



RODERNA

rama de Pós-Graduação em Engenharia
Recursos Naturais da Amazônia



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA

METODOLOGIA DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE
BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* COM O USO DE
TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA

ANDRÉIA DE FÁTIMA SOUZA ARAÚJO



METODOLOGIA DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* COM O USO DE TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA

Andréia de Fátima Souza Araújo

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, PRODERNA/ITEC, da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutora em Engenharia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior

Belém
Julho/2025

METODOLOGIA DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À
BASE DE *Acmella oleracea* COM O USO DE TECNOLOGIA
SUPERCRÍTICA

Andréia de Fátima Souza Araújo

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA (PRODERNA/ITEC) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORA EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS.

Aprovada por:

Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Júnior
PRODERNA/ITEC/UFPA - ORIENTADOR

Prof. Dr. Nélcio Teixeira Machado
(PRODERNA/ITEC/UFPA)

Prof. Rafael Henrique Holanda Pinto
Instituto Federal do Amapá (IFAP)

Prof. Dr. Eduardo Gama Ortiz Menezes
Instituto federal de Rondônia (IFRO).

Prof. Dr. José Thiers Carneiro Junior
Programa de pós-graduação em odontologia (PPGO/UFPA)

BELÉM, PA – BRASIL
JULHO DE 2025

1
2
3
4
5
6



ATA DA 169ª SESSÃO DE APRESENTAÇÃO E DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA.

1 Ata da 169ª sessão de apresentação e defesa de tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação
2 em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia para a concessão do Grau de Doutor em Engenharia
3 de Recursos Naturais na área de Uso e Transformação de Recursos Naturais, realizada às nove horas
4 do dia quatro de julho de dois mil e vinte e cinco, via videoconferência. A tese de doutorado intitulada
5 “MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* COM O USO DE
6 TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA”, foi apresentada durante __50__ minutos pela candidata **Andréia de**
7 **Fátima Souza Araújo** diante da banca examinadora aprovada pelo colegiado do Programa de Pós-
8 Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia do Instituto de Tecnologia da
9 Universidade Federal do Pará, assim constituída: **Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Júnior (Orientador**
10 **– PRODERNA/UFPA); Prof. Dr. Jose Thiers Carneiro Junior (Membro Externo – PPGO/UFPA); Prof. Dr.**
11 **Nélio Teixeira Machado (Membro Interno – PRODERNA/UFPA); Prof. Dr. Eduardo Gama Ortiz**
12 **Menezes (Membro Externo à Instituição – IFRO) e Prof. Dr. Rafael Henrique Holanda Pinto (Membro**
13 **Externo à Instituição – IFAP).** Em seguida, a candidata foi arguida oralmente pelos membros da banca
14 demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema objeto da tese,
15 favorecendo a banca examinadora a apresentar contribuições para tese e decidir pela aprovação da
16 mesma, e conceder o prazo máximo de um mês (30 dias) para serem incorporadas as sugestões
17 propostas pela banca. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos
18 integrantes da banca examinadora e pela candidata.

Belém, 04 de julho de 2025.

PRESIDENTE: _____

1. Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior

MEMBROS: _____

Prof. Dr. Nelio Teixeira Machado

Prof. Dr. Eduardo Gama Ortiz Menezes

CANDIDATA: _____

Andréia de Fátima Souza Araújo

“O rio atinge seus objetivos, porque aprendeu a contornar obstáculos”.

LAO TZU

AGRADECIMENTOS

“Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, Aos meus pais, irmãos, meu esposo Francisco de araujo silva Neto, meu filho Felipe de Sousa Araujo a e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao prodera Ufpa, ao meu maravilhoso orientador Raul Carvalho Junior e às pessoas com quem convivi nesses espaços ao longo desses anos. A experiência de uma produção compartilhada na comunhão com amigos nesses espaços foram a melhor experiência da minha formação acadêmica.”

Tese apresentada ao PRODERNA/UFGA como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutora em Ciências (D.Sc.)

METODOLOGIA DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE
Acmella oleracea COM O USO DE TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA

Andréia de Fátima Souza Araújo

Julho/2025

Orientador: Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior

Área de concentração: Engenharia de recurso naturais da Amazônia

A *Acmella oleracea* é uma planta medicinal da Amazônia, popularmente conhecida como jambu, foi utilizada nesta tese como matéria prima para o desenvolvimento de um produto destinado à saúde bucal ainda pouco relatado na literatura e em publicações científicas e de propriedade intelectual. A forma farmacêutica líquida denominada como enxaguante bucal é um modo de administração terapêutico destinado a manter um biofilme compatível com a saúde oral. Extratos ricos em espilantol apresentam propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas. A tese destaca a utilização de um processo de extração com fluido supercrítico para obter extratos de *Acmella oleracea* com grau de pureza elevado através de um processo de produção eficiente e sustentável. Diante disso, o presente trabalho compreende a elaboração de um enxaguante bucal derivado de uma planta do bioma amazônico como uma alternativa terapêutica de baixo custo através do processo de tecnologia supercrítica, apresentando uma solução sustentável e eficaz

para os cuidados orais, destacando-se pelas suas vantagens terapêuticas significativas já destacadas na literatura científica como, atividades antimicrobiana, antibióticas e analgésicas, em relação aos produtos disponíveis no mercado.

Palavras-chave: Extrato vegetal, CO₂ supercrítico, Espilantol, Odontologia, Saúde bucal.

Abstract of Thesis presented to PRODERNA/UFPA as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

METHODOLOGY FOR PREPARING MOUTHWASH BASED ON *Acmella oleracea* USING SUPERCRITICAL TECHNOLOGY

Andréia de Fátima Souza Araújo

July/2025

Advisor: Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior

Research area: Amazon Natural Resource Engineering

Acmella oleracea is a medicinal plant from the Amazon, popularly known as jambu. It was used in this thesis as a raw material for the development of a product for oral health that has not been widely reported in the literature and in scientific and intellectual property publications. The liquid pharmaceutical form known as mouthwash is a therapeutic method of administration designed to maintain a biofilm compatible with oral health. Extracts rich in spilanthol have antimicrobial, anti-inflammatory and analgesic properties. The thesis highlights the use of a supercritical fluid extraction process to obtain *Acmella oleracea* extracts with a high degree of purity through an efficient and sustainable production process. In view of this, the present work involves the development of a mouthwash derived from a plant from the Amazon biome as a low-cost therapeutic alternative through the supercritical technology process, presenting a sustainable and effective solution for oral care, standing out for its significant therapeutic advantages already highlighted in the scientific literature, such as antimicrobial, antibiotic and analgesic activities, in relation to products available on the market.

Keywords: Plant extract, Supercritical CO₂, Espilanthol, Dentistry, Oral health.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO	12
1.1 JUSTIFICATIVA	14
1.2 OBJETIVOS DA PESQUISA	14
1.2.1 Objetivo geral.....	14
1.2.2 Objetivos específicos.....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 <i>Acmella oleracea</i>	16
2.1.1 Extratos ricos em Espilantol	17
2.2 Biotecnologia	18
2.3 OBTENÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS ATRAVES DA EXTRAÇÃO SUPERCRTICA	21
2.4 DADOS ATUAIS DE QUADRO DE DOENÇAS BUCAIS	23
3 METODOLOGIA	25
3.1 Processamento e Caracterização da matéria prima	25
3.1.1 Obtenção do material <i>in natura</i>	25
3.1.2 Pré-tratamento da matéria prima <i>in natura</i>	25
3.1.3 Extração por fluido supercrítico.....	25
3.1.4 Ensaio de Citotoxicidade <i>in vitro</i> para estimar a dose inicial para ensaios de toxicidade sistêmica oral aguda.....	26
3.1.5 Elaboração da formulação	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Obtenção do extrato de <i>Acmella oleracea</i>	30
4.2 Produção do enxaguante bucal a base de <i>acmella oleracea</i>	31
4.3 ANALISE DE CITOTOXIDADE DO ENXAGUANTE BUCAL A BASE DE <i>Acmella oleracea</i>	32
5. CONCLUSÃO	35

SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	37
REFERÊNCIAS	38
ANEXO I - RESUMO	45
ANEXO II - MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE <i>Acmella oleracea</i> COM O USO DE TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA	46
Fundamentos da invenção	47
Exemplos de concretizações da invenção	48
ANEXO III - REIVINDICAÇÕES.....	52
ANEXO IV - INFORMAÇÕES PARA PEDIDO DE DEPÓSITO DE PATENTES, REGISTRO DE MARCA, DESENHO INDUSTRIAL	54
ANEXO V - CESSÃO DE DIREITOS.....	54
ANEXO VI - PEDIDO DE INVENÇÃO, MODELO DE UTILIDADE, CERTIFICADO DE ADIÇÃO DE INVENÇÃO E ENTRADA DE FASE NACIONAL DO PCT	57
ANEXO VII - PATRIMÔNIO GENÉTICO	58

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Foto das folhas e das fluorescências da <i>Acmella oleracea</i>	12
Figura 2: Estrutura molecular do Espilantol.....	13
Figura 3: Diagrama de fases P-T de uma substancia pura.....	15
Tabela 1: Valores comparativos de propriedades físico-químicas entre gases e líquidos e os fluidos supercríticos.....	16
Tabela 1: Valores comparativos de propriedades físico-químicas entre gases e líquidos e os fluidos supercríticos.....	24
Figura 5: Extrato de <i>Acmella oleracea</i> obtido por extração supercrítica.....	27
Figura 6: Enxaguante bucal à base de <i>Acmella oleracea</i>	28
Figura 7: Gráfico representativo da curva de viabilidade celular nas diferentes concentrações do Enxaguante bucal a base de <i>Acmella oleracea</i>	28
Tabela 2: Resultado da Analise de Citotoxicidade – IC ₅₀ e DL50.....	29
Figura 8: Gráfico representativo da curva de viabilidade celular nas diferentes concentrações do Lauril Sulfato de Sódio.....	29

1. INTRODUÇÃO

A *Acmella oleracea* L também conhecida como agrião-do-pará, jambu-açu ou simplesmente jambu é uma hortaliça pertencente a família *Asteraceae* e do gênero *Acmella*, (Gusmão e Gusmão, 2013), esta planta é amplamente cultivada e utilizada na culinária, principalmente na região norte do Brasil (Oliveira *et al.*, 2023; Borges *et al.*, 2021). Uma de suas principais características é que quando suas folhas e inflorescências são consumidas, causam uma sensação de formigamento e entorpecimento na mucosa oral (Homma *et al.*, 2014).

