



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FAUSTO RODRIGO VICTORINO

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE DIFERENTES  
FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS  
À BASE DE PRÓPOLIS

MARINGÁ  
2005

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FAUSTO RODRIGO VICTORINO

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE DIFERENTES  
FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS  
À BASE DE PRÓPOLIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (área de concentração – Produtos Naturais Biologicamente Ativos) da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora:

Prof. Dra. Ciomar Aparecida Bersani-Amado

Co-orientadora:

Prof. Dra. Mirian Marubayashi Hidalgo

MARINGÁ  
2005

FAUSTO RODRIGO VICTORINO

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE DIFERENTES  
FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS  
À BASE DE PRÓPOLIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (área de concentração – Produtos Naturais Biologicamente Ativos) da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr André Gaspareto  
Universidade Estadual de Maringá – UEM

---

Profa. Dra. Mara Lane Carvalho Cardoso  
Universidade Estadual de Maringá – UEM

---

Profa. Dra. Ciomar Aparecida Bersani-Amado  
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Dedico este trabalho

*À minha esposa Veridiana, meu porto seguro, com quem sempre posso confiar e dividir minhas alegrias. À minha filha Maria Luiza, luz de Deus em minha vida, fruto de uma união sincera e verdadeira.*

“A ignorância afirma ou nega veemente, a ciência duvida”  
(Voltaire)

“A ciência pode apenas determinar o que é, não o que deve ser”  
(Albert Einstein)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder o fundamental para a concretização desta etapa de minha vida: família, saúde e discernimento.

Aos meus pais, pelo apoio, incentivo e principalmente por terem proporcionado as condições necessárias para o início de um projeto que hoje é realidade.

À professora Ciomar Aparecida Bersani-Amado, exemplo de dedicação e competência, pela orientação acadêmica, companherismo e amizade nestes dois anos de mestrado.

À professora Mirian Marubayashi Hidalgo, quem idealizou a realização deste trabalho, por ter em mim depositado toda sua confiança mesmo antes do início do programa. Sua amizade e orientação contribuíram para meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Às professoras Selma Luci Franco e Terezinha Zdsinski, participantes deste trabalho, por terem proporcionado uma excelente e fundamental interação entre as áreas, tornando este, um trabalho promissor com boas perspectivas futuras.

Aos técnicos do Laboratório de Inflamação Célia Regina Miranda e Jaílson Araújo Dantas, que nunca mediram esforços para ajudar e orientar a realização dos experimentos e por tornarem o laboratório um ambiente de trabalho agradável e bem organizado.

Aos colegas de laboratório: Adriano, Tieleles, Atiliane, Simone, Silmara, Juliana, professora Silvana M. C. Assef e professor Roberto K. N. Cumam que de alguma forma colaboraram com a concretização deste trabalho.

Às secretárias do departamento: Helena e Sônia, que sempre se mostraram dispostas a ajudar em relação às questões burocráticas.

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
2.1	<b>Animais</b> .....	12
2.2	<b>Obtenção e preparo da Própolis</b> .....	12
2.3	<b>Edema de Orelha de Camundongo</b> .....	13
2.4	<b>Permeabilidade Vascular</b> .....	13
2.5	<b>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</b> .....	14
2.5.1	Microorganismos.....	14
2.5.2	Teste de susceptibilidade de leveduras e bactérias aeróbias.....	14
2.5.3	Teste de Sensibilidade de Bactérias anaeróbias.....	15
2.6	<b>Análise Estatística</b> .....	16
3	<b>RESULTADOS</b> .....	16
3.1	<b>Efeito das diferentes preparações de própolis sobre o edema de Orelha de Camundongo.</b> .....	16
3.2	<b>Extravasamento de Azul de Evans induzido pelas diferentes preparações de própolis</b> .....	18
3.3	<b>Controle de qualidade do extrato de própolis e das formulações</b> .....	19
3.4	<b>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</b> .....	20
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	22
5	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Efeito do tratamento tópico com as soluções de própolis PPE1, PPE2, PPE3, PPF18, PPF19) e indometacina sobre o edema de orelha de camundongo induzido por óleo de cróton..... 17
- FIGURA 2** Efeito inibitório (%) das soluções de própolis aplicadas topicamente sobre o edema de orelha de camundongo induzido pelo óleo de cróton..... 17
- FIGURA 3** Extravasamento de Azul de Evans em  $\mu\text{g}/\text{lesão}$  30 min, 4 h e 24 h após injeção subcutânea das soluções PPE1, PPE2, PPE3 PPF18, PPF19 e salina..... 18

## **LISTA DE TABELAS**

## 1. INTRODUÇÃO

A polpa dental é constituída por um tecido conjuntivo frouxo, e quando exposta a estímulos lesivos (biológicos, químicos ou mecânicos) pode desenvolver uma reação inflamatória, que ocorre em uma câmara dentinária rígida, sem distensibilidade. Assim, qualquer aumento de volume (sanguíneo, exsudativo) poderá aumentar a pressão intrapulpar, comprimindo os vasos e reduzindo o suprimento sanguíneo, causando necrose do tecido pulpar (HEYERRAS, 1989)

Quando a inflamação da polpa torna-se irreversível, a pulpectomia ou a remoção da polpa dental se faz necessária, a fim de preservar a vitalidade do coto periodontal. Estudo de Grove, em 1921, já relatava a importância da manutenção do coto periodontal pela deposição de cimento secundário após a obturação do canal radicular. O mesmo trabalho demonstrou a preocupação com a lesão química e mecânica do tecido, responsável pelo fracasso do reparo apical. Seltzer e colaboradores (1968) observaram que o sucesso no reparo dos tecidos apical e periapical inflamados é importante para a manutenção de sua integridade. Outros autores (BENATTI, 1982; BRANT, 1986) demonstraram ainda, a alta capacidade de regeneração que o coto periodontal possui na ausência de infecção. Em ambos estudos foi demonstrado que, após ser controlada a reação inflamatória resultante do trauma pós sobreinstrumentação, ocorre o reparo do tecido conjuntivo periapical.

A medicação intracanal ou curativo de demora tem participação coadjuvante no preparo biomecânico do canal radicular, visto que auxilia no combate à infecção e pode estimular o processo de reparo dos tecidos apicais. Por isso, esta medicação deve apresentar dentre outras, as propriedades de: atuar como barreira físico-química contra infecção ou reinfecção por microorganismos salivares; eliminar bactérias e fungos que sobreviveram ao preparo biomecânico; e reduzir a inflamação perirradicular, com o conseqüente alívio da dor, se existente (SIQUEIRA & DANTAS, 2000).

