza nos dentes posteriores dada a proximidade da garganta e possibilidade de deglutição.

Com relação à deglutição dos dentifrícios durante a escovação, o maior índice ocorre em indivíduos com idades inferiores há quatro anos, onde aproximadamente 30% da quantidade utilizada é deglutida. Em estudos realizados num intervalo de faixa etária entre cinco e dezesseis anos, o índice deglutido correspondeu em média a 18% da quantidade utilizada (LARA; NUNES; PANZERI, 1993).

BARRY E MEYER², citado por NUNES (1996) observaram que a quantidade de espuma depende não só do tensoativo utilizado, mas da interação deste com o espessante.

Paralelamente, LARA; PANZERI (1998), afirmam que a espuma é uma característica que deve estar presente em quantidade correta nos dentifrícios, tornando o tensoativo, componente fundamental de um dentifrício, complexo ou não.

O método para a avaliação do índice de espuma emprega suspensões de dentifrícios nas concentrações de 1 e 10%. O volume de espuma é avaliado após a injeção de ar comprimido, em cilindro graduado com orifício na parte inferior, verificando-se o tempo necessário para atingir o volume de 100 ml de espuma e, posteriormente, o tempo gasto para o esgotamento total da mesma (ABO, 1999).

Segundo NUNES (1996), após a injeção de ar comprimido, as leituras são realizadas em tempos determinados em um e trinta minutos.

2.2.3.3. Consistência

Segundo PRISTA; BAHIA; VILAR (1995), a consistência é a propriedade apresentada pelos corpos de resistirem às deformações permanentes provocadas por uma dada carga. Pode também influenciar no desempenho do produto e é fator importante na aceitação do dentifrício pelo consumidor, uma vez que é uma das características responsáveis pelo fluxo na aplicação sobre a escova dental, assim como pela dispersão durante a escovação.

² BARRY, B. W. ; MEYER, M. C. Sensory assessment of spreadility of hydrophilic topical preparations. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 62, n. 8, p. 1349-54, 1973.

O ensaio de consistência baseia-se na aplicação de determinado volume de produto sobre uma placa de vidro, submetendo-o à pressão conhecida, observando e quantificando o diâmetro da difusão do produto (ABO, 1999).

A verificação da vida útil do produto consiste em submeter o produto a um envelhecimento drástico, realizado pela exposição do mesmo a estufa a 45°C, por 72 horas, realizando-se a verificação da consistência somente após o produto retornar à temperatura ambiente (ABO, 1999).

Ensaio realizados por BAAKILINI; PANZERI; LARA (1997), demonstraram que a adição de agentes terapêuticos a dentifrícios com diferentes sistemas abrasivos promoveram na maioria dos casos a diminuição da consistência, mas com manteve as condições de uso destes produtos.

2.2.3.4. pH

O pH é uma das características essenciais a serem observadas nos dentifrícios, sendo o responsável pela estabilidade química e pela atividade de alguns agentes terapêuticos.

Os dentifrícios que contém derivados de sais de amônio quaternário, como o agente catiônico antibacteriano destinado ao tratamento e/ou profilaxia da doença periodontal e para a prevenção da calcificação da placa (cálculo) e da cárie, devem apresentar um pH similar ao da cavidade bucal, isto é entre 5,0 a 7,8, (média 6,7) (JORGE, 1995).

Segundo ABO (1999), para a realização deste ensaio, utiliza-se uma parte do dentifrício suspensa em três partes de água destilada, realizando-se a leitura em um potenciômetro: Essa especificação permite valores de pH compreendidos entre 5,0 e 10,5, sendo considerado ideal o mais próximo do pH fisiológico.

Uma avaliação realizada em vinte e três produtos de mercado relatou que quatro dentifrícios apresentaram pH ácido, apenas um neutro e os demais alcalinos. Dois destes apresentavam-se fora dos valores estabelecidos como limite, apresentando um pH superior a 11 (PANZERI et al., 1979, parte I).

2.2.3.5. Comportamento reológico

A reologia é a parte da física que estuda o movimento de escoamento dos líquidos e a deformação dos sólidos, sob influência de forças mecânicas de cisalhamento (do grego *rheos*, fluxo e *logos*, ciência) (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992).

A compreensão do comportamento do fluxo e das propriedades do material tem grande influência tanto na relação o processamento/produção como na estabilidade do produto e até na aceitação do mesmo pelo consumidor (PETRI, 2000).

Segundo a F. BRAS. IV (1988), a viscosidade é a expressão da resistência de líquidos ao escoamento, ou seja, ao deslocamento de parte de suas moléculas sobre as moléculas vizinhas. A propriedade oposta à viscosidade é a fluidez.

Assim, de acordo com as características de escoamento, tem-se corpos ou substâncias “newtonianas” e “não newtonianas”. As substâncias “newtonianas” mostram o mesmo valor de viscosidade independente da tensão de cisalhamento, do gradiente de cisalhamento e da temperatura, enquanto que as substâncias “não newtonianas” não obedecem esta lei. Quando se estuda os fluídos “não newtonianos” num viscosímetro rotacional, e se elabora um sistema de coordenadas da velocidade de fluxo em função da força de fluxo, obtém-se reogramas de características diferentes, tornando-se possível verificar seu comportamento: plástico, pseudoplástico, dilatante e/ou tixotrópico (LABA, 1993).

Os géis dentais normalmente apresentam comportamento pseudoplástico e tixotrópico, a principal característica deste tipo de produto é reduzir a viscosidade quando submetido a uma elevada tensão de cisalhamento, retornando ao estado normal quando em repouso, após curto período de tempo. Um produto tixotrópico apresenta aglomerados de partículas que formam uma estrutura similar ao de uma rede, que sob tensão provoca uma desestruturação temporária na trama (LABA, 1993).

O grau de tixotropia corresponde à área existente entre as curvas ascendente e descendente obtidas pela velocidade de escoamento em função da pressão exercida. Para sua determinação, o material em estudo é colocado num viscosímetro rotacional e submetido a pressões cada vez maiores, até que se obtenha o que se chama de ponto

superior da curva. Passa-se então a diminuir a pressão, importando desta maneira, os valores da velocidade de escoamento obtidos a pressões sucessivamente menores, cujo conjunto permite determinar a curva descendente (LABA, 1993).

LARA; PANZERI (1998), estudaram que essas propriedades, intimamente interligadas, são de extrema importância à tecnologia e ao uso dos dentifrícios, das quais destacaram:

- Fluxo das preparações através de moinhos coloidais, máquinas de enchimento e outros equipamentos utilizados na sua produção;
- A extrusão do produto através do orifício do tubo, embalagem tipo bomba ou válvula deve ocorrer com facilidade e sem derramamento;
- A manutenção da forma do cilindro sobre as cerdas da escova, após sua extrusão;
- Espalhamento na cavidade bucal, mediante pressão exercida durante a escovação e a aderência à mucosa e demais tecidos da boca;
- A biodisponibilidade dos princípios ativos durante a escovação, cujo tempo é bastante pequeno para atuação, geralmente entre 1 e 2 minutos;
- Auxílio no entendimento fundamental da natureza físico-química do produto;
- Controle de qualidade dos componentes das formulações testes e do produto final, aliado aos processos de manufatura;
- Estudos dos efeitos decorrentes de alterações da formulação, devido à temperatura e ao tempo de estocagem de um produto.

2.4. ASPECTOS GERAIS SOBRE *Casearia sylvestris* Sw (*C. sylvestris*), Flacourtiaceae

A família Flacourtiaceae, a qual pertence a *Casearia sylvestris* Sw, compreende 86 gêneros, com cerca de 1.300 espécies, encontradas especialmente nas regiões tropicais da América do Sul (JOLY, 1993).



FIGURA 1: Aspectos das folhas e inflorescências de *Casearia sylvestris* Sw., Flacourtiaceae.

A posição sistemática da espécie no sistema de CRONQUIST (1988), é a seguinte:

II Divisão:	MAGNOLIOPHYTA
1 ^o Classe:	MAGNOLIOPSIDA (MAGNOLIATAE)
4 ^o Sub-classe:	DILLENIIDAE
Ordem 6:	VIOLALES
Família 1:	FLACOURTIACEAE
Gênero:	<i>Casearia</i>
Espécie:	<i>sylvestris</i> Swartz.

Possui ampla distribuição geográfica no Brasil, com frequência na região sudeste e sul, onde ocorrem preferencialmente nas capoeiras e nos capoeirões, orlas de rios, campos de pastagem situados em solos muito úmidos, várzeas ou planícies aluviais, e outros locais de vegetação arbórea pouco densa (JASZCZERSKI, 1987).

De acordo com citação de SATO (1998), a espécie é conhecida por diversas sinónimas populares, muitas delas regionalizadas, destacando-se: *acanoçu*, *apiá-acanoçu*, *bugre-branco*, *café-bravo*, *café-de-frade*, *café-do-brejo*, *café-do-diabo*, *caiubim*, *canela-de-veado*, *caroba*, *carrapatinho*, *chá-de-bugre*, *chá-de-frade*, *erva-de-bugre*, *erva-de-lagarto*, *erva-de-pontada*, *erva-de-tiú*, *fruta-de-petumba*, *fruta-de-saira*, *gaibim*, *guassatunga*, *gassatunga*, *guaçatonga*, *ingá*, *língua-de-lagarto*, *língua-de-tiú*, *marmelada-vermelha*, *marmelinho-do-campo*, *paratudo*, *pau-de-bugre*, *pau-de-lagarto*, *pau-de-veado*, *petumba*, *pioya*, *são-gonçalinho*, *saritã*, “*vaçatonga*” e *vaçatunga*.

Segundo SILVA (1929), a Farmacopéia Brasileira oficializa as sinónimas: *herva-de-bugre*, *guassatunga*, *vassatunga*, *apiá-acanoçu*, *pioya*, *pau-de-lagarto*, *língua-de-tiú*, *fructa de sahyra* e *petumba*, indicando a folha como sendo a parte medicinal.

A *C. sylvestris* é uma planta arbórea, podendo chegar ao porte de árvore, variando de 3,5 m até 10 m de altura (JASZCZERSKI, 1987). As folhas são simples, completas, de filotaxia alterna, dísticas, brevipetioladas; pecíolo de 0,5 cm de comprimento por 1,0 mm de diâmetro e delgado, canaliculado na parte superior, seca e

inodora e de sabor levemente amargo; lâmina foliar oblonga ou elíptico-lanceolada, de 4,0-14,0 cm de comprimento por 2,0-3,0 cm de largura, membranácea ou subcoriácea, pelúcido-punctada com escassas glândulas translúcidas, glabra, esparsamente pilosa junto da nervura central, em ambas as faces; margem íntegra e bordas serreadas, base laminar discreta ou acentuadamente simétrica e ápice caudato-acuminado, peninervada, com oito a nove pares de nervuras laterais ereto-patentes, reticulação das veias e vênulas pouco salientes (SILVA, 1929; TORRES; YAMAMOTO, 1986; JASZCZERSKI, 1987). Contra a luz apresentam numerosas pontuações translúcidas (SILVA, 1929), que segundo SCAVONE et al., (1979), correspondem às glândulas de óleo essencial e, baseando-se em alguns estágios de desenvolvimento da folha jovem, demonstrou a origem esquizógena destas glândulas.

No Brasil, na medicina popular, esta planta vem sendo utilizada há muitos anos. COIMBRA (1942), cita como usos fármaco-terapêuticos: febrífugo, depurativo, febres inespecíficas, reumatismos, manifestações sifilíticas cutâneas, eczemas, sarnas e úlceras. Externamente, o decocto é utilizado no tratamento das afecções da pele, feridas, etc.

CORREIA (1984), descreve a casca como sendo útil contra as febres perniciosas e inflamatórias e diz-se que os arborígenes dela extraem uma resina de aparência idêntica à do âmbar, com o qual os índios coroados e os botocudos fabricam ornamentos para os lábios; o suco ou a decocção das folhas tem as mesmas propriedades da casca, sendo ainda, antidiarréico e bom para combater manifestações herpéticas sendo usado interna e externamente contra as mordeduras de cobras.

Os farmacêuticos do Rio Grande do Sul preparam elixires depurativos e anti-reumáticos reconhecidos como eficazes contra as manifestações da pele, de origem sifilítica, sendo estas observações reforçadas por SIMÕES et al. (1986), que acrescentam a utilização, pelos criadores de gado, para a expulsão da placenta após o parto.

HOEHNE (1941, 1978), reforça os usos para doenças de pele, além de antifebris e estomáquicas. Cita, também, que as folhas fornecem um extrato com propriedades anestésiantes, podendo-se usá-lo nas cirurgias dentárias para acalmar as

dores de ferimentos recentes, que cicatriza ao mesmo tempo. Notou-se, também, que o gado não os toca, apesar de não terem sido observados resultados positivos para a toxicidade.

Segundo CAMARGO (1985), as folhas são usadas na forma de cozimentos, para lavar feridas em geral e lesões provocadas por picadas de cobras. Costuma-se, também, colocar as folhas trituradas em álcool, para ser usado sobre hematomas provocados por batidas, as folhas e raízes são usadas contra sífilis, doenças de pele, agindo como depurativo do sangue, diurética e diaforética em uso interno. O óleo das sementes é utilizado nas verminoses.

Na tentativa de encontrar respostas nos componentes químicos da *C. sylvestris*, para o uso tão diversificado e difundido empiricamente na medicina popular, várias pesquisas fitoquímicas são mencionadas em literaturas.

POSSOLO; FERREIRA (1949), confirmaram a presença de saponinas e óleo etéreo (0,6% em folhas frescas e 2,5% em folhas secas). O índice de saponificação negativo demonstra que o óleo etéreo da planta contém pequena quantidade de ácidos, é livre de ésteres e consiste com toda a probabilidade, em sua maior parte, de derivados de sesquiterpenos. Sugere, também, experiências futuras, no sentido de verificar o papel do óleo etéreo no emprego terapêutico das folhas.

SILVA; BAUER (1970), por hidrodestilação das folhas frescas encontraram um teor equivalente a 4% de óleo essencial. Este óleo possui elevada porcentagem de terpenos (77,78%), sendo que, provavelmente, um destes seja o isolimoneno. Na desterpenação deste óleo, encontraram o ácido hexanóico (0,58%), ácido este, usado como matéria-prima na preparação de ésteres que servem como adjuvantes em composições odoríferas.

SCAVONE et al. (1979) GLASBY (1991), detectaram a presença de flavonas, saponinas e óleo essencial (2,1 % em relação à droga seca, líquido amarelado, com odor semelhante ao do cedro e sabor não característico).

YAMAMOTO (1995) e LUZ (1996), numa abordagem fitoquímica, evidenciaram a presença de taninos, flavonóides e saponinas, componentes estes que

responsáveis pelas muitas das ações terapêuticas, tão difundidas popularmente, principalmente a adstringente, anti-séptica, antiinflamatória e anti-herpética.

Os taninos foram posteriormente doseados por LUZ et al.(1998).

Várias pesquisas apontam para o estudo das ações farmacológicas, principalmente das folhas, para elucidar as ações terapêuticas, baseando-se para tanto, a princípio nas indicações populares.

SCAVONE et al. (1979), utilizando a tintura obtida das folhas, verificou a propriedade cicatrizante, sendo que a metodologia empregada, permitiu detectar em várias etapas correspondentes a dois, cinco, sete e dez dias, o processo de cicatrização da pele de camundongos, em condições experimentais, provocado por ferimentos produzidos em condições padronizadas. Todo o evoluir do processo foi evidenciado nos preparos histológicos, forma selecionada para estudo comparativo, com observação de aspectos como: proliferação de células e aparecimento de fibras conjuntivas; neoformação e diferenciação de capilares sanguíneos; reepitelização e aparecimento de corneificação. Sob esses aspectos, o processo cicatricial evoluiu rapidamente, nos animais tratados com a tintura. Os autores comentam, que, no caso de aftas, o resultado foi satisfatório, bastando para isso aplicar diretamente a tintura embebida em algodão nas lesões, repetindo-se as aplicações quantas vezes forem necessárias.