A planta *Acmella oleracea*, também possui outras utilizações bem específicas, como a utilização da mesma na medicina popular, sendo destaque na literatura como insumo das indústrias farmacêuticas para produção de fitoterápicos (Borges, *et al.*, 2021), já que possui grande ação antibacteriana, anti-inflamatória e analgésicas (Freitas-Blanco *et al.*, 2018).

As atividades biológicas de *Acmella oleracea* foram investigadas em diversos experimentos. Seus extratos apresentaram atividades terapêuticas especiais, sendo motivo de pesquisa na literatura nos grandes centros de pesquisa voltada para biotecnologia e essas atividades podem ser atribuídas aos flavonoides e β -sitosterol (Sadavongvivad e Supavilai, 1977).

A crescente demanda por suplementos contendo compostos bioativos capazes de regular, diversos processos fisiológicos têm impulsionado a busca por substâncias com essas propriedades, como o espilantol, presente na composição química da *Acmella oleracea*. Para obtenção deste, diversas técnicas de extração vêm sendo utilizadas no intuito de se obter a substância isolada de maneira otimizada, no entanto, por não se tratar de um composto comercialmente disponível, tornou-se necessário desenvolver e estudar metodologias otimizadas para sua obtenção. (Fiori *et al.*, 2014).

Dentre as técnicas utilizadas, a extração com dióxido de carbono supercrítico vem se destacando, uma vez que mostrou alta seletividade para o espilantol, apresentando rendimento acima de 50% da substância no extrato e resultando em uma pureza acima de 90% do composto isolado (Cavalcanti, 2008; Santos, 2021).

A extração por fluido supercrítico é um método não convencional, moderno e eficaz, pois obtém resultados superiores como obtenção de extratos livres de solventes orgânicos e diminuição de geração de resíduos se tornando rota alternativa sustentável quando comparados a técnicas convencionais de extração. Conseguindo pureza e concentrações de compostos ricos em bioativos de interesse. (Santos, 2021).

O uso do extrato de *Acmella oleracea*, extraído com tecnologia supercrítica, oferece benefícios terapêuticos abrangentes, incluindo efeitos antimicrobianos, antibióticos, analgésicos e anestésicos, comprovados pela literatura científica atual (Paulraj, Govindarajan, Palpu., 2013).

Os enxaguantes bucais, também denominados como antissépticos bucais ou colutórios, são reconhecidamente produtos de fácil prescrição, administração e aceitação. Possuem ação rápida e local, e quando utilizados corretamente, não oferecem risco de engasgamento ou sufocamento. Além disso, apresentam alta estabilidade e biodisponibilidade (De Oliveira Severo, Bittencout e França, 2023).

A utilização excessiva de enxaguantes bucais como método preventivo no combate à cárie e às doenças gengivais tem levado a uma crescente demanda por informações sobre esses agentes na odontologia (Andrade *et al.*, 2011).

A junção do espilantol *Acmella oleracea* com potencial aplicação juntamente com enxaguante para a remissão de lesões de na mucosa oral é uma promissora alternativa terapêutica de baixo custo, com efeito anti-inflamatório, antibacteriano e analgésico, visto

que essa espécie da natureza tem se mostrado eficaz nas suas propriedades medicinais e atenção a seu estudo e pesquisa (Barbosa *et al.*, 2016; Lorenzi e Matos, 2008)

A presente tese trata da produção de um novo enxaguante bucal utilizando extrato de *Acmella oleracea*, obtido através de fluido supercrítico, uma tecnologia moderna e inovadora, visando oferecer uma alternativa terapêutica de baixo custo para a indústria farmacêutica, com efeito de manutenção do biofilme compatível com a saúde bucal utilizando insumo natural da Amazônia (Moreira *et al.*, 2009).

1.1 JUSTIFICATIVA

Considerando o aumento significativo de pacientes com dificuldades na higienização bucal e no controle da placa dental, este projeto propõe o desenvolvimento de uma alternativa terapêutica acessível e eficaz. Para isso, será formulado um enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea*, cujos extratos, obtidos por tecnologia de extração supercrítica, são provenientes do bioma amazônico. Essa proposta visa não apenas promover a saúde oral, mas também valorizar os recursos naturais da região, oferecendo uma solução inovadora, sustentável e alinhada às práticas de biotecnologia verde.

1.2 OBJETIVOS DA PESQUISA

1.2.1 Objetivo geral

Obter extratos ricos em espilantol por meio da tecnologia supercrítica, visando desenvolver um enxaguante bucal com propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e analgésicas. O produto deverá ser eficaz no controle da placa bacteriana e na prevenção da gengivite, mantendo um biofilme compatível com a saúde oral.

1.2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato de *Acmella oleracea* por meio de extração supercrítica.
- Determinar a citotoxicidade do extrato obtido;
- Desenvolver um enxaguante bucal, a partir dos extratos obtidos com ação anti-inflamatória;
- Produzir o enxaguante bucal, a partir dos extratos obtidos com ação anti-inflamatória;
- Realizar o registro de patente do enxaguante bucal desenvolvido.
- Avaliar a segurança do enxaguante bucal investigacional e a aceitabilidade na mucosa oral durante o uso.
- Verificar a ocorrência de desconfortos ou reações irritativas/alergênicas decorrentes do uso do produto investigacional.
- Determinar o potencial citotóxico in vitro do produto investigacional para estimar a dose inicial para testes de toxicidade aguda oral sistêmica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Acmella oleracea*

A *Acmella oleracea* (L.) R.K., popularmente conhecida como jambu, agrião-do-pará, jambu-açu ou simplesmente jambu é uma hortaliça pertencente a família *Asteraceae* e do gênero *Acmella*, mas também podem ser encontrada em classificações anteriores como *Spilanthes oleracea* L. e *Spilanthes acmella* L (Gusmão e Gusmão, 2013), é uma espécie amplamente usada na culinária de diversas regiões do país, principalmente na região norte, além de fazer parte de diversos pratos da cozinha nortista ela também é usada na medicina popular, no combate a dores de dente, de garganta, agindo até contra tuberculose e anemia [1](Lim, 2014).

A planta, figura 1, possui folhas simples, opostas, 5,5-10,5 cm de comprimento por 4,0-7,9 cm de largura, curtamente pecioladas, limbo oval, base simétrica e truncada, ápice agudo, margem sinuosa, nervação peninérvea, folhas concolores, consistência membranácea, superfície pubescente e ondulada, pecíolo lateral e de aspecto achatado.

Figura 1: Foto das folhas e das fluorescências da *Acmella oleracea*



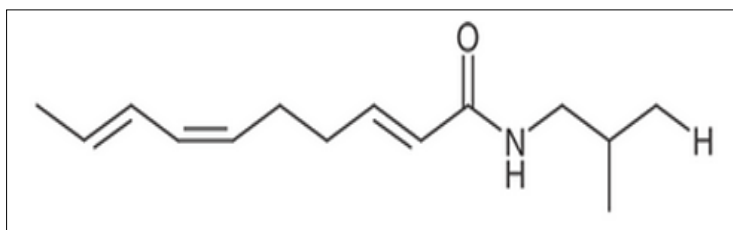
Fonte: Acervo pessoal (2024)

Por possuir diversos composto biotivos em sua composição, como compostos fenólicos, terpenos e algumas alquilamidas (Ramsewak *et al.*, 1999; Jirovetz *et al.*, 2005;

Prachayasittikul *et al.*, 2013; Nascimento *et al.*, 2013), a planta esta despertando interesse da comunidade científica, para desenvolvimento de insumo que podem ser utilizados na industria de fármacos.

Dentre seus compostos bioativos presentes na planta, podemos dar destaque ao espilantol (N-Isobutil-2E,6Z,8E-decatrienamida) (Figura 2), uma importante alquilamida com propriedades farmacológicas já comprovadas em outros estudos científicos, tais como analgésica, anti-inflamatória, diurética, antipirética [3](Blanco, 2018), dentre outras. Além de ter sido considerado seguro seu consumo pela Associação dos Fabricantes de Extratos e Flavorizantes (FEMA – Flavor and Extract Manufactures Association) e pela Autoridade Européia para a Segurança dos Alimentos (EFSA – European Food Safety Authority) [4][5] (Fema, 2000; EFSA, 2015).

Figura 2: Estrutura molecular do Espilantol



Fonte: Freitas-Blanco *et al.*, 2018.

2.1.1 Extratos ricos em Espilantol

Os extratos etanólicos obtidos das inflorescências de *Acmella oleracea* são amplamente estudados para a obtenção de espilantol em larga escala, com foco em otimizar tanto o rendimento quanto a pureza do composto (Cavalcanti, 2008). Para alcançar esses objetivos, é crucial adotar métodos de extração mais eficazes. A literatura sugere diversas técnicas de extração, incluindo maceração simples, extração em fase sólida, micro-ondas e extração por fluido supercrítico. Solventes como metanol, etanol,

hexano e misturas hidroetanólicas são frequentemente utilizados nesses processos (Singh e Chaturvedi, 2012).

No entanto, os estudos mostram que a maioria dessas técnicas resulta em baixos rendimentos de espilantol. As exceções são os métodos de extração por fluido supercrítico e Soxhlet, que se destacam por proporcionar rendimentos significativamente maiores em comparação com outros métodos relatados na literatura (Alves *et al.* 2023).