O medicamento mais utilizado na terapia endodôntica é o hidróxido de cálcio. Porém, em alguns casos pode ocorrer um reagudecimento do processo infeccioso, após sua introdução no canal radicular. Esse fenômeno denominado *flare up*, ainda não foi muito bem explicado cientificamente, sendo caracterizado por edema e dor. Produtos constituídos por formaldeído e cresol, como o formocresol e o tricresol, também podem ser utilizados; porém apresentam alta citotoxicidade.

Dessa forma, os produtos naturais surgem como uma alternativa menos tóxica e eficiente, constituindo uma fonte promissora de medicamentos e novas moléculas. A própolis,

uma resina coletada pelas abelhas *Apis mellifera* para isolamento térmico, vedação e proteção da colméia contra microrganismos (TREVISAN, 1983), tem sido amplamente utilizada na medicina popular de forma empírica há muito tempo. Devido à sua complexa composição química, a própolis tem demonstrado efeito antibacteriano (WU-YUAN, GREEN, BIRCH, 1990; GRANGE & DAVEY, 1990), antifúngico (KUJUMGIEV *et al.*, 1999), antiinflamatório (DOBROWOLSKI *et al.*, 1991), cicatrizante (PERRI DE CARVALHO, TAGLIAVINI, TAGLIAVINI, 1991) e imunomodulador (DIMOV *et al.*, 1992).

Diversos estudos na área odontológica têm avaliado a atividade biológica da própolis, principalmente no que se refere ao efeito cicatrizante, controle de placa bacteriana e efeito anticárie (MAGRO FILHO & PERRI DE CARVALHO, 1990; IKENO, IKENO, MIYAZAWA, 1991). Até o momento, poucos estudos associam a própolis e seus efeitos antiinflamatório e antibacteriano com a endodontia. Em 2004, Al-Shaher e colaboradores testaram a biocompatibilidade da própolis em fibroblastos da polpa dental e ligamento periodontal, demonstrando um comportamento dez vezes menos agressivo que o hidróxido de cálcio, amplamente utilizado clinicamente como curativo de demora.

No presente trabalho foram avaliadas as atividades antiinflamatória e exsudativa *in vivo*, e antimicrobiana *in vitro* de diferentes formulações farmacêuticas à base de própolis, para futura utilização como medicação intracanal no tratamento endodôntico.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Animais**

Foram utilizados camundongos Swiss, machos, pesando entre 25 e 35 g, e ratos Wistar, machos, pesando entre 210 e 240 g. Antes dos testes, todos os animais foram mantidos por 72 h a uma temperatura de 20 a 22°C, com ciclo de 12 h de claro/escuro, com comida e água *at libitum*. Os modelos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação em Animais da Universidade Estadual de Maringá, nº 001/04 CEEA.

### **2.2. Obtenção e preparo da Própolis**

As amostras de própolis foram coletadas das colméias de abelhas *Apis mellifera* na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá (FEI-UEM), localizadas no interior de uma reserva de eucaliptos e ao redor de uma mata nativa. Os extratos foram preparados por turbo extração em três concentrações diferentes, utilizando-se álcool diluído conforme técnica descrita por Franco & Bueno (1999), e receberam a denominação de PPE1, PPE2 e PPE3 respectivamente.

Foi selecionado o melhor extrato e este foi incorporado em várias formulações, as quais foram selecionadas em duas formulações

líquidas, identificadas como PPF18 e PPF19. O controle de qualidade da própolis foi realizado determinando-se o teor de flavonóide total (DEUTSCHES, 1994), de ceras (FRANCO *et al.* 2000), de cinzas totais e a perda por dessecação (FARM. BRÁS, 1988). Para otimização, determinou-se o resíduo seco, o pH, a densidade (FARM. BRAS, 1988) e o teor de flavonóides totais (DEUTSCHES, 1994, modificado).

Foi depositada patente provisória das formulações apresentadas nestes experimentos ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI, sob o número 000586.

### **2.3. Edema de Orelha de Camundongo**

Para a indução do edema, 20 µL de solução de óleo de cróton (200 µg/orelha) dissolvido em acetona/água (7:3), foi aplicado na superfície interna de ambas as orelhas dos camundongos, segundo técnica descrita por Van Arman (1974). Após secagem, 20 µL das soluções PPE1, PPE2, PPE3, PPF18, PPF19 ou indometacina (1 mg/orelha), foi aplicado na superfície interna da orelha esquerda. Na orelha direita foi aplicado 20

μL do solvente de cada solução. Cada teste foi realizado em 10 camundongos.

Após 6 h, os camundongos foram sacrificados, as orelhas recortadas com um perfurador de 6 mm de diâmetro e pesadas em balança analítica. Para o cálculo do índice de inibição de resposta inflamatória foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de inibição (\%)} = \frac{\text{peso da orelha D} - \text{peso da orelha E}}{\text{peso da orelha D}} \times 100$$

## 2.4. Permeabilidade Vascular

Os ratos anestesiados e depilados, receberam injeção de solução de Azul de Evans 2,5% em salina (1mg/kg de peso corporal via E.V.). Em seguida, 0,1 mL das soluções PPE1, PPE2, PPE3, PPF18 e PPF19 e os respectivos solventes foram injetados intradermicamente na região dorsal dos animais em 5 posições diferentes, conforme teste de área preconizada por Wilhelm *et al.* (1958) ligeiramente modificada. Os animais do grupo controle receberam injeção de igual volume de solução fisiológica. Após 30 min, 4 h e 24 h, os animais foram sacrificados por decapitação e as regiões da pele correspondentes às manchas formadas pelo extravasamento foram retiradas, picotadas e colocadas em frascos contendo 5 mL de solução etanol/acetona (6:3) para extração do corante. Os frascos foram vedados e mantidos ao abrigo da luz e à temperatura ambiente por 48 h. Após este período, a solução foi filtrada e sua absorbância determinada em espectrofotômetro no comprimento de onda 620 nm. Os valores foram posteriormente expressos em μg/lesão. Os testes foram realizados em 10 animais.

## 2.5. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

### 2.5.1. Microorganismos

Foram empregadas oito amostras de bactérias aeróbias (*Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Klebsiella oxytoca*; *Citrobacter freundii*;

*Bacilo gram negativo não fermentador (BGNNF); Proteus mirabilis; Enterobacter cloaceae*) e duas leveduras (*Candida albicans; Candida glabrata*) isoladas de casos clínicos, de pacientes atendidos no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá e sete cepas provenientes da Universidade de São Paulo: cinco bactérias anaeróbias de referência (*B. fragilis* ATCC 43853; *P. gingivalis* ATCC 33277; *F. nucleatum* ATCC 10953; *P. micros* ATCC 33270 e *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384) e duas facultativas: *E. coli* HB 101; *E. faecalis*. Os microrganismos isolados foram mantidos no laboratório, em coleções, sob refrigeração a -20°C.