SILVA; SILVA; APOLINÁRIO (1982), com a finalidade de avaliar a possibilidade de utilização terapêutica da *C. sylvestris*, determinou a DL₅₀, em camundongos albinos, estabelecendo-a em 1792 mg/kg.

JUNGES; SCHENKEL; SIMÕES (1985), analisando a fração éter etílico de um extrato aquoso a frio das folhas, isolaram as agliconas flavonoídicas: quercetina, 4-*O*-metiléter do canferol e isoramnetina, além de cumarinas e glicosídeos de flavonóides.

A atividade anti-úlceras foi comprovada por BASILE et al. (1990), sendo que este estudo demonstrou que a *C. sylvestris* realmente protege a mucosa do estômago, quando testado *in vitro* em ratas, embora, não se tenha definido quais o(s) mecanismo(s) deste efeito preventivo. O extrato parece ser mais efetivo que o

misoprostol em lesões leves, equivalente a cimetidina e o misoprostol em lesões moderadas e menos efetivo do que a cimetidina e o misoprostol em lesões severas. Determinou-se, também a DL_{50} sendo que os valores indicaram baixa toxicidade, correspondendo em 1840 mg/kg.

ITOKAWA et al. (1990) isolaram do extrato etanólico das folhas, diterpenos denominadas de casearinas *A-F*, cujas estruturas foram elucidadas por ressonância nuclear magnética bi-dimensional. Estes componentes mostraram uma atividade anti-neoplásica contra o sarcoma 180 A em ratos.

Proseguindo na investigação anterior, MORITA et al. (1991), identificaram novos compostos diterpênicos, as casearinas tipos G-R, também, anti-tumorais.

RUPPELT et al. (1991), analisando folhas e cascas, observaram que o extrato aquoso das cascas apresentava atividade antiinflamatória na cavidade peritoneal de ratas.

CAMARGO et al. (1993), aplicando o extrato fluido das folhas, em lesões de estomatite herpética, provocadas por herpes simples, na região bucal, manifestada em crianças e adolescentes, verificaram significativa redução do tempo dessas manifestações clínicas.

A atividade antimicrobiana do extrato fluido das folhas foi pesquisada por BARBOSA; FERREIRA; VALENTE (1994), pela metodologia de *pour plate*, obtendo-se como resultado uma atividade frente ao *Staphylococcus epidermidis*.

CAMARGO et al. (1995), analisando o extrato fluído das folhas, no processo cicatricial em camundongos, verificaram que certos componentes da planta apresentavam ação cicatrizante e que ao contato com a intimidade tissular, apresentava-se como um irritante e agente prolongador do processo inflamatório. Observaram, também, que a ação propicia de reparação tecidual pelo extrato, exige um veículo que promova a perfusão de alguns princípios ativos da planta e ao mesmo tempo um filtro, no caso o epitélio estratificado, para selecionar outros que funcionam como irritantes, não podendo definir-se, qual o componente químico responsável pela ação regenerativa.

YAMAMOTO (1995), verificou que o extrato liofilizado (200 mg/kg) das folhas apresentou indícios de analgesia e potenciação do efeito barbitúrico, supondo-se que ocorreu certo sinergismo, sugerindo que o extrato exerce atividade depressora sobre o sistema nervoso central.

RODRIGUES et al. (1997), avaliaram a atividade anti-ofídica, do óleo essencial, frente a modelos inflamatórios provocados pelo veneno de *Bothropus alternatus*, verificando dessa forma um atuação do óleo essencial, entre os mecanismos desencadeados pelo veneno e pelos mediadores inflamatórios, liberados pelo veneno botrópico, a histamina e bradicinina.

SOUZA et al. (1997), verificaram resultados satisfatórios em testes de atividade antimicrobiana pelos métodos de difusão disco-placa e inibição em meio líquido, com 1% de óleo essencial, frente ao *Bacillus subtilis*.

SPRING (1997), testando um gel com 10% do extrato fluído das folhas, em pacientes com gengivite crônica observando que o mesmo mostrou ser um recurso terapêutico interessante, verificando-se com auxílio de periodontologista, que houve eliminação de pontos de sangramento e de placas, bem como a diminuição significativa do volume gengival, em quase toda a sua extensão.

2.5. ASPECTOS GERAIS SOBRE *Calendula officinalis* L. (*C. officinalis*), Asteraceae

A família Asteraceae compreende cerca de 1.100 gêneros e cerca de 26.000 espécies. A *Calendula officinalis* é uma planta anual originária da região do Mediterrâneo, podendo ser considerada uma planta nativa encontrada em várias regiões da Europa, Estados Unidos da América e Canadá. Hoje seu cultivo passou a ser realizado em diversas partes da Europa e América, inclusive no Brasil. Sua estação preferida é o verão, com o ciclo vital da planta terminando em um ano (FETROW et al., 1999).



FIGURA 2: Aspectos das inflorescências de *Calendula officinalis* L., Asteraceae.

A posição sistemática, da espécie no sistema de CRONQUIST (1988) é a seguinte:

Reino:	PLANTAE
Divisão:	MAGNOLIOPHYTA
Classe:	MAGNOLIOPSIDA
Sub-classe:	ASTERIDAE
Ordem:	ASTERALES
Família:	ASTERACEAE
Gênero:	<i>Calendula</i>
Espécie:	<i>Calendula officinalis</i> Linnaeu.

KASPRZYK; PYREK (1968) identificaram frações não saponificáveis de diferentes tipos de triterpenos pentacíclicos. Nos grupos dos monoidroxiálcoois foram identificados: β -amirina, α -amirina, taraxasterol e lupeol. No grupo dos diidroxiálcoois calenduladiol, arnidiol e faradiol.

KASPRZYK et al. (1970) mostraram que o conteúdo em triterpenóides pode apresentar-se em diferentes proporções dependendo do grau de desenvolvimento que se encontra a *C. officinalis*.

Em 1985, WILKOMIRSKI também isolou cinco triterpenos pentacíclicos triidroxiálcoois das flores secas de *C. officinalis*, que foram identificados como: *olean-12-ene-3 β ,16 β -28-triol*, *lup-20(29)-ene-3 β ,16 β 28-triol*, *tarax-20-ene-3 β ,16,22 β -triol*, *tarax-20-ene-3 β ,16 β 30-triol* e *ursa-12-ene-3,1 β 6 β ,21-triol*, por métodos cromatográficos e espectrofotométricos.

Foram descritas também saponinas, isoladas essencialmente das flores de *C. officinallis* entre as quais é conhecido o calendulosídeo F, composto este só encontrado nas raízes até então, saponosídeos A, B, C, D, E, na concentração de 6,25%, os quais foram identificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (VIDAL et al., 1989).

Outras referências citam como principais constituintes da planta: carotenóides, resinas, óleos essenciais, flavonóides, esteróis, princípios amargos, saponinas e mucilagens (MABEY, 1991).

Nas flores de *C. officinalis* foram encontradas diversos grupos de compostos através de análises químicas e cromatográficas, principalmente presença de flavonóides, saponinas, carotenóides, cumarinas, taninos e óleos essenciais (CHALCHAT; GARRY, 1991).

Segundo a PHARMACOPOEA Helvética VII (1992), as flores de *C. officinalis* devem conter um teor mínimo de 0,9% de glicosídeos calculados em hiperosídeos.

Em 1996, AKIHISA et al., realizaram estudos com quinze espécies de plantas da família Asteraceae, encontrando características comuns como a presença predominante de helianol (29-86%) na fração triterpênica. Estas frações triterpênicas foram submetidas a testes de atividade antiinflamatória induzida por aplicação de *12-O-tetradecanoylphorbol-13 acetate* mostrando atividade inibitória em 50% das cobaias. A concentração de álcoois triterpênicos aplicada foi 0,1-0,8% por orelha, mostrando-se mais eficiente o helianol (ID₅₀ 0,1%), tirucalla-7,24-dienol e damaradienol (ID₅₀ 0,8%).

Os flavonóides presentes nas inflorescências de *C. officinalis* são: flavonol (isoramnetina, quercetina), os glicosídeos incluem: isoquercetina, narcissina, neoresperidosídeo e rutina (0,3 a 0,8%). Os terpenóides incluem: α e β -amirina, lupeol, longispinogenina, ácido oleanólico, arnidiol, calenduladiol, eritrodiol, faradiol, taraxasterol e seus respectivos mono e di-ésteres (ácido acético, láurico, mirístico, e palmítico), helantriol A1, B0, B1, e B2, maniladiol, campesterol, colesterol, sistosterol, stigmasterol, *urs-12 en 3,16,21-triol*, ursadiol, saponinas triterpênicas (2-10% em glicosídeos A-F), álcoois triterpênicos: triterpenos monóis (0,8%), triterpenodiol (4%), triterpenotriol. O óleo volátil inclui mentona, isomentona, cariofileno, derivado epóxido e cetônico, pedunculatina, *diidroactinidiolide*, derivados da α e β -iononas e do cadinol. Outros constituintes podem ser identificados: *loliolide*, *arvoside* (glicosídeo sesquiterpênico), carotenóides (principalmente luteína, zeaxantina), calendulina e polissacarídeos. Hidroxicumarinas (escopoletina, umbeliferona, esculetina), ácidos graxos e polissacarídeos solúveis em água

(ramnoarabinogalactonas e arabinogalactonas) (BOGUSLAW, 1986; GRACZA, 1987; VIDAL et al., 1989; NEWALL, 1996; PDR, 2000).

GARCIA (2000), descreve como princípios ativos: óleo essencial (0,1-0,4%) composto de: γ -terpineno, cadineno, cariofileno, mentona, isomentona, carvona, geranilacetona, cariofilenocetona, sesquiterpenos (epicubebol, aloaromadendrol), flavonóides (rutósideo e neo hesperidósideo), saponosídeos (2 a 5%), esteróides, carotenóides, pigmentos xantofilicos, ácidos fenolcarboxílicos, princípios amargos (calendulina), taninos e polissacarídeos (galactanas).

Possui ação calmante e refrescante para peles sensíveis, avermelhadas e delicadas favorecendo a regeneração de tecidos danificados, ação esta atribuída à presença do ácido oleanólico. A calendulina (substância amarga), ainda não é bem conhecida, mas sabe-se que possui ação colagoga, favorecendo a produção da bile (GARCIA, 2000).

NETO et al. (1996), realizaram estudos utilizando um gel com tintura de *C. officinalis*, outro com tintura de *Stryphnodendron barbatimam* (barbatimão) e uma associação das duas tinturas, aplicando-os em pacientes com diferentes tipos de comprometimento tecidual (úlceras varicosas, queimadura, corte e dermatite) observando redução significativa no tempo de tratamento nos casos onde foi aplicada a associação ou somente o produto contendo tintura de *C. officinalis*, não apresentando resultados satisfatórios com o *Stryphnodendron barbatimam* isoladamente.

Segundo levantamento realizado por CUBAS (1990), a aplicação oral por doze semanas de saponinas, extraídas da calêndula normalizou o colesterol, ácidos graxos livres, fosfolipídeos, β -lipoproteínas e lipídeos totais em ratos com hiperlipemia.

A administração do extrato alcoólico em ratos, porcos-da-índia e gatos, inibiu o S.N.C, causou sedação completa e efeito hipotensivo na aplicação de 45 mg/100g subcutaneamente e de 526 mg/100 g, via intravenosa. Outro estudo revelou uma redução de 25,8% no sarcoma de Crocker 180, em ratos, com a aplicação de 375-580 mg/kg por via endovenosa e intraperitoneal. O uso crônico da droga não apresentou efeito tóxico (CUBAS, 1990).

Segundo CARVALHO; TAGLIAVINI (1991), em estudos histológicos realizados em trinta e dois cobaias mostraram teste comparativo entre um creme contendo 10% extrato de *C. officinalis* e outro contendo associação em doses recomendadas de confrei, própolis e mel em lesões cutâneas infectadas. Como conclusão do trabalho, o produto de escolha para uma reparação mais eficiente foi o creme contendo *C. officinalis*.

Devido às propriedades antiinflamatória, anti-hemorragica, emenagoga, anti-séptica, tradicionalmente tem sido empregadas no tratamento de úlceras gástricas e duodenais, amenorréia, dismenorréia, varicose, hemorróida, eczema anal, proctite, lesão cutânea e conjuntivite. A fração triterpenoídica do óleo essencial foi utilizada nos tratamentos de leucorréias, demonstrando atividade tricomonacidal. Os mesmos constituintes apresentaram também atividade espermicida e antiblastocística (GRACZA, 1987; DELLA LOGGIA, 1994).

A atividade anti tumoral do extrato de *C. officinalis* contra carcinoma Ehrlich, em ratos também foi relatada por BOUCARD et al. (1988) in NEWALL; ANDERSON; PHILLIPSON, 1996.

A tintura de *C. officinalis* utilizada a 20% mostrou-se eficiente no tratamento de otite supurativa crônica (SHAPARENKO, 1979) in NEWALL; ANDERSON; PHILLIPSON, 1996.

A ação colagoga foi comprovada pelos resultados alcançados no tratamento de hepatite em ratos, empregando 0,005 g /kg /dia de polifenóis originários da *C.officinalis*, embora a ação colerética não tenha sido observada em extratos alcoólicos. O mesmo autor realizou estudos onde verificou a ausência de efeitos secundários, ou casos de toxicidade, não sendo conhecida nenhuma contra indicação (NEWALL, et al., 1996).

Casos de periodontopatias de origem inflamatória foram estudadas em quarenta pacientes, avaliando o índice de sangramento e o índice gengival, observando-se resultados satisfatórios com a aplicação de *C. officinalis* na terapêutica homeopática (GARCIA, et al., 1998).

Segundo FETROW (1999), a planta possui propriedades anti-sépticas, podendo ser utilizada em úlceras de decúbito, rachaduras nos lábios, úlceras nas pernas, inflamações em geral, varicoses, além de melhorar a digestão e aumentar a produção de bile.

Os flavonóides isolados das flores de *C. officinalis* demonstraram atividade antimicrobiana contra o *S. aureus* (concentração de 1 mg/ml). Outros estudos têm mostrado a efetividade das flavonas contra *Klebsiella pneumoniae*, *Sarcinia lútea* e *Candida monosa*. Externamente pode ser usada em processos inflamatórios na cavidade oral, em mucosa e faringe. Testes realizados para avaliação de sensibilização, mostraram que após freqüente contato com adesivos (tipo *patch*) + 10% de tintura de calêndula, menos de 1% dos pacientes submetidos ao teste apresentaram algum tipo de reação positiva. Não há referências quanto à toxicidade, apenas que superdosagens podem provocar depressões, náuseas e vômitos (PDR, 2000).

Extratos aquosos de flores secas de *C. officinalis* apresentaram potente atividade contra o vírus HIV, mostrando significante dose/tempo dependente para redução da atividade da transcriptase reversa (PDR, 2000).

Segundo GARCIA (2000), o óleo essencial é o responsável pela ação anti-séptica e parasiticida, juntamente com os álcoois e as lactonas terpênicas que conferem ação antibiótica e fungicida. Possui ainda atividade antiinflamatória, cicatrizante, emenagoga, espasmolítica, sudorífera, colerética e hipotensora.

