



CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

CURSO DE ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS

FLÁVIA MARIA NORONHA NIGRI

**INFLUÊNCIA DA PIPERINA NA COLORAÇÃO DO COLÁGENO E NO GRAU
DE CONVERSÃO DE UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL APLICADO EM
DENTINA CLAREADA**

FORTALEZA

2021

FLÁVIA MARIA NORONHA NIGRI

**INFLUÊNCIA DA PIPERINA NA COLORAÇÃO DO COLÁGENO E NO GRAU
DE CONVERSÃO DE UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL APLICADO EM
DENTINA CLAREADA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Odontológicas do Centro Universitário Christus, como um dos requisitos exigidos para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Jiovane Rabelo Neri

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N689i Nigri, Flávia Maria Noronha.
Influência da piperina na coloração do colágeno e no grau de conversão de um sistema adesivo universal aplicado em dentina clareada / Flávia Maria Noronha Nigri. - 2021.
35 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus - Unichristus, Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Me. Giovanna Rabelo Neri.

1. Clareamento dental . 2. Antioxidantes . 3. Piper nigrum. I.
Título.

CDD 617.6

FLÁVIA MARIA NORONHA NIGRI

**INFLUÊNCIA DA PIPERINA NA COLORAÇÃO DO COLÁGENO E NO GRAU
DE CONVERSÃO DE UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL APLICADO EM
DENTINA CLAREADA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Odontológicas do Centro Universitário Christus, como requisito para a obtenção do título de mestre em Odontologia.

Aprovada em: __24__/_09__/_2021__

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jioavanne Rabelo Neri (orientador)
Centro Universitário Christus (Unichristus)

Prof. Dr. Marcelo Victor Sidou Lemos
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Prof. Dr. Danna Mota Moreira
Centro Universitário Christus (Unichristus)

Dedico esse trabalho à professora da minha vida: minha mãe. Ela que, por longos 10 anos se dedicou exclusivamente a criar, cuidar, ensinar e ser condutora e formadora do meu caráter. Obrigada por tudo, mãe.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente, todas as honras e glória sejam dadas a Ele, meu **Deus**, que sempre conduziu minha vida e encheu ela de bênçãos e forças para eu nunca desistir.

Aos meus pais e minha irmã, **Paulo, Iramy e Marcelle**, sem eles, esse sonho seria só mais um sonho. Vocês são um dos pilares da minha vida. Em dias de angústia vocês foram suporte para eu conseguir dividir o peso do cansaço. Eu não teria chegado até aqui se não fosse por vocês. Obrigada por todo amor, carinho, conselhos e compreensão, obrigada por todo apoio nessa jornada da minha vida. Eu amo vocês.

Ao meu companheiro de vida e meu amor, **Alan**, por compreender cada etapa da minha vida, me apoiar e lutar comigo para que esse sonho fosse possível. Em dias de choros e medos o teu colo me abrigou. Obrigada por ter investido nesse sonho comigo e não ter deixado eu desistir quando a dificuldade bateu à porta, obrigada por vibrar e acreditar em mim, quando nem eu mesma acreditava. Eu te amo.

Aos **meus familiares** muita gratidão por vibrarem junto comigo. Em especial, ao meu tio, **Vavá**, que não se ausentou quando eu precisei.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Jiovane Rabelo Neri**, por todos os ensinamentos e conhecimentos passados ao longo desses anos, por me ajudar de forma tão humilde algo que era novo pra mim, por me incentivar a gostar da docência e da pesquisa. Obrigada.

Aos meus **colegas de mestrado**, por fazerem com que esses anos passassem de forma tão leve, por serem companheiros e ajudarem uns aos outros. Gratidão a turma T3.

À minha instituição **Unichristus**, a todo o corpo docente do mestrado, obrigada por serem presentes e solícitos para conosco. Obrigada por terem contribuído com mais essa formação minha.

À **Universidade Federal do Ceará (UFC)** e ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO)**, por ter sido minha casa às sextas a tarde durante a minha pesquisa e por me permitir realizar e me apaixonar por esse mundo da pesquisa.