### **2.5.2. Teste de Sensibilidade de Leveduras e Bactérias Aeróbias**

O teste foi realizado em placas esterilizadas (Nunclon, Delta, Nunc A/S, Roskilde, Denmark) contendo 96 poços. Cada linha (A-H) correspondeu a uma espécie de microrganismo (100 µL do inóculo aferido) e cada coluna recebeu o extrato de própolis, diluído de forma seriada na razão 2, em meio de cultura Mueller Hinton até a diluição 1/128 que corresponderia à concentração final de  $0,90 \cdot 10^{-5}$  mg/mL de flavonóides totais. Em cada placa foram incluídos controles: negativo, positivo, do líquido extrator e uma das bactérias: *Staphylococcus aureus; Klebsiella pneumoniae; Pseudomonas aeruginosa; Klebsiella oxytoca; Citrobacter freundii; Bacilo gram negativo não fermentador (BGNNF); Proteus mirabilis; Enterobacter cloaceae* e das leveduras: *Candida albicans; Candida glabrata*. Para realização do teste de sensibilidade as leveduras foram reativadas em Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) por 48 h a 25°C e as bactérias em caldo BHI por 24 h, 35°C e a seguir ágar BHI por 12 h. A partir dos crescimentos, foram preparados inóculos em salina estéril, comparando a turvação obtida com o tubo 0,5 da escala de MacFarland. Essa turvação resultou em  $1,0$  a  $5,0 \times 10^6$  leveduras/mL e  $1,5 \times 10^8$  bactérias/mL. Alíquotas de 100 µL desse inóculo foram adicionadas em todos os poços das 11 primeiras colunas, a coluna nº 12 não recebeu microrganismos e foi utilizado como controle negativo.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo basicamente as normas de padronização preconizadas pelo NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS, 1997) publicadas no documento M-27<sup>A</sup>, com algumas modificações.

As microplacas foram incubadas em estufa a 35°C por até 72 h com monitoramento diário. Após 24 h procedeu-se a leitura do teste através de comparação visual, por reflexão

em espelho. A CIM foi considerada a menor concentração das preparações de própolis capaz de inibir 80% do crescimento de cada microrganismo, tendo como referência o seu respectivo controle positivo.

### **2.5.3. Teste de Sensibilidade de Bactérias Anaeróbias Estritas e Facultativas**

Placas de microtitulação preenchidas com meio BHI, suplementado com hemina e menadiona foram utilizadas para determinar a sensibilidade ou resistência de sete bactérias: *B. fragilis* ATCC 43853; *P. gingivalis* ATCC 33277; *F. nucleatum* ATCC 10953; *P. micros* ATCC 33270; *E. coli* HB 101; *E. faecalis*; *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384. Inicialmente, as bactérias foram cultivadas em caldo BHI suplementado (anaerobiose, 37°C, 48 h) e ressuspendidas para atingir  $1,5 \times 10^8$  bactérias/mL. Nas microplacas, foram realizadas diluições seriadas, em base 2, adicionando-se 25 µL de caldo BHI e 25 µL de cada preparação de própolis. Posteriormente, a cada diluição foram adicionados 25 µL do inóculo bacteriano, sendo homogeneizados e incubados a 37°C, por 48 h. Em cada ensaio, foi utilizada a mistura de bactérias e caldo BHI, sem a adição dos respectivos extratos, como controle da reação. Após período de incubação das placas, 10 µL de cada diluição, inclusive os controles, foram transferidos para placas de ágar sangue suplementado e incubados em anaerobiose a 37°C, por 48 h, para verificação da atividade antimicrobiana (bactericida) das respectivas preparações de própolis.

### **2.6. Análise Estatística**

Nos testes de edema de orelha em camundongo e permeabilidade vascular em ratos foram utilizados Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey, sendo considerado um nível de significância de 5%.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1. Efeito das diferentes preparações de própolis sobre o edema de Orelha de Camundongo.**

A aplicação de óleo de cróton (agente irritante) em uma das orelhas do camundongo induziu uma reação inflamatória bastante evidente na sexta hora após a aplicação (Figura 1). O tratamento tópico das orelhas com as preparações PPE1, PPE2 e PPF18 reduziu significativamente a intensidade da resposta inflamatória quando comparada com o grupo controle (Figura 1a e 1b). A Figura 2 mostra a percentagem de inibição da resposta inflamatória causada pelas diferentes preparações. As PPE1, PPE2 e PPF18 causaram uma inibição de 20%, 20,6% e 18,6% respectivamente. As PPE3 e PPF19 apresentaram uma inibição de 8% e 8,6%, respectivamente. Nas concentrações utilizadas as preparações PPE1, PPE2 e PPF18 causaram uma redução na resposta inflamatória de mesma magnitude que aquela provocada pela indometacina (agente antiinflamatório de referência).