A *C. officinalis* encontra-se descrita no anexo I da RDC nº17 de 24 de fevereiro de 2000 (ANVISA, 2000) apontando as seguintes características:

Nome popular: calêndula

Nome científico: Calendula officinalis, L., Asteraceae

Parte usada: flores

Forma de uso: infusão, tintura

Indicação terapêutica: cicatrizante, antiinflamatória, anti-séptica.

Dose diária: infusão – 1 a 2 g em 150 ml de água, tintura: 2 a 4 ml em 250-500 ml de água.

Via de administração: tópica

Testes para avaliação de atividade antimicrobiana, realizados sobre culturas mistas de bactérias extraídas da placa bacteriana oral, mostrou que o extrato fluido de *C. officinalis* apresentou inibição total do crescimento das bactérias da placa em 16,4% das amostras, inibição parcial em 45,9% e 37,8% não apresentou nenhuma inibição, mostrando-se mais eficiente que os extratos de *Plantago major*, *Malva silvestris* e *Curcuma zedoarea* (BUFFON et al., 2001).

2.6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana é atribuída a diferentes classes de substâncias químicas, tais como alcalóides, flavonóides, compostos fenólicos, saponinas e terpenos e existem vários métodos para esta determinação, porém o fator imprescindível para um resultado satisfatório é adaptar a análise de acordo com a composição do produto que está sendo avaliado.

A grande maioria dos testes realizados para verificação de atividade antimicrobiana de fitoterápicos é realizado pelo método de difusão em ágar pela técnica do disco, com emprego do meio ágar Müller-Hinton em placas, realizando a impregnação dos discos com os extratos a serem analisados, e distribuí-los de forma asséptica sobre a superfície do ágar, após a secagem dos mesmos e posteriormente, incubadas a 35°C, por 24 horas. Em análises de amostras semi-sólidas fluidas, emprega-se a placa ágar com orifício. O ágar é preparado, resfriado e após completa solidificação com o auxílio de um cilindro realiza-se a remoção de um disco de 1,5 cm de diâmetro na região central da placa de ágar, área destinada à aplicação da amostra. Ainda para meios semi-sólidos, variação para produtos com alta viscosidade, delimita-se um círculo de 2 cm de diâmetro na parte inferior da placa. Realiza-se a aplicação de volume conhecido de amostra na área delimitada (OSAWA et al., 1994; MANUAL de Saneantes, 1992).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

A *C. officinalis* e a *C. sylvestris* possuem propriedades terapêuticas cientificamente comprovadas. No intuito de usufruir destes benefícios elaborou-se extratos fluídos destas plantas e desenvolveu-se uma formulação dentifrícia, na forma gel, avaliando-se as várias alternativas disponíveis em matérias-primas e excipientes que atendessem aos requisitos farmacotécnicos, restrições legislativas e condições compatíveis com a associação dos extratos fluidos. Nestas formulações foram realizados ensaios prévios para verificação da capacidade inibitória frente a microorganismos usualmente encontrados em periodontias.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realização de ensaios de controle da qualidade das drogas *C. officinalis* e *C. sylvestris* através da quantificação do marcador químico (flavonóide);
- Obtenção dos extratos fluidos de *C. officinalis* e *C. sylvestris*, quantificando seus marcadores químicos previamente estabelecidos na análise das drogas;
- Seleção de matérias-primas e desenvolvimento de uma formulação de dentifrício compatível com os extratos fluidos das respectivas drogas;
- Realização de testes de atividade antimicrobiana *in vitro*, em bactérias e fungos, comumente encontrados na placa bacteriana e em processos de infecção periodontal: *C. albicans* (ATCC 10231), *S. aureus* (ATCC 8538) e *S. mutans* (ATCC 25175).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL BOTÂNICO

As amostras de *C. officinalis* foram adquiridas com fornecedores de plantas medicinais, secas e estabilizadas, sendo a parte utilizada: (inflorescências) trituradas em moinho de facas até a obtenção de pó fino (F. BRAS. IV, 1988).

As amostras de *C. sylvestris* foram coletadas no município de Piraquara, estado do Paraná. A identificação botânica foi realizada pelo Sr. Gert Hatschbach, do Museu Botânico da Prefeitura Municipal de Curitiba, Paraná. A amostra testemunha encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, sob o número UPCB 31.362. Parte utilizada: folhas. Após a coleta, a planta foi estabilizada sendo levada à estufa com circulação de ar para proceder à secagem, sendo posteriormente, triturada em moinho de facas, até a obtenção de pó fino (F. BRAS. IV, 1988).

4.2. CONTROLE DA QUALIDADE DA DROGA

4.2.1. Determinação do teor de cinzas totais

A determinação do teor de cinzas totais foi realizada conforme metodologia da F. BRAS. IV (1988), que consiste na calcinação da amostra em mufla à temperatura de $600^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$, até manutenção de peso constante.

4.2.2. Determinação de cinzas insolúveis em ácidos

A determinação do teor de cinzas insolúveis em ácidos foi realizado conforme metodologia da F. BRAS. IV (1998), tratando o resíduo de cinzas totais com ácido sulfúrico concentrado, levando a calcinação até peso constante

4.2.3. Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi verificado através de metodologia descrita na F. BRAS. IV (1988), pelo método perda por dessecação.

4.2.4. Determinação do teor de flavonóides totais

A determinação do teor de flavonóides totais foi efetuado de acordo com o método preconizado pela PHARMACOPOEA Helvetica VII (1992), descrito para análise da *C. officinalis*.

4.2.4.1. Adaptação da metodologia para análise da *C. sylvestris*

A metodologia para determinação do teor de flavonóides da *C. sylvestris*, baseou-se na adaptação do procedimento da *C. officinalis* e *Passiflora incarnata*, segundo a PHARMACOPOEA Helvetica VII (1992, 1995).

A determinação do comprimento de onda ideal para o ensaio foi realizado por varredura em espectrofotômetro ultravioleta.

4.3. PREPARO DOS EXTRATOS FLUIDOS

Os extratos fluídos foram preparados com drogas secas e pulverizadas, de acordo com técnica descrita na FARM. BRAS. II (1959), processo “A”, que consiste da maceração seguida da percolação. O líquido extrator utilizado para ambas as amostras foi o etanol 40°GL. As drogas foram saturadas com o solvente, permanecendo em maceração por 72 horas. Após a retirada da primeira porção de extrato, o mesmo processo foi repetido por mais quatro vezes, quando não mais se observou reação de Shinoda positiva, caracterizando o esgotamento do conteúdo de flavonóides totais da droga. O volume final obtido de extratos foi superior ao utilizado em droga seca. Para ajuste, os mesmos foram submetidos à concentração em evaporador rotatório até a obtenção da relação 1:1 dos extratos fluídos.

4.3.1. Controle da qualidade dos extratos fluídos

Realizou-se análises físico-químicas dos extratos fluídos obtidos para averiguação da qualidade dos mesmos.

4.3.1.1. Características organolépticas

As características organolépticas observadas foram: aspecto, cor, sabor e odor.

4.3.1.2. Determinação do pH

O pH foi determinado através de potenciômetro com eletrodo de vidro, conforme descrito na metodologia da F. BRAS. IV (1988).

4.3.1.3. Determinação da densidade

A densidade foi determinada através de densímetro, temperatura de leitura 20°C.

4.3.1.4. Determinação do teor de flavonóides totais

Procedeu-se a pesagem do extrato fluído com a mesma tomada de amostra descrita para doseamento da droga, realizando-se posteriormente a completa evaporação do solvente. Em seguida o doseamento foi realizado de acordo com a metodologia empregada para a determinação do teor de flavonóides totais destinado á análise das drogas.

4.4. PREPARO DO DENTIFRÍCIO

4.4.1. Fórmula

Água deionizada	10,00%
Propilenoglicol.....	18,00%
Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA NA ₂).....	0,20%
Metilparabeno (Nipagin [®]).....	0,20%
Glicerina	15,0%
Sílica pirogênica (Aerosil 200 [®]).....	3,80%
Sílica abrasiva precipitada (Tixosil 73 [®]).....	4,50%
Carboximetilcelulose sódica (CMC) (média viscosidade).....	1,60%

Corante azul FD&C 1 (solução 0.01%).....	1,00%
Mentol (solução alcoólica 70%).....	0,30%
Lauril sulfato de sódio (solução aquosa 30%).....	2,40%
Decil poliglucose (Plantarem 2000®).....	2,00%
Polietilenoglicol (PEG 6000).....	5,50%
Sacarina sódica.....	0,17%
Sorbitol	q.s.p.

Neste veículo incorporou-se os extratos fluidos de *C. officinalis* e *C. sylvestris*:

Dentifício CO (10% de extrato fluido de *C. officinalis*);

Dentifício CS (10% de extrato fluido de *C. sylvestris*);

Dentifício CC (10% de extrato fluido de *C. officinalis* e 10% de extrato fluido de *C. sylvestris*);

O dentifício controle (DC) apresenta-se isento de extratos fluidos.

4.4.2. Procedimento

Fase A

Solubilizou-se o metilparabeno em propilenoglicol sob aquecimento em banho-maria à temperatura de 70°C. Em seguida adicionou-se a carboximetilcelulose sódica (CMC). Misturou-se a água deionizada com a sacarina sódica e juntou-se o sorbitol, vertendo-o sobre a CMC sob agitação.

Fase B

Dispersou-se a sílica pirogênica e a sílica abrasiva no restante do propilenoglicol, incorporando-se a glicerina e submetendo à agitação sob baixa taxa de cisalhamento. Misturou-se a fase A à fase B com agitação. Adicionou-se o lauril sulfato de sódio, o corante, a solução de mentol, o decil poliglucose e os extratos fluidos sobre a fase A+B.

Para finalizar o processo, fundiu-se o polietilenoglicol em banho-maria e incorporou-se à fase anterior.

4.5. CONTROLE DA QUALIDADE DO PRODUTO ACABADO

4.5.1. Determinação do pH

Este ensaio foi realizado em potenciômetro utilizando-se eletrodo de vidro, segundo F. BRAS. IV (1988).

Conforme norma nº 1 para dentifrícios emitida pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ODONTOLOGIA (1999), preparou-se a amostra por suspensão de 5 ml do produto em 3 partes de água destilada (15ml).

4.5.2. Avaliação da consistência

Segundo PANZERI, et al. (1979, parte I); (KNORST, 1991) a medida da consistência baseia-se no escoamento da amostra sob uma carga constante e um tempo determinado.

Sobre uma placa de vidro graduada foi centralizado o molde para padronização da amostragem. Após a preparação da amostra, a mesma foi submetida a uma pressão conhecida de 300 g. Permaneceu em repouso por dez minutos sob este peso para a realização da leitura. A leitura é realizada nos eixos principais das retas perpendiculares, onde se mede o diâmetro médio da figura formada pela amostra e calcula-se a área de espalhabilidade em mm² pela aplicação da fórmula:

$$E \text{ mm}^2 = \frac{d^2 \cdot \pi}{4}$$

Onde: d = diâmetro médio

$$\pi = 3,14$$

4.5.3. Verificação da vida útil

Este ensaio consiste em avaliar as possíveis alterações de consistência que podem ocorrer ao se submeter o produto a um envelhecimento drástico, realizado pela exposição do mesmo a estufa à 45°C, por 72 horas. A avaliação da consistência é realizando antes e após o envelhecimento do produto e quando o mesmo retornar à

temperatura ambiente, segundo metodologia descrita no item 4.5.2.(PANZERI, et al., 1979, parte I).

4.5.4. Avaliação do índice de espuma

O método para avaliação do índice de espuma está descrito na F. BRAS. IV (1988) e adaptado por NUNES (1996). O ensaio consiste em preparar soluções de dentifrícios diluídas a 1 e 10% em água, utilizando-se proveta graduada de 100 ml, onde aplicou-se agitação manual, durante 3 minutos, com duas agitações por segundo, conforme F. BRAS. IV (1988). Após 1 minuto de repouso realizou-se a primeira leitura da coluna de espuma que se forma a partir da superfície do líquido. Repetiu-se a leitura após 30 minutos.

4.5.5. Avaliação das características reológicas

Para avaliação das características reológicas a amostra foi submetida à análise em viscosímetro *RHEOTEST RV*, segundo os seguintes critérios:

- Temperatura de leitura: 23°C
- Cilindro: S2
- Sensibilidade:II
- Constante adimensional (z): 59,4
- Intervalo de leitura: 1 minuto
- Leitura: valores de α conforme escala do aparelho
- Fator f: tabelado conforme velocidade aplicada
- Gradiente de cisalhamento (γ): tabelado em função do cilindro utilizado, tendo como unidade s^{-1}

4.5.5.1. Fórmulas

Para obtenção de tensão de cisalhamento (τ)

$$\tau = z \cdot \alpha$$

Onde:

z: constante do cilindro rotativo tabelado de acordo com a sensibilidade do aparelho

α : leitura realizada no aparelho de 1 a 100 (unidade da tensão de cisalhamento - dyn/cm²)

Para obtenção da viscosidade aparente(η)

$$\eta = \tau \cdot f$$

onde

τ : tensão de cisalhamento (dyn/ cm²)

f: fator dependente da velocidade

Unidade da viscosidade aparente - centipoise (cP)

A amostra foi submetida a velocidades crescentes de rotação, realizando-se a leitura a cada um minuto. Posteriormente foram efetuadas leituras em velocidades decrescentes, levando a uma desorganização total do sistema e posterior reorganização.

4.6. TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os testes da atividade antimicrobiana foram realizados em amostras de dentifrícios com diferentes composições de extratos fluidos:

- Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CO).
- Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* (CS).
- Dentifrício com associação de 10% de extrato fluido de *C. officinalis* e 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* (CC).
- Dentifrício sem os extratos fluidos (controle)

4.6.1. As cepas selecionadas para a realização dos testes foram:

- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Staphylococcus aureus* ATCC 8538
- *Streptococcus mutans* ATCC 25175

As cepas foram adquiridas na Fundação André Tozello de Campinas-S.P.

Para estes ensaios empregou-se metodologia para avaliação da atividade inibitória de preparações nas formas líquidas, cremosas e sólidas (Método da placa de ágar, com variação para sólidos) segundo procedimento da FIOCRUZ/INCQS (MANUAL Saneantes, 1992).

- Meios de cultura: Ágar nutriente (atividade bacteriostática);
- Ágar neopeptona glicosado 2% (atividade fungistática);
- Caldo nutriente (atividade bacteriostática);
- Caldo neopeptona glicosado 2% (atividade fungistática).

A partir da cultura estoque realizou-se o repique para reativação da cultura de bactérias, incubando em caldo nutriente e para fungos em caldo glicosado por 48-72 horas, à 37° C.

O ágar nutriente e/ou ágar glicosado foram fundidos e posteriormente resfriados a 45 - 48°C. Foi adicionado 0,2 ml da cultura bacteriana ou da suspensão de conídias e posteriormente esta mistura foi transferida para placa de petri, aguardando até completa solidificação do ágar. A amostra (0,3g) a ser analisada foi aplicada no centro da placa. A preparação em teste foi colocada diretamente em contato com o meio de cultura, cobrindo uma área de aproximadamente 2 cm de diâmetro. Após o preparo, as placas foram incubadas a 37° C, por 24 horas, para a atividade bacteriostática e 7 dias, para a atividade fungistática.

Como controle positivo da capacidade de difusão da preparação, realizou-se a avaliação de uma formulação contendo um agente bacteriostático com atividade inibitória reconhecida (triclosan), sendo adicionado ao mesmo veículo em que foram aplicados os extratos fluidos e seguindo os mesmos procedimentos aplicados às amostras destinadas a avaliação inibitória dos extratos fluidos.