2.2 BIOTECNOLOGIA

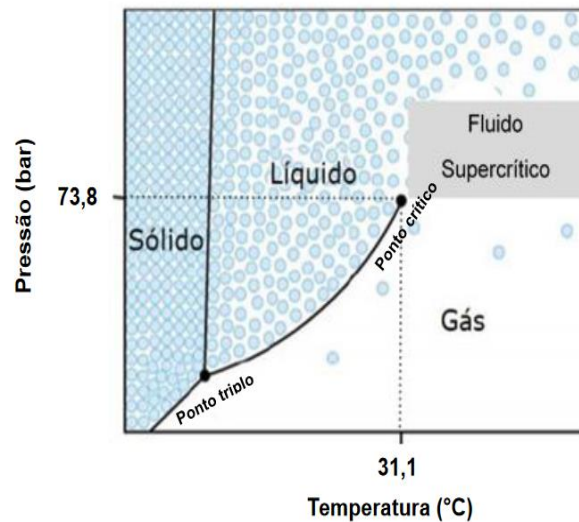
A biotecnologia se tornou uma revolução no mundo científico, através dela temos a possibilidade de desenvolver novas tecnologias que visam aumentar produtividade, diminuir impactos ambientais e garantir a obtenção de produtos inovadores, além de integrar diversos processos industriais a biotecnológicos que vão permitir avanços significativos para a sociedade (Martins *et al.*, 2024; Seghese e de Sena, 2023). A integração da biotecnologia com a engenharia vai desenvolver não somente sistemas industriais como também promoverá ações sustentáveis, redução do uso de recursos naturais renováveis e não renováveis contribuindo dessa forma para a mitigação dos impactos ambientais (Oliveira *et al.*, 2022).

2.2.1 Tecnologia Supercrítica

Em ciência e engenharia, o processo supercrítico refere-se a uma condição em que uma substância pura está acima de sua temperatura crítica e pressão crítica, exibindo propriedades intermediárias entre um gás e um líquido, ou seja, são aqueles que ocorrem em condições acima do ponto crítico de uma substância, onde a pressão e a temperatura estão acima dos valores críticos, como demonstra o gráfico do Diagrama de fase de uma

substância pura na Figura 3. Essas condições críticas são aquelas em que as fases, líquida e gasosa, da substância não podem ser distinguidas (Ones e Brown, 2018).

Figura 3: Diagrama de fases P-T de uma substância pura



Fonte: Silva, 2021 (adaptado de COOPER, 2000)

Nesse estado, a substância possui densidade e viscosidade semelhantes a um líquido, ao mesmo tempo em que exibe difusividade e compressibilidade semelhantes a um gás. Esse estado supercrítico é frequentemente utilizado em processos industriais, como extração de compostos bioativos, purificação de substâncias e produção de materiais. A nova tecnologia pode utilizar diversos fluidos supercrítico que apresentam várias vantagens, como a capacidade de dissolver compostos de forma seletiva, a eliminação do uso de solventes orgânicos e a redução da degradação térmica de certas substâncias (Smith, 2020), a Tabela 1 mostra valores de algumas características físico-químicas de gases e líquidos comparando-os aos fluidos supercríticos.

Tabela 1: Valores comparativos de propriedades físico-químicas entre gases e líquidos e os fluidos supercríticos

Estado do fluido	Densidade (g/cm ³)	Difusividade (cm ² /s)	Viscosidade (g/cm/s)
Gás			
P= 1 atm; T= 15-30 °C	(0,6-2,0)×10 ⁻³	0,1–0,4	(0,6-2,0)×10 ⁻⁴
Líquido			
P= 1 atm; T= 15-30 °C	0,6-1,6	(0,2-2,0)×10 ⁻⁵	(0,2-3,0)×10 ⁻²
Fluido Supercrítico			
P=P _c ; T≈T _c	0,2-0,5	0,7×10 ⁻³	(1-3)×10 ⁻⁴
P=4P _c ; T≈T _c	0,4-0,9	0,2×10 ⁻³	(3-9)×10 ⁻⁴

P_c = Pressão crítica; T_c= Temperatura crítica

Fonte: Brunner, 2005

Com o aumento do uso da tecnologia supercrítica, houve a necessidade de se desenvolver mais estudos sobre os solventes supercríticos, solubilidade, variáveis como pressão, temperatura e densidade que fazem parte no novo processo e melhoram a seletividade e a obtenção de insumos mais puros, podemos destacar entre esses solventes o dióxido de carbono (CO₂), etanol, a água entre outros. Contudo grande parte dos solventes que já foram analisados não puderam ser usados por conta de características como toxicidade, reatividade, possível contaminantes de meio ambiente, condições supercríticas severas ou alto custo de aquisição (Maul *et al.*, 1996; Smith, 1999; Mukhopadhyay, 2000).

2.3 OBTENÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS ATRAVES DA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

Diante do avanço de trabalhos envolvendo produtos naturais, a demanda por estudos materiais botânicos e isolamento de compostos bioativos presentes na composição química dos mesmos, houve o desenvolvimento de novas técnicas de extração não convencionais que retiraram o uso de solventes orgânicos de sua metodologia, substituindo por outros mais eficientes do que os processos tradicionais de extração aumentando a seletividade, obtendo extratos mais puros e sem geração de resíduos (Pies, 2017).

O interesse da comunidade científica para a obtenção de insumos naturais para produção de produtos que auxiliem na proteção da saúde e higiene bucal, faz com que seja crescente o desenvolvimento de pesquisas para tratamentos de enxaguantes bucais, também denominados como antissépticos bucais ou colutórios, pois são reconhecidamente produtos de fácil prescrição, administração e aceitação. Possuem ação rápida e local, e quando utilizados corretamente, não oferecem risco de engasgamento ou sufocamento, além disso, apresentam alta estabilidade e biodisponibilidade (De Oliveira Severo, Bittencout, França, 2023). O uso de plantas com finalidade terapêutica tem ampla aceitação popular e apoio da Organização Mundial de Saúde, motivando pesquisas científicas (Rocha *et al.*, 2021)

A utilização dos enxaguantes bucais como método preventivo no combate à cárie e às doenças gengivais tem levado a uma crescente demanda por informações sobre esses agentes na odontologia. (Andrade, *et al.*, 2011).

O enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* se destaca significativamente em comparação com os enxaguantes comerciais disponíveis no mercado. Sua formulação natural e a extração por meio da tecnologia supercrítica conferem características

medicinais, como antibiótica, que o diferenciam dos produtos convencionais (Barboza, *et al.*, 2015). O uso de extratos naturais, especialmente aqueles respaldados por pesquisas científicas e aceitos pela população, como é o caso da *Acmella oleracea*, proporciona maior aceitação e confiança por parte dos consumidores e profissionais de saúde bucal (Bachir e Benali, 2015).

Enquanto muitos enxaguantes comerciais contêm ingredientes sintéticos e químicos artificiais, o enxaguante de *Acmella oleracea* é totalmente natural, derivado de uma planta do bioma amazônico, que confere ao enxaguante propriedades de baixa toxicidade, evitando efeitos colaterais indesejados frequentemente associados a produtos químicos agressivos. Ele não é corrosivo, preservando a integridade dos tecidos bucais (Tiwari *et al.*, 2011, Kumar *et al.*, 2012).

A *Acmella oleracea* possui propriedades terapêuticas abrangentes, incluindo efeitos antimicrobianos, antibióticos, analgésicos, anestésicos e antipiréticos o que amplia o potencial de tratamento e cuidado bucal oferecido pelo enxaguante (Rodrigues *et al.*, 2016; Abeysjri *et al.*, 2013).

A preocupação com a sustentabilidade ambiental é atendida pela utilização de ingredientes naturais e por um processo de extração que minimiza o impacto no meio ambiente, tornando o enxaguante de *Acmella oleracea* uma escolha mais ecológica (Muthuraman *et al.*, 2018).

A *Acmella oleracea* demonstrou eficácia quimio preventiva adjuvante, inibindo danos ao DNA e promovendo apoptose, o que reflete seu potencial terapêutico abrangente (Azuine e Bhide, 2007).

Os extratos de *Acmella oleracea* têm ganhado destaque na indústria cosmética, sendo utilizados em produtos como cremes faciais antienvelhecimento, pastas de dente, enxaguantes bucais, xampus e máscaras faciais com propriedades revitalizantes. Há

diversas patentes que documentam o uso tanto do extrato quanto do espilantol isolado em aplicações cosméticas. Um exemplo notável é a substituição da toxina botulínica pelo espilantol em tratamentos estéticos (Prachayasittikul *et al.*, 2013).

2.4 DADOS ATUAIS DE QUADRO DE DOENÇAS BUCAIS

A terapia com medicações alternativas ou fitoterápicas vêm sendo amplamente procurada para o combate a doenças, pois são de basicamente de baixo custo e fácil acesso (Werkman *et al.*, 2008).

A placa bacteriana pode ser visível na superfície dentária após um ou dois dias se os procedimentos de higiene bucal forem insatisfatórios. A localização e quantidade de sua formação são variadas, dependendo de fatores determinantes, tais como a dieta e o fluxo salivar. Depois de 10 a 21 dias de acúmulo de placa bacteriana supragengival, sinais clínicos da gengivite aparecem, tais como vermelhidão, edema e uma tendência ao sangramento marginal à uma suave sondagem (Lins *et al.*, 2013).

A gengivite é uma das doenças periodontais mais frequentes, afetando mais de 90% da população, independentemente da idade, sexo ou raça (Pontes *et al.*, 2007).

Estudos epidemiológicos brasileiros demonstraram uma alta prevalência de inflamação gengival, variando de 74% a 100%, embora a média individual de sangramento gengival varie de 28% para 35% (Salgado *et al.*, 2011).

A clorexidina está bem caracterizada como um excelente agente antiplaca (Lins *et al.*, 2013). A mesma pode ser utilizada no tratamento e na prevenção da gengivite, sendo também usada como referência em estudos de teste de eficiência de outros agentes antimicrobiano (Oliveira *et al.*, 2011). Alguns efeitos colaterais têm sido relatados, incluindo a pigmentação extrínseca nos dentes, em restaurações e no dorso da língua, descamação da mucosa e sensibilidade oral, além de reações alérgicas (Teitelbaum *et al.*,

2010). O gosto amargo da solução e a interferência na sensação gustativa ocorrem por algumas horas após o bochecho (Loureiro *et al.*, 2012).

No estudo de Borges (2009) também foi relatado que a clorexidina tem efeitos tóxicos mínimos (os valores mínimos de toxicidade oral e intravenosa são, respectivamente, 1.800 e 22 mg/kg), mas não foi reportado nenhum efeito teratogênico ou carcinogênico.

3 METODOLOGIA

3.1 PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

3.1.1 Obtenção do material *in natura*

A matéria prima *in natura* foi adquirida pela Cooperativa dos Agricultores Periurbanos do estado do Pará - COPG, situada no bairro do Curuçambá, município de Ananindeua – Pará (Sisgen: A3DB8EB).