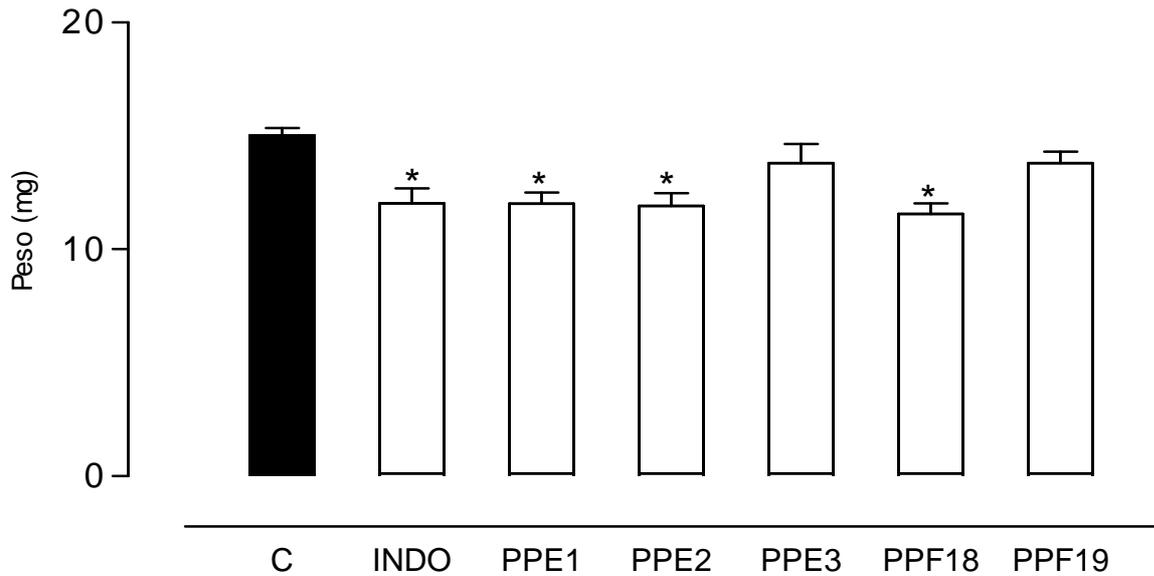


Figura 1 – Efeito do tratamento tópico com as soluções de própolis (PPE1, PPE2, PPE3, PPF18, PPF19) e indometacina sobre o edema de orelha de camundongo induzido por óleo de cróton (C). A determinação do peso (mg) foi realizada 6 h após a aplicação do óleo de cróton. Os valores representam a média  $\pm$  e.p.m. de 10 animais. A diferença estatística entre os grupos foi determinada pela Análise de Variância (ANOVA) complementada pelo teste de Tukey. \* $P < 0,05$  comparado ao grupo controle (sem tratamento).

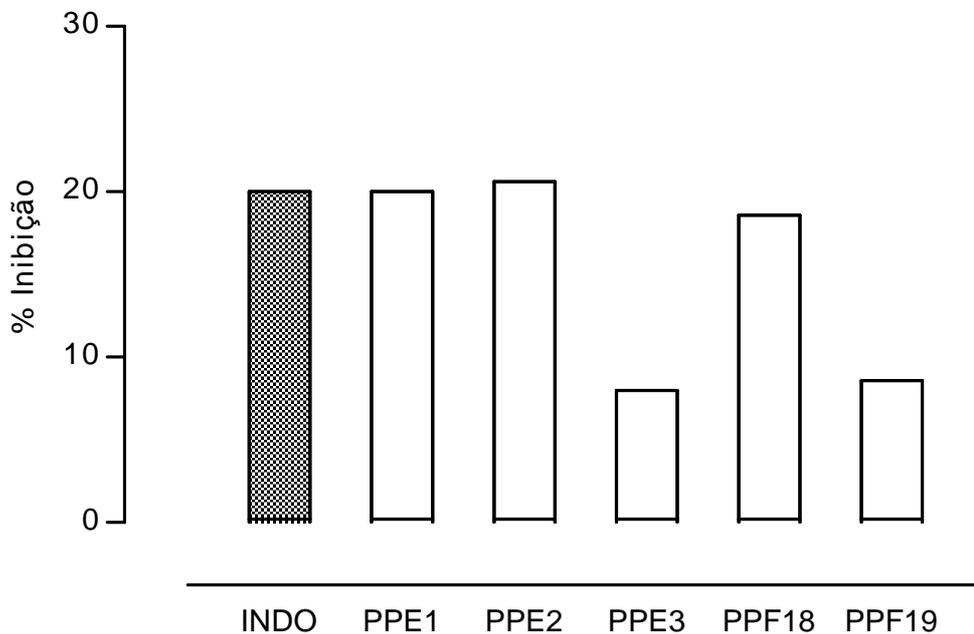


Figura 2 – Efeito inibitório (%) das soluções de própolis aplicadas topicamente sobre o edema de orelha de camundongo induzido pelo óleo de cróton. Os valores representam a média de 10 animais por grupo. INDO – indometacina (usada como antiinflamatório de referência, 1mg/orelha).

### 3.2. Extravasamento de Azul de Evans induzido pelas diferentes preparações de própolis

A Figura 3 mostra o extravasamento de Azul de Evans ( $\mu\text{g}$ ) causado pela injeção intradérmica das diferentes preparações de própolis no dorso de ratos. Todas as preparações testadas provocaram exsudação de Azul de Evans, e a intensidade variou de acordo com a preparação testada. Como observado, a resposta foi mais evidente no período de 4 h após a aplicação das preparações, mostrando-se tempo-dependente. As soluções PPF18 e PPF19 provocaram menor extravasamento do Azul de Evans.

Tais resultados indicam que as soluções PPF18 e PPF19 apresentam menor efeito irritativo quando comparado às soluções PPE1, PPE2 e PPE3.

Na primeira hora após a aplicação o extravasamento provocado pelas PPE1, PPE2 e PPE3 foi de mesma intensidade; no entanto na 4<sup>a</sup>. hora, as PPE2 e PPE3 mostraram-se mais irritantes quando comparadas à PPE1. A PPE3 ainda mostrou causar menos extravasamento na 24<sup>a</sup>. hora quando comparada a PPE1 e PPE2.

Por outro lado, a PPF18 e PPF19 causaram menor extravasamento de Azul de Evans quando comparados às PPE1, PPE2 e PPE3, em todos os períodos analisados.