5. RESULTADOS

5.1. CONTROLE DA QUALIDADE DAS DROGAS

Tabela 1. Ensaio para determinação de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácidos e umidade

Ensaio	Média (n=3)	Cinzas totais	Cinzas insolúveis em ácidos	Teor de umidade
<i>Calendula officinalis</i>	Média (%)	7,60 ±0,07	0,35 ±0,005	9,22 ±0,08
	C.V. (%)	0,92	1,42	0,86
<i>Casearia sylvestris</i>	Média (%)	7,25 ±0,06	1,09 ±0,003	8,97 ±0,014
	C.V. (%)	0,82	0,27	0,15

Tabela 2. Determinação do teor de flavonóides totais

Ensaio	Média (n=3)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
<i>Calendula officinalis</i>	Média (%)	0,196 ±0,018	0,261 ±0,012	0,123 ±0,019	0,278 ±0,016
	C. V. (%)	9,18	4,59	15,44	5,75
<i>Casearia sylvestris</i>	Média (%)	0,032 ±0,002	-	-	-
	C. V. (%)	6,25	-	-	-

5.2. CONTROLE DA QUALIDADE DOS EXTRATOS FLUÍDOS

5.2.1. Características organolépticas

O extrato líquido de *C. officinalis* apresentou aspecto floculado, cor castanho amarelado, consistência levemente viscosa, odor agradável e adocicado, sabor levemente amargo.

O extrato líquido de *C. sylvestris* apresentou-se líquido, cor pardo esverdeado, odor forte e característico, não muito agradável, sabor levemente amargo.

5.2.2. Determinação do pH e densidade

Tabela 3. Determinação do pH e densidade

	Média (n=3)	pH	Densidade (g/ml)
<i>Calendula officinalis</i>	Média (%)	4,957 \pm 0,071	1,196 \pm 0,001
	C. V. (%)	1,43	0,08
<i>Casearia sylvestris</i>	Média (%)	5,947 \pm 0,208	1,092 \pm 0,003
	C. V. (%)	3,49	0,27

5.2.3. Determinação do teor de flavonóides totais

Tabela 4. Determinação do teor de flavonóides totais

	Média (n=3)	Teor de flavonóides (%)
<i>Calendula officinalis</i>	Média (%)	0,188 \pm 0,005
	C. V. (%)	2,659
<i>Casearia sylvestris</i>	Média (%)	0,007 \pm 0,000
	C. V. (%)	0,000

5.3. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO

O desenvolvimento da formulação envolveu extenso processo de seleção de matérias-primas e ajuste de concentrações conforme propostas apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Desenvolvimento da formulação de dentifícios

Componentes	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16
Propilenoglicol	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Água destilada	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
Metilparabeno	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Carboximetilcelulose sódica	1,0	1,1	1,2	1,3	1,5	1,6	1,7	1,0	1,0	1,0	1,3	1,2	-	-	-	-
Goma xantana	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,6	0,7	0,3	0,3	-	-	-	-
Carbopol 934 P ®	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,45	0,50	0,55	-
Hidroxietilcelulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
Silica pirogênica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Silica precipitada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicerina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Sorbitol	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p
Poli(etil)enoglicol PEG 6000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarina sódica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mentol solução 70% em etanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Corante FD&C 1 solução 0,01%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lauril sulfato de sódio sol. 30%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decil poliglucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cocoamidopropilbetaina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrato fluido <i>C. officinalis</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Extrato fluido <i>C. sylvestris</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Quantidades determinadas para formulação centesimal.

Continuação

Tabela 5. Desenvolvimento da formulação de dentifícios

Componentes	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
Propilenoglicol	3,0	3,0	3,0	3,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Água destilada	30,0	30,0	30,0	30,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Metilparabeno	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Carboximetilcelulose sódica	-	-	-	-	1,65	1,65	1,70	-	-	-	-	-	1,70	1,65	1,65	-
Goma xantana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbopol 934 P ®	-	-	-	-	-	-	-	0,50	0,60	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxietilcelulose	1,1	1,2	1,3	1,5	-	-	-	-	-	1,30	1,40	1,50	-	-	-	1,50
Sílica pirogênica	-	-	-	-	3,0	4,0	3,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,8	3,8	3,8	3,8
Sílica precipitada	-	-	-	-	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0
Glicerina	10,0	10,0	10,0	10,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Sorbitol	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p
Poliétilenoglicol PEG 6000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarina sódica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	0,2	0,2
Mentol solução 70% em etanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5	0,4	0,4
Corante FD&C 1 Solução 0,01%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	1,0	1,0	1,0
Lauril sulfato de sódio sol. 30%	-	-	-	-	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	-	-	-	-
Decil poliglucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cocoamidopropilbetaina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	3,0	3,0	3,0
Extrato fluido <i>C. officinalis</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Extrato fluido <i>C. sylvestris</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Quantidades determinadas para formulação centesimal.

Continuação

Tabela 5. Desenvolvimento da formulação de dentifrícios

Componentes	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
Propilenoglicol	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
Água destilada	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Metilparabeno	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Carboximetilcelulose sódica	-	-	-	1,60	1,65	1,65	1,65	1,65	1,70	1,70	1,70	1,60	1,60	1,60	1,60
Goma xantana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbopol 934 P®	-	0,50	0,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxietilcelulose	1,60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sílica pirogênica	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
Sílica precipitada	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Glicerina	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Sorbitol	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p
Polietilenoglicol PEG 6000	-	-	-	-	4,5	4,5	5,0	5,5	5,5	6,5	6,0	6,0	5,5	5,5	5,5
Sacarina sódica	0,2	0,2	1,8	1,8	1,8	1,75	1,75	1,75	0,18	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,1
Mentol solução 70% em etanol	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Corante FD&C 1 solução 0,01%	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Lauril sulfato de sódio 30%	-	-	-	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,5	2,5	2,5	2,4	2,4	2,4	2,4
Decil poliglucose	-	-	-	1,0	1,0	1,0	1,0	2,0	-	-	-	2,0	2,0	2,0	2,0
Cocoamidopropilbetaina	3,0	3,0	3,0	-	-	-	-	-	1,5	1,0	1,0	-	-	-	-
Extrato fluido <i>C. officinalis</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Extrato fluido <i>C. sylvestris</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Quantidades determinadas para formulação centesimal.

5.4. CONTROLE DA QUALIDADE DO PRODUTO ACABADO

Tabela 6. Ensaio para determinação do pH, avaliação da consistência e do índice de espuma em amostra de dentifrício com 10% extrato fluido de *C. officinalis* e 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* 1:1 (CC).

		Média (n=3)		C.V. (%)
pH		6,7 ±0,13		1,94
Densidade (g/ml)		0,81 ± 0,07		8,64
Consistência (mm ²)		12,81 ±0,04		0,31
Índice de espuma (cm)	Solução 1 %	1 min	20 ±0,50	2,50
		60 min	16 ±0,32	2,00
	Solução 10 %	1 min	26 ±0,40	1,53
		60 min	21±0,41	1,95

5.4.1. Verificação da vida útil

Tabela 7. Ensaio para avaliação do pH, consistência, índice de espuma em amostra de dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. officinalis* + 10% *C. sylvestris* 1:1 (CC), após 72 horas de envelhecimento drástico em estufa a 45°C.

		Média (n=3)		C.V. (%)
pH		6,53 ±0,11		1,68
Densidade (g/ml)		0,80 ± 0,02		2,50
Consistência (mm)		12,83 ±0.09		0,70
Índice de espuma (cm)	Solução 1 %	1 min	19 ±0,50	2,63
		60 min	15 ±0,60	4,00
	Solução 10%	1 min	23 ±0,40	1,73
		60 min	20±0,40	2,00

5.4.2. Características reológicas

Tabela 8. Ensaio para determinação das características reológicas e da viscosidade aparente (η) do dentifrício contendo 10% de extrato fluido de *C. officinalis* e 10% de *C. sylvestris* 1:1 (CC). Média (n=3)

$\alpha\downarrow$	$\alpha\uparrow$	z	$\tau\downarrow$	δ	$\tau\uparrow$	$\eta\downarrow$	δ	$\eta\uparrow$
11,3333	11,3333	59,4	673,2	1,20	673,2	561,00	1,20	560,83
13,6666	12,3333	59,4	811,8	2,16	732,6	375,80	2,16	339,16
15,0000	13,6666	59,4	891,0	3,60	811,8	247,50	3,60	225,50
16,3333	14,6666	59,4	970,2	6,48	871,2	149,72	6,48	134,41
17,6666	16,0000	59,4	1049,4	10,80	950,4	97,16	10,80	88,00
20,0000	18,0000	59,4	1188,0	19,44	1069,2	61,11	19,44	55,00
22,3333	19,6666	59,4	1326,6	32,40	1168,2	40,94	32,40	36,05
27,6666	24,0000	59,4	1643,4	58,30	1425,6	28,18	58,30	24,45
35,3333	31,0000	59,4	2098,8	97,20	1841,4	21,59	97,20	18,94
48,0000	43,3333	59,4	2851,2	175,00	2574,0	16,29	175,00	14,71
62,6666	58,3333	59,4	3722,4	291,50	3465,0	12,77	291,50	11,89
85,6666	85,6666	59,4	5088,6	526,00	5088,6	9,67	526,00	9,67

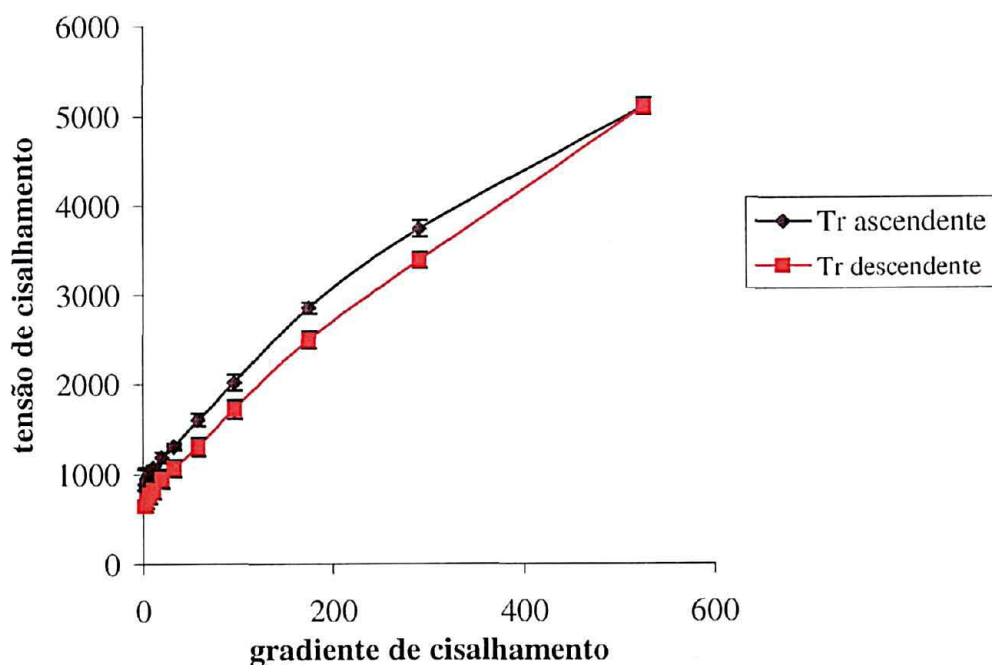


Figura 3. Comportamento reológico da formulação

5.5 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Tabela 9. Interpretação dos testes de atividade antimicrobiana (n=3)

Microorganismos testados	Dentifício com 10% de extrato fluido de <i>C. officinalis</i> (CO)	Dentifício com 10% de extrato fluido de <i>C. sylvestris</i> (CS)	Dentifício com associação de 10% de extrato fluido de <i>C. officinalis</i> e 10% de extrato fluido de <i>C. sylvestris</i> 1:1 (CC)
<i>C. albicans</i>	+	++	+
<i>S. aureus</i>	++	+	+++
<i>S. mutans</i>	+	+	+++

Legenda:

(+) halo pequeno (baixa sensibilidade);

(++) halo médio (média sensibilidade);

(+++) halo grande (alta sensibilidade).



Figura 4. Dentifício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* (CS) frente ao *S. aureus*

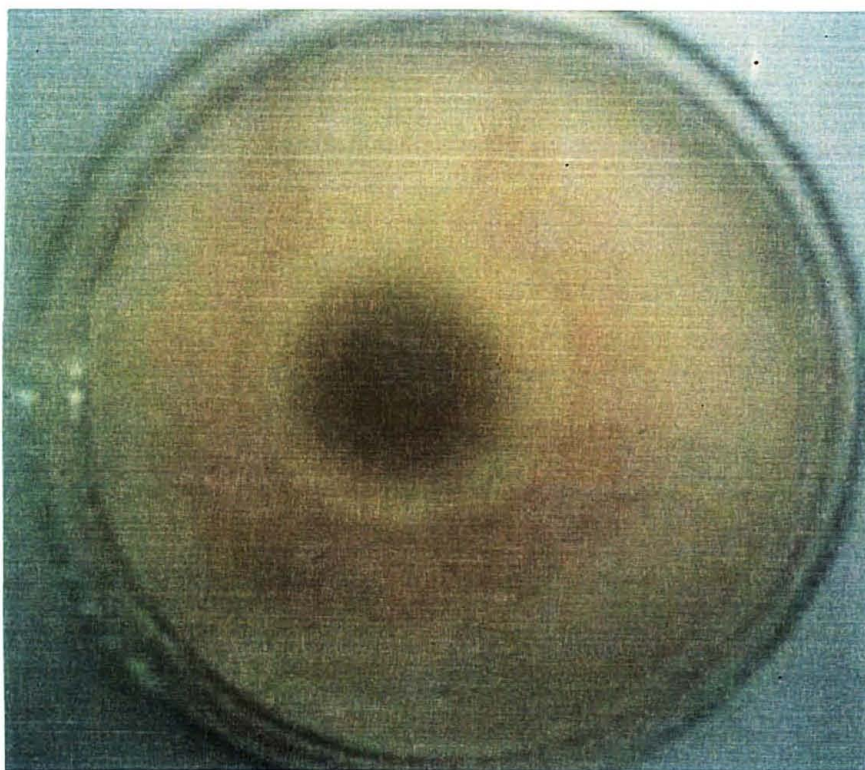


Figura 5. Dentifício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* (CS) frente ao *S. mutans*



Figura 6. Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* (CS) frente à *C. albicans*

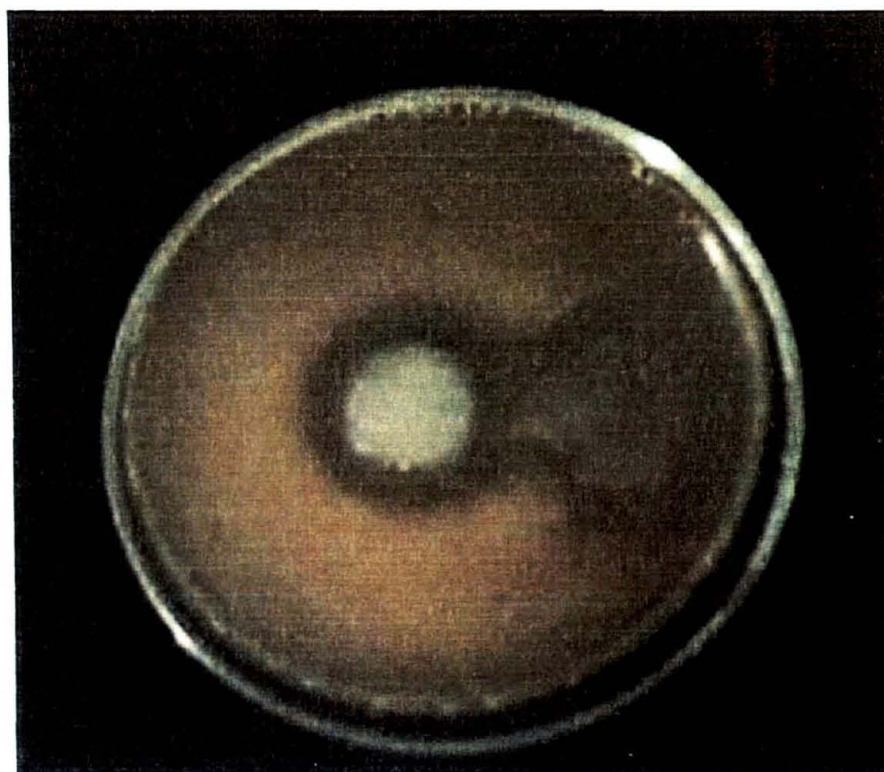


Figura 7. Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CO) frente ao *S. aureus*