3.1.2 Pré-tratamento da matéria prima *in natura*

Ao chegar ao laboratório de extração, o material foi submetido a tratamentos prévios antes do processamento, começando pela separação da inflorescência, que será a parte utilizada na extração, das folhas e caules que não terão utilidade no processo (Silva, 2018). Depois, as inflorescências passaram por uma adequada sanitização, para retirada de sujidades e contaminantes e posteriormente foram encaminhados para desidratação em estufa com temperatura e umidade controlada 45 °C e 50 %, respectivamente até atingir massa constante. Após a desidratação o material foi triturado em moinho de facas (Modelo Tipo Willey -SL-31, Fabricante SOLAB, Brazil), posteriormente peneirado em agitador magnético, usando jogo de tamises padrão Tyler de 14, 28, 32, 42, 65 e 100 mesh. medido sua umidade para controle de atividade de água por espectroscopia no infravermelho (GEHAKA, modelo IV-2500, Brasil).

3.1.3 Extração por fluido supercrítico

Os ensaios experimentais de extração foram feitos no Laboratório de Tecnologia Supercrítica da Universidade Federal do Pará (LABTEX/UFPa), que dispõe de uma infraestrutura constituída pelos seguintes equipamentos: uma unidade SPE-ED SFE (modelo 7071, Applied Separations, EUA), acoplado a um cilindro de CO₂, um

compressor (modelo CSA 78, Schulz S/A, Brasil), um recirculador F08400796 (Polyscience, USA) e um fluxômetro de CO₂ (modelo M 5SLPM, Alicat Scientific, EUA), utilizando-se como solvente o CO₂ (99,9% de pureza, White Martins, Brasil).

O equipamento utilizado possui capacidade total de 2L, e pode em sistema contínuo com dois extratores de 1L. O processo extrativo foi realizado com uso de CO₂ supercrítico como solvente extrator com a finalidade de se obter um extrato apolar da matéria prima desidratada. As condições operacionais adotadas nesta etapa do trabalho levaram em consideração a influência do solvente extrativo, temperatura, pressão, densidade do solvente no rendimento de extrato de *Acmella oleracea* rico em espilantol, utilizando como condições operacionais 320 bar e 70°C com tempo de 180 min de extração e 40 min de preparo do material e equipamento. (Dias *et. al.*, 2012; Barbosa *et. al.*, 2016; Dias *et. al.*, 2017; Silva, 2018).

A extração será dividida em dois processos distintos, sendo o primeiro processo chamado de estático permite a solubilização do soluto no solvente (CO₂) supercrítico dentro do sistema fechado, já o segundo denominado de dinâmico, permite o transporte do soluto pelo solvente até a etapa final de separação, ou seja, obtenção propriamente dita do extrato. A metodologia será realizada em triplicata.

3.1.4 Ensaio de Citotoxicidade *in vitro* para estimar a dose inicial para ensaios de toxicidade sistêmica oral aguda

A metodologia tem por objetivo prever o potencial citotóxico *in vitro* do enxaguante bucal a base de *Acmella oleracea* produzido no estudo para estimar a dose inicial para os ensaios de toxicidade sistêmica oral aguda.

Para o ensaio de busca e para o ensaio principal foram utilizadas células na passagem 100. Fibroblastos murinos Balb/3T3 Clone A31 foram semeadas em frasco de

75 cm², cultivados e expandidos em incubadora úmida a 37 °C na presença de 5% de CO₂, utilizando meio de cultura (DMEM com 10% SBF, penicilina (100 UI) e estreptomicina (100 µg/mL)). Ao atingirem 70% de confluência, as células são semeadas em placas de 96 poços (Corning, EUA) na densidade de 5x10³ células por poço em 100µL de meio de cultura e mantidas por 24 horas para posterior tratamento. Para o Teste Principal, foram preparadas duas placas de 96 poços.

- BALB/3T3 clone A31: Banco de células do Rio de Janeiro (BCRJ)
- Veículo controle: DMEM suplementado com penicilina (100 UI) e estreptomicina (100 µg/mL).
- Controle positivo: Lauril Sulfato de Sódio (LSS).

O teste baseia-se na incubação de fibroblastos murinos (clone A31 BALB/3T3) em placas de 96 poços com diferentes concentrações do enxaguante por 48 horas. A viabilidade celular é determinada pela adição de corante vermelho neutro às culturas. A partir do cálculo do IC₅₀ do material em teste podemos estimar o LD50 , ou seja, a dose oral inicial que causa 50% de letalidade. Para o calculo de IC₅₀ foi utilizado o software estatístico GraphPad PRISM®, já para o calculo do LD50, foi utilizada a equação 1.

$$DL50 = 10^{(0,372 \times \log IC50 + 2,024)} \quad \text{Equação 1}$$

3.1.5 Elaboração da formulação

A composição do enxaguante bucal produzido tem à base do extrato de *Acmella oleracea* (Figura 4) e reivindica o processo de pesagem, diluição e mistura. Também é caracterizada por reivindicar o uso de 6 (seis) produtos na formulação, compreendendo

pelo menos um agente natural e um agente antimicrobiano natural nas dosagens especificadas.

O protótipo foi produzido de acordo com o trabalho de Dias e Coelho (2022), com modificações. Para o desenvolvimento do enxaguatório bucal foram empregados os seguintes materiais (Figura 4):

- - Propilenoglicol;
- - Extrato de Jambu;
- - Mentol;
- - Óleo essencial de menta + eucalipto;
- - Corante natural alimentício (verde);
- - Água destilada.

Figura 4: Materiais utilizados na formulação do Enxaguante bucal a base de *Acmella oleracea*



Fonte: Acervo pessoal, 2024

Método de Preparo

- Uso de pistilo + almofariz para diminuir e deixar em pó o mentol;

- Uso de proveta de 100 ml para medicação de propilenoglicol e água destilada, ambos são medidos na mesma proveta para evitar perdas significativa;
- Extrato de jambu foi pesado em um tudo de ensaios, onde foi diluído com propilenoglicol já medido anteriormente, junto com 3 horas de óleo essencial de menta e eucalipto;
- Após a diluição do extrato, foi feita a mistura em um béquer juntando todas as partes (propilenoglicol, extrato do tubo, água destilada, mentol em pó);
- Em seguida filtrado para manter aspecto mais límpido e acondicionado em frascos de vidro;

Para determinar a faixa ideal de concentração dos componentes, foram realizados estudos de pré-formulação. Isso incluiu testes de solubilidade, utilizando monoleato de polioxietileno sorbitano em concentrações variadas como agente solubilizante. Além disso, foram conduzidos testes para definir a quantidade adequada de edulcorante, como sacarina sódica, podendo ser associada a outros, e para determinar a quantidade de flavorizante (aroma) mais adequada.

No teste de solubilidade do enxaguante bucal, foram empregados líquidos simulando as condições da boca, como água destilada, para avaliar a capacidade de dissolução e mistura do produto em diferentes temperaturas, refletindo sua eficácia durante o uso real. Esses ensaios foram cruciais para determinar a composição final do enxaguante bucal, garantindo sua estabilidade, eficácia e segurança para os usuários.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o desenvolvimento do enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea*, foram realizados diversos estudos e ensaios visando alcançar a formulação ideal. Para isso, inicialmente, foram consultados dados atuais no banco de patentes internacionais, identificando 1444 registros exclusivos relacionados ao espilantol, o que demonstrou um interesse significativo nesse componente.

Após alguns ensaios decidiu-se pela exclusão do álcool da fórmula, devido ao potencial de causar descamação da mucosa da boca, manchamento dentário e afetar as papilas gustativas. Isso difere de muitos enxaguantes disponíveis no mercado e visa criar um sistema de gestão de medicamentos ideal, buscando a máxima biodisponibilidade com menores efeitos colaterais essas observações estão de acordo com estudos recentes de Çelik, Çoban e Ülker, (2021) sobre o uso de álcool e os efeitos prejudiciais aos dentes como manchas no esmalte do dente e até mesmo degradação da superfície resinosa.

A inovação deste invento consiste no desenvolvimento de um novo produto de origem natural, derivado de uma espécie vegetal do bioma amazônico, amplamente conhecida, chamada *Acmella oleracea*, que proporcionando características terapêuticas distintas ao produto como ação antibacteriana, analgésica, dentre outras, em relação aos demais produtos encontrados e já comercializados de enxaguantes bucais (Serrato e Muschietti, 2017; Owusu-Boadi *et al.*, 2021).

4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE *Acmella oleracea*

O extrato de *Acmella oleracea* obtido por extração supercrítica (Figura 5) possui ausência de alterações químicas, ou seja, o processo extrativo não utiliza solventes nocivos a saúde e ainda não geram impactos negativos ao meio ambiente, ao contrário de processos extrativos clássicos, que produzem resíduos e ainda aumentam o tempo

estimado de obtenção do extrato já que é necessário um tempo adicional para purificação do extrato que foi obtido com solventes orgânicos em sua composição. Então podemos dizer que a metodologia supercrítica não altera quimicamente as substâncias, mantendo sua eficácia (Smith, 2020).

Figura 5: Extrato de *Acmella oleracea* obtido por extração supercrítica



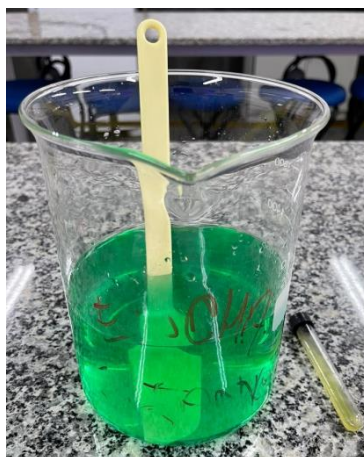
Fonte: Acervo pessoal, 2024

O custo e tempo de produção são reduzidos, pois a utilização da tecnologia supercrítica possibilita a obtenção do produto de forma mais rápida e econômica (Rabelo *et al.*, 2022).

4.2 PRODUÇÃO DO ENXAGUANTE BUCAL A BASE DE *Acmella oleracea*

O enxaguante bucal a base de *Acmella oleracea* (Figura 6) desenvolvido pode surgir como uma potencial alternativa terapêutica e acessível, especialmente importante considerando o número significativo de pacientes com altos índices de doenças bucais, já que o mesmo possui efeito antimicrobiano e anestésico já comprovados em pela literatura científica atual (Meccatti *et al.*, 2022).