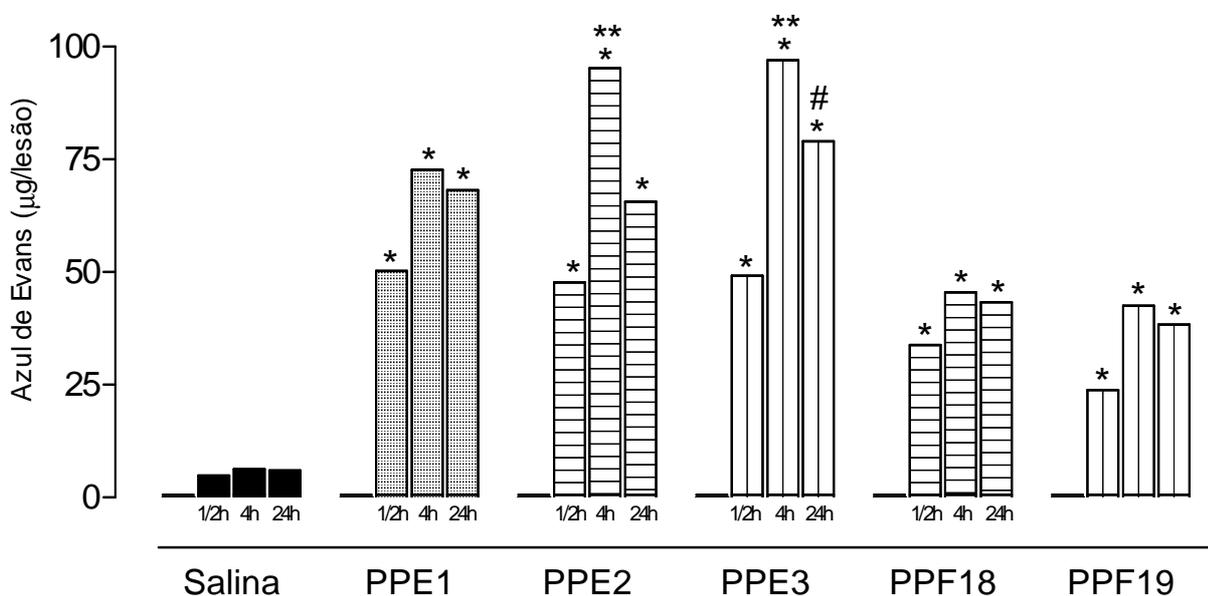


Figura 3 – Extravasamento de Azul de Evans em  $\mu\text{g}/\text{lesão}$  30 min, 4 h e 24 h após injeção subcutânea das soluções PPE1, PPE2, PPE3, PPF18, PPF19 e salina. \*  $P < 0,01$  comparado com controle (salina), \*\*  $P < 0,01$  comparado com PPE1 na 4<sup>a</sup>h, #  $P < 0,05$  comparado com PPE1 e PPE2 na 24<sup>a</sup> h.

### 3.3 Controle de qualidade do extrato de própolis e das formulações

Tabela-1 . Valores obtidos para pH, teor de flavonóides, teor de extrativos e densidade do extrato PPE1 (n=3).

	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>CV %</b>
<b>Resíduo seco(%)</b>	3,47	0,1127	3,25
<b>Teor de flavonóides (%)</b>	1,33	0,0081	0,61
<b>pH do extrato</b>	5,29	0,0058	0,11
<b>Densidade do extrato</b>	0,8867	0,0058	0,65

Tabela-2 Valores obtidos para pH, teor de flavonóides e densidade das formulações, PPF18 e PPF19 (n=3).

<b>Teor de flavonóides das formulações</b>			
<b>amostra</b>	<b>média (%)</b>	<b>desvio padrão</b>	<b>CV%</b>
PPF18	0,12	0,0014	1,12
PPF19	0,13	0,0011	0,83
<b>pH das formulações</b>			
	<b>média</b>	<b>desvio padrão</b>	<b>CV%</b>
PPF18	5,37	0,0058	0,11
PPF19	4,01	0,145	0,16
<b>Densidade relativa das formulações</b>			
<b>amostra</b>	<b>média (g/mL)</b>	<b>desvio padrão</b>	<b>CV%</b>
PPF18	1,0267	0,0006	0,06
PPF19	1,0502	0,0029	0,27

### 3.4 Determinação da concentração inibitória mínima CIM

A partir dos resultados anteriores, foram realizados experimentos para a determinação da CIM das preparações que mostraram melhor efeito antiinflamatório sobre o edema de orelha e menor efeito exsudativo do Azul de Evans. Assim, foram utilizadas as preparações PPE1, PPF18 e PPF19.

A atividade antibacteriana das preparações foi avaliada utilizando cepas de bactérias aeróbias, anaeróbias e leveduras. A tabela 3 mostra que todas as bactérias aeróbias e leveduras utilizadas nos ensaios mostraram-se sensíveis às preparações de própolis testadas.

A preparação PPE1 demonstrou efeito mais evidente, sendo capaz de inibir o crescimento de uma levedura na diluição 1/128 e o crescimento de três cepas de bactérias na diluição 1/32 e de seis cepas na diluição 1/16. A PPF18 manteve um efeito inibitório para a maioria das bactérias aeróbias somente na diluição 1/8, inibindo o crescimento da *K. pneumoniae* e das leveduras na diluição 1/16 e da *P. aeruginosa* na diluição 1/32. A PPF19 foi efetiva para inibir o crescimento das bactérias aeróbias e leveduras apenas na diluição 1:2.

De todas as bactérias anaeróbias, somente a *P. gingivalis* demonstrou sensibilidade a todas as preparações de própolis testadas (PPE1, PPF18 e PPF19). A *B. fragilis* foi sensível à PPE1 na diluição 1/2 e a *P. micros* à PPF19 na diluição 1/32. Os resultados estão apresentados na tabela 4.

Tabela 3 – Sensibilidade de bactérias aeróbias e leveduras à diferentes preparações de Própolis (PPE1, PPF18 e PPF19)\*.

Microrganismo	PPE1		PPF18		PPF19	
	D	TFT	D	TFT	D	TFT
<i>Staphylococcus aureus</i>	1/16	7,16.10 <sup>-5</sup>	1/8	14,33.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/32	3,58.10 <sup>-5</sup>	1/16	7,16.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1/32	3,58.10 <sup>-5</sup>	1/32	3,58.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1/16	7,16.10 <sup>-5</sup>	1/8	14,33.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Citrobacter freundii</i>	1/16	7,16.10 <sup>-5</sup>	1/8	14,33.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
BGNMF**	1/32	3,58.10 <sup>-5</sup>	1/8	14,33.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Proteus mirabilis</i>	1/16	7,16.10 <sup>-5</sup>	1/8	14,33.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Enterobacter cloacae</i>	1/16	7,16.10 <sup>-5</sup>	1/8	14,33.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Candida albicans</i>	1/32	3,58.10 <sup>-5</sup>	1/16	7,16.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>Candida glabrata</i>	1/128	0,90.10 <sup>-5</sup>	1/16	7,16.10 <sup>-4</sup>	1/2	57,30.10 <sup>-4</sup>

\*Concentração Inibitória Mínima (CIM)

D – Diluição

TFT – Teor de Flavonóides Totais (mg/mL)

Microrganismo	PPE1		PPF18		PPF19	
	D	TFT	D	TFT	D	TFT
<i>B. fragilis</i> ATCC 43853	1/2	57,30.10 <sup>-5</sup>	>1/2	14,33.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>P. gingivalis</i> ATCC 33277	1/128	0,90.10 <sup>-5</sup>	1/128	0,90.10 <sup>-4</sup>	1/16	7,16.10 <sup>-4</sup>
<i>F. nucleatum</i> ATCC 10953	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>P. micros</i> ATCC 33270	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	1/32	3,58.10 <sup>-5</sup>
<i>E. coli</i> HB 101	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>
<i>E. faecalis</i>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>	>1/2	>57,30.10 <sup>-4</sup>

Tabela 4 - Sensibilidade de bactérias anaeróbias estritas e facultativas à diferentes preparações de Própolis (PPE1, PPF18 e PPF19).

\*Concentração Inibitória Mínima (CIM)

D – Diluição  
TFT – Teor de Flavonóides Totais (mg/mL)

#### 4. DISCUSSÃO

A própolis, resina de amplo uso em medicina popular, tem sido muito estudada nos últimos anos. A composição química desta substância é muito complexa, sendo os derivados flavonóides e os ácidos cinâmicos, considerados como os seus principais componentes biologicamente ativos (GERALDINI, 2000; KOO *et al.*, 2000; MANARA *et al.*, 1999).

