



## DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTENDO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA PARA PREVENÇÃO DA CÁRIE

*Bruna Hypólito Garcia<sup>1</sup>; Ariane Giachini dos Santos<sup>1</sup>; Daniele Fernanda Felipe<sup>2</sup>*

**RESUMO:** É crescente a preocupação do consumidor em fazer o uso de produtos de origem natural ou o mais próximo possível de produtos naturais. Um extrato que tem sido empregado há milhares de anos na medicina popular é o extrato de própolis, uma resina produzida por abelhas a partir de partes de plantas, que contém inúmeras substâncias, dentre elas os flavonóides. Suas características variam conforme a espécie vegetal visitada pelas abelhas, bem como o clima predominante, ou seja, sua cor, sabor, odor, consistência, composição química e atividade biológica dependem das procedências das espécies vegetais e das estações do ano. A grande variedade de sua composição química vem despertando um grande interesse devido a sua ação farmacológica e suas diversas propriedades terapêuticas, destacando-se as ações antiinflamatórias, cicatrizante e antimicrobiana. Sendo assim, este trabalho visou testar e comprovar a atividade antimicrobiana do extrato própolis vermelha vinda de João Pessoa-PB, contra as bactérias *Streptococcus mutans*, *Lactobacilos casei* causadoras da cárie. Primeiramente, foi avaliada a ação antimicrobiana do extrato de própolis liofilizado através do método de difusão em ágar e a partir dos resultados obtidos o extrato da própolis vermelha foi incorporado em um enxaguatório bucal por apresentar uma ótima atividade antimicrobiana. Foram realizados testes com a formulação onde o produto apresentou ação contra as bactérias. Após foi efetuado o controle de qualidade e estudo da estabilidade acelerada com a formulação desenvolvida que será destinada a prevenção da cárie por apresentar-se estável aos testes desenvolvidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade antimicrobiana; Formulação contra cárie; Própolis.

### INTRODUÇÃO

No Brasil, segundo Nogueira et al (2007), há uma grande variedade de própolis como própolis verde, marrom esverdeada, amarela, amarela escura, castanho escuro, castanho claro e mais recente a vermelha. Sua composição química é variada, sendo que já foram identificadas mais de 200 substâncias, dentre essas classes de substâncias, destacam-se a dos flavonóides e a dos ácidos fenólicos, pois é atribuída a elas grande parte das atividades biológicas constatadas para a própolis (FUNARI; FERRO, 2006).

A própolis vermelha é coletada pelas abelhas do exsudato vermelho da superfície da *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub. (*Leguminosae*), popularmente conhecida como rabo-de-bugio, encontrada ao longo da praia e região do mangue do nordeste do Brasil. Possui em sua constituição a presença das isoflavonas, que possuem ação antioxidante, antimicrobiana e antifúngica (DAUGSCH, 2007).

<sup>1</sup> Acadêmicos do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), Maringá – Paraná. Programa de Iniciação Científica do Cesumar (PICC). [brunahypolito@hotmail.com](mailto:brunahypolito@hotmail.com), [ariane\\_ags@hotmail.com](mailto:ariane_ags@hotmail.com)

<sup>2</sup> Orientador, Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), Maringá – Paraná. [daniefefelipe@cesumar.com](mailto:daniefefelipe@cesumar.com)

A cárie, que é formada por um processo de descalcificação do esmalte dentário e da dentina por ação de ácidos orgânicos formados por bactérias fermentadoras, principalmente, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* (NOGUEIRA et al, 2007).

A ação antimicrobiana dos extratos de própolis se dá pela inibição da enzima glucosiltransferase (ou Gtf), a qual é produzida pela bactéria *Streptococcus mutans* para quebrar o açúcar em glicose e frutose, a partir da glicose, a bactéria sintetiza o membrano (polímero de açúcar) e o deposita na superfície dos dentes, onde passa a sobreviver. Toda vez que é ingerido açúcar, mais membrano é formado entre as bactérias, o que constitui a chamada placa de massa bacteriana (KOO; ROSALEN; CURY; PARK; BOWEN, 2002).

Medidas terapêuticas capazes de combater a placa bacteriana, tanto curativamente, como preventivamente têm um impacto bastante positivo sobre a prevenção de várias patologias bucais dentre elas a cárie. Portanto, a procura pela descoberta de agentes antimicrobianos, oriundos de vegetais pode levar ao desenvolvimento de novos fármacos importantes na odontologia (ANDREWS, 2001).

Baseado neste contexto o presente trabalho avaliou a capacidade antimicrobiana da própolis vermelha sobre patógenos bucais, para que sejam abertas novas possibilidades de estudos, sendo os conhecimentos obtidos por meio deste de suma importância para futuras aplicações em humanos na prevenção e no combate a cárie.