Figura 6: Enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea*

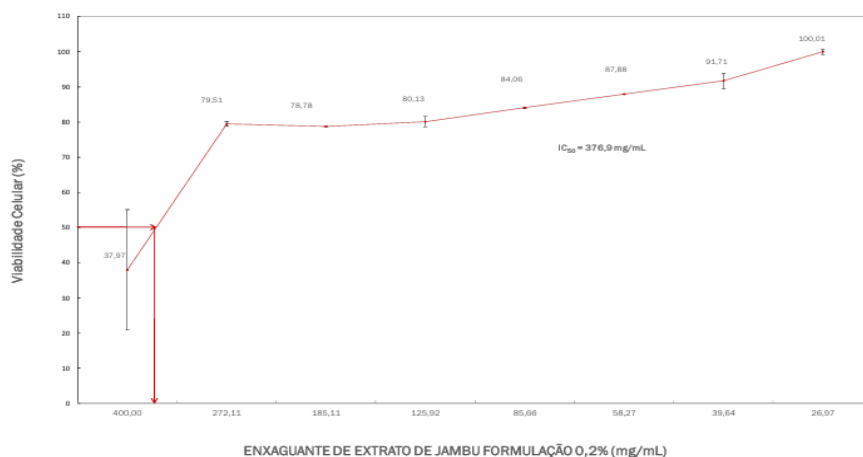


Fonte: Acervo pessoal, (2024)

4.3 ANALISE DE CITOTOXIDADE DO ENXAGUANTE BUCAL A BASE DE *Acmella oleracea*

A Figura 7 demonstra o gráfico com a curva de viabilidade celular, que foi construído nas diferentes concentrações avaliadas, do Enxaguante bucal a base de *Acmella oleracea*, em cultivo de fibroblastos murino (Balb/3T3, clon A31) depois de 48 horas de incubação, pelo método de incorporação do vermelho neutro.

Figura 7: Gráfico representativo da curva de viabilidade celular nas diferentes concentrações do Enxaguante bucal a base de *Acmella oleracea*



Fonte: Laboratório Kosmosciencie, 2025

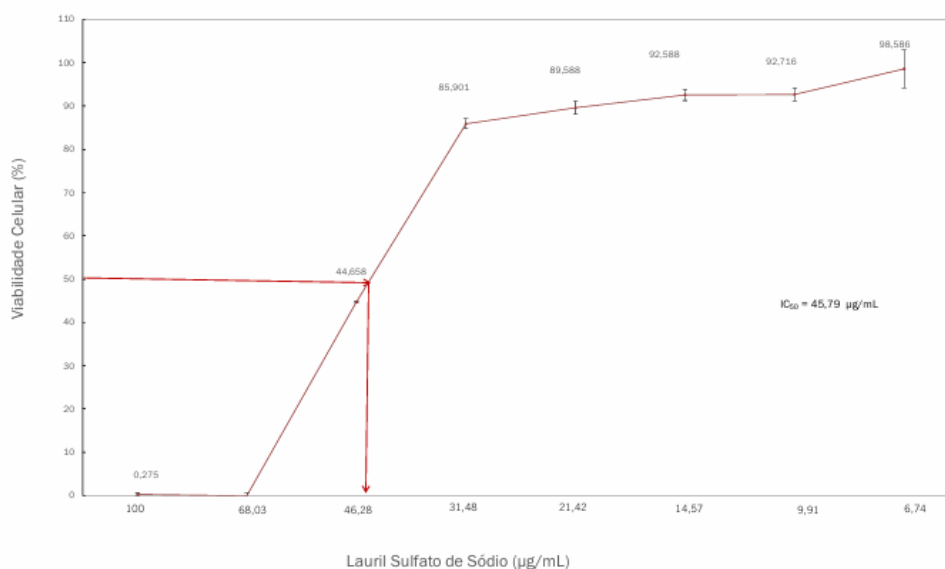
Depois da construção da curva de concentração de viabilidade, obtivemos uma DL50 e a IC₅₀, estimada como dose inicial para a realização dos ensaios de toxicidade sistêmica oral aguda, apresentadas na Tabela 2, abaixo:

Tabela 2: Resultado da Análise de Citotoxicidade – IC₅₀ e DL50

ENXAGUANTE BUCAL A BASE DE <i>Acmella oleracea</i>	
IC ₅₀ =	376.900,00 µg/mL (obtida pela função Hill)
DL50 =	12.541,69 mg/Kg (obtida pela Equação 2)

A Figura 8 representa a curva de viabilidade celular nas diferentes concentrações do controle positivo avaliadas no ensaio principal. O valor de IC₅₀ obtido para o controle positivo (Lauril Sulfato de Sódio) está dentro do intervalo recomendado pela OCDE1 (41,5±4,8 µg/mL).

Figura 8: Gráfico representativo da curva de viabilidade celular nas diferentes concentrações do Lauril Sulfato de Sódio



Após a obtenção da curva de viabilidade celular obtida no ensaio principal do controle positivo Lauril Sulfato de Sódio em cultivo de fibroblastos murino (Balb/3T3,

clon A31) depois de 48 horas de incubação, pelo método de incorporação de rojo neutro, podemos observar que o enxaguante bucal a base de *Acmella Oleracea* esta dentro dos padrões recomendado pela OCDE1 ($41,5 \pm 4,8 \mu\text{g/mL}$).

De acordo com a análise de citotoxicidade do produto podemos comprovar que o mesmo não é tóxico, pois apresenta valor de DL_{50} estimado em 12.541,69 mg/kg, este valor corresponde à dose letal média, isto é, à quantidade do composto necessária para provocar a morte de 50% dos organismos testados, então podemos dizer que para valores elevados desses dados é indicação de baixa toxicidade aguda, sugerindo que o enxaguante analisado apresenta bom perfil de segurança toxicológica para uso potencial, especialmente em formulações terapêuticas ou cosméticas. O extrato avaliado também apresentou um valor de IC_{50} igual a 376.900,00 $\mu\text{g/mL}$, o que significa que o enxaguante bucal possui viabilidade biológica, ou seja, as células sobrevivem mesmo expostas a altas concentrações do material, indicando desta forma que ele não é tóxico. (Cai *et. al.*, 2023)

A baixa toxicidade da formulação proporciona segurança para uso bucal regular, diminuindo os efeitos colaterais indesejados, como pigmentação dentária, descamação da mucosa e sensibilidade oral, ao contrário de alguns produtos disponíveis que podem causar mau estar, desencadeando insegurança aos pacientes ao uso, como os enxaguantes bucais convencionais (Meccatti *et al.*, 2022).

A *Acmella oleracea* como matéria-prima terapêutica é bem aceita pela população e conta com o apoio da Organização Mundial de Saúde, o que respalda sua eficácia e segurança (Serrato e Muschietti, 2017).

Além disso, sua extração por tecnologia supercrítica garante a preservação das propriedades benéficas da planta, resultando em um produto final mais puro e potente (Vasudeva *et al.*, 2020).

Aceitação e confiança dos consumidores: o uso de extratos naturais respaldados por pesquisas científicas inspira maior aceitação e confiança por parte dos consumidores e profissionais de saúde bucal. A *Acmella oleracea* é reconhecida por suas propriedades benéficas e seguras, o que contribui para uma adesão mais positiva por parte dos usuários, gerando sustentabilidade ambiental e responsabilidade social (Barbosa *et al.*, 2016).

5. CONCLUSÃO

O processo de produção do enxaguante bucal proposto nesta tese foi eficaz para a obtenção de produtos de *Acmella oleracea*. O processo tem custo e tempo de produção reduzidos por conta do desenvolvimento da técnica com a tecnologia supercrítica, que

torna o produto especial com características suaves, ausência de toxidade, zero álcool, refrescante, com boa estabilidade e conservação, além de que passou em todos os testes físicos realizados para caracterização de enxaguante bucal.

Além disso, a utilização da tecnologia supercrítica para extrair os componentes ativos da planta garante um produto final de alta pureza e eficácia, em contraste com os métodos tradicionais de produção. Esta abordagem resulta em um enxaguante bucal com benefícios terapêuticos ampliados, incluindo efeitos antimicrobianos, antibióticos, analgésicos e anestésicos, proporcionando aos usuários uma experiência bucal suave, segura e eficaz.

Outro diferencial crucial é a preocupação com a sustentabilidade ambiental ao longo de todo o processo de produção, desde a origem natural dos ingredientes até as práticas de fabricação que minimizam o impacto no meio ambiente. Este compromisso ambiental destaca ainda mais a singularidade e inovação do enxaguante bucal proposto neste pedido de patente em comparação com os produtos atualmente disponíveis no mercado.

Em resumo, esta invenção representa uma nova era no cuidado bucal, oferecendo uma alternativa natural, eficaz, segura e sustentável para os consumidores, superando significativamente as limitações dos produtos existentes no estado da técnica.

Dessa forma, com base nos dados obtidos, pode-se afirmar que o enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* demonstra ser um produto seguro e confiável para o tratamento e prevenção de enfermidades orais, atendendo satisfatoriamente aos parâmetros avaliados nas análises toxicológicas e biológicas.

6. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Sugerimos que para trabalhos futuros sejam realizados estudos microbiológicos, antibacterianos, além de estudos clínicos com o enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea*

REFERÊNCIAS

- ABEYSJRI, G. R. P. I., DHARMADASA, R. M., ABEYSINGHE, D. C. **Pharmacognostic Studyon *Acmella oleracea* Murr. (Asteraceae), a Therapeutically Important Medicinal Plant Grown in Sri Lanka.** Pharmacognostic Studyon *Acmella oleracea*, Proceedings of 12th Agricultural Research Symposium, pp. 150-154, 2013.
- ALVES, T. N., CARDOSO, A. I. I., DE CARVALHO, J. R., *et al.* Jambu production (*Acmella oleracea* [(L.) R. K. Jansen]) using different organic fertilizersat planting and as top dressing. **Comunicata Scientiae Horticultural Journal**, v. 14, pp. 1-8, 2023.
- ANDRADE, I. P., FARDIN, R. F., XAVIER, K. B. C., NUNES, A. P. F. “Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em micro-organismos da cavidade oral”. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 13, n. 3, pp. 10-16, 2011.
- AZUINE, M. A., BHIDE, S. V. Adjuvantchemo preventive efficacy of *Acmella oleracea* in oral carcinogenesis: Inhibitionof DNA damage and enhancement of apoptosis. **Phytomedicine**, v. 14, n. 5, pp. 311-319, 2007.
- BACHIR, R. G., BENALI, M. Efficacy of some natural extracts in oral health: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 7, n. 4, pp. 51-56, 2015.
- BARBOSA, A. F., DE CARVALHO, M. G., SMITH, R. E., *et al.* Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 1, pp. 128–133, jan. 2016.
- BARBOSA, A. F. **Avaliação química e biológica do Jambu (*Acmella oleracea* L.) seco com ar frio e liofilizado.** Tese de D.Sc., Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil, 2016. Disponível em: <<https://tede.ufrrj.br/jspui/handle/jspui/2026>>. Acesso em: 8 set. 2024.
- BARBOSA, A.F.; PEREIRA, C.S.S.; MENDES, M.F.; CARVALHO JUNIOR, R.N.; CARVALHO, M.G.; MAIA, J.G.S.; SABAA-SRUR, A.U.O. Spilanthol content in the extract obtained by supercritical CO₂ at different storage times of *Acmella oleracea* L. **Journal of Food Process Engineering**. v. 40, p. 1-7, 2017.
- BARBOZA, J. M., *et al.* Phytochemical constituents and cosmetic applications of *Acmella oleracea*. **Journal of Phytotherapy Research**, v. 29, n. 5, pp. 679-685, 2015.
- BORGES, F. M. C. **Eficácia antimicrobiana do digluconato de clorexidina sobre dentina humana infectada por bactérias cariogênicas: estudo *in vitro* e *in situ*.** Dissertação de Msc., Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil, 2009. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/1737>>. Acesso em: 8 set. 2024.

BORGES, L. S.; Delgado, C. H. O.; Casais, L. K. N.; Nunes, K. N. M.; Jacques, R. A.; Lima, G. P. P. Composição química e potencial antifúngico do óleo essencial de jambu sob adubação orgânica e convencional. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.12, n.1, p.461-470, 2021. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.001.0037>.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **J. Food Eng.**, v.67, pp. 21-33, 2005.

CAI, Xiaoyu et al. Cytotoxic effects of different mouthwash solutions on primary human articular chondrocytes and normal human articular cartilage—an in vitro study. **Clinical Oral Investigations**, v. 27, n. 9, p. 4987-5000, 2023.

CAVALCANTI, V. M. S. **Extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var *oleracea* com dióxido de carbono supercrítico**. Tese de D.Sc., (doutorado), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil, 2008. Disponível em:<<https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/42662>>. Acesso em: 08 set. 2018.

ÇELİK, ACT; ÇOBAN, E; ÜLKER, H. **Effects of Mouthwashes on Color Stability and Surface Roughness of Three Different Resin-based Composites**. Niger J Clin Pract. Vol 24, p. 555-560, 2021.

DE ALMEIDA, M. M., SANTOS, A. O., FERRI, P. H. Biological activities of extracts and constituents of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen: A review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 30, n. 1, pp. 12-27, 2020.

DE OLIVEIRA SEVERO, E., BITTENCOURT, W. J. M., FRANÇA, M. O. S. Desenvolvimento, análise físico-química e avaliação da atividade antifúngica de enxaguantes bucais contendo óleo e extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia). **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 3, p. 11136-11157, 2023.

DIAS, A.M.A.; SANTOS, P.; SEABRA, I.J.; JÚNIOR, R.N.C.; BRAGA, M.E.M.; DE SOUSA, H.C. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction, **The Journal of Supercritical Fluids**. v.61, p.62–70, 2012.

DIAS, A.M.A; DA SILVA, A.C.S; BOTELHO, J.R.S; JUNIOR, R.N.C.; DE SOUSA, H.C.; BRAGA, M.E.M. Temperature and density effects of the scCO₂ extraction of spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers. **The journal of supercritical fluids**. v.121, p.32-40, 2017.

DIAS, G. A. A, COELHO, J. A. Uso de antissépticos orais e sua relação com câncer de boca. **Revista Científica Unilago**, v. 1, n. 1, 2022.

FIORI, L., LAVELLI V. L., DUBA K. S., HARSHA P. S. C. S., MOHAMED H. B., GUELLA G. Supercritical CO₂ extraction of oil from seeds of six grape cultivars:

Modeling of mass transfer kinetics and evaluation of lipid profiles and tocolcontents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, pp. 71–80, Out 2014.

FREITAS-BLANCO, V. S. **Extração de espilantol no contexto da química verde e sua aplicação no tratamento da mucosite oral**. Tese de D.Sc., Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, SP, Brasil, 2018. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/331473>>. Acesso em: 3 set. 2018.

GROSSO, C., COELHO, J. P., PESSOA, F. L. P. *et al.* Mathematical modelling of supercritical CO₂ extraction of volatile oil from aromatic plants. **Chemical Engineering Science**. v. 65, pp. 3579–3590, 2010.

GUSMÃO, M. T. A., DE GUSMÃO, S. A. L. **Jambu da Amazônia: *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen: características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico**. UFRA, Universidade Federal Rural da Amazônia. v.1, 135. p. 2013.

JALAL, A., *et al.* Supercritical fluid extraction of natural products: A green approach. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 3, pp. 107384, 2022.

JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G., WOBUS, A., SHAFI, M. P., ABRAHAM, G.T. Essential oil analysis of *Spilanthes acmella* Murr. fresh plants from southern India. **J Essent Oil Res.** 2005; 17: 429-31.

KUMAR, G., *et al.* *Acmella oleracea*: A review of its properties and potential applications. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 1, pp. 1-9, 2012.

LIM, T. K. *Acmella oleracea*. In: Lim, T. K. *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants: Volume 7, Flowers*. 1. Ed. Springer Netherlands; 2014. P.163-74.

LINS, R., VASCONCELOS, F. H. P., LEITE, R. B., *et al.* Avaliação clínica de bochechos com extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e Camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 1, pp. 112-120, 2013.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda; 2008

LOUREIRO, T. M. S. **Aplicação de resinas compostas em situações de severo envolvimento estético: a propósito de um caso clínico**. Dissertação de Msc., Universidade Católica Portuguesa, Lisboa, Portugal, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.14/15833>>. Acesso em: 08 set. 2018.

MAUL, A.A.; WASICKY, R.; BACCHI, E.M. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, p. 185-200, 1996.

MARTINS, G. A. de S.; dos SANTOS, T. D.; da SILVA, W. G.; MARINHO, G. S. P. (ORGs.). **Ciência básicas para o desenvolvimento sustentável**. 1ª Edição. Curitiba : Editora CVR, 118p, 2024. Retirado de: Editora CRV. Acesso em 19 fev. 2025.

MECCATTI, V. M., RIBEIRO, M. C. M., DE OLIVEIRA, L. D. Os benefícios da fitoterapia na Odontologia. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, e46611327050, 2022.

MOREIRA, A. C. A., PEREIRA, M. H. Q., PORTO, M. R., ROCHA, L. A. P., NASCIMENTO, B. C., ANDRADE, P. M. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 8, n. 2, pp. 153, 2009.

MUKHOPADHYAY, M. **Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide**. Cap.1: Importance of Nature's Cure. Boca Raton, London New York Washington: CRC Press, 2000.

MUTHURAMAN, P. *et al.* The medicinal uses of *Acmella oleracea*: A review. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, 8(3), 157-163, 2018 DOI: 10.22270/jddt.v8i3.1675.

NASCIMENTO, A. M., DE SOUZA, L. M., BAGGIO, C. H., WERNER, M. F., MARIA-FERREIRA, D., DA SILVA, L. M., *et al.* Gastroprotective effect and structure of a rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea*. **Phytochemistry**. 2013 Jan;85:137-42.

OLIVEIRA, A. C. M., FONTANA, A., NEGRINI, T. C., *et al.* Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (*Myrtaceae*) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, pp. 492-499, 2011.

OLIVEIRA, J.; FIGUEIREDO, M. do V. B.; LIRA JUNIOR, M. de A.; PORTO, A. L. F.; de CARVALHO, E. X.; DUARTE NETO, J. M. W.; WANDERLEY, M. C. de A. **Biotecnologia e Bioinsumos: chave para uma agricultura sustentável**. 20 p. 2022.

OLIVEIRA, L. de S. *et al.* *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp como fonte de nutrientes na produção orgânica de jambu (*Acmella oleracea* (L.) RK Jansen). **Scientia Plena**, v. 19, n. 9, 2023.

ONES, A., BROWN, B. Supercritical fluids: Properties and applications. **Journal of Chemical Engineering**, v. 45, n. 3, pp. 123-135, 2018.

OWUSU-BOADI, E., AKUOKO, E. M., MENSAH, G., AYAMBA AYIMBISSA, E., BOYE, A. **Antimicrobial Activity against Oral Pathogens Confirmsthe Use of Musa paradisíaca Fruit Stalk in Ethnodentistry**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 4, pp. 2021:8663210, 2021.

PAULRAJ, J., GOVINDARAJAN, R., PALPU, P. The genus *Spilanthes* ethno pharmacology, phyto chemistry, and pharmacological properties: a review. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2013, pp. 510298, 2013.

PIES, G. **Tecnologia supercrítica aplicada à obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos a partir de casca de jabuticaba *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. 2017. 82 f.** Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado)-Curso de Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2017.

PONTES, I. V., MACHADO, J. P. P., DE ALMEIDA R. L., *et al.*. Análise do controle de placa em alunos de graduação em odontologia. **Revista Periodontia**, v. 17, n. 3, pp. 105-109, 2007.

PRACHAYASITTIKUL, V., PRACHAYASITTIKUL, S., RUCHIRAWAT, S. *et al.* High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: A review. **EXCLI Journal**, v. 4, n. 12, pp. 291-312, 2013.

PRACHAYASITTIKUL, S., SUPHAPONG, S., WORACHARTCHEEWAN, A., LAWUNG, R., RUCHIRAWAT, S., *et al.* Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. **Molecules**. 2009 Feb 19;14(2):850-67. doi: 10.3390/molecules14020850.