A própolis apresenta numerosas atividades farmacológicas comprovadas, como: cicatrizante, antimicrobiana, antiinflamatória, anestésica, citostática e cariostática (BORRELLI *et al.*, 2002, KOO *et al.*, 2000; KUJUNGIEV *et al.*, 1999; MARCUCCI, 1995; SFORCIN *et al.*, 2000).

Em razão dessas ações a própolis pode ser utilizada na terapêutica odontológica para o tratamento de úlceras aftosas, gengivites, periodontites e para a eliminação de *Candida albicans* (DUARTE, 2003; GERALDINI, 2000; MAGRO-FILHO & PERRI DE CARVALHO, 1990; MANARA, *et al.*, 1999).

A proposta do presente trabalho foi avaliar diferentes soluções de própolis para futura utilização como medicação intracanal na endodontia. Tal medicamento poderá auxiliar na descontaminação dos sistemas de canais radiculares e no reparo do ligamento periodontal remanescente (coto periodontal) e da região periapical.

Para isto, foram realizados experimentos a fim de avaliar as atividades antiinflamatória e antimicrobiana de diferentes soluções de própolis. Também foi avaliado o efeito irritativo das respectivas soluções, pois a medicação intracanal deve ser biocompatível, por entrar em contato com os tecidos periapicais e o coto periodontal (tecido conjuntivo).

Inicialmente foram preparadas e testadas três soluções de própolis, em diferentes concentrações (PPE1, PPE2 e PPE3). A

partir dos resultados obtidos com estas soluções foram preparadas duas outras soluções (PPF18 e PPF19) as quais foram testadas utilizando os mesmos procedimentos.

O controle de qualidade do extrato e das preparações foi realizado através de parâmetros já estabelecidos como a determinação do pH, da densidade, do teor de flavonóides e do teor de extrativos (Tabela-1 e 2). A determinação do pH é fundamental no processo de extração, pois de acordo com sua variação é possível selecionar e/ou determinar quais grupos de substâncias estão sendo extraídos, de acordo com suas características químicas e de polaridade. Torna-se muito importante também avaliá-lo nas formulações contendo o extrato de própolis, a fim de que as formas farmacêuticas finais mantenham um pH adequado (5,5-6,5) ao local da aplicação (células, mucosas). A determinação do teor de flavonóides consiste na retirada destes do extrato utilizando solventes como a acetona e o acetato de etila e utilizando uma reação de complexação com cloreto de alumínio, onde é possível detectar e quantificar os flavonóides em espectrofotômetro, na faixa do visível.

Os resultados mostraram que as soluções PPE1, PPE2 e PPF18 causaram uma redução na intensidade da resposta inflamatória aguda induzida pela aplicação de óleo de cróton na orelha de camundongos. Estes resultados confirmam a atividade antiinflamatória da própolis, como mencionada em estudos prévios utilizando modelos experimentais de inflamação aguda e crônica (BORRELLI *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2004). Além disso, foi observado que as

soluções menos concentradas foram mais efetivas para reduzir a reação inflamatória, corroborando estudos de outros autores (MAGRO-FILHO & PERRI DE CARVALHO, 1990; SILVA *et al.*, 2000) que verificaram melhores resultados quando eram utilizados extratos de própolis em baixas concentrações. Uma das explicações para isto pode ser baseada no teor de flavonóides, considerados como os principais responsáveis pelo efeito antiinflamatório da própolis (GHISALBERTTI, 1979; MARCUCCI, 1995), que estavam em maior quantidade nos extratos menos concentrados (Tabela 1 e 2). Franco & Bueno (1999) também demonstraram a mesma relação teor de flavonóide/concentração do extrato. Em relação às formulações, ambas apresentaram o mesmo teor de flavonóides (Tabela-4), porém a PPF18 apresentou melhor eficácia, confirmando que realmente o sinergismo entre todos os constituintes da preparação é muito importante para o efeito biológico. As preparações PPF18, PPF19 e a PPE1, quando injetadas no tecido subcutâneo de animais, causaram uma exsudação plasmática de baixa intensidade, demonstrando um menor efeito irritativo. Isto é justificado pela menor presença de resina, resíduos e álcool nas respectivas preparações, agentes irritantes em potencial, visto que o extrato PPE1 é o de menor concentração quando comparado aos PPE2 e PPE3, e as formulações PPF18 e PPF19 apresentam no total apenas 10% de tal extrato. Estes resultados estão de acordo com os estudos de SILVA *et al.* (2004) que também observaram um efeito irritativo menos pronunciado da própolis quando comparada com outras substâncias naturais.

Com relação a atividade antimicrobiana e antifúngica das soluções de própolis, foi observado que a solução PPE1 foi a que apresentou maior capacidade inibitória tanto sobre o crescimento de bactérias aeróbias como sobre o crescimento de fungos (*Candida albicans* e *Candida glabrata*). A solução PPF18, também demonstrou uma boa capacidade inibitória sobre o crescimento de bactérias aeróbias e de fungos, porém somente em concentrações maiores.

As cepas de bactérias anaeróbias estritas e facultativas se mostraram menos sensíveis às soluções PPE1, PPF18 e PPF19, exceto a *P. gingivalis*, cujo crescimento foi inibido consideravelmente pelas três soluções testadas. De acordo com alguns estudos tais microorganismos são menos sensíveis a alguns antimicrobianos, mostrando inclusive maior resistência ao hidróxido de cálcio, utilizado no tratamento convencional (ABDULKADER, *et al.* 1996; SIQUEIRA, 1996; EVANS *et al.* 2002; GOMES *et al.*, 2002).

O efeito antibacteriano da própolis já foi demonstrado por vários autores, contra diferentes cepas de bactérias (KEDZIA, 1990; GEBARA *et al.*, 1996; KUJUNGIEV *et al.*, 1999; NIEVA *et al.*, 1999; SFORCIN *et al.*, 2000; KOO *et al.*, 2000; SANTOS, *et al.*, 2002;),

embora poucos estudos têm mostrado a atividade antimicrobiana da própolis em bactérias anaeróbias de etiologia habitual da cavidade bucal ( SANTOS, *et al* 2002).