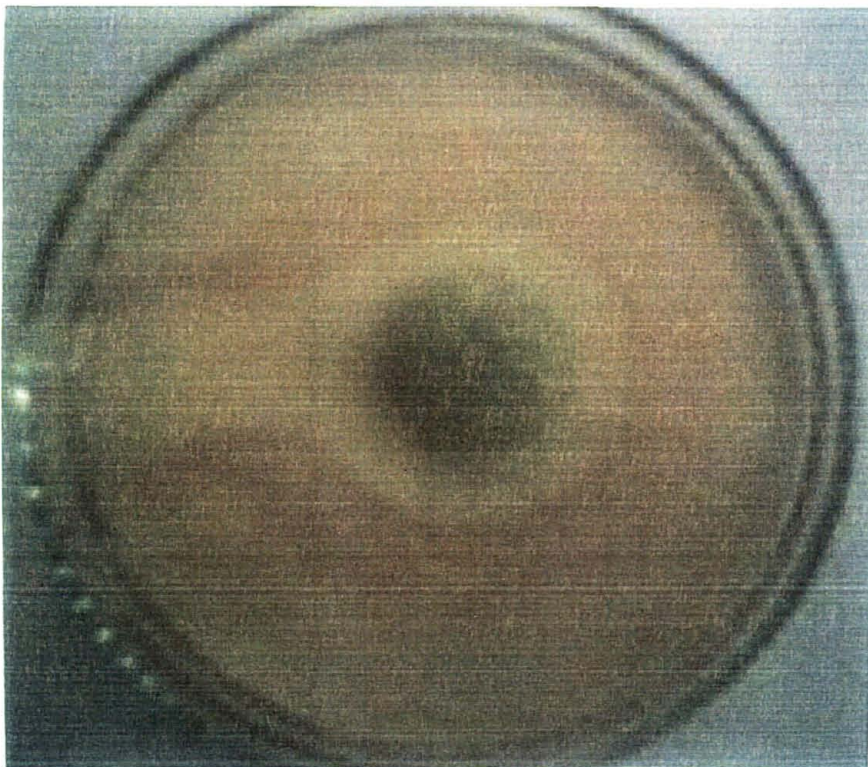


Figura 8. Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CO) frente ao *S. mutans*

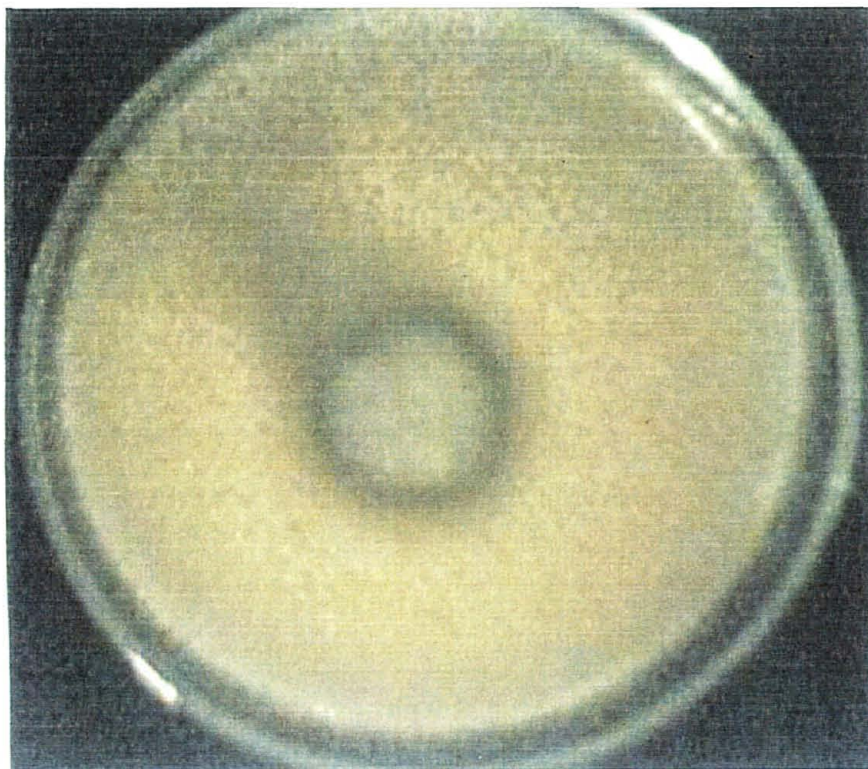


Figura 9. Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CO) frente à *C. albicans*

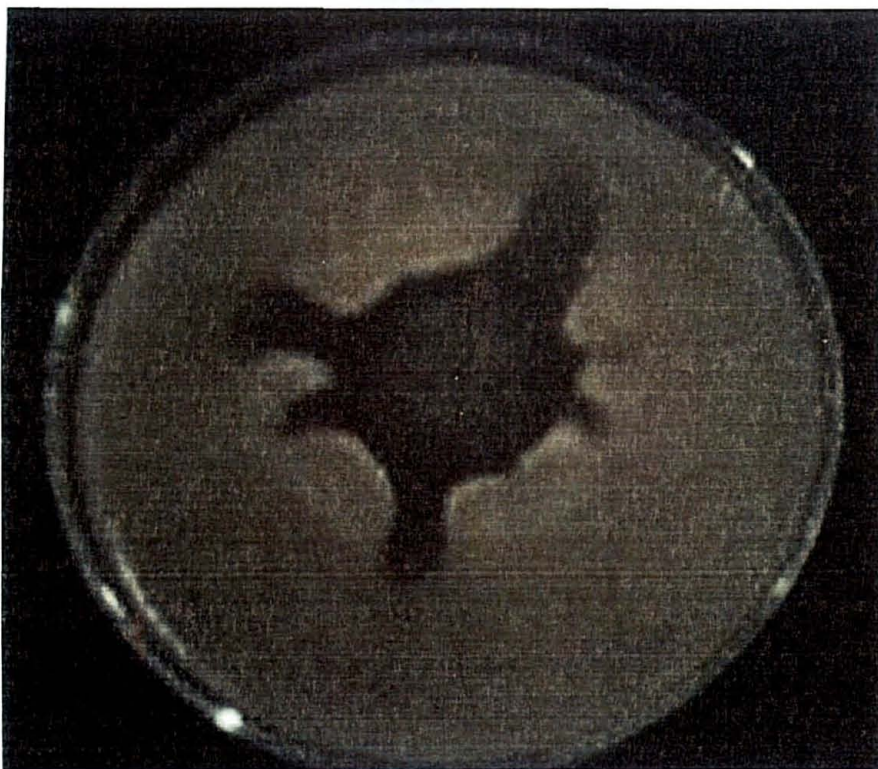


Figura 10. Dentifício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* e 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CC) frente ao *S. aureus*

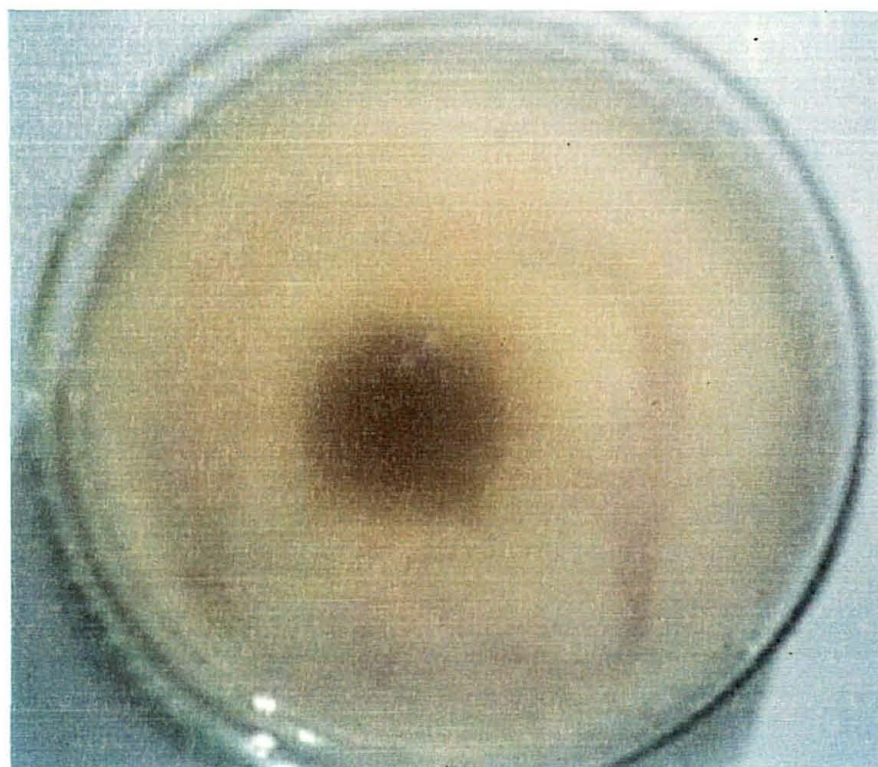


Figura 11. Dentifício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* e 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CC) frente ao *S. mutans*

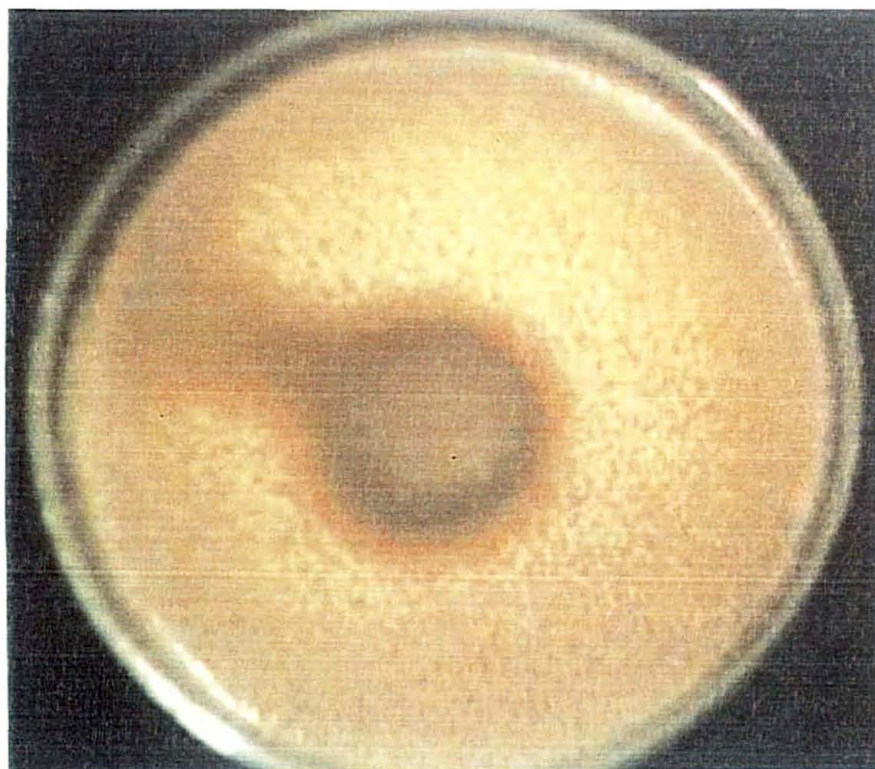


Figura 12. Dentifrício com 10% de extrato fluido de *C. sylvestris* e 10% de extrato fluido de *C. officinalis* (CC) frente à *C. albicans*



Figura 13. Dentifrício com 0,2 % de triclosan frente a *E. coli*.

6. DISCUSSÃO

A seleção das plantas utilizadas como ingredientes ativos da formulação para a realização deste trabalho, fundamentou-se em detalhada revisão bibliográfica, buscando com a associação, o sinergismo das atividades antimicrobiana, cicatrizante e antiinflamatória. Deste modo, o uso da *C. sylvestris* e *C. officinalis* mostrou-se apropriado em função das atividades terapêuticas citadas em literatura.

A *C. sylvestris* foi coletada em abril de 2001, no município de Piraquara, no Estado do Paraná. Após a estabilização e secagem em estufa, o material foi devidamente triturado para a elaboração dos extratos fluídos. A *C. officinalis* foi adquirida em diferentes fornecedores locais, sendo que os mesmos apresentaram apenas a ficha de identificação, não apresentando laudos de análise do material, que facilitariam o desenvolvimento, qualificação e validação de fornecedores e tornariam o processo de aquisição de matérias-primas otimizado, possibilitando a monitoração das características das mesmas. Pela ausência destes laudos tornou-se necessário a realização de ensaios para a determinação da amostra de melhor qualidade, estabelecendo-se como critério as especificações da PHARMACOPOEA Helvetica VII (1992) e como marcador químico os flavonóides.

A espécie *C. sylvestris* Sw., está oficializada na Farmacopéia Brasileira 1ª edição (SILVA, 1929), com a sinonímia “herva-de-bugre” e descreve a parte utilizada como medicinal as folhas e como produto oficial, o extrato fluído.

A *C. officinalis* L., encontra-se oficializada na PHARMACOPEA Helvetica, VII (1992) e na BRITISH Herbal Pharmacopoea (1996). Apesar da parte usada estar oficialmente citada como flores na maioria das referências, inclusive nas duas citações acima, a correta descrição seria a utilização de inflorescências ou dos capítulos florais (METCALFE; CHALK, 1957). É empregada sob forma de extrato fluído e tintura (1:5) (GILG; BRANDT; SCHURHOFF, 1942; PDR, 2000).

O controle da qualidade das matérias-primas empregadas na elaboração de fitoterápicos compreende essencialmente a identificação do material botânico através de análises macroscópicas e microscópicas, a análise qualitativa e quantitativa do

princípio ativo, a determinação da presença de matéria orgânica estranha, o teor de cinzas totais, o teor de cinzas insolúveis em ácidos e a perda por dessecação (teor de umidade).

A *C. sylvestris* coletada, identificada e processada conforme item 4.1 da metodologia e a *C. officinalis* adquirida com identificação pelo fornecedor não apresentaram matéria prima orgânica de qualquer natureza.