RABELO, T. G., *et al.* Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: An overview. **Current Opinion in Food Science**, v. 46, pp. 203-210, 2022.

RAMSEWAK, R. S., ERICKSON, A. J., NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**. 1999; 51(6):729-32.

ROCHA, L. P. B., ALVES, J. V. de O., AGUIAR, I. F. da S., *et al.* Use of medicinal plants: History and relevance. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, pp. e44101018282, 2021.

RODRIGUES, F. F. G., COSTA, J. G. M., COUTINHO, H. D. M., MORAES, M. O., PESSOA, C., FARIAS, D. F. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Acmella oleracea* extracts and their potential as food preservatives. **Food Chemistry**, v. 204, pp. 212-218, 2016.

SADAVONGVIVAD C., SUPAVILAI P. Three monohydroxy coumarins from *Alyxia lucida*. **Phytochemistry** 1977; 16:1451.

SALGADO, D. S. **Prevalência e aspectos clínicos de doenças gengivais de origem imune e influência da placa bacteriana na melhora dos sinais e sintomas de lesões gengivais de líquen plano bucal.** Tese de D.Sc., Universidade Estadual Paulista, Araquara, SP, Brasil, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/items/f40b6c76-29e5-466d-92b3-128a5d86e79c>>. Acesso em: 3 set. 2018.

SANTOS, L. A., MENEZES, J. S. , RUFINO, L. R. A., et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE PUNICA GRANATUM LINNAEUS CONTRA Staphylococcus aureus ISOLADOS DE MASTITE BOVINA E AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA “in vivo”. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 12, n. 1, pp. 775-784, 2014.

SANTOS, N. H. **Obtenção de extratos de flor de jambu (*Acmella oleracea*) por métodos não convencionais**. Dissertação de Msc., Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/226941>. Acesso em: 08 set. 2024.

SANTOS, I. C. S., et al. Recent advances in supercritical fluid extraction technology: Applications in the food and pharmaceutical industries. *Food Engineering Reviews*, v. 14, n. 1, pp. 1-18, 2022.

SEGHESE, M. A.o; de SENA, J. O. A. **Agrotóxicos, transgênicos na agricultura e saúde humana no Estado do Paraná – Brasil**. Ciências da Saúde e suas Descobertas Científicas. p. 1 – 63, 2023. Retirado de: Agrotóxicos, transgênicos na agricultura e saúde humana no estado do Paraná-Brasil | Seven Editora. Acesso em 19 fev. 2025.

SERRATO, L. J., MUSCHIETTI, L. Phytochemistry and Biological Activities of *Acmella oleracea*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 20, pp. 245-255, 2017.

SINGH, J., RAJ, R. A review on *Acmella oleracea*: A medicinal plant and its applications. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 1, n. 1, pp. 12-16, 2012.

SINGH, M., CHATURVEDI, R. Screening and quantification of an antiseptic alkylamide, spilanthol from in vitro cell and tissue cultures of *Spilanthes acmella* Murr. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n. 1, pp. 321-328, 2012.

SILVA, A.P.S. **Avaliação do teor de espilantol no ciclo de cultura de duas cultivares de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen em extratos obtidos por extração supercrítica**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará. 60p, 2018

SILVA, M. P. da *et al.* **Extração supercrítica da polpa liofilizada de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): determinação de compostos bioativos e solubilidade**. 2021.

SMITH, R.M. Supercritical fluids in separation science – the dreams, the reality and the future. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p. 83-115, 1999.

SMITH, J. Fundamentals of Supercritical Fluids. **Academic Press**, 2020.

TIWARI, P., *et al.* Pharmacological properties of *Acmella oleracea* (L.)-A review. **International Journal of Phytomedicine**, v. 3, n. 2, pp. 152-156, 2011.

TEITELBAUM, A. P., SABBAGH-HADDAD, A., CZLUSNIAK, G. D., et al. Ação de dentifrícios experimentais sobre a saúde bucal de crianças com síndrome de Down. **International Journal of Dentistry**, v. 9, n. 3, pp. 128-135, 2010.

VASUDEVA, N., et al. Exploring the Therapeutic Potential of *Acmella oleracea*: A Comprehensive Review. **Pharmacognosy Magazine**, v. 16, n. 69, pp. 323-331, 2020.

WERKMAN, C., GRANATO, D. C., KERBAUY, W. D., et al. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 3, pp. 104-111, 2008.

ANEXO I - RESUMO

MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE FORMULAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* COM O USO DE TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA

A *Acmella oleracea* é uma planta medicinal da Amazônia, utilizada nesta invenção como matéria prima para o desenvolvimento de um produto destinado à saúde bucal ainda pouco relatado na literatura e em publicações científicas e de propriedade intelectual. A forma farmacêutica líquida como enxaguante bucal é um modo de administração terapêutico destinado a manter um biofilme compatível com a saúde oral. Extratos ricos em espilantol apresentam propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas. A invenção destaca a utilização de um processo de extração supercrítica para obter extratos de *Acmella oleracea* garantindo um processo de produção eficiente e sustentável. Diante disso, a presente invenção compreende a elaboração de um enxaguante bucal derivado de plantas do bioma amazônico como uma alternativa terapêutica de baixo custo através do processo de tecnologia supercrítica, apresentando uma solução sustentável e eficaz para os cuidados orais, destacando-se pelas suas vantagens terapêuticas significativas em relação aos produtos disponíveis no mercado.

Palavras-chave: Anti-Infecciosos Locais, *Acmella oleracea*, Extração Supercrítica, Espilantol.

Keywords: Anti-Infective Agents, *Acmella oleracea*, Supercritical fluid extraction, Spilanthol.

ANEXO II - MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *ACMELLA OLERACEA* COM O USO DE TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA

Campo da investigação

“Formulação de Enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* com o uso de tecnologia supercrítica”

Invenção intitulada “Formulação de Enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* com o uso de tecnologia supercrítica”.

[001] A presente invenção trata-se da produção de um novo enxaguante bucal utilizando extrato de *Acmella oleracea*, visando oferecer uma alternativa terapêutica de baixo custo para a indústria farmacêutica, com efeito de manutenção do biofilme compatível com a saúde bucal.

[002] Essa invenção é significativa por abordar a produção de enxaguante bucal a partir de extrato de *Acmella oleracea* do bioma amazônico. Isso confere ao produto características especiais, como propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias, antifúngicas, analgésicas e anestésicas.

[003] Além disso, destaca-se sua suavidade, ausência de toxicidade, ausência de álcool, recrescência, boa estabilidade e conservação, tornando-o uma alternativa terapêutica natural para a indústria farmacêutica.

[004] Essa invenção representa um avanço significativo na área da saúde bucal, oferecendo uma alternativa terapêutica eficaz, segura e acessível para os consumidores.

[005] Os Enxaguantes bucais são formas farmacêuticas líquidas destinadas à veiculação e liberação rápida local de ingredientes ativos, os quais se aderem às estruturas bucais, efetivando sua ação terapêutica.

[006] Formas farmacêuticas orais líquidas são preparações nas quais o fármaco (extrato) é completamente dissolvido em um veículo adequado.

[007] Os Enxaguantes bucais, também denominados como antissépticos bucais ou colutórios, são reconhecidamente produtos de fácil prescrição, administração e aceitação. Possuem ação rápida e local, e quando utilizados corretamente, não oferecem risco de engasgamento ou sufocamento. Além disso, apresentam alta estabilidade e biodisponibilidade.

[008] A proposta desse produto é utilizar uma tecnologia moderna e inovadora, aliada ao uso de um produto natural da Amazônia.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[009] A composição do Enxaguante bucal produzido tem à base de *Acmella oleracea* é caracterizada por utilizar extrato de planta do gênero *Acmella* e do gênero *Spilanthes*, além de reivindicar o processo de pesagem, diluição e mistura. Também é caracterizada por reivindicar o uso de 6 produtos na formulação, compreendendo pelo menos um agente natural e um agente antimicrobiano natural nas dosagens especificadas de 0,070 a 0,300 g.

[010] Durante o desenvolvimento do enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea*, foram realizados diversos estudos e ensaios visando alcançar a formulação ideal. Inicialmente, foram consultados dados atuais no banco de patentes internacionais, identificando 1444 registros exclusivos relacionados ao espilantol, o que demonstrou um interesse significativo nesse componente.

[011] O desenvolvimento do produto passa pela coleta, pesagem, embalagem, medidas de umidade, nova embalagem, medição da viscosidade real, extração, fracionamento, isolamento e elucidação estrutural. No Laboratório de Extração Supercrítica utiliza-se uma unidade SPE-ED SFE (modelo 7071, Applied Separations, EUA), acoplado a um cilindro de CO₂, um compressor (modelo CSA 78, Schulz S/A, Brasil), um recirculador F08400796 (Polyscience, USA) e um fluxômetro de CO₂ (modelo M 5SLPM,

AlicatScientific, EUA), utilizando-se como solvente o CO₂ (99,9% de pureza, White Martins, Brasil) e EtOH (99,9% de pureza, PA, Merck, Brasil). A formulação do produto envolve a diluição e mistura do Propilenoglicol, do Extrato obtido, da Água destilada e do Mentol em pó.

[012] Uma decisão importante foi a exclusão do álcool da fórmula, devido ao potencial de causar descamação da mucosa da boca, manchamento dentário e afetar as papilas gustativas. Isso difere de muitos enxaguantes disponíveis no mercado e visa criar um sistema de gestão de medicamentos ideal, buscando a máxima biodisponibilidade com menores efeitos colaterais.

EXEMPLOS DE CONCRETIZAÇÕES DA INVENÇÃO

[013] Para determinar a faixa ideal de concentração dos componentes, foram realizados estudos de pré-formulação. Isso incluiu testes de solubilidade, utilizando monoleato de polioxietilenosorbitano em concentrações variadas como agente solubilizante. Além disso, foram conduzidos testes para definir a quantidade adequada de edulcorante, como sacarina sódica, podendo ser associada a outros, e para determinar a quantidade de flavorizante (aroma) mais adequada.