“Por isso não tema, pois estou com você; não tenha medo, pois eu sou o teu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa” Isaias 41:10

RESUMO

O presente estudo avaliou influência da piperina, extraída da *Piper nigrum*, na coloração do colágeno e no grau de conversão de um sistema adesivo universal quando aplicado na dentina clareada. Inicialmente, a piperina foi extraída da pimenta do reino através de um sistema de refluxo de água e confirmada através de espectrofotometria UV-Vis. Para análise da coloração do colágeno, foram utilizados 20 terceiros molares humanos. De cada dente foi obtido cinco discos de dentina (espessura de $1 \text{ mm} \pm 0,08 \text{ mm}$), que foram imersos em 5 mL de ácido fosfórico a 10% durante 10 horas, para que fossem completamente desmineralizados. Os espécimes de dentina desmineralizada foram lavados, secos e a cor inicial foi avaliada (*baseline*) com o auxílio de espectrofotômetro. Posteriormente, os espécimes foram reumidificados com 20 μL da solução designada para o seu grupo (água destilada, piperina 0,001%, 0,002% ou 0,004%). As soluções permaneceram em contato com as superfícies desmineralizadas durante 60 segundos e foi realizada uma avaliação final com um espectrofotômetro. Para o teste de grau de conversão, foram utilizados 12 terceiros molares humanos, divididos em 6 grupos: controle (sem peróxido de hidrogênio (PH)), PH + restauração imediata, PH + restauração após 7 dias, PH + 0,001% de piperina + restauração imediata, PH + 0,002% de piperina + restauração imediata e PH + 0,004% de piperina + restauração imediata. Todos os dentes, exceto o grupo sem peróxido de hidrogênio, foram submetidos ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, por 45 minutos. Foram removidas as superfícies oclusais, e as superfícies em dentina expostas foram condicionadas com ácido fosfórico à 37%, lavadas e secas. Os dentes foram reumidificados com 20 μL da solução destinada para cada grupo, e permaneceram em contato com as superfícies dentinárias durante 60 segundos. Em todos os dentes foram aplicados o sistema adesivo Single Bond Universal e resina composta Filtek Z350 XT. A coroa de cada dente foi seccionada longitudinalmente, a fim de se obter 3 espécimes em forma de fatia de cada dente, com 2 mm de espessura. A determinação do grau de conversão foi realizada através de um espectrômetro micro Raman. Para a análise estatística dos dados de grau de conversão e variação de cor do colágeno, foi usado o teste de Análise de Variância e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. 78mg de piperina foram obtidos do processo de extração, com um rendimento de 92,86% e com a pureza de 99,9%. Quanto a avaliação de cor do colágeno, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao ΔL , Δa , Δb e ΔE ($p > 0,05$). Em relação ao grau de conversão, não houve

diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem peróxido de hidrogênio, PH + 0,001% piperina + restauração imediata, PH + 0,002% piperina + restauração imediata e PH + 0,004% piperina + restauração imediata ($p > 0,05$). O grupo PH + restauração imediata apresentou o menor grau de conversão quando comparado aos demais ($p < 0,05$). É possível concluir que, a piperina, quando utilizada como antioxidante, não alterou a coloração do colágeno dentinário e, adicionalmente, evitou a redução do grau de conversão de um sistema adesivo universal aplicado imediatamente após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%.

Palavras-Chave: Clareamento dental. Antioxidantes. *Piper nigrum*.