Segundo a F. BRAS. IV (1988), a determinação de cinzas totais destina-se a estabelecer a quantidade de substância residual não volátil no processo de incineração. As cinzas totais incluem as derivadas de tecido vegetal (cinzas fisiológicas) e de materiais estranhos, especialmente areia ou terra aderida à superfície da droga (cinzas não fisiológicas). As cinzas insolúveis em ácidos compreendem o resíduo obtido na fervura das cinzas totais ou sulfatadas com ácido diluído, após filtragem, lavagem e incineração. O método destina-se a determinação de constituintes silicosos na droga. Teores muito elevados de cinzas insolúveis em ácidos podem indicar a contaminação da droga por areia. Na determinação destes parâmetros obteve-se como resultado para a *C. sylvestris* 7,25% ($\pm 0,06$) de cinzas totais e 1,09% ($\pm 0,003$) de cinzas insolúveis em ácidos, (Tabela 1) e para a *C. officinalis* 7,60% ($\pm 0,07$) de cinzas totais e 0,35% ($\pm 0,005$) de cinzas insolúveis em ácidos, (Tabela 1). A *C. sylvestris* conforme LUZ et al., (1998) deve apresentar um teor de cinzas totais de no máximo 8,0% e de cinzas insolúveis em ácidos, no máximo 2,0%, verificando-se que a amostra encontrava-se dentro dos limites estabelecidos por estes. Segundo BRITISH Herbal Pharmacopoea (1996), a *C. officinalis* não deve apresentar quantidade de cinzas totais superiores a 9% e cinzas insolúveis em ácido acima de 2%, verificando-se também, que a amostra encontrava-se dentro destes parâmetros.

A perda por dessecação visa determinar a quantidade de substância volátil de qualquer natureza, sendo que para as drogas em geral utilizou-se o método gravimétrico, segundo F. BRAS IV (1988). Porcentagens elevadas de água podem favorecer a proliferação de microorganismos. Na *C. sylvestris* obteve-se 8,97% ($\pm 0,014$), (Tabela 1) de umidade e para a *C. officinalis* obteve-se 9,92% ($\pm 0,08$) de umidade, (Tabela 1). Segundo LUZ et al. (1998), para a *C. sylvestris* não deve ser

superior a 12%. Para a *C. officinalis* segundo BRITISH Herbal Pharmacopoea (1996), não deve ser superior a 10%. Deste modo, verificou-se que os teores de umidade das drogas apresentaram-se dentro dos parâmetros citados.

Os flavonóides foram estabelecidos como marcadores químicos por serem encontrados em abundância nas plantas, pela relativa facilidade de identificação e relativa estabilidade (SIMÕES et al., 2000). Além disso, para a *C. officinalis*, a PHARMACOPOEA Helvetica VII (1992) oficializa o método de doseamento dos mesmos, indicando um teor mínimo de 0,9% de flavonóides totais. Devido a estes fatores estabeleceu-se para a *C. officinalis* este constituinte químico como marcador.

Nas amostras analisadas verificou-se um teor reduzido de flavonóides para a *C. officinalis* tornando-se necessário uma reavaliação da eficiência da metodologia deste doseamento espectrofotométrico. Para tanto, empregou-se tomadas de amostras crescentes da droga (0,6g, 0,9g, 1,2g, 1,5g) verificando-se uma proporcionalidade entre concentrações e absorvâncias, indicando a reprodutibilidade dos resultados. Esta metodologia foi aplicada também à análise das amostras dos extratos fluídos. As amostras analisadas apresentaram teor médio máximo de 0,278% ($\pm 0,016$) na amostra 4, (Tabela 2), optando-se por esta, apesar de não apresentar o mínimo citado pela PHARMACOPOEA Helvetica VII (1992), mas fundamentando-se em outras citações como, PDR (2000) que indica 0,3 a 0,8% e SIMÕES et al. (2000) de 0,2 a 0,9%. Durante a seleção das amostras deparou-se com a dificuldade de utilização de padrões estabelecidos internacionalmente para teor de flavonóides, observando-se a necessidade de estudos mais detalhados das plantas cultivadas localmente.

LUZ et al., (1998) e SATO, (1998) sugeriram como marcador químico para a *C. sylvestris*, os taninos. Não há citações sobre métodos para doseamento de flavonóides, mas a presença deste foi evidenciada por vários autores (POSSOLO; FERREIRA, 1949; SCAVONE et al., 1979; JUNGES et al., 1985; YAMAMOTO, 1995; LUZ, 1996). Para tanto, realizou-se uma adaptação da metodologia de análise de flavonóides das monografias de *Passiflora incarnata* e de *C. officinalis*, PHARMACOPOEA Helvetica VII, 1992, 1995), utilizando-se as mesmas tomadas de

amostras (0,6g) citadas nestas monografias. Essa modificação metodológica foi aplicada também aos extratos fluidos.

Outros parâmetros exigidos na metodologia destes doseamentos foram avaliados. Considerou-se inicialmente a diferença do tempo de permanência sob refluxo e variações na quantidade de ácido clorídrico, responsável pela hidrólise das gliconas. Devido ao reduzido teor de flavonóides na amostra foi mantida a quantidade especificada na análise de *Passiflora incarnata* para o ácido clorídrico e para o tempo sob refluxo, isto é, foi mantido os 40 minutos. Posteriormente, estabeleceu-se o comprimento de onda ideal para a leitura por espectrofotometria UV, uma vez que os flavonóides presentes na *C. officinalis* e *P. incarnata* podem ser diferentes dos encontrados na *C. sylvestris*. Para tanto, a amostra foi submetida à varredura de 200 a 600 nm, determinando-se como comprimento de onda ideal de 411 nm, onde ocorreu a absorção máxima. Após o estabelecimento destes parâmetros obteve-se um teor médio de 0,032% ($\pm 0,002$) de flavonóides totais em *C. sylvestris*, (Tabela 4).

Os extratos fluidos foram preparados conforme metodologia determinada pela Farm. Bras. II (1959), com posterior concentração em aparelho evaporador rotatório, para ajustagem do concentrado (1:1). O controle do processo extrativo foi realizado pela reação de Shinoda (determinação qualitativa da presença de flavonóides) (SIMÕES et al., 2000). O teor de flavonóides nos extrato fluidos de *C. officinalis* e *C. sylvestris*, foi de 0,188% ($\pm 0,005$) e 0,007% ($\pm 0,000$), respectivamente, (Tabela 4). Na análise comparativa dos resultados entre as drogas e os extratos fluídos correspondentes (Tabela 2 e 4), observou-se uma variação de 32,37% para *C. officinalis* e de 78,12% para a *C. sylvestris*. Como o monitoramento do processo extrativo foi realizado pela reação qualitativa de Shinoda, esta pode não ter apresentado a sensibilidade necessária para detectar o esgotamento total, ou ainda, devido ao fato de que os extratos apresentam colorações próprias que dificultam a interpretação do resultado baseado na formação de coloração rósea na presença de flavonóides. Neste contexto, sugere-se que o monitoramento seja efetuado pelo método espectrofotométrico aplicado ao doseamento das drogas para obtenção de resultados mais precisos.

A elaboração de dentifrícios com desempenho efetivo de suas funções, segurança total ao usuário e boa estabilidade é resultante de uma seleção criteriosa de matérias-primas e de sobrepujar as dificuldades que interferem nos processos tecnológicos de produção, dentre outros, a incorporação de ar, a dispersão dos agentes espessantes, a adição de tensoativos e envase. No momento do desenvolvimento da formulação todas as etapas devem ser planejadas de forma que possam ser adaptadas às diferentes escalas, verificando-se as características do produto em cada uma das fases do processo, evitando-se assim, a obtenção de produtos em desacordo com os padrões de qualidade especificados.

Como as características fundamentais determinantes na seleção dos agentes espessantes apropriados incluem: produzir geleificação à baixa concentração, dar estrutura ao veículo, ser facilmente lavável, conferir viscosidade e características adequadas ao produto e a estabilidade deste durante o armazenamento, ser inerte e inócuo, compatível com os componentes da formulação e material de acondicionamento. Neste contexto, avaliou-se o comportamento da goma xantana, hidroxietilcelulose, Carbopol® 934P, carboximetilcelulose sódica (CMC) e polietilenoglicol (PEG 6000), frente aos outros componentes da formulação, optando-se por um sistema de associação entre a CMC e o PEG 6000, obtendo-se assim dentifrícios com características farmacotécnicas satisfatórias.

A carboximetilcelulose sódica é aniônica, estável em valores de pH entre 5,5 e 9,5, relativamente estável em presença de íons cálcio em geral, encontrado na maioria das composições dos dentifrícios, especialmente na forma gel (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995). Apresenta um peso molecular compreendido entre 90.000 – 700.000, sendo comercializada em três diferentes faixas de viscosidade: baixa, média e alta (WADE, WELLER, 1994). A literatura descreve incompatibilidade com goma xantana, álcool, soluções ácidas fortes, sais metálicos e substâncias catiônicas. A DL_{50} determinada em testes realizados em ratos e coelhos mostrou-se tóxica a 27g/kg (WADE, WELLER, 1994).

Os polietilenoglicóis amplamente empregados em formulações farmacêuticas possuem características distintas de acordo com seu peso molecular. Não apresentam

nenhum tipo de incompatibilidade significativa e a seleção baseia-se na finalidade do produto. Os de baixo peso molecular podem ser aplicados como solvente ou veículo em formulações parenterais. Os de alto peso molecular podem ser usados como agente suspensor ou doador de viscosidade ou consistência, e como agentes estabilizantes de emulsões (WADE, WELLER, 1994). Para a formulação proposta empregou-se o polietilenoglicol de alto peso molecular – PEG 6000, com DL_{50} - 50g/kg (WADE, WELLER, 1994).

A glicerina quimicamente, propano 1,2,3 triol ($C_3H_8O_3$) possui funções como conservante, emoliente, umectante e plastificante. Em meio contendo derivados fenólicos e taninos e em presença de ferro, pode ocorrer o seu escurecimento. Testes realizados em ratos, determinaram um valor para a DL_{50} oral igual a 4.1g/kg (WADE, WELLER, 1994). Incorporou-se à formulação associada aos demais agentes umectantes (propilenoglicol e sorbitol), com objetivo de reduzir a quantidade de sorbitol no produto, já que o mesmo possui susceptibilidade a bactérias fermentadoras, podendo participar do processo de formação da cárie (NEWBRUN, 1990).

O sorbitol (D-glucitol) é um excipiente freqüentemente utilizado em formulações farmacêuticas, cosméticas e produtos alimentícios. Possui propriedades umectantes, plastificantes, sendo usado como veículo principal em formulações sem adição de açúcar. Pode substituir o uso da glicerina e do propilenoglicol. Normalmente é comercializado em soluções a 70%. Sua DL_{50} é de 15,9g/kg via oral. Para uso em dentifrícios, a formulação pode conter até 60% de sorbitol (WADE, WELLER, 1994).

O propilenoglicol empregado em formulações como umectante e solubilizante, apresenta DL_{50} de 23,9 g/kg, determinada em ratos. Possui segurança comprovada para uso em formulações orais e não apresenta nenhuma incompatibilidade (WADE, WELLER, 1994). Na formulação em questão, empregou-se com finalidades umectantes associadas à glicerina.

O mentol, 5-metil-2-(1-metiletilciclohexanol) $C_{10}H_{20}O$, amplamente empregado em produtos farmacêuticos como flavorizante é particularmente usado em produtos para uso oral, sendo recomendado na concentração de 0,4% em pastas e géis dentais e 0,1-0,2% em enxaguatórios bucais. A DL_{50} oral em ratos é de 3.1g/kg

(WADE, WELLER, 1994). Este flavorizante foi o de escolha para as formulações pois apresentou melhor capacidade em mascarar o sabor desagradável dos extratos fluídos.

A sílica pirogênica exige um processo de dispersão muito particular, onde o agente dispersor tem grande influência na transparência e tixotropia do produto. Para obtenção de uma ótima dispersão, o fornecedor sugere a utilização de um misturador do tipo “Cowles”, respeitando dimensões como nível do líquido no recipiente, proporção entre o diâmetro do recipiente em relação ao diâmetro do disco misturador e ainda o ângulo dos dentes do misturador. Há vários tipos de sílicas pirogênicas oferecidas por um mesmo fornecedor (Cab-O-Sil[®]) onde o que confere características particulares a cada uma delas é o tipo tratamento de superfície, conferindo graus variados de hidrofobicidade (CABOT, 2000).

A sílica pirogênica, Cab-O-Sil[®] M-5 é totalmente hidrofílica, sendo a mais apropriada para veículos aquosos, enquanto as sílicas TS 610, TS 720, TS 530 são parcial ou totalmente hidrofóbicas, ocasionando uma opacidade ao produto (CABOT, 2000). Os testes realizados com as sílicas TS 610, TS 720 e TS 530, apresentaram resultados insatisfatórios quanto à transparência e à reologia do produto, mostrando ser ideal o resultado obtido com a sílica M-5, confirmando dados anteriores.

As sílicas apresentam ainda, algumas características extremamente importantes na química de superfície. Os grupos químicos presentes são as hidroxilas isoladas, hidroxilas ligadas por pontes de hidrogênio e grupos siloxanos. As hidroxilas livres são responsáveis pelas pontes de hidrogênio entre os agregados. Uma rede de sílica forma-se na maioria dos sistemas líquidos quando uma quantidade suficiente estiver completamente dispersa. Estas ligações são responsáveis pelo controle reológico, proporcionando aumento de viscosidade do sistema e produzindo o comportamento tixotrópico. A destruição da estrutura pela adição da força de cisalhamento é capaz de quebrar as pontes de hidrogênio, fazendo que a viscosidade do sistema se rompa. Uma vez cessado o cisalhamento as ligações se refazem ao longo do tempo e o sistema retorna a viscosidade inicial (CABOT, 2000). Devido à polaridade do meio, a sílica M-5 apresentou melhores resultados, atribuindo aos dentifícios as características tixotrópicas almejadas (Figura 3).

Em relação à utilização de agentes abrasivos, a opção foi por uma sílica precipitada, que se diferencia das utilizadas como agente tixotrópicos pelas suas dimensões, pois são consideravelmente maiores. Como o objetivo principal do produto não visava o clareamento ou remoção de manchas dos dentes, buscou-se a utilização de pequena quantidade para a obtenção de um produto de baixa abrasividade.

Segundo LABA (1993), os géis dentais normalmente apresentam comportamento pseudoplástico e tixotrópico. Conforme observado na tabela 8, nos fluidos não newtonianos pseudoplásticos a viscosidade não é constante, diminui com a velocidade de cisalhamento, ou seja, o fluido escoar mais facilmente conforme sofre uma agitação mais rápida. A velocidade de cisalhamento aumenta mais rapidamente do que a tensão de cisalhamento, resultando em uma curva de fluxo convexa (Figura 3).

A interpretação dos dados fornecidos no estudo do comportamento reológico (Figura 3) mostra a presença de uma região compreendida entre a curva ascendente e a curva descendente, esta região é denominada área de histerese e constitui o índice tixotrópico do produto. Ele informa a reorganização do sistema após submetê-lo a diferentes tensões de cisalhamento. Num sistema tixotrópico as curvas ascendentes e descendentes não se sobrepõem. A área de histerese pode ser medida através de um planímetro digital e quanto maior a distância entre as duas curvas maior a tixotropia e maior o tempo gasto para o sistema recuperar sua estrutura inicial. (ABO, 1999). Na formulação proposta, a presença da área de histerese confirma a tixotropia do dentifício. A diminuição progressiva nos valores da viscosidade aparente (η) à medida que aumenta a velocidade de cisalhamento e o retorno aos seus valores iniciais quando cessa o mesmo, caracteriza a pseudoplasticidade, conforme se observa na Tabela 8. Esta é uma característica fundamental ao bom desempenho dos dentifícios associados à propriedade tixotrópica (LABA, 1993 e LARA; PANZERI, 1998).

O metilparabeno (Nipagin®) é o conservante de escolha para produtos farmacêuticos e alimentícios. A concentração indicada para uso oral é de 0.015 a 0.2% e o seu pH ideal relativo a sua eficiência é entre 4 - 8. Pode apresentar incompatibilidade com sorbitol, porém se previamente disperso em propilenoglicol,

evita a interação entre os mesmos (WADE, WELLER, 1994), apresentando todas as características fundamentais para sua aplicação em dentifrícios.

