



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 Manzano², José Eduardo Gonçalves³

^{1,2}Acadêmicas do Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá-PR.
Bolsista PROBIC-UniCesumar. larissa_favaro@hotmail.com

³Orientador, Doutor, Docente dos Programas de Mestrado em Tecnologias Limpas e Mestrado em Promoção da Saúde, UNICESUMAR. Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI

RESUMO

A própolis produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera* 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. O objetivo deste trabalho foi desenvolver enxaguantes bucais a base de extrato etanólico de própolis, a partir de amostras obtidas anteriormente de apicultores de diferentes regiões do estado do Paraná, as quais foram analisadas química e microbiologicamente, verificando quais apresentavam o melhor potencial terapêutico para serem empregadas na formulação de enxaguantes bucais, os quais foram submetidos a controle de qualidade, verificando-se a estabilidade destes, onde foi possível observar que dentre as amostras analisadas a de Ilha Grande é a que apresenta o melhor potencial para ser empregada na formulação dos enxaguantes bucais. Será realizada a análise quantitativa de fenóis totais e testada a atividade antioxidante destes extratos, bem como sua análise antimicrobiana.

PALAVRAS-CHAVE: Própolis; Fitoterápicos; Apiterapia; Pesquisa em Odontologia; Antissépticos bucais.

1 INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância resinosa de cor escura produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera* (PARK et al., 2002; BURDOCK, 1998), apresenta uma composição química complexa, que inclui flavonoides, ácidos aromáticos, ésteres, aldeídos, cetonas, 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 apud LUSTOSA et al., 2008; PARK et al., 2002).

Atualmente, sabe-se que a própolis brasileira apresenta diversas propriedades biológicas, entre elas antifúngica, antioxidante, imunomoduladora, hepatoprotetora, anti-



inflamatória, anticárie, anestésica, etc. (LUSTOSA et al., 2008; MARCUCCI, 1995). Sendo, por este fato, utilizada como objeto de vários estudos farmacológicos, que apresentam um interesse renovado quanto a sua composição e as suas propriedades biológicas (BANSKOTA et al., 1998; BANSKOTA et al., 2002).

Inúmeros trabalhos tem demonstrado as atividades biológicas da própolis, assim como suas aplicações terapêuticas, fazendo com que seu uso se tornasse um modismo, se fazendo, assim, necessário o estabelecimento de alguns pontos importantes, pois apesar de ser aceita por órgãos regulatórios como produto com finalidade terapêutica, ela precisa ser padronizada quimicamente para garantir sua qualidade, eficácia e segurança (LUSTOSA et al., 2008). No entanto, isso não é fácil, pois vários fatores podem interferir na sua composição química, assim, é necessário, inicialmente, determinar a origem botânica da própolis, analisar sua composição química, e a partir daí fazer estudos que relacionem a composição química com a atividade biológica, tornando possível correlacionar o tipo de própolis com a sua aplicação terapêutica, sendo isso importante para o controle de qualidade e para a padronização das amostras de própolis (LUSTOSA et al., 2008; PARK et al., 2002).

A boca apresenta diversas superfícies cobertas por uma camada de bactérias, que ao se aderirem a uma camada de proteína denominada película adquirida, dará origem ao biofilme bacteriano (placa dental), que consiste em um meio altamente variável, resultante da colonização e crescimento de microrganismos nas superfícies dos dentes e dos tecidos moles da boca, onde estes se encontram incorporados em uma matriz extracelular (STRAHAN; BASHAARAT; GREENSLADE, 1971 apud THOSAR et al., 2015; PEREIRA, 2010).

O biofilme é considerado o principal fator etiológico que leva ao desenvolvimento de doenças orais, tais como cáries, gengivites e periodontites, que estão entre as mais frequentes infecções bacterianas em humanos, cuja prevenção e tratamento se dão por meio da inibição da formação do biofilme e da sua remoção mecânica sobre a superfície dental, sendo, desta forma, o seu controle um dos principais e mais comuns desafios na prevenção em saúde bucal (THOSAR et al., 2015; BARDAL et al., 2011).

Muitas vezes, só a utilização do método mecânico não é suficiente para remover os microrganismos, se fazendo necessária a utilização de agentes antimicrobianos em forma de enxaguatórios bucais como adjuvantes na eliminação destes microrganismos patogênicos, onde temos os enxaguantes à base de produtos químicos, como o cloreto de cetilpiridínio, a clorexidina e o triclosan, que são eficazes, no entanto, podem alterar a microbiota oral e apresentar efeitos colaterais, como toxicidade, vômito, diarreia e causar manchas nos dentes (ETO; RASLAN; CORTELLI, 2003; MARINHO; ARAÚJO, 2007; PALOMBO, 2011).