ABSTRACT

The present study evaluated the influence of piperine, extracted from *Piper nigrum*, on the collagen's color and the degree of conversion of the universal adhesive system when applied to whitened dentin. Initially, piperine was extracted from black pepper through a water reflux system and confirmed by UV-Vis spectrophotometry. To analyze the collagen color, 20 third molars were used. A dentin disk (thickness of $1 \text{ mm} \pm 0.08 \text{ mm}$) was obtained for each tooth, which were immersed in 5 ml of 10% phosphoric acid for 10 hours, so they could be completely demineralized. The collagen specimens were washed, dried and the initial color was evaluated (baseline), with the aid of a spectrophotometer. Subsequently, the specimens were remoistened with 20 μL of the antioxidant solution assigned to their group (distilled water, 0.001%, 0.002% or 0.004% piperine). The solutions remained in contact with the collagen surfaces for 60 seconds and a final evaluation was carried out with the spectrophotometer. For the degree of conversion test, 12 third molars were used, divided into 6 groups: Control group (without hydrogen peroxide (PH)), PH + immediate restoration, PH + restoration after 7 days, PH + 0.001% piperine, PH + 0.002% piperine and PH + 0.004% piperine. All teeth, except for the group without hydrogen peroxide, were submitted on bleaching with 35% hydrogen peroxide, for 45 minutes. The occlusal surfaces were removed, and the dentin surfaces were conditioned with 37% phosphoric acid, washed and dried. The teeth were remoistened with 20 μL of the solution destined for each group and remained in contact with the dental surfaces for 60 seconds. In all teeth, the Single Bond Universal adhesive system and Filtek Z350 XT composite resin were applied. The crown of each tooth was sectioned longitudinally, in order to obtain 3 specimens in the form of a slice of each tooth, 2 mm thick. The degree of conversion was determined using a micro-Raman spectrometer. For the statistical analysis of the data on the degree of conversion and color variation of the collagen, the Analysis of variation test was used, and the level of significance adopted was $p < 0.05$. 78mg of piperine were received, with a yield of 92.86% and purity of 99.9%. Regarding the collagen color evaluation, there was no statistically significant difference between the groups regarding ΔL , Δa , Δb and ΔE ($p > 0.05$). Regarding the degree of conversion, there was no statistically significant difference between Without hydrogen peroxide, PH + 0.001% piperine, PH + 0.002% piperine and PH + 0.004% piperine ($p > 0.05$). The PH + immediate restoration group presented the lowest degree of conversion when compared to the others ($p < 0.05$). It is possible to obtain that, piperine, when used as an antioxidant, did not change the color of the dentin collagen and, additionally, avoided the reduction of the degree of conversion of a universal adhesive system applied immediately after bleaching with 35% hydrogen peroxide.

Keywords: Tooth whitening. Antioxidant. *Piper nigrum*.

SUMÁRIO

1.	Introdução geral	12
2.	Objetivo geral.....	15
3.	Capítulo	16
4.	Conclusão geral	31
5.	Referências	32

1. INTRODUÇÃO GERAL

A busca, cada vez maior, por padrões de beleza tem influenciado diretamente na estética do sorriso. Muitos são os tratamentos dentários que envolvem a estética, tais como: restaurações com resina compostas e o clareamento dental (TORRES *et al.* 2012). Um dos principais motivos dos pacientes buscarem os consultórios odontológicos é devido ao escurecimento dos dentes (PERDIGÃO, 2010). O clareamento dental é o procedimento mais procurado pelos pacientes para mudar tonalidade e coloração dos dentes pigmentados, sejam eles por fatores extrínsecos ou intrínsecos (MARSON *et al.* 2017). Existem três técnicas conhecidas para promover clareamento dentário, são elas: técnica caseira (a base de peróxido de carbamida ou hidrogênio em baixas concentrações), técnica de consultório (a base de peróxido de hidrogênio com alta concentração) e técnica mista (caseiro + consultório) (HAYWOOD, 1991).

O mecanismo de ação dos agentes clareadores está diretamente relacionado com a quebra das moléculas de peróxido de hidrogênio e a liberação de oxigênio, chamados de radicais livres (MINOUX; SERFAT, 2008). O baixo peso molecular do oxigênio facilita sua penetração no esmalte e na dentina. Dentro da estrutura dentária, o oxigênio reage com as longas moléculas orgânicas dos pigmentos promovendo uma reação de oxirredução que promove a ruptura química dos cromóforos. Desta forma, a presença de moléculas cromóforas de menor cadeia química permitem a passagem da luz no interior da estrutura dentária, o que dá a sensação de dente mais claro (HAYWOOD; ROBINSON, 1997).

Contudo, estudos mostram que tanto o peróxido de carbamida quanto o peróxido de hidrogênio podem causar efeitos deletérios nas propriedades físico-mecânicas das interfaces de união estabelecidas em dentes clareados. Quando a aplicação de um material resinoso, como sistemas adesivos ou cimentos, é realizada imediatamente após o processo de clareamento dental, ocorre a inibição da polimerização destes produtos pelo oxigênio residual e, conseqüentemente, considerável redução nos valores de resistência de união (KUM *et al.*, 2004; BASTING *et al.*, 2004). Com o intuito de reduzir ao máximo as falhas nos processos restauradores, se é recomendado esperar um período mínimo de 7 dias para uma restauração definitiva (BASTING *et al.*, 2004).