O mecanismo da ação antimicrobiano da própolis parece ser complexo. Entre os vários constituintes da própolis os polifenóis (flavonóides) são considerados como responsáveis pela sua atividade biológica (DE CASTRO, 2001; MARCUCCI, 1995; BANKOVA, CASTRO, MARCUCCI, 2000) e alguns estudos tem mostrado que os flavonóides, ácidos prenilados p-cumaricos, ácidos diterpenicos e compostos voláteis isolados da própolis possuem atividade antibacteriana (GHISALBERTTI, 1979; AGA, *et al.*, 1994; PARK *et al.*, 1998; BANKOVA, CASTRO, MARCUCCI, 2000). Entretanto, o efeito sinérgico de diferentes compostos parece explicar a atividade antibacteriana da própolis, uma vez que é bem estabelecido que um único componente isolado não tem atividade antibacteriana maior que o extrato total (MARCUCI, 1995; KUJUNGIEV *et al.*, 1999).

Na terapêutica farmacológica odontológica, os estudos com própolis têm sido mais direcionados para a propriedade da substância inibir a aderência de *Streptococcus* às superfícies lisas, inibindo desta maneira, a formação de placa bacteriana (IKENO, IKENO, MIYAZAWA., 1991; GEBARA, 1996; KOO *et al.*, 2000).

Kedzia (1990) estudando a sensibilidade de bactérias anaeróbias ao extrato etanólico de própolis a 10%, observou que as bactérias do gênero *Bacterioides e Fusobacterium* eram as mais sensíveis ao extrato. Santos e colaboradores. (2002) também demonstraram a atividade da própolis contra bactérias anaeróbias da cavidade bucal, como *Fusobacterium nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermédia*, *A. actinomycetemcomitans* e *Eubacterium lentum*. Em tal estudo, os autores encontraram maior atividade do extrato hidro-alcóolico, quando comparado com diferentes frações do mesmo, sugerindo o sinergismo entre os diferentes componentes do extrato, como relatado anteriormente. Espécies de fungos, como a *Candida albicans*, encontrada mais freqüentemente na boca, também tem se mostrado sensível à própolis (KUJUNGIEV *et al.*, 1999). Além diso, também já foi demonstrado a ação coadjuvante da própolis na terapia antibimicrobiana (HERNANDEZ & BERNAL, 1990; KROL *et al.*, 1993)

A menor sensibilidade das cepas anaeróbias aos extratos, observada no presente trabalho, pode ser explicada considerando que as cepas ATCC podem ser diferentes das cepas utilizadas por outros autores (SANTOS *et al.*, 2002)

A própolis praticamente não apresenta toxicidade. Estudos mostram que a dose de 1400 mg/kg de peso corporal/dia não provoca efeito tóxico em camundongos, levando os autores a propor que uma dose de 1,4 mg/kg/dia, ou aproximadamente 70 mg/dia administrada por via sistêmica em humanos é bastante segura (BURDOCK, 1998). Além disso, tais substâncias têm um impacto socioeconômico muito grande.

O desenvolvimento de uma formulação a base de própolis para ser utilizada como medicação intracanal, é muito importante pelo fato de que em forma de extrato puro, a própolis apresenta-se resinosa, de difícil remoção do canal radicular. Outros estudos estão em desenvolvimento para melhor identificar a efetividade e a aplicabilidade clínica de tais preparações.

Nossos estudos mostraram que três soluções de própolis (PPE1, PPF18 e PPF19) apresentaram boa atividade antiinflamatória (PPE1, PPF18) e antimicrobiana (PPE1, PPF18 e PPF19) com baixo efeito irritativo (PPE1, PPF18 e PPF19), podendo ser utilizadas na terapia farmacológica.

## 5. REFERÊNCIAS

ABDULKADER, *et al.* The antimicrobial activity of endodontic sealers to anaerobic bacteria.. *Int Endod J*, v.20, p. 280-283, 1996.

AGA, H., SHIBUIA, T., SUGIMOTO, T., KURIMOTO, M, NAKAJIMA, S. H. Isolation and identification of antimicrobial compounds in brazilian própolis. *Biosci Biotechnol Biochem*, v. 58, p. 945-946, 1994.

AL-SHAHER, A .; WALLACE, J.; AGARWAL, S.; BRETZ, W.; BAUGH, D. Effect of propolis on human fibroblasts form the pulp and periodontal ligament. *Journal of Endodontics*, v.30, n.5, p.359-361, 2004.

ASIS, M. El oro púrpura de las abejas. Centro de Información y Documentación Agropecuario de Cuba, 1991.

BENATTI, O . *Efeitos da ampliação do terço apical do canal da reparação pós-tratamento endodôntico*. Tese(Doutorado) Faculdade de Odontologia - UNESCAMP, Piracicaba, 1982.

BANKOVA, V.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Própolis: recent advantages in chemistry and plant origin. *Apiologie*, v. 31, p. 3-15, 2000.

BENATTI, O . *Efeitos da ampliação do terço apical do canal da reparação pós-tratamento endodôntico*. *Tese Fc. Odont UNESCAMP*, Piracicaba, 1982.

BORELLI, F.; MAFFIA, P.; PINTO, L.; IANARO, A .; RUSSO, A .; CAPASSO, F.; IALENTI, A . Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of própolis extract. *Fitoterapia*, v.73, supl.1, p.53-63, 2002.

BRANT, X.M.C. *O “tampão apical” em obturação imediata de canais radiculares de dentes polpados de cães*. Tese (Doutorado) Faculdade de Odontologia - UFMG, Belo Horizonte, 1986.

**FRANCO, S. L.; BUENO, J. H. F. Própolis- otimização de processo extrativo. *Infarma*, v. 11, p. 48-51, 1999.**

FARMACOPÉIA Brasileira. 4ªed., São Paulo: Ateneu, 1988.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol*, v. 36, p. 347-363, 1998.

CHENG, P. C. & WONG, G. Honey bee propolis: prospects in medicine. *Bee World*, v. 77, p. 8-15, 1996.

DE CASTRO, S.L. Propolis: Biological and pharmacological activities, *ARBS AMN REV BIOMED. SCI.* v..3, p.49-83, 2001.

DEUTSCHES ARZEIBUCH. 10. ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1994.

DIMOV *et al.* Immunomodulatory action of propolis: Prophylatic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of water-soluble derivative. *Vaccine*, v.10, p.817-823, 1992.

DOBROWOLSKI *et al.* Antibacterial, antifungal, antiamebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.*, v.35, p.77-82, 1991.

DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W. H.; HAYACIBARA, M. F.; CURY, J. A .; IKEGAKI, M. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of *Streptococci mutans*. *Biol Pharm Bull*, v. 26, p. 527-531, 2003.

EVANS, M *et al.* Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* v. 35, p. 221-228, 2002.

FRANCO, S. L.; BRUSCHIM M. L.; MOURA, L. P. P.; BUENO, J. H. Avaliação farmacognóstica da própolis da região de maringá. *Rev. Bras. Farmacognosia*, v. 9 (10), p. 1-10, 2000.