[014] No teste de solubilidade do enxaguante bucal, foram empregados líquidos simulando as condições da boca, como água destilada, para avaliar a capacidade de dissolução e mistura do produto em diferentes temperaturas, refletindo sua eficácia durante o uso real.

[015] Esses ensaios foram cruciais para determinar a composição final do enxaguante bucal, garantindo sua estabilidade, eficácia e segurança para os usuários

[016] A inovação deste invento reside em seu novo produto natural, derivado de plantas do bioma amazônico, obtido por um processo rápido e de baixo custo em comparação com produtos atualmente utilizados na indústria farmacêutica.

[017] O diferencial está no uso do extrato de *Acmella oleracea* como base, proporcionando características distintivas em relação aos demais produtos encontrados em enxaguantes bucais:

1. Não induz à toxicidade: O produto não apresenta toxicidade, garantindo sua segurança para uso bucal.
2. Não é corrosivo: Sua formulação não causa corrosão, preservando a integridade dos tecidos bucais.
3. Não agride o ambiente: A fabricação e o uso do produto não geram impactos negativos ao meio ambiente.
4. Ausência de alterações químicas: Ao contrário de solventes comuns, o processo de produção não altera quimicamente as substâncias, mantendo sua eficácia.
5. Custo e tempo de produção reduzidos: A utilização da tecnologia supercrítica possibilita a obtenção do produto de forma mais rápida e econômica.
6. Características suaves e refrescantes: O enxaguante bucal é suave, não contém álcool, e possui um efeito refrescante agradável.
7. Boa estabilidade e conservação: O produto apresenta uma boa estabilidade ao longo do tempo, mantendo suas propriedades terapêuticas.
8. Aprovação em testes físicos: O produto passou por todos os testes físicos necessários para caracterização de um enxaguante bucal, garantindo sua eficácia e conformidade com os padrões de qualidade.

[018] Esses atributos tornam este invento uma solução inovadora e promissora para a indústria de cuidados bucais, oferecendo um produto seguro, eficaz e ambientalmente responsável.

[019] Este invento aborda uma série de problemas enfrentados no tratamento de doenças bucais, oferecendo vantagens significativas em relação aos produtos existentes no mercado:

1. Alternativa terapêutica de baixo custo: O enxaguante bucal desenvolvido representa uma alternativa terapêutica acessível, especialmente importante considerando o número significativo de pacientes com altos índices de doenças bucais.
2. Efeito antimicrobiano e potencial terapêutico: O uso do extrato de *Acmella oleracea*, extraído com tecnologia supercrítica, oferece benefícios terapêuticos

abrangentes, incluindo efeitos antimicrobianos, antibióticos, analgésicos e anestésicos, comprovados pela literatura científica atual.

3. Baixa toxicidade: A formulação apresenta baixa toxicidade, proporcionando segurança para uso bucal regular, ao contrário de alguns produtos disponíveis que podem causar efeitos colaterais indesejados.

4. Redução de efeitos colaterais: Ao contrário de enxaguantes bucais convencionais, como a clorexidina a 0,12%, que podem causar pigmentação dentária, descamação da mucosa e sensibilidade oral, o uso do extrato de *Acmella oleracea* minimiza esses efeitos adversos.

5. Aceitação popular e apoio da Organização Mundial de Saúde: A *Acmella oleracea* como matéria-prima terapêutica é bem aceita pela população e conta com o apoio da Organização Mundial de Saúde, o que respalda sua eficácia e segurança.

6. Terapia alternativa acessível: O desenvolvimento deste produto representa uma terapia alternativa de baixo custo e fácil acesso, alinhada às necessidades atuais de combate a doenças bucais de forma eficaz e segura.

[020] Essas vantagens demonstram a relevância e o impacto positivo deste invento no cenário da saúde bucal, oferecendo uma solução abrangente e acessível para os pacientes.

[021] Ao compararmos o enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* com os produtos similares existentes no mercado, destacam-se diversas vantagens desta nova tecnologia:

1. Produto do bioma amazônico e extração Supercrítica: Enquanto muitos enxaguantes comerciais contêm ingredientes sintéticos e químicos artificiais, o enxaguante de *Acmella oleracea* é derivado de uma planta natural do bioma amazônico, o que o torna mais seguro e eficaz para uso bucal. Além disso, sua extração por tecnologia supercrítica garante a preservação das propriedades benéficas da planta, resultando em um produto final mais puro e potente.

2. Efeitos medicinais: A *Acmella oleracea* possui uma ampla gama de benefícios terapêuticos, incluindo propriedades antimicrobianas, antibióticas, analgésicas e anestésicas. Essa diversidade de ações terapêuticas proporciona uma solução completa para o tratamento e cuidado da saúde bucal, superando as limitações dos produtos convencionais.

3. Baixa Toxicidade e Efeitos Colaterais Reduzidos: Graças à sua origem natural e à tecnologia de extração utilizada, o enxaguante de *Acmella oleracea* apresenta baixa

toxicidade e redução significativa de efeitos colaterais indesejados, comuns em enxaguantes convencionais que utilizam produtos químicos agressivos.

4. Aceitação e Confiança dos Consumidores: O uso de extratos naturais respaldados por pesquisas científicas inspira maior aceitação e confiança por parte dos consumidores e profissionais de saúde bucal. A *Acmella oleracea* é reconhecida por suas propriedades benéficas e seguras, o que contribui para uma adesão mais positiva por parte dos usuários.

5. Sustentabilidade Ambiental e Responsabilidade Social: A utilização de ingredientes naturais e processos sustentáveis de produção não apenas beneficia a saúde bucal, mas também contribui para a preservação do meio ambiente e para práticas mais responsáveis na indústria farmacêutica.

[022] Em resumo, o enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* representa uma inovação significativa na área da saúde bucal, oferecendo uma alternativa natural, segura, eficaz e sustentável para os consumidores, com benefícios terapêuticos ampliados e um alto padrão de qualidade em comparação com os produtos disponíveis atualmente no mercado.

[023] O uso presente e futuro do enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* é abrangente e promissor. Atualmente, sua aplicação visa proporcionar um cuidado bucal eficaz, seguro e natural para os consumidores, atendendo às necessidades de higiene oral diária e prevenção de doenças bucais.

[024] No futuro, espera-se que este enxaguante bucal patenteado desempenhe um papel ainda mais significativo na promoção da saúde bucal e na prevenção de problemas dentários, como cáries, placa bacteriana e gengivite. Além disso, a utilização contínua deste produto pode contribuir para a redução do uso de ingredientes químicos agressivos em produtos de higiene oral, promovendo um estilo de vida mais sustentável e ecológico.

[025] Com o avanço da pesquisa e da conscientização sobre os benefícios dos ingredientes naturais para a saúde, espera-se que o enxaguante bucal de *Acmella oleracea* ganhe ainda mais destaque como uma alternativa terapêutica e preventiva de escolha para milhões de pessoas em todo o mundo.

[026] Em suma, o uso presente e futuro deste enxaguante bucal está centrado na melhoria da saúde bucal, na promoção de hábitos de higiene oral saudáveis e na busca por soluções mais naturais e sustentáveis para a saúde e o bem-estar dos consumidores.

[027] A presente invenção se destaca significativamente dos produtos atualmente conhecidos no estado da técnica por diversas razões distintivas e inovadoras. Em primeiro lugar, o enxaguante bucal desenvolvido neste pedido de patente é formulado exclusivamente com ingredientes naturais provenientes da Amazônia, destacando-se o extrato de *Acmella oleracea*.

[028] Esta escolha representa uma mudança radical em relação aos produtos convencionais do mercado, que frequentemente empregam ingredientes sintéticos e químicos artificiais em suas formulações.

[029] Além disso, a utilização da tecnologia supercrítica para extrair os componentes ativos da planta garante um produto final de alta pureza e eficácia, em contraste com os métodos tradicionais de produção. Esta abordagem resulta em um enxaguante bucal com benefícios terapêuticos ampliados, incluindo efeitos antimicrobianos, antibióticos, analgésicos e anestésicos, proporcionando aos usuários uma experiência bucal suave, segura e eficaz.

[030] Outro diferencial crucial é a preocupação com a sustentabilidade ambiental ao longo de todo o processo de produção, desde a origem natural dos ingredientes até as práticas de fabricação que minimizam o impacto no meio ambiente. Este compromisso ambiental destaca ainda mais a singularidade e inovação do enxaguante bucal proposto neste pedido de patente em comparação com os produtos atualmente disponíveis no mercado.

[031] Em resumo, esta invenção representa uma nova era no cuidado bucal, oferecendo uma alternativa natural, eficaz, segura e sustentável para os consumidores, superando significativamente as limitações dos produtos existentes no estado da técnica.

ANEXO III - REIVINDICAÇÕES

1 COMPOSIÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* caracterizado por utilizar extrato de planta do gênero *Acmella*;

2 COMPOSIÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* caracterizado por utilizar extrato de planta do gênero *Spilanthes*;

3 COMPOSIÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* compreendendo pelo menos um agente analgésico natural nas dosagens de 0,070g a 0,300g.

4 PRODUÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* caracterizada por reivindicar o processo de pesagem, diluição e mistura.

5 COMPOSIÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* compreendendo pelo menos um agente antimicrobiano natural nas dosagens de 0,070g a 0,300g.

6 COMPOSIÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* compreendendo pelo menos um agente anti-inflamatório natural nas dosagens de 0,070g a 0,300g.

7 COMPOSIÇÃO para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9 que é um Enxaguante bucal à base de *Acmella oleracea* com potente ação terapêutica.

8 PRODUÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* caracterizada por reivindicar o processo de pesagem, diluição e mistura.

9 PRODUÇÃO DE ENXAGUANTE BUCAL À BASE DE *Acmella oleracea* caracterizada por reivindicar o uso de 6 produtos na formulação dos mesmos.

**ANEXO IV - INFORMAÇÕES PARA PEDIDO DE DEPÓSITO DE
PATENTES, REGISTRO DE MARCA, DESENHO INDUSTRIAL**

ANEXO V - CESSÃO DE DIREITOS

**ANEXO VI - PEDIDO DE INVENÇÃO, MODELO DE UTILIDADE,
CERTIFICADO DE ADIÇÃO DE INVENÇÃO E ENTRADA DE
FASE NACIONAL DO PCT**

ANEXO VII - PATRIMÔNIO GENÉTICO