Esse intervalo pode ser muito longo para os pacientes que buscam tratamentos estéticos rápidos e possuem restaurações destoando dos dentes. A fim de minimizar esse inconveniente e possibilitar a restauração imediata ou em um período bem menor de espera, tem sido proposto o uso de agentes antioxidantes (SILVA, 2006). Os agentes antioxidantes, a exemplo dos que são derivados do ácido ascórbico, agem como estabilizantes de radicais livres, se mostrando como uma alternativa para diminuir o tempo de espera entre um clareamento dental e uma futura restauração (USBERCO, 1997; LAI *et al.*, 2002; KAYA; TURKUN, 2003).

Os antioxidantes podem agir de diversas formas, eles podem contribuir para a eliminação completa ou diminuição dos radicais livres (GUTTERIDGE, 1994). A eliminação desses radicais livres pode ser obtida pela ação de dois agentes antioxidantes, os enzimáticos (agentes endógenos), tais como: catalase, NADPH (quinina oxidoreductase glutaniona peroxidase) e enzimas de reparo e os não-enzimáticos (agentes exógenos), que se pode obter de diversas formas (SIES, 1993).

Dentre os agentes não-enzimáticos, destaca-se o ácido ascórbico por possuir uma usualidade maior devido ao seu alto grau de hidrossolubilidade (USBERCO, 1997). Sendo assim, inúmeras pesquisas vêm estudando o poder antioxidante do ácido ascórbico, bem como suas características químicas e biológicas (NAIDU, 2003). Estudos demonstram um efeito protetor do ácido ascórbico quando se tem indução do peróxido de hidrogênio sobre os sistemas biológicos (SMIT; ANDERSON, 1992).

Um outro tipo de antioxidante, como material de pós tratamento clareador para remover os radicais livres deixados pelo peróxido de hidrogênio, foram eficazes demonstrando um menor índice de microinfiltração, quando comparados a tratamentos pós clareadores sem o uso de antioxidantes (MOOSAVI *et al.*, 2010).

A pimenta do reino (*Piper nigrum*) é proveniente da família *Piperaceae* que possui diversas espécies de plantas e vem sendo estudada a quase duzentos anos (MARQUES *et al.*, 2010; PARTHASARATHY *et al.*, 2008). Os estudos na literatura das pimentas vêm sendo intensificados pelos seus efeitos terapêuticos, preventivos e benéficos a saúde (ARAUJO *et al.*, 2013). A pimenta preta, mais conhecida como pimenta do reino (*Piper nigrum*) no Brasil, possui em sua composição: piperina, ferro, retinol, ácido arcórbico, entre outros componentes. Suas principais funções biológicas são alto

poder anti-inflamatório, antioxidante e antibactericida. Além disso, possui uma gama de fibras, vitaminas A, E e C, cálcio e sais minerais (CARNAVALLI, 2013).

Em sua cadeia química encontramos três subunidades: 1) um grupo 1,3-benzodioxola, também chamado núcleo piperonal; 2) uma cadeia de ácido pentadienóico e um grupamento amina constituída de um anel de piperidina (FERREIRA et al., 2012). A piperina é um alcalóide nitrogenado derivado da piperidina e é principal componente ativo presente na *Piper nigrum* (SRINISAVAN, 2007; FERREIRA et al., 2012).

Em um estudo *in vitro* realizado por Singh e colaboradores (2008), avaliou-se a atividade antioxidante da piperina em compostos do petróleo. Foi observado, como resultado, uma atividade neutralizadora de radicais livres de diferentes frações do extrato de *Piper nigrum* aumentou de forma dependente da concentração e que seu potencial antioxidante pode ser atribuído à presença de compostos polifenólicos.

Por outro lado, a literatura evidencia que a aplicação de alguns flavonóides sobre o substrato dentinário pode promover uma alteração de cor na interface dente-restauração quando o mesmo se encontra com um pH ácido, pois eles se tornam ativos liberando endopeptídeos (BEDRAN-RUSSO et al., 2014). O mesmo acontece com antioxidantes à base de polifenóis, como a epigallocatequina-galato (EGCG), encontrada no chá verde, e as proantocianidinas, presentes no extrato de semente, que pigmentam o colágeno dentinário com tons rosados e amarronzados, respectivamente (MIZOOKU et al., 2003).

A piperina tem sido muito estudada em várias áreas das ciências, demonstrando efeito antioxidante, o que tem chamado a atenção da indústria farmacêutica e médica. Porém, não existem estudos abordando o uso da piperina como antioxidante na Odontologia. As propriedades da piperina podem ser de interesses para algumas especialidades da Odontologia como, periodontia, prótese e dentística. Portanto, há a necessidade de conduzir pesquisas com esta molécula, para que novas possibilidades terapêuticas sejam vislumbradas dentro da clínica odontológica.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da Piperina, extraída da *Pipper nigrum*, na coloração do colágeno e no grau de conversão de sistema adesivo universal à dentina clareada.