GERALDINI, C.A . C.; SALGADO, E. G. C.; RODE, S. M. Ação de diferentes soluções de própolis na superfície dentinária avaliação ultra-estrutural. *RPG Ver Pos Grad*, v. 3, p. 37-42, 2000.

GERBARA, E.C.E.; ZARDETTO, C.G.D.C.; MAYER, M. P. A. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *s. sobrinus*. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo*, v.10, n.4, p.251-256, 1996.

GHISALBERTI, E. Propolis: a review. *Bee World* v.60, p.59-84, 1979.

GOMES, B.P.F.A. *et al.* Microbial susceptibility to calcium hydroxide pastes and their vehicles. *J Endod* v. 28, p. 758-761, 2002.

GRANGE, J.M.; DAVEY, R.M. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J.R. Soc. Med.*, v.83, p.159-160, 1990.

GROVE, C.J. Nature method of making perfect root fillings following pulp-removal, with a brief considerations of the development of secondary cementum. *Dent. Cosmos*. v.63, n.10, p.968-82, 1921.

HERNANDEZ, N.M.R.; BERNAL, K.C. Efecto antibiótico Del propóleo frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de origem clínico humano. *Rev. Cubana Farm.*, v.24, p.45-50, 1990.

HEYERAAS, K. J. Pulpal hemodynamics and interstitial fluid pressure: Balance of transmicrovascular fluid transport. *Journal of Endodontics*, v. 15, p. 468-472, 1989.

IKENO, K., IKENO, P., MIYAZAWA, C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res.*, v.25, p.347-351, 1991.

KOO, H.; GOMES, B.P.F.A ; ROSALEN, P.L.; AMBROSANO, G.M.B.; PARK, Y.K.; CURY, J. A. In vitro antimicrobial activity of própolis na *Arnica Montana* against oral pathogens. *Archives of Oral Biology*, v.45, p.141-148, 2000.

KROL,W.; SCHELLER, S.; SHANI, J.; PIETSZ, G.; CZUBA Z.,ARZNEIM-FORSCH. v.43, p.607 –609, 1993.

KUJUMGIEV *et al.* Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, v.64, n.3, p.235-240, 1999.

MAGRO FILHO, O., PERRI DE CARVALHO, A.C.P. Application of propolis to dental sockets and skin wounds. *J. Nihon. Univ. Sch. Dent.*, v.32, p.4-13, 1990.

MANARA, L. R. B.; ANCONI, S. I.; GROMATZKY, A.; CONDE, M. C.; BRETZ, W. A. . utilização da própolis em odontologia, *Rev FOB*, v. 7, p. 15-20, 1999.

MARCUCCI, M.C. Própolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* v.26, p.83-99, 1995.

NIEVA MORENO, M. I.; ISLA, M. I; CUDMANI, N. G.; VATTUONE, M. A.; SAMPIETRO, A. R. Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) própolis. *J. Ethnopharmacol.*, shannon, v.68, p. 97-102, 1999.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; ABREU, J. A. S.; IKEGAKI, M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Curr Microbiol*, v. 36, p. 24-28, 1998.

PERRI DE CARVALHO, P.S.; TAGLIAVINI, D.G.; TAGLIAVINI, R.L. Cicatrização cutânea após aplicação tópica de creme de calêndula e da associação de confrei, própolise mel em feridas infectadas – Estudo clínico e histológico em ratos. *Rev. Ciênc. Bioméd.*, v.12, p.39-50, 1991.

SANTOS, F.A ; BASTOS, E.M.A ; UZEDA, M.; CARVALHO, M.A R.; FARIAS, L.M.; MOREIRA, E.S.A ; BRAGA, F.C. Antibacterial activity of Brazilian própolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v.80, p.1-7, 2002.

SELTZER, S. *et al.* Biologic aspect of endodontics. Part III – Periapical tissue reactions to root-canal instrumentation. *Oral Surg.* v.26, n.5, p.694-705, 1968.

SILVA, E.B. *et al.* Efeito da ação da própolis na lâmina própria da mucosa bucal de ratos. Estudo histológico. *Robrac*, v.9, n.28, p. 4-8, 2000.

SILVA, F. B.; ALMEIDA, J. M.; SOUSA, S. M. G. Natural medicaments in endodontics – a comparative study of the inflammatory action. *Braz Oral Res*, v. 18, n. 2, p. 174-179, 2004.

SIQUEIRA Jr, J. F.& SABOIA DANTAS, C. J. Aspectos celulares e moleculares da inflamação. *Medsis*, Rio de Janeiro, 2000.

SIQUEIRA, Jr.; LOPES, H. P.; UZEDA, M. Atividade antibacteriana de medicamentos endodônticos sobre bactérias anaeróbias estritas. *Revista da APCD*, v. 50, n. 4, p. 326-331, 1996.

SFORCIN, J.M.; FERNANDES JR, A ; LOPES, C.A .M.; BANKOVA, V.; FUNARI, S.R.C. Seasonal effect on Brazilian própolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.73, p.243-9, 2000.

SOUZA FILHO, F. *et al.* Influência do nível da da obturação e do alargamento do forame apical no processo de reparo tecidual. *Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.50, p.175-7, 1996.

TREVISAN, M.D.P. Própolis. *Inf. Agropec.*, v.9, p.50-52, 1983.

VAN ARMAN, G.C. Anti-inflammatory drugs. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, v.16, p.900-04, 1974.

WILHELM *et al.* Enzyme-like globulins from serum reproducing the vascular phenomena of inflammation. IV. Activable permeability factor and its inhibitor in the serum of the rat and rabbit. *Br. J. Exp. Path.*, p.228-50, 1958.

WU-YUAN, C.D.; GREEN, L.; BIRCH, W. X. In vitro screening of Chinese medicinal toothpastes: Their effects on growth and plaque formation on mutans streptococci. *Caries Res.*, v. 24, p.198-2002, 1990.

<b>TABELA 1</b>	Valores obtidos para pH, teor de flavonóides, teor de extrativos e densidade do extrato PPE1.....	19
<b>TABELA 2</b>	Valores obtidos para pH, teor de flavonóides e densidade das formulações, PPF18 e PPF19.....	13
<b>TABELA 3</b>	Sensibilidade de bactérias aeróbias e leveduras à diferentes preparações de Própolis (PPE1, PPF18 e PPF19).....	21
<b>TABELA 4</b>	Sensibilidadede de bactérias anaeróbias estritas e facultativas à diferentes preparações de Própolis (PPE1, PPF18 e PPF19).....	21

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)