A sacarina principal agente edulcorante utilizado no Brasil, possui um histórico um tanto controverso. Por muitos anos deixou de ser utilizada nos Estados Unidos da América (EUA), devido a uma suposta ação cancerígena observada em algumas espécies de cobaias. Nos EUA após anos de proibição apenas, em setembro de 2001 o seu uso passou a ser permitido, após demonstrada não procedente esta informação comprovada pela realização de novos estudos (BACHRACH, TOTMAN, 2001). A concentração recomendada para uso em géis dentais é de 0,12 – 0,3%

O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), sequestra eletrólitos essenciais ao crescimento de microrganismos e metais interferentes na formulação com potencial oxidante (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1992), impedindo a fixação de placa bacteriana nos dentes (JORGE, 1995). Deste modo, tornou-se apropriada a utilização deste agente na formulação.

A escolha do corante foi bastante limitada devido à coloração própria dos extratos. Após a avaliação de diversos corantes permitidos pela legislação, optou-se pela utilização de uma solução de FD&C a 0,01%, resultando em um dentifrício com coloração verde intensa.

Entre os agentes tensoativos testados, optou-se pela associação entre lauril sulfato de sódio (LSS) e decil poliglucose, justificado pelo fato de que o LSS quando usado em altas concentrações pode desencadear processos irritativos na mucosa oral (HERLOFSON, BRODIN, AARS, 1996). Visando a obtenção de um melhor índice de espuma e a utilização de uma quantidade reduzida de LSS, acrescentou-se ao decil poliglucose também conhecido com o PLANTAREN 2000[®], um tensoativo não iônico, derivado de matérias-primas vegetais (amido de milho), com excelentes propriedades espumantes e elevada compatibilidade com pele e mucosas, possibilitando a formulação de produtos mais suaves (COLGATE PALMOLIVE, 1997).

A cocoamidopropilbetaína, TEGO BETAİN L7[®] é um tensoativo anfotérico bastante utilizado em produtos de higiene pessoal por possuir como característica o seu

comportamento variável em função do pH e apresentando um excelente índice de espuma e propriedades suavizantes (HERLOFSON, BARKVOLL, 1996). Foi aplicada em algumas formulações, mas apresentou incompatibilidade com alguns componentes da mesma. É reconhecidamente incompatível com carboximetilcelulose sódica, Carbopol[®], e apesar da literatura não apresentar restrições na associação com hidroxietilcelulose, ocorreu uma redução significativa da viscosidade em algumas formulações testadas (formulações 29 a 35), (Tabela 5).

Estabeleceu-se um valor de pH entre 6,5 a 7,2 como sendo o ideal, por estar compreendido na faixa do pH fisiológico da cavidade bucal da maioria dos indivíduos (PANZERI et al., 1979).

A avaliação da densidade, consistência e índice de espuma têm como objetivo estabelecer parâmetros de referência para tornar possível a manutenção destas características no processo de adaptação para escala de produção.

A densidade da formulação proposta foi determinada em 0,8100 g/ml ($\pm 0,07$), (Tabela 6), valores que devem ser mantidos nos diferentes lotes de produção, pois alterações como redução desta podem indicar falhas no processo (incorporação de ar) interferindo no envase do dentifrício.

A ABO (1999), não padroniza valores para densidade e índice de espuma nas formulações. Estabeleceu-se então como padrão os índices apresentados na Tabela 6.

De acordo com a norma nº1 para dentifrícios elaborada pela ABO (1999) não há exigências quanto aos limites de consistência. A principal observação para este parâmetro é a manutenção de seus valores iniciais após o envelhecimento do produto. A consistência inicial foi de 12,81 ($\pm 0,04$) mm e após ser submetido à temperatura de 45°C por 72 horas o valor da consistência foi de 12,83 ($\pm 0,05$) mm (Tabela 6). Esta variação permaneceu dentro dos limites iniciais, não ocasionando alteração nas características da aplicabilidade do produto.

A consistência inicial foi de 12,81($\pm 0,04$) mm e após ser submetido à temperatura de 45° C por 72 horas o valor da consistência foi de 12,83 ($\pm 0,09$) mm, Tabela 6. Esta variação não ocasionou alteração nas características de aplicabilidade do produto. Segundo BAAKILINI; PANZERI; LARA (1997) a adição de agentes

terapêuticos pode diminuir significativamente o valor da consistência, o que não ocorreu neste caso. O índice de espuma deve respeitar os valores apresentados na Tabela 6, determinados segundo normas da ABO (1999).

A utilização de meios para prevenção e controle do agravamento das periodontias é descrito por BURNETT, SCHERP e SCHUSTER (1991), onde é indispensável a eliminação da placa detectável clinicamente para que haja a inibição progressiva da doença periodontal. Esses meios controlam ou impedem a deposição na superfície dentária, eliminando ainda microorganismos potencialmente virulentos. Segundo NUNES (1996), os géis e pastas dentais são as melhores opções para aplicação de um agente terapêutico na cavidade oral, pois além de serem preparações de baixo custo, elevada segurança, fundamentais a higiene pessoal e capaz de veicular ingredientes ativos de elevada eficácia, abrangem todas as necessidades dos portadores de periodontias.

Atualmente poucos produtos estão disponíveis no mercado utilizando-se das propriedades dos extratos vegetais, a maioria utiliza agentes controladores químicos sintéticos geralmente associados a controladores físicos da placa. Com todo o avanço tecnológico ocorrido nas últimas décadas muitos benefícios foram agregados aos dentífricos, porém o que interessa ao consumidor é o comprovado benefício terapêutico em relação ao custo do produto. O desafio dos pesquisadores é apresentar novas alternativas usando agentes terapêuticos eficazes em condições que satisfaçam ao consumidor, tanto do ponto de vista terapêutico, como organoléptico. A busca para atender a estes requisitos resultou na identificação de particularidades da *C. officinalis* como a aplicação no tratamento de periodontias (GARCIA, 1998), atividade anti-séptica do óleo essencial (GARCIA, 2000), atividade inibitória sobre bactérias da placa bacteriana (BUFFON, 2001), atividade antimicrobiana sobre o *S. aureus* (PDR, 2000). As propriedades da *C. sylvestris* citadas em literaturas como: SCAVONE et al. (1979), descreve uma evolução cicatricial superior em testes realizados em camundongos utilizando aplicações da tintura da droga, observando também resultados satisfatórios em portadores de aftas (lesão localizada na cavidade oral). CAMARGO et al. (1993) que verificaram a redução do tempo de manifestação clínica de lesões

herpéticas provocadas pelo herpes simples, confirmando sua atividade anti-viral, conforme confirmado por SATO (1998). A atividade antimicrobiana do extrato fluido foi verificada por BARBOSA; FERREIRA; VALENTE (1994) frente ao *Staphylococcus epidermidis* e do óleo essencial frente ao *Bacillus subtilis* (SOUZA et al., 1997), concordando com SPRING, (1997) que cita o extrato fluido de *C. sylvestris* para tratamento de periodontias. Baseando-se nesses estudos, confirmou-se o interesse terapêutico para aplicação no tratamento de afecções orais.

As bactérias utilizadas nos testes de atividade antimicrobiana foram selecionadas de acordo com as referências sobre sua participação na formação da placa e presença em processos infecciosos observados nas periodontias.

Segundo KOO (1999) e PARK et al. (1998), o controle do crescimento do *S. mutans* ocasiona uma significativa redução na deposição de placa bacteriana nos dentes.

A manifestação clínica da periodontia placa-independente está relacionada de forma muito frequente ao desenvolvimento dos microorganismos *C. albicans* e *S. aureus*. Lesões provocadas por *C. albicans* (candidíase, estomatite cremosa ou sapinho) são causadas pelo desequilíbrio da microbiota normal, e o desenvolvimento deste microorganismo oportunista (TRABULSI et al., 1999; NEVES, 2000).

O *S. aureus* manifesta-se oportunamente e de forma freqüente invadindo tecidos lesionados, provocando o agravamento de quadros pós traumáticos, podendo levar ao desenvolvimento de abscessos e manifestações sistêmicas (TRABULSI et al., 1999, JORGE, 1995).

Para a averiguação da atividade antimicrobiana, empregou-se o método de avaliação da atividade inibitória de preparações nas formas líquidas, cremosas e sólidas (variação para sólidos) segundo procedimentos da FIOCRUZ/INCQS (MANUAL de Saneantes, 1992).

Previamente a realização dos testes com os extratos, como forma de avaliação da difusão do produto no ágar, realizou-se um teste positivo utilizando o agente antimicrobiano triclosan, sobre culturas de *E. coli*, sensivelmente suscetíveis a este

agente antimicrobiano. Observou-se uma excelente difusão do produto, confirmada pela presença de um halo de dimensões significativas, Figura 13.

Os resultados dos testes de atividade antimicrobiana mostraram que os dentifrícios CO (10% de extrato fluido de *C. officinalis*); CS (10% de extrato fluido de *C. sylvestris*) e CC (10% de extrato fluido de *C. sylvestris* e 10% de extrato fluido de *C. officinalis*) apresentaram resultados positivos, com formação de halos de inibição, frente a microorganismos específicos do processo de formação de placa bacteriana, *S. mutans* (ATCC 25175) e os frequentemente encontrados em quadros de infecções orais, *S. aureus* (ATCC 8538) e *C. albicans* (ATCC 10231). Verificou-se maior sensibilidade do *S. mutans* e *S. aureus* frente ao dentifrício CC e uma sensibilidade maior em CS e CC frente a *C. albicans*, caracterizado pelo aparecimento de zona clara ao redor da preparação, justificando a associação dos extratos fluidos na formulação proposta (Tabela 9), Figuras 4,5,6,7,8,9,10,11,12.

Realizaram-se também, ensaios onde submeteu-se o dentifrício controle (DC) ao teste de atividade antimicrobiana. O produto apresentou a formação de um pequeno halo de inibição quase imperceptível, mas presente, supondo-se que esta ação seja decorrente do uso de conservantes, umectantes e surfactantes, sobre alguns microorganismos gram positivos (REBELLO, 2001). Também, segundo observações de CAVALCANTE; MIRANDA; ROCCA (1986), na avaliação de nove marcas comerciais de dentifrícios, frente aos microorganismos *S. sanguis*, *S. mutans*, *C. albicans* e *Bacillus subtilis*, na ausência de princípios ativos específicos com propriedades antimicrobianas, verificou-se que ocorreu a formação de discreto halo de inibição, atribuindo esta propriedade à presença dos conservantes na formulação.

Este método de avaliação da atividade antimicrobiana foi o passo inicial para a confirmação da eficácia da associação dos extratos de *C. officinalis* e *C. sylvestris* na formulação do dentifrício proposta, mostrando vantagens terapêuticas sobre a utilização dos extratos fluidos utilizados isoladamente.

7. CONCLUSÕES

A determinação do teor de flavonóides nas drogas e nos extratos fluidos auxiliou na averiguação da qualidade e monitorando, fatores essenciais à obtenção de produtos eficazes. Verificou-se a necessidade de determinar padrões para a *C. officinalis* cultivada localmente.

A aplicação de uma metodologia para determinação de um novo marcador químico ampliou as possibilidades de análise das amostras de *C. sylvestris*.

O processo de seleção de matérias-primas para composição de uma formulação farmacêutica para uso oral requer conhecimentos detalhados, evitando-se assim problemas de incompatibilidades e restrições legislativas.

A inclusão dos extratos fluidos não alterou de forma significativa as características físico-químicas da formulação.

A formulação apresentou estabilidade satisfatória nos parâmetros analisados.

O aparecimento de zona clara de inibição ao redor da preparação indica atividade inibitória bacteriostática e fungistática, mostrando as excelentes propriedades da associação dos extratos fluidos contra microorganismos periodontopatogênicos.

Na continuidade, para confirmação da eficácia do produto, propõe-se a realização de testes para a determinação da concentração mínima inibitória e regressão linear destas formulações frente a extratos fluidos de *C. officinalis* e *C. sylvestris*.

Em função dos resultados apresentados, abrem-se perspectivas e novas propostas para continuidade dessas pesquisas, visando a realização de ensaios toxicológicos e de abrasividade para uma aplicação efetiva mais e segura do dentifício.

REFERÊNCIAS

ABO, Associação Brasileira de Odontologia, norma nº 1 dentifrício, 1999.

AKIHISA, T. et al. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6 p. 1255-1260, 1996.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, CNNPA nº 44 de 24 de Fevereiro de 1978.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 2 de 27/02/1980.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 35 de 11/10/1990.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 17 de 24/02/2000.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 79 de 28/08/2000.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 162 de 11/09/2001.

ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann. Periodontol.**, n. 1, v. 4, p. 1-6, 1999.

BAAKILINI, M. F.; PANZERI, E. LARA, E. H. G. Adição de agentes terapêuticos a dentifrícios com abrasividades diferentes e avaliação das suas características reológicas. **Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo**, v. 3 n. 2, p. 97-101, 1997.

BACHRACH, E.; TOTMAN, L. California removes saccharin from proposition 65 list. **Executive Newsletter**, California, 13 april, 2001.

BARBOSA, A. D. ; FERREIRA, R. C. V.; VALENTE, P. H. Atividade antimicrobiana de extratos fluidos de plantas medicinais brasileiras, **Lecta-USF**, v. 12, n. 2, p. 153-163, 1994.

BASILE, A. C.; SERTIÉ, J. A. A.; PANIZZA, S. ; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C. A. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*: preventive anti-ulcer activity and toxicity of de leaf crude extract. **J. Ethnopharmacol.**, v. 30, p. 185-197, 1990.

BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. 17. ed. São Paulo: Melhoramentos, p. 23-27, 1976.

BLINKHORN, A. S.; CLARKSON, J.E. The International scientific assembly on the comparative anticaries efficacy of fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices. **Am. J. Dental**, v. 6, p. 112-116, 1993.

BOGUSLAW, W. Subcelular distribution of free and ester bound triterpene triols in *C. officinalis* flowers. **Phytochemistry**, v. 25, n. 11, p. 2667-2668, 1986.

BREVIK, T. et al. Emotional stress effects on imunity, gingivits and periodontitis. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 104, n. 4 , p. 327-334, 1996.

BRITISH Herbal Pharmacopoeia, London: Great Britain, p. 126-127, 1996.

BUFFON, M. C. M. et al. Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva silvestris*, *Calendula officinalis*, *Plantago major*, *Curcuma zedoarea* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo in vitro. **Visão Acadêmica**, n. 2 , 2001.

BURNETT, G. W.; SCHERP, B.S.; SCHUSTER, G. S. **Microbiologia oral e doenças infecciosas**. 4. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, p. 214-222, 1991.

CABOT. **Fabricação, propriedades e funções da sílica pirogênica Cab-O-Sil**. São Paulo, 2000. Catálogo.

CALFIELD, P. W.; NAVIA J. M. **Agentes antimicrobianos na profilaxia das cáries. Bases biológicas**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, p. 340-367, 1984.

CASTRO, A. L.; MORAES, N. P.; FURUSE, T. A. **Estomatologia**. 2. ed. São Paulo: Ed. Santos, p. 115-123, 1995.

COIMBRA, R. **Notas de fitoterapia**. Rio de Janeiro: Laboratório Clínico Silva Araújo, p. 137, 1942.

CAMARGO, F. G. et al. Uso de extrato fluido de guaçatonga (*C. silvestris*) topicamente em lesões de estomatite herpética. **Lecta-USF**, v. 11, n. 1, p. 121-127, 1993.

CAMARGO, F. G. et al. Ação do extrato alcoólico de guaçatonga (*C. silvestris*) em subcutâneo de camundongo – Parte I. Estudo Histológico. **Lecta-USF**, v. 13, n. 12, p. 47-68, 1995.