3 CAPÍTULO

Esta dissertação está baseada no regimento interno do Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Odontológicas do Centro Universitário Christus, que regulamenta o formato alternativo para dissertação de mestrado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou co-autoria do candidato. O projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa a Unichristus, tendo sido aprovado sob o protocolo nº 003/18 (Anexo A). Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo um artigo científico que será submetido para publicação no periódico “Journal of Functional Biomaterials” conforme descrito abaixo:

Influência da piperina na coloração do colágeno e no grau de conversão de um sistema adesivo universal aplicado em dentina clareada

Nigri, FMN; Lemos, MVS; Silva, WMB; Santiago, SL; Nascimento, GHM; Pinheiro, SO; Neri, JR

Extração, caracterização e avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante da piperina proveniente da *Piper nigrum*.

Autores:

Flávia Maria Noronha Nigri^a

Marcelo Victor Sidou Lemos^b

Wildson Max Barbosa da Silva^c

Sérgio Lima Santiago^d

Guida Hellen Mota do Nascimento^e

Solange de Oliveira Pinheiro^f

Jiovanne Rabelo Neri^{g*}

Filiações:

a Aluna de mestrado, Curso de graduação em Odontologia, Centro Universitário Christus (Unichristus), Fortaleza, Ceará, Brasil.

b Professor, Curso de graduação em Odontologia, Universidade de Fortaleza (Unifor), Fortaleza, Ceará, Brasil; Aluno de doutorado, Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil.

c Professor, Curso de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Christus (Unichristus), Fortaleza, Ceará, Brasil.

d Professor, Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil.

e Aluna, Curso de graduação em Química, Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil.

f Professora, Curso de graduação em Química, Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil.

g Professor, Curso de graduação em Odontologia, Centro Universitário Christus (Unichristus), Fortaleza, Ceará, Brasil; Professor, Curso de graduação em Odontologia, Universidade de Fortaleza (Unifor), Fortaleza, Ceará, Brasil;

*Autor de correspondência:

Jiovanne Rabelo Neri

Rua João Adolfo Gurgel, 133 – Cocó

60190-060

Fortaleza, CE - Brasil

E-mail: jiovanne@hotmail.com

Fax: +55853265-8100

INTRODUÇÃO

Atualmente, a busca cada vez maior pelos padrões de beleza tem influenciado diretamente na estética do sorriso. Muitos são os tratamentos dentários que envolvem a estética, tais como: restaurações imperceptíveis com resina compostas e os diversos métodos de clareamento dental (1).

O clareamento dental é o procedimento mais procurado pelos pacientes (2), existindo três técnicas conhecidas que são usadas rotineiramente pelos que buscam uma tonalidade diferente dos dentes, sendo elas: clareamento a base de peróxido de carbamida na concentração de 10% (técnica caseira), clareamento a base de peróxido de hidrogênio na concentração de 35% (técnica no consultório) e clareamento misto (caseiro + consultório) (3).

O mecanismo de ação desses agentes usados como clareador está diretamente relacionado com a liberação do oxigênio, chamados radicais livres, na estrutura do dente (4). Devido ao baixo peso molecular do peróxido, o clareamento ocorre por meio da penetração facilitada dessas moléculas na estrutura dental, que quando associada à permeabilidade dentária consegue difundir o oxigênio pelo esmalte e pela dentina, agindo nas estruturas mecânicas e, assim, clareá-las (5).

Contudo, estudos mostram que tanto o peróxido de carbamida quanto o peróxido de hidrogênio demonstram efeitos deletérios nas características mecânicas das interfaces adesivas dos dentes clareados, alterando os valores de resistência de união e na ligação entre o sistema adesivo e a dentina clareada, quando essa união é feita imediatamente após o processo de clareamento dental (6, 7, 8). Esses efeitos contrários da união imediata do sistema adesivo e a dentina clareada podem estar ligados pela presença de oxigênio residual que vai afetar a reação de polimerização dos sistemas adesivos, afetando na resistência de união dos materiais restauradores e os substratos dentários (9).