## MATERIAL E MÉTODOS

Após levantamento bibliográfico, a própolis vermelha foi escolhida para desenvolvimento da pesquisa, sendo coletado do apiário localizado em João Pessoa–PB. O extrato foi elaborado a partir da amostra de própolis, por maceração em contato com etanol a 96° GL, por um período de 24 horas em recipiente hermético. Após realizou a filtração e liofilização dos extratos.

O *Streptococcus mutans* que encontrava-se em Caldo BHI 5% sangue, retirou-se com uma alça de platina, uma colônia isolada e transferiu para uma placa de ágar sangue, pelo método de estrias contínuas e foi incubado por 24 horas a 37°C em uma jarra de anaerobiose. Após o crescimento do microrganismo foi feita sua padronização através da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC mL).

O *Lactobacillus casei* foi isolado a partir do produto Lácteo Yakult 40, onde em uma placa de petri contendo o meio ágar MRS (Man, Rugosa and Sharpe), foi adicionado 0,1mL do Yakult e deixado em estufa a 37°C, por 24 horas. Após este período foi retirado uma colônia isolada, com o auxílio de uma alça de platina, que foi inoculado em um tubo de ensaio contendo MRS, inclinado em ápice, pelo método de estrias contínuas onde o tubo foi incubado a 37°C, por 24 horas. Após o crescimento da respectiva bactéria fez-se a padronização do inóculo para 0,5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC mL).

A partir da padronização, os microrganismos foram semeados em placa de Petri com seus respectivos meios citados. Após testes realizados, foram preparados extratos da própolis vermelha na concentração de 0,75% e 1%, onde foram submetidos a ensaios de atividade antimicrobiana por difusão em ágar segundo a metodologia de Nogueira et al (2007), sendo colocados em discos de papel de filtro com 5mm de diâmetro 10µL de extrato. Como padrão foi inoculado na placa contendo cada microrganismo um disco de papel de filtro com 5mm de diâmetro 10µL de Digluconato de Clorexidina a 1%.

Após a realização de todos os testes antimicrobianos com o extrato, pode-se relatar que os discos submetidos à difusão em ágar contendo extrato de própolis vermelho 0,75% foi o que apresentou maior ação antimicrobiana.

Em seguida, realizou-se o desenvolvimento de uma formulação de uso odontológico, sendo desenvolvido um enxaguatório bucal contendo o extrato de própolis na concentração descrita.

Tabela 1: Matérias-primas utilizadas no desenvolvimento da formulação desenvolvida

MATÉRIA PRIMA	QUANTIDADE
Eucaliptol	0,4 ml
Mentol	0,1 ml
Álcool 96° gl	1 ml
Lauril sulfato de sódio	3 ml
Sacarina sódica	0,1 g
Nipagin	0,1 g
Glicerina	30 ml
Extrato de própolis testado	750 µl extrato própolis vermelho + 250 µl de álcool
Essência de menta	Q.s. MI
Corante vermelho	Q.s. MI
água destilada q.s.p	100 ml

Para o preparo do enxaguatório o mentol foi pulverizado e adicionado o eucaliptol e homogeneizado, adicionou-se o álcool no gral e homogeneizou até completa solubilização do mentol. Em um Becker adicionou lauril sulfato de sódio e a essência de menta, adicionou a própolis vermelha e diluiu com 1 mL de álcool e 1 mL de tween 20, adicionou-se na etapa anterior no Becker, após homogeneização verteu para o gral e homogeneizou. Em outro gral, pulverizou o nipagin e a sacarina, adicionou a glicerina e homogeneizou até solubilização (se necessário aquecer). Adicionou o conteúdo dos dois gral em um cálice e homogeneizou. Completou o volume com água destilada e homogeneizou. Adicionou o corante, adicionou 2mL de tween homogeneizou.

Após o desenvolvimento das formulações as mesmas foram testadas utilizando o método de difusão em ágar sangue para *Streptococcus mutans* e ágar MRS para *Lactobacillus casei* e a clorexidina como padrão. Um disco contendo apenas as matérias primas foi feito e testado junto com os demais discos, para saber se as matérias-primas utilizadas estariam influenciando na ação antimicrobiana da formulação.

Quanto a formulação, também realizou controle de qualidade do produto desenvolvido sendo avaliados os itens aspecto, cor, odor e pH e o estudo de estabilidade acelerada. Neste teste, 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, 60 e 90 dias, quanto aos mesmos itens que foram verificados no controle de qualidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2: Resultado do teste de atividade antimicrobiana

BACTÉRIA UTILIZADA	EXTRATO DE PRÓPOLIS	HALO OBTIDO	DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA	HALO OBTIDO
<i>Streptococcus mutans</i>	Vermelho 0,75%	1,0 cm	1%	1,0 cm
	Vermelho 1,0%	1,0 cm	1%	1,0 cm
<i>Lactobacillus casei</i>	Vermelho 0,75%	1,0 cm	1%	1,4 cm
	Vermelho 1,0%	1,0 cm	1%	1,4 cm

Extrato liofilizado de própolis vermelha nas concentrações de 1% e 0,75% e da amostra padrão clorexidina.