CAMARGO, M. T. L. A. **Medicina popular**. São Paulo: Tecnopress. p. 81, 1985.

CARBOPOL, **Resinas hidrosolúveis**. Cleveland. Catálogo. GC-67S.

CAVALCANTI, A. J.; MIRANDA, V. C.; ROCCA, R. A. Ação antimicrobiana de pastas dentífricas contendo ou não fluoretos. **Rev. Odont. Rio Grande do Sul**, v. 34, n. 5, p. 366-70, 1986.

CHALCHAT, J. C. et al. Chemical composition of essential oil of *C. officinalis*. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 6, p. 189-192, 1991.

COLGATE-PALMOLIVE COMPANY, Gorlin, et al, **Oral composition containing an anionic, a nonionic and an amphoteric surfactant system**. Int. A 61K 007/16.U.S. n. 5,833,956. 02 April 1997.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 3, p. 514-516, 1984.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification on of flowering plants**. 2. ed. New York: The New York, Botanical Garden, 1988, 555p.

CUBAS, M. R. **Revisão bibliográfica sobre a *Calendula officinalis* L.** Curitiba, 1990. 31 p. Monografia (Especialização em Fitofarmacos e Fitoterapia) - Escola de Saúde Pública do Paraná – Fundação Caetano Munhoz da Rocha.

DAWSON, H. et al . Dental stain by abrasive toothpastes: A new in vitro test and its correlation with clinical observation. **J. Cosmet. Sci.**, v. 49, p. 275-283, 1998.

DELLA LOGGIA, R. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. **Planta Med.**, v. 60, p. 516-520, 1994.

DRAKE, D. Antibacterial activity of baking soda. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 17, p. 17-21, 1996.

FARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. 2. ed. São Paulo: Siqueira, p. 449, 1959.

FARMACOPEIA brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, p. 4. 2. 9., 1988.

FETROW, C. W. et al. **The complete guide herbal medicines**. Springhouse: Springhouse Corporation, p. 311, 1999.

GARCIA, A. A. **Fitoterapia vademecum de prescription**. 3. ed. Barcelona: Masson Press, p. 127-128, 2000.

GARCIA, B. B. et al. Gengivite de origem inflamatória e terapêutica homeopática. **Pesq. Homeopática**, v. 13, n. 2, p. 56-77, 1998.

GILG, E.; BRANDT, W.; SCURHOFF, P. N. **Farmacognosia matéria farmacêutica vegetal y animal**. 2. ed. Barcelona: Labor, 1942.

GLASBY, J. S. **Dictionary of plants containing secondary metabolites**. New York: Taylor & Francis, p. 59- 67, 1991.

GRACZA, L. Oxygen-containing terpene derivatives from *Calendula officinalis*. **Planta Med.**, v. 53, p. 227, 1987.

GUGGENHEIM, B.; LUTZ, F.; SCHMID R. Caries and plaque inhibition in rats by five topically applied dentifrices. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 105, p. 258-263, 1997.

HARRY, R. G. **Harry's cosmetology**. 7. ed. London: Leonard Hill, p. 608-625, 1989.

HENKEL. **Una nueva generación de tensoactivos**. Dusseldorf, 1993. Catálogo .

HERLOFSON, B. B.; BARKOVOLL, P. The effect of toothpaste detergents in the frequency recurrent aphthous ulcers. **Acta Odontol. Scand.**, v. 54 , n. 3, p. 150-3, 1996.

HERLOFSON, B. B.; BRODIN, P.; AARS, H. Increased human gingival blood flow induced by sodium lauryl sulfate. **J. Periodontol.**, v. 23, n. 11, p. 1004-7, 1996.

HIDAKA, S.; ABE, K. The effects of sodium lauryl sulphate and its oxidative breakdown products on calcium phosphate precipitation and transformation. **Arch. Oral Biol.**, v. 37, n. 3, p. 159-65, 1992.

HOEHNE, F. C.; KUHLMANN, M.; HANDRO, O. **Jardim botânico de São Paulo**. São Paulo: Secretaria da Agricultura, p. 518, 1941.

HOEHNE, F. C. **Plantas e substâncias tóxicas e medicinais**. São Paulo: Departamento de Botânica, p. 359, 1978.

ITIC, J.; SERFATY, R. The effects of parodontax subgingival irrigation following non surgical therapy. **J. Clin. de Odont.**, p. 38-40, 1988.

ITOKAWA, H. et al. New antitumor principles casearins A-F, for *Casearia sylvestris* Sw (Flacourtiaceae). **Chem. Pharm. Bull.**, v. 38, n. 2, p. 3384-88, 1990.

JASZCZERSKI, J. C. **Flacourtiaceae DC. do Estado do Paraná**. Curitiba, 1987. 187 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade Federal do Paraná.

JORGE, A. O. C. **Microbiologia bucal**. São Paulo: Santos, p. 1-92, 1995.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Nacional, p. 628-630, 1979.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 11. ed. São Paulo: Nacional, 1993, 777p.

JUNGES, M. J.; SCHENKEL, E. P.; SIMOES, C. M. O. Os flavonóides da *Casearia sylvestris* Swartz, Flacourtiaceae (erva de bugre). **Cad. Farm.**, v. 1, n. 2, p. 95-101, 1985.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (MARCELA)**. 1991, 228p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciência Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

KASPRZYK, Z.; PYREK, J. Triterpenic alcohols of *Calendula officinalis* L. Flowers. **Phytochemistry**, v. 7, p. 1631-1639, 1968.

KASPRZYK, Z. et al. The variation in the content of triterpenoids in the developing flowers of *C. officinalis*. **Acta Biochim. Pol.**, v. 17, n. 4, p. 253-258, 1970.

KOO, H. **Avaliação do potencial anti-cárie e antiplaca de própolis de *Apis mellifera* selecionadas de duas regiões do Brasil**. Piracicaba, 1999. 117p. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

LABA, D. **Reological properties of cosmetics and toiletries**. New York: Marcel Dekker, p. 247-273, 1993.

LARA E. H. G.; NUNES, J.; PANZERI, H. Aspectos gerais dos dentifrícios infantis. **Cosmet. Toiletries**. v. 5, p. 34-38, 1993.

LARA, E. H. G.; PANZERI, H. Estudo da abrasividade de formulações básicas de dentifrícios. **Rev. de Cienc. Farm.**, v. 19, n. 2, p. 207-224, 1998.

LARA, E. H. G.; PANZERI, H. **Manipulação de produtos odontológicos** – VIII Encontro de Farmacêuticos e Bioquímicos, 1999, 25p.

LEHNER, T. **Imunologia das doenças da boca**. 3. ed, São Paulo: Santos, p. 49-53, 1996.

LUZ, S. F. B. **Teste de estabilidade do gel contendo extrato fluido de *Casearia sylvestris* Swatz (guaçatonga)**. Curitiba, 1996. 30p. Monografia (Especialização em Ciências Farmacêuticas - Produtos Naturais) – Setor de Ciências da Saúde Universidade Federal do Paraná.

LUZ, S. F. B. et al. Parâmetros para o controle da qualidade de folhas de *C. sylvestris* Sw. – Guaçatonga. **Rev. Bras. de farmacognosia**, v. 7/8, n. 1/2, p. 1-9, 1998.

MABEY, R. **The complete new herbal**. London: Pequim Books, p. 46, 1991.

MANUAL DE SANEANTES. Fundação Instituto Osvaldo Cruz / Instituto Nacional de Controle de Qualidade de Saneantes. Rio de Janeiro, 1992.

MEDEIROS, U. V.; COIMBRA M. E. R. Estudo experimental da concentração de flúor solúvel presente em dentifrícios encontrados no mercado. **Rev. Bras. de Odontol.**, v. 57, p. 42-49, 2000.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, v. 2, p. 76-79, 1957.

MILLS, S.; BONE, K. **Principles of phytoterapy modern herbal medicine**. Toronto: Livingstone , p. 113, 134-142, 163, 180, 2000.

MORITA, H. et al. Structures and cytotoxic activity relationship of casearin, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 39, n. 3, p. 693-697, 1991.

MULLALLY, B. H. et al. The efficacy of a herbal based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 22, n. 9, p. 686-689, 1995.

NETO, J. J. et al. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *C. officinalis* e/ou com *Stryphnodendron barbatiman* (Velloso) Martius. **Rev. Ciênc. Farm.**, v. 17, p. 181-186, 1996.

NEVES, M. I. R. Candidíase oral x Aids. **Medcenter**, 2000 disponível <http://www.odontologia.com.br/artigos.asp?id-100&ler-s> Acesso em: 17 dez. 2000.

NEWALL, C. A; ANDERSON, L. A. PHILLIPSON, J. D. **Herbal medicines a guide for health care professionals**. London: The Pharmaceutical Press, p. 58-9, 1996.

NEWBRUN, E. **Cariologia**. 2. ed. São Paulo: Santos, p. 17-154, 1990.

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

OSAWA, K. et al. Investigation of diterpenes from the leaves of *Rabdosia trichocarpa* and their antibacterial activity against oral microorganisms. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 42, p. 922-925, 1994.

PADER, M. **Oral Higiene Products and Practice**. 1. ed. New York: Marcel Dekker, p. 419-487, 1988.

PANZERI, H. et al. Avaliação de dentifrícios I parte – Consistência, densidade, pH vida útil e perda de água. **Odontologo Mod.**, fev., p. 4-12, 1979.

PANZERI, H. et al. Avaliação de dentifrícios. III parte – Desgaste provocado por escovação in vitro. **Odontologo Mod.**, fev., p. 26-33, 1979.

PAPANOU, P. N. Periodontal diseases: Epidemiology. **Ann. Periodontol.**, v. 71, p. 867-869, 1996.

PARK, Y. K. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current. Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 24-28, 1998.

PARK, Y. K. et al. Effects of propolis on *S. mutans*, *Actinomyces naeslundii* and *Staphylococcus aureus*. **Revista de Microbiologia**, v. 29, n. 2, p. 143-148, 1998.

PDR For Herbal Medicines 2000. 2. ed. New Jersey: Medical Economics Company, p. 497-499, 2000.

PEDRAZZI, V.; LARA, E. H. G.; PANZERI, H. Sílica em dentifrícios: Aspectos físicos e físicos-químicos. **Cosmet.Toiletries**, v. 11, p. 66-69, 1999.

PHARMACOPOEA Helvetica VII. 7. ed. Bern: Department Federal de L' Interieur, 1992, 1995.

PELCZAR, M. J. J. et al. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron, p. 32-40, 1997.

PETRI, H. M. **Seminário de viscosimetria e reologia**. Curitiba, 2000, 34p.

POSSOLO, H.; FERREIRA, C. Saponinas e outros compostos interessantes na família das Flacourtiaceae. **An. Fac. Farm. Odont. Univ.**, v. 7, p. 377-385, 1949.

PRISTA, L. N.; ALVES A. C.; MORGADO, A. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1992.

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

REBELLO, T. F. S. Tensoativos com ação antimicrobiana. **Cosmet. Toiletries**, v. 13, p. 38, 2001.

RENGGLI, H. The effect of parodontax mouthwash and its constituents on the microorganisms of subgingival plaque. **J. Clin. Dent.**, Suppl A, p. 30-33, 1988.

RODRIGUES, M. et al. Avaliação da atividade do óleo essencial de *Casaria sylvestris* Sw. sobre modelos de animais estimulados com veneno de *Bothropos alternatus*. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 3, 1997, Araraquara, **Anais**. Universidade Estadual de São Paulo, p. 110-111, 1997.

RUPPELT, B. M. et al. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom. I. Analgesic and antiinflammatory activities. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 86, p. 203-205, 1991.

SATO, M. E. O. **Estudo da estabilidade de uma formulação na forma gel, veiculando extrato fluido de *C. sylvestris***. São Paulo, 1998. 180p. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

SAXER, U.; JASCHOUZ, V.; LEY, F. The effect of periodontal gingival bleeding. **J. Clin. Dent.**, v. 5, n. 2, p. 63-64, 1994.

SAXER, U. et al. The effect of two tootpaste on plaque and gingival inflamation. **J. Clin. Dent.**, v. 6, n. 2, p. 154-6, 1995.

SCAVONE, A. C. et al. Guaçatonga (*C. sylvestris*): aspectos botânicos da planta, ensaios fitoquímicos e propriedade cicatrizante da folha. **An. Farm. Quím.**, v. 19, n. 1, p. 73-81, 1979.

SHAFER, W. G.; HINE, M. K.; LEVY, M. B. **Patologia bucal**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, p. 269-315, 1979.

SILVA A. M.; NEWMAN H. N.; OAKLEY D. A. Psychosocial factor in inflamatory periodontal diseases. A review. **J. Clin. Periodontol.**, v. 22, p. 516-526, 1995.

SILVA, F. A.; SILVA, E. S.; APOLINÁRIO. Análise toxicológica da *Casearia sylvestris* em animais de experimentação. In: **Encontro Anual de Ciências Fisiológicas**. Rio Grande do Sul, p. 54, 1982.

SILVA, G. A. A. B.; BAUER, L. Análise do óleo essencial de *Casearia sylvestris* Sw. **Rev. Bras. Farm.**, v. 6, p. 328-331, 1970.

SILVA, R. A. D. **Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. 1. ed. São Paulo: Nacional, 1929.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**, Porto Alegre: Ed. da Universidade, p. 64, 1986.

SIMÕES, C. M. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Universal, p. 70-89, 113-147, 2000.

SOUZA, G. H. B. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de plantas utilizadas na medicina popular brasileira. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS. 3, 1997, Araraquara, **Anais**. Universidade Estadual de São Paulo, p. 92-93.

SPRING, C. **O uso da *Casearia silvestris* no tratamento da gengivite crônica, na cidade de Joinville-SC**. Itajaí, 1997, 32p. Monografia-Curso de Especialização em Farmácia de Manipulação – UNIVALI.

TORRES R. B.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* (Flacortiaceae) no Estado de São Paulo. **Rev. Bras. de Bot.**, v .9, p. 239-258, 1986.

TRABULSI L. R. et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Ateneu, p. 413-415, 150-155, 1999.

VIDAL, O. E. et al. Identification and determination using high performance liquid chromatography of six saponosideos em flores de *C. officinalis*. **Chemical Abstract**, v. 111, p. 400, 1989.

VIEIRA, S. **Introdução a bio-estatística**. 5. ed., Rio de Janeiro: Campus, p. 39-50, 1991.

YAMAMOTO, M. M. ***Casearia silvestris* Sw.: Aspectos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos**. Curitiba, 1995, 54p. Monografia (Especialização em Ciências Farmacêuticas - Produtos Naturais) – Setor de Ciências da Saúde Universidade Federal do Paraná.

YANKELL, S. L.; EMLING, R. C.; PERES, B. Two month evaluation of parodontax dentifrices. **J. Clin. Dent.**, Suppl A, p. 41-43, 1988.

YANKELL, S. L.; EMLING, R. C. The comparative clinical evaluation of evernigh plaque trials with parodontax and Crest. **J. Clin. Dent.**, Suppl A, p. 21-31, 1988.

YANKELL, S. L.; EMLING, R. C.; PEREZ, B. Six month evaluation of parodontax dentifrice compared to a placebo dentifrice. **J. Clin. Dent.**, v. 4, n. 1, p. 26-30, 1993.

WADE, A.; WELLER, P. J. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 2. ed. London: Pharmaceutical Press London, p. 78-81, 204-6, 304-5, 310-13, 355-61, 407-8, 418-9, 477-80, 1994.

WILKOMIRSKI, B. Pentacyclic triterpene triols from *Calendula officinalis* flowers. **Phytochemistry**, v. 24, p. 3066-3067, 1985.