Sendo assim, inúmeras pesquisas vêm estudando o poder antioxidante do ácido ascórbico, bem como suas características químicas e biológicas (10). Estudos demonstram um efeito protetor do ácido ascórbico quando se tem indução do peróxido de hidrogênio sobre os sistemas biológicos (11).

Estudos utilizando a piperina, proveniente da *Piper nigrum*, como material de pós tratamento clareador para remover os radicais livres deixados pelo peróxido de hidrogênio, foram eficazes demonstrando um menor índice de microinfiltração, quando comparados a tratamentos pós clareadores sem o uso de antioxidantes (12,13). A *Piper nigrum* possui em sua composição: piperina, ferro, retinol, ácido ascórbico, entre outros componentes. Suas principais funções biológicas são alto poder anti-inflamatório, antioxidante e antibactericida (14).

A literatura traz bons resultados para o uso de antioxidantes como pré tratamentos para dentes submetidos a clareamentos dentais por serem agentes neutralizantes de radicais livres (13). Por outro lado, alguns estudos ainda demonstram que alguns desses antioxidantes possuem compostos que podem manchar o substrato dental. Como exemplo, temos os flavonoides, que são compostos dos polifenóis que podem promover uma alteração de cor na interface dente-restauração quando o mesmo se encontra com um pH ácido, pois eles se tornam ativos e acabam liberando endopeptídeos (15, 16).

O mesmo acontece com antioxidantes a base de polifenóis, como a epigallocatequina-galato (EGCG), encontrada no chá verde, e as proantocianidinas, presentes no extrato de semente, que pigmentam o colágeno dentinário com tons rosados e amarronzados, respectivamente (17).

A piperina tem sido muito estudada em várias áreas das ciências, demonstrando efeito antioxidante, o que tem chamado a atenção da indústria farmacêutica e médica. Porém, não existem estudos abordando o uso da piperina como antioxidante na Odontologia. As propriedades da piperina podem ser de interesses para algumas especialidades da Odontologia como, periodontia, prótese e dentística. Portanto, há a necessidade de conduzir pesquisas com esta molécula, para que novas possibilidades terapêuticas sejam vislumbradas dentro da clínica odontológica.

Desta forma, o objetivo desse estudo é avaliar a influência da piperina, extraída da *Piper nigrum*, na coloração do colágeno e no grau de conversão de sistema adesivo universal à dentina clareada. Como hipótese, espera-se que a piperina extraída da *piper nigrum*, independente da concentração apresentada, exercerá influência positiva no grau de conversão de união de sistema adesivo universal aplicado em dentina clareada.

MATERIAIS E MÉTODOS

O processo de extração e caracterização da piperina utilizada no presente estudo seguiu o protocolo adotado por Albuquerque *et al.*, 2021 (dados não publicados). Foram utilizados 50 g de pimenta do reino (*Piper nigrum*) e, por meio do processo de extração utilizando um sistema em refluxo em água, foi obtido 78 mg de um sólido cristalino e amarelado, que foi devidamente caracterizado como piperina, com 99,9% de pureza.

Posteriormente, a piperina foi pesada em balança digital analítica (AUX-220, Shimadzu, Tóquio, Japão) e diluída em água destilada (pH= 7,55) com o auxílio de vórtex (QL-901, Biomixer, São Paulo, SP, Brasil), a fim de obter soluções aquosas de piperina a 0,001% (pH= 6,01), 0,002% (pH= 5,99) e 0,004% (pH= 5,87) peso/volume. O pH de cada solução foi aferido no momento de sua preparação através de um pHmetro digital (QUIMIS, modelo Q400AS, Diadema, SP, Brasil).

Para a realização da avaliação de cor do colágeno e grau de conversão *in situ*, foi obtida aprovação no Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos sob o protocolo N° 2.006.679. Trinta e dois terceiros molares humanos recém extraídos tiveram os ligamentos periodontais removidos com cureta periodontal Gracey 5-6 (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil) e limpos com escova de Robinson e pasta de pedra pomes e água. Em seguida, foram armazenados em água destilada a 4°C até o momento de sua utilização, com renovação periódica da solução a cada 15 dias, para evitar proliferação bacteriana. Foram excluídos da amostra dentes careados, com fraturas ou desgastados.

Avaliação de cor do colágeno dentinário

Vinte dentes humanos foram aleatoriamente divididos pelo software Excel (Excel 2020, Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA) em 4 grupos, de acordo com a solução utilizada: Água destilada (grupo controle), piperina a 0,001%, 0,002% e 0,004%.