Na Odontologia atual, que está mais voltada para a prevenção das doenças bucais, produtos à base de extratos de plantas medicinais vêm sendo empregados com propósito terapêutico *in vivo*, dentre esses a própolis tem se destacado por apresentar atividade anticariogênica, sendo, assim, utilizada como princípio ativo na formulação de dentifrícios e enxaguantes bucais, onde atua suprimindo o crescimento bacteriano e inibindo a síntese de glucano por inibir a glicosiltransferases (GTFS) de estreptococos cariogênicos, principalmente *Streptococcus mutans* que é considerada a principal bactéria envolvida na



formação do biofilme (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002; PEREIRA, 2010; BURDOCK, 1998).

Assim, devido o aumento da incidência de doenças orais, o aumento da resistência das bactérias aos antibióticos, os efeitos adversos de alguns agentes antibacterianos utilizados na odontologia, como já foi citado anteriormente, e devido às condições financeiras de países em desenvolvimento, se faz necessário desenvolver opções alternativas de prevenção e tratamento odontológico que sejam seguras, efetivas e ao mesmo tempo econômicas (PALOMBO, 2011). Mediante ao exposto, vem sendo desenvolvidas no mundo várias pesquisas que buscam desenvolver formulações de enxaguantes bucais à base de produtos naturais, como a própolis, devido ao fato de o uso de preparações padronizadas desta substância ser seguro, menos tóxico do que muitos medicamentos sintéticos, e ser capaz de reduzir a incidência de cárie e o acúmulo de biofilme (CASTALDO; CAPASSO, 2002; HAYACIBARA et al., 2005; KOO et al., 2002a).

A utilização do extrato de própolis na formulação de produtos de higiene oral vem sendo estimulada pelos resultados promissores obtidos nos estudos, que relataram redução significativa na concentração de placas dentárias após tratamento com enxaguante bucal contendo própolis, assim, acredita-se que ao reduzir a placa também haverá redução na incidência de doenças periodontais como gengivites e cáries (KOO et al., 2002a). Além disso, em estudos anteriores *in vitro* utilizando a própolis em solução de bochecho os resultados obtidos apresentaram ação inibitória à atividade de GTFs, redução significativa nos níveis de *S. mutans*, atuação sobre doença gengival e controle do biofilme dentário, demonstrando desempenho clínico e microbiológico semelhante à solução de bochecho a base de clorexidina, tornando, assim, o uso de extratos etanólicos de própolis (EEPs) como agente químico terapêutico no campo da Cariologia uma realidade (KOO et al., 2002b; ALMEIDA et al., 2006).

Desta forma, foram desenvolvidos enxaguantes bucais a base de extrato etanólico de própolis, a partir de amostras obtidas anteriormente de apicultores de diferentes regiões do estado do Paraná, as quais foram analisadas química e microbiologicamente, verificando quais apresentavam o melhor potencial terapêutico para serem empregadas na formulação de enxaguantes bucais, os quais poderão ser empregados em escolares no intuito de reduzir a incidência de doenças orais.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O preparo da formulação do enxaguante bucal a base de própolis foi desenvolvido utilizando os extratos de própolis que apresentaram as melhores ações microbiológicas e o melhor perfil químico. A formulação é composta por mentol pulverizado, eucaliptol, água, lauril sulfato de sódio, essência de menta, extrato de própolis 8%, metilparabeno, sacarina, corante e água destilada (q.s.p). O pH do enxaguante bucal foi ajustado para o pH da flora bucal.

Após o desenvolvimento dos enxaguantes, foi realizado o controle de qualidade do produto desenvolvido sendo avaliados os seguintes itens: aspecto, sabor, cor, odor e pH. Além disso, foi realizado o estudo de estabilidade acelerada, onde, amostras do produto foram 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 também será realizado a análise quantitativa de fenóis totais e 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 foi 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 DISCUSSÃO

A clorexidina é o agente químico empregado nos enxaguantes bucais industrializados, 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*, porém 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, fazendo assim com que seu uso deve acontecer de maneira esporádica e com orientação de um profissional da odontologia.

A própolis é um produto natural, fonte de inúmeras substâncias (flavonóis e fenóis), as quais são responsáveis por suas propriedades terapêuticas, podendo, assim, ele ser utilizado em diversas áreas melhorando a qualidade de vida das pessoas.

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 é um problema de saúde pública.

