



ENXAGUANTES BUCAIS À BASE DE EXTRATO DE PRÓPOLIS PARA AÇÃO ANTI-CÁRIE NA PROMOÇÃO DA SAÚDE E ANÁLISE QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DESTES PRODUTOS

Larissa dos Santos Fávaro¹, Mariana Inocencio Manzano¹, José Eduardo Gonçalves²

RESUMO: A própolis produzida por abelhas da espécie *Apis mellífera* é constituída por diferentes compostos, como flavonoides e fenóis, responsáveis por diversas propriedades biológicas, sendo elas antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomodulatória, entre outras. A boca apresenta, em seu interior, diversas bactérias que compõem o biofilme bacteriano, onde algumas dessas bactérias são responsáveis pela ocorrência de doenças orais, como cárie e periodontites. A placa dental é formada devido deposição de um biofilme derivado do depósito de glicoproteínas salivares sobre a superfície dos dentes, sua remoção é essencial para manutenção da saúde bucal, que pode ser feita utilizando agentes mecânicos, além de enxaguantes bucais que são adjuvantes às técnicas de higienização bucal. Os enxaguantes bucais à base de produtos químicos apesar de eficazes alteram a microbiota oral e apresenta efeitos colaterais indesejáveis, estimulando, assim, a procura por medicamentos alternativos à base de produtos naturais, como a própolis, que quando incorporada em produtos de higiene oral pode atuar reduzindo os níveis de *S. mutans* e acúmulo de biofilme. Desta forma, a partir da análise da composição de extratos etanólicos de própolis por HPLC serão desenvolvidos enxaguantes bucais, os quais também conterão fluoreto de sódio, que tem se mostrado eficaz no processo de remineralização de lesões de cárie incipiente, sendo que estes enxaguantes podem ser empregados em escolares, no intuito de verificar a possibilidade da utilização destes no processo de desmineralização-remineralização do esmalte dentário, além de auxiliar na prevenção de doenças como cárie e periodontites.

PALAVRAS-CHAVE: Análise por HPLC; Enxaguante bucal; Própolis; Extrato de própolis.

1 INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância resinosa produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera* (Park et al., 1998a), apresenta uma composição química complexa (Boyanova et al., 2006) que inclui flavonóides (como a galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol), ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides (como os ácidos cafeico e clorogênico), esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e vários outros compostos em pequenas quantidades (Hu et al., 2005; Hayacibara et al., 2005; Ozkul et al., 2004; Matsuda et al., 2002; Rocha et al., 2003; Cheng et al., 2013).

Atualmente, inúmeros trabalhos demonstraram as atividades biológicas desta, bem como suas aplicações terapêuticas, se fazendo necessário o estabelecimento de alguns pontos importantes, pois apesar de ser aceita por órgãos regulatórios como produto com finalidade terapêutica, a própolis precisa ser padronizada quimicamente para garantir sua qualidade, eficácia e segurança (Cheng et al, 2013). No entanto, isso não é fácil, pois vários fatores podem interferir na sua composição química, assim, são necessários estudos que relacionem a composição química com a atividade biológica, tornando possível correlacionar o tipo de própolis com a sua aplicação terapêutica.

A boca apresenta diversas superfícies cobertas por uma camada de bactérias, que compõem o biofilme bacteriano, onde algumas dessas bactérias são responsabilizadas pela ocorrência de doenças orais, tais como cáries e periodontites, que estão entre as mais frequentes infecções bacterianas em humanos. O uso de agentes mecânicos na remoção da placa constitui um método simples e eficaz, porém sua efetividade é influenciada pela habilidade manual e pela motivação do indivíduo (Franco Neto et al., 2008). Desta forma, o enxaguante bucal é utilizado como adjuvante às técnicas mecânicas no controle da placa e da gengivite (Janson, 2006), onde temos os enxaguantes à base de produtos químicos, como a clorexidina e o triclosan, que são eficazes contra microorganismos periodontopatogênicos, no entanto, esses produtos químicos podem alterar a microbiota oral e apresentar efeitos colaterais indesejáveis (Palombo, 2009).

Na Odontologia atual, produtos à base de extratos naturais vêm sendo empregados com propósito terapêutico in vivo (Pereira, 2002), pelo fato de grande parte dos produtos de origem vegetal apresentar em sua composição substâncias com atividade anticariogênica que podem suprimir o crescimento de bactérias presentes na cavidade bucal, além de inibir a síntese de glucano a partir da sacarose pela glicosiltransferase. A incorporação do extrato de própolis em produtos de higiene oral tem sido estimulada pelos resultados promissores obtidos tanto

¹ Acadêmicas do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UniCesumar (PROBIC). larissa_favaro@hotmail.com; mari.manza@hotmail.com

² Professor, Doutor do programa de pós-graduação em Tecnologias Limpas e do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde do Centro Universitário Cesumar - UniCESUMAR, Maringá/PR. jose.goncalves@unicesumar.edu.br



na formulação de dentifrícios como no emprego em soluções de bochecho, reduzindo os níveis de *S. mutans*, a doença gengival (MOTA, 2000) e o acúmulo de biofilme (KOO et al., 2002a), por apresentar atuação expressiva contra bactérias colonizadoras do biofilme, além de possuir efeito inibitório sobre a síntese de glucano (KOO et al., 2000).