Um disco de dentina (espessura de 1 mm \pm 0,08 mm) foi obtido da porção coronária média de cada dente, através de um disco de diamante, em baixa velocidade, (Extec modelo 12205; Extec Corp., Enfield, CT, EUA) montado em uma máquina de corte (Labcut 1010; Extec, Enfield, CT, EUA), sob refrigeração abundante (figura 1).

Todos os discos de dentina foram imersos, individualmente, em 5 mL de ácido fosfórico a 10%, durante 10 horas, para que fossem completamente desmineralizados e restassem a matriz orgânica do colágeno dentinário (figura 2). Em seguida, os espécimes

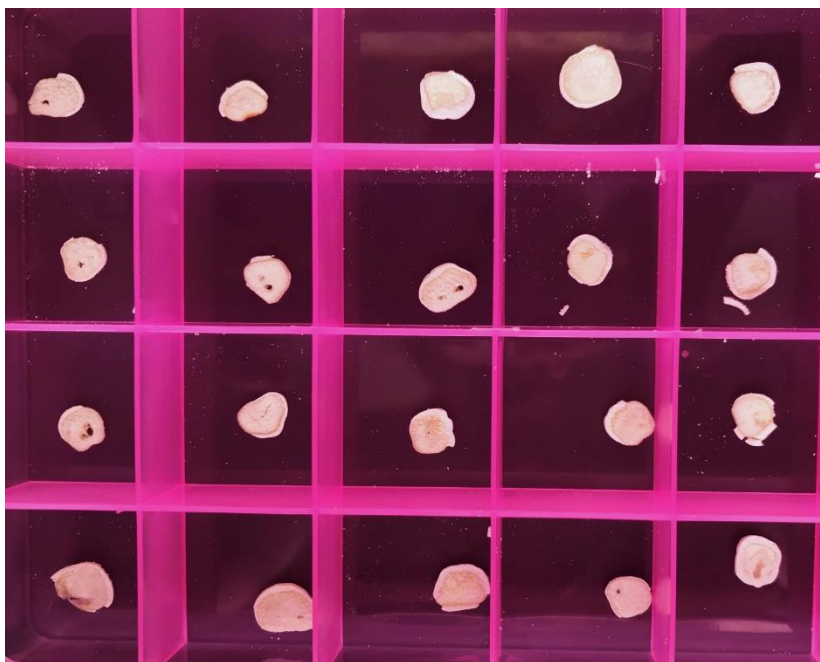
desmineralizados foram lavados, abundantemente, com água destilada, secos com jato de ar durante 10 s e a cor inicial de cada espécime foi avaliada (*baseline*), com o auxílio de espectrofotômetro (VITA Easyshade Advance 4.0, Vident, Brea, CA, EUA).

Posteriormente, os espécimes foram reumidificados com 20 µL da solução designada para o seu grupo. As soluções permaneceram em contato com as superfícies desmineralizadas durante 60 segundos sob agitação, com auxílio de um microbrush. Os discos de dentina desmineralizados foram secos com jatos de ar por 10s e foi realizada uma avaliação final com um espectrofotômetro que realizou a mensuração da cor por meio de valores correspondentes à escala CIE L* a*b*. Nesse sistema, L* indica a luminosidade, e o a* e b*, o matiz, sendo que o a* representa a saturação no eixo vermelho-verde e o b* no eixo azul-amarelo.

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{0.5}$$

Todas as leituras dos espectros de cor dos espécimes ocorreram de forma padronizada quanto a localização do espécime avaliada, luminosidade, temperatura e umidade do ambiente. A ponteira de medição foi apoiada e assentada completamente, de forma perpendicular aos discos de dentina. Quando o valor de ΔE foi maior que 3,7, considerou-se uma variação de cor facilmente visível clinicamente. Valores entre 3,7 e 1, foram considerados como uma diferença de cor clinicamente aceitável. Por outro lado, valores de ΔE menores que 1 foram considerados como clinicamente não perceptíveis (Reis *et al.*, 1996).

Figura 1- Espécimes ou amostras cortadas em formato de fatias ou discos.



Fonte: Próprio autor

Grau de conversão in situ

Para o teste de grau de conversão, 12 terceiros molares humanos foram aleatoriamente divididos pelo software Excel (Excel 2020, Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA) em 6 grupos, de acordo com os tratamentos utilizados (Tabela 1). Todos os dentes, exceto do grupo sem peróxido de hidrogênio (PH), foram submetidos ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP Blue, FGM Produtos Odontológicos, Ltda., Joinville, SC, Brasil – Lote 1152211).