No controle de qualidade dos enxaguantes bucais a base de própolis preparados foi possível observar todas as amostras não apresentaram alteração quanto a sua cor, sabor e odor, e que as amostras de Ilha Grande e Porto Camargo submetidas a estufa e a temperatura ambiente apresentaram maior estabilidade quanto a formação de precipitado e turvação da amostra. O aumento da temperatura favorece a solubilização da cera presente nas amostras de extratos de própolis, assim, a amostra de São Jorge do Patrocínio apresentou formação de precipitado e turvação, devido maior concentração de cera. Todas as amostras submetidas a geladeira apresentaram a formação de precipitado e turvação, devido a baixa temperatura favorecer a precipitação da cera presente nas amostras.

Quanto ao pH, a variação no valor do pH entre o tempo 0 e 90 dias foram semelhantes entre si nos diferentes ambientes aos quais as amostras foram submetidas, sendo que a amostra de São Jorge do Patrocínio foi a que apresentou menor variação de pH, tanto na estufa, quanto geladeira e temperatura ambiente.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que apesar de a amostra de São Jorge do Patrocínio ter apresentado a menor variação de pH nos diferentes ambientes a que foi submetida, esta não é a amostra mais apropriada a ser utilizada para a formulação dos enxaguantes bucais devido a sua instabilidade quanto a formação de precipitado e turvação devido seu teor elevado de cera.

Devido a isto, as amostras de Ilha Grande e Porto Camargo se sobressaem, devido maior estabilidade quanto a não formação de precipitado e turvação da amostra, e entre estas duas a que apresenta o melhor potencial é a amostra de Ilha Grande, pelo fato de esta apresentar menor variação de pH.

Vale ressaltar que para a determinação da melhor amostra a ser utilizada na formulação de enxaguantes bucais é necessária a realização de outras análises que venham demonstrar o potencial terapêutico destas, como é o caso da quantificação de fenóis totais, determinação da atividade antioxidante e atividade antimicrobiana.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Rossana V. D. et al. Efeito clínico de solução anti-séptica a base de própolis em crianças cárie ativas. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.87-92, jan./abr. 2006.

BANSKOTA, Arjun H. et al. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 80, n. 1, p.67-73, abr. 2002.

BANSKOTA, Arjun H. et al. Chemical constituents of brazilian propolis and their cytotoxic activities. **Journal Of Natural Products**, [s.l.], v. 61, n. 7, p.896-900, jul. 1998.

BARDAL, Priscila A. P. et al. Educação e motivação em saúde bucal: Prevenindo doenças e promovendo saúde em pacientes sob tratamento ortodôntico. **Dental Press Journal Of Orthodontics**, Maringá, v. 16, n. 3, p.95-102, may/jun. 2011.

BURDOCK, George A.. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food And Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 36, n. 4, p.347-363, abr. 1998.

CASTALDO, Stefano; CAPASSO, Francesco. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, [s.l.], v. 73, suppl. 1, p. S1-6, nov. 2002.

ETO, Fábio S.; RASLAN, Suzane A.; CORTELLI, José R.. Características microbianas na saúde e doença periodontal. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 9, n. 2, p.45-51, abr./jun. 2003.

HAYACIBARA, Mitsue F. et al. *In vitro* and *in vivo* effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 101, n. 1-3, p.110-115, out. 2005.



KOO, Hyun et al. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 46, n. 5, p.1302-1309, may. 2002b.

KOO, Hyun et al. Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. **Caries Research**, [s.l.], v. 36, n. 6, p.445-448, nov./dec. 2002a.

LUSTOSA, Sarah R. et al. Própolis: Atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 3, p.447-454, jul./set. 2008.

MARCUCCI, Maria C.. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.83-99, 1995.

MARINHO, Bruno V. S.; ARAÚJO, Ana Claudia da S.. O uso de enxaguatórios bucais sobre a gengivite e o biofilme dental. **International Journal Of Dentistry**, Recife, v. 6, n. 4, p.124-131, out./dez. 2007.

PALOMBO, Enzo A.. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: Potential application in the prevention and treatment of oral diseases. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 2011, p.1-15, 2011.

PARK, Yong K. et al. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p.997-1003, dez. 2002.

PEREIRA, Alberto dos S.; SEIXAS, Fernando R. M. S.; AQUINO NETO, Francisco R.. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p.321-326, abr./mai. 2002.

PEREIRA, Elizete M. R.. **Evidências preliminares da eficácia de um enxaguante bucal contendo 5% de própolis para o controle de placa e gengivite**. 2010. 119 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

etoTHOSAR, Nilima et al. Changing trends in oral hygiene and plaque control in children. **Journal Of Dentistry And Oral Care**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.1-5, oct. 2015.

VICENTINO, Amanda R. R.; MENEZES, Fábio de S.. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p.384-387, jul./sep. 2007.