Resultados indicam que o extrato da própolis vermelha apresentou halos de inibição em todas as bactérias testadas, obtendo um valor significativo e próximo ao padrão utilizado.

A formulação passou pelo estudo da estabilidade acelerada onde o produto foi colocado na estufa a 40°C, na geladeira a 5°C e a temperatura ambiente, sendo avaliado em tempo 0, 24 horas e após 7, 15, 30 60, e 90 dias o mesmo manteve sua cor, odor e pH.

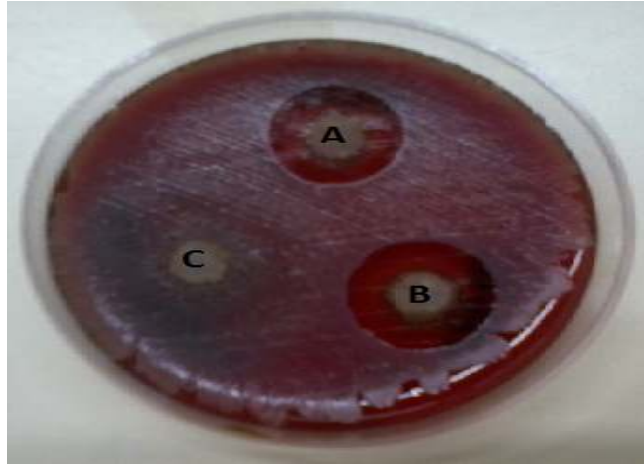


Figura 1: Resultado do teste de ação antimicrobiana em difusão em ágar para a bactéria *Streptococcus mutans*. Disco A: formulação desenvolvida com extrato de própolis, disco B: padrão utilizado (clorexidina), Disco C formulação sem extrato de própolis.

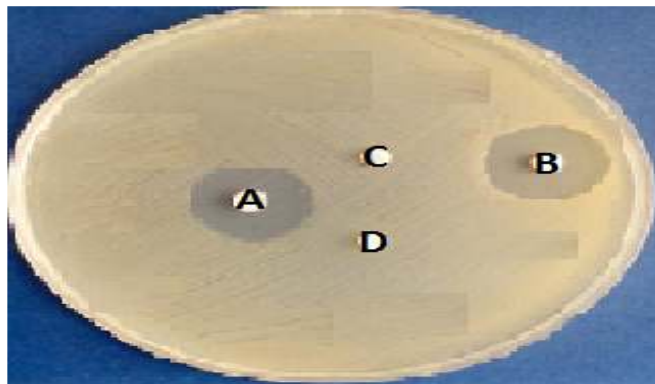


Figura 2: Resultado do teste de ação antimicrobiana em difusão em ágar para a bactéria *Lactobacillus casei*. Disco A: formulação desenvolvida com extrato de própolis, disco B: padrão utilizado (clorexidina), disco C: formulação sem extrato de própolis, disco D: conservante (nipagin).

## CONCLUSÃO

Tendo em vista que as características da própolis variam conforme a espécie vegetal visitada pelas abelhas, bem como o clima predominante, ou seja, sua cor, sabor, odor, consistência, composição química, e sua atividade biológica dependem das procedências das espécies vegetais e das estações do ano, é importante a pesquisa de diferentes tipos de própolis, como a vermelha conhecida recentemente. Pode-se perceber que a própolis vermelha originada

apresentou uma ótima ação contra as bactérias cariogênicas quando comparada com o padrão clorexidina.

O enxaguatório bucal também se mostrou eficaz contra o *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* mostrando que o mesmo pode ser utilizado como alternativa para prevenção, controle e resposta antimicrobiana com menos riscos associados à cárie.

## REFERÊNCIAS

ALLEN Jr, L.V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2007.

ANDREWS, J, M. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 48, Suppl. S1, 5-16, (2001).

**COSMÉTICOS – Guia de estabilidade de produtos cosméticos: Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 27p., 2004.

DAUGSCH, Andreas. **A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas características químicas e biológicas**. 2007. 133 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

FREITAS, Alex Da Silva De; BARTH, Ortrud Monika; LUZ, Cynthia Fernandes Pinto Da. Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro,. **Revista Brasil. Bot**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p.343-354, abr. 2010.

FUNARI, Cristiano; FERRO, Vicente. Análise de própolis. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, p 171-178, jan/mar. 2006.

KOO, Hyun et al. Effects of Compounds Found in Propolis on *Streptococcus mutans* Growth and on Glucosyltransferase Activity. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, New York, v. 46, n. 5, p.1302-1309, May 2002.

NOGUEIRA, M.A; DIAZ, M.G; TAGAMI, P.M; LORSCHIDE, J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Viçosa, n.1, p.93-97, jul. 2007.