O fluoreto de sódio (NaF) tem sido demonstrado como eficaz no processo de remineralização de lesões de cárie incipiente (CURY; TENUTA, 2009; FEATHERSTONE, 2009). Diante disso, pensou-se na hipótese de combinar os EEPs ao NaF para verificação da possibilidade da utilização dessa associação na dinâmica do processo de desmineralização-remineralização do esmalte dentário (processo DES-RE).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESENVOLVIMENTO DO ENXAGUANTE BUCAL A BASE DE PRÓPOLIS

O preparo da formulação do enxaguante bucal a base de própolis será desenvolvido utilizando os extratos de própolis que apresentaram as melhores ações microbiológicas e o melhor perfil químico. A formulação será composta por mentol pulverizado, eucaliptol, água, lauril sulfato de sódio, essência de menta, extrato de própolis 11%, metilparabeno, sacarina, corante e água destilada (q.s.p). O pH do enxaguante bucal deverá ser ajustado para o pH da flora bucal.

Serão desenvolvidas três formulações: uma formulação contendo extrato de própolis, uma formulação com extrato de própolis e fluoreto de sódio, uma sem o extrato de própolis e com o fluoreto de sódio e uma sem extrato de própolis e sem fluoreto de sódio.

Após o desenvolvimento dos enxaguantes, será testada ação da formulação para determinar o perfil químico do enxaguante bucal à base de própolis por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC, análise quantitativa de fenóis totais e análise da ação do enxaguante bucal a base de própolis sobre o revestimento dental por microscopia eletrônica de varredura. Também será realizado controle de qualidade do produto desenvolvido sendo avaliados os seguintes itens: aspecto, sabor, cor, odor e pH. Além disso, será realizado o estudo de estabilidade acelerada, onde, amostras do produto serão armazenadas em estufa (40°C), na geladeira (5°C) e em temperatura ambiente durante 90 dias, sendo avaliadas nos tempos zero, 24 horas e após 7, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias quanto aos mesmos itens que foram verificados no controle de qualidade, segundo o Guia de Estabilidade da Anvisa.

Neste trabalho será testada a capacidade antioxidante do enxaguante bucal a base de própolis pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). A partir das atividades antioxidantes percentuais e da concentração de cada enxaguante bucal à base de extrato de própolis será realizada uma regressão linear, chegando-se assim à concentração necessária para se obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado de 100% (IC50) (MENEZES; VICENTINO, 2007).

Análises antimicrobianas serão realizadas utilizando as cepas padrões de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguis* (ATCC 10557), *Streptococcus salivarius* (ATCC 25975) e *Lactobacillus casei* (ATCC 7469). Neste protocolo será determinada a concentração inibitória mínima (CIM) do enxaguante bucal a base de própolis para cada bactéria.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A clorexidina é o agente químico empregado nos enxaguantes bucais industrializados que vem apresentando as melhores características em função de suas particularidades, onde vários estudos demonstraram o seu potencial antimicrobiano, inibindo o acúmulo de biofilme e o aparecimento da doença periodontal, além do efeito antimicrobiano seletivo, especialmente sobre *S. mutans*. Por outro lado, seus efeitos colaterais não são poucos, podendo causar pigmentação dos dentes, interferência gustativa, descamação da mucosa e resistência de germes quando do uso diário prolongado além de possuir sabor amargo, assim seu uso deve acontecer de maneira esporádica e com orientação de um profissional da odontologia.

A própolis é um produto natural produzido por abelhas, que também exercem um papel importante na polinização, auxiliando o meio ambiente. Este produto natural é fonte de muitas substâncias (flavonóis e fenóis) que apresentam propriedades medicinais e que podem ser utilizadas em diversas áreas melhorando a qualidade de vida das pessoas.

Assim o desenvolvimento do enxaguante bucal a base de própolis é um estratégia interessante que permite a utilização contínua do produto sem efeito colateral e que possa ajudar no combate da cárie que um problema de saúde pública.



REFERÊNCIAS

CHENG, H.; QIN, Z. H.; GUO, X. F.; HU, X. S.; WU, J. H. **Geographical origin identification of própolis using GC-MS and electronic nose combined with principal component analysis.** Food Research International, v. 51, p. 813 – 822, 2013.

HAYACIBARA MF, KOO H, ROSALEN PL, DUARTE S, FRANCO EM, BROWEN WH, IKEGAKI M, CURY JA 2005. **In vitro and vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development.** J Ethnopharmacol 101: 110-115.

HU F, HEPBURN HR, LI Y, CHEN M, RADLOFF SE, DAYA S 2005. **Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute infl ammatory animal models.** J Ethnopharmacol 100: 276-283.

KOO, H.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; AMBROSANO, G. M.; IKEGAKI, M.; PARK, Y. K. **Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation.** Caries Res, Basel, v. 36, n. 6, p. 445-448, Nov./Dec. 2002.

MATSUDA AH, MACHADO LB, MASTRO NL 2002. **Thermal analysis applied to irradiated propolis.** Radiat Phys Chem 63:353-355.

MOTA, H. C. N. **Avaliação clínica da própolis sobre a placa bacteriana e gengivite.** 87f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Preventiva). Natal: Faculdade de Odontologia da UFRN; 2000.

OZKUL Y, SILICI S, ERÖGLU E 2004. **The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture.** Phytomedicine 12: 742-747.

PEREIRA AS, SEIXAS FRMS, AQUINO Neto FR 2002. **Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras.** Quim Nova 25: 321-326.

PEREIRA, J. V. **Estudos com o extrato da Punica granatum Linn. (romã): efeitos antimicrobiano in vitro e avaliação clínica de um dentifrício sobre microorganismos do biofilme dental.** 88f. Tese (Doutorado em Estomatologia), João Pessoa: UFPB/UFBA, 2002.

ROCHA L, DOS SANTOS LR, ARCENIO F, CARVALHO ES, LUCIO EMRA, ARAUJO GL, TEIXEIRA LA, SHARAPIN N 2003. **Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana.** Rev Bras Farmacogn 13: 71-74.