Tabela 1– Distribuição dos grupos experimentais.

Grupo	Descrição
Sem peróxido de hidrogênio (PH) (controle)	Sem clareamento, sem aplicação de agente antioxidante (aplicação de água destilada) e restauração imediata com resina composta.
PH + restauração imediata	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, sem aplicação de agente antioxidante (aplicação de água destilada) e restauração imediata com resina composta.

PH + restauração		Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, sem após 7 dias	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, sem aplicação de agente antioxidante (aplicação de água destilada) e restauração com resina composta após 7 dias.
PH + restauração imediata	0,001%	+ solução aquosa de piperina a 0,001% p/v, durante 60 s e restauração imediata	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, aplicação de solução aquosa de piperina a 0,001% p/v, durante 60 s e restauração imediata com resina composta.
PH + restauração imediata	0,002%	+ solução aquosa de piperina a 0,002% p/v, durante 60 s e restauração imediata	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, aplicação de solução aquosa de piperina a 0,002% p/v, durante 60 s e restauração imediata com resina composta.
PH + restauração imediata	0,004%	+ solução aquosa de piperina a 0,004% p/v, durante 60 s e restauração imediata	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%, aplicação de solução aquosa de piperina a 0,004% p/v, durante 60 s e restauração imediata com resina composta.

Todos os dentes, exceto do grupo sem peróxido de hidrogênio (PH), foram submetidos ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP Blue, FGM Produtos Odontológicos, Ltda., Joinville, SC, Brasil- Lote 1152211), que foi aplicado sobre o esmalte da superfície coronal, em uma camada de aproximadamente 1,0 mm de espessura (0,06 mL). O produto permaneceu em contato com a superfície de esmalte dos fragmentos por 45 minutos, em seguida, lavados com jatos de água durante 60 segundos e secos com jatos de ar por 10 segundos.

Após o clareamento, os dentes foram fixados em placas de acrílico com seu longo eixo paralelo à superfície da placa com o auxílio de godiva em bastão (Kerr, Joinville, SC, Brasil) e foram removidas as superfícies oclusais de todos os espécimes com auxílio da máquina de corte Isomet (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e de um disco diamantado, sob irrigação abundante. Logo após, as superfícies foram desgastadas com lixa de carbetto de silício de granulação #280 e #600 acoplada a uma máquina politriz elétrica (APL, 4, Arotec, Cotia, SP) sob irrigação abundante até a exposição da dentina. As superfícies de dentina foram condicionadas com ácido fosfórico à 37% (FGM Produtos Odontológicos Ltda., Joinville, SC, Brasil) durante 15 segundos, em seguida, foram lavadas com água destilada durante 30 segundos e secas com jato de ar livre de água e óleo durante 10

segundos. Os dentes foram reumidificados com 20 µL da solução destinada para o seu grupo com auxílio de uma micropipeta (Tabela 1). As soluções permaneceram em contato com as superfícies dentinárias durante 60 segundos e foram agitadas com auxílio de um microbrush. Em todos os grupos foram aplicados o sistema adesivo Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA – Lote 1910000745) de acordo com as orientações do fabricante (Tabela 2). Posteriormente, foram aplicados 5 incrementos de resina composta Z350 XT (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA – Lote 270617), onde cada incremento teve espessura de 1 mm e foi fotoativado individualmente durante 20s. Os dentes foram armazenados durante 24h em água destilada à 37°C.

Tabela 2 – Sistema adesivo utilizado e modo de aplicação.

Produto	Composição	Fabricante (Lote 1910000745)	Modo de aplicação
Single Bond Universal	MDP, BIS-GMA HEMA, DMA, Polímero funcional de metacrilato, enchimento, etanol, água, iniciadores, silano.	3M ESPE, St.Paul, MN, USA	1. Aplicar o adesivo 2. Deixar agir por 20s 3. Seque suavemente ao ar por 5s.

Abreviações: MDP: 10 di-hidrogenofosfato de metacrilóiloxidecil BIS-GMA: metacrilato de diglicidil bisfenol A; HEMA: metacrilato de 2-hidroxietil; DMA, dimetacrilato.

Após os procedimentos, foram removidas as raízes dos dentes e as coroas foram fixadas com cera pegajosa em um dispositivo para serem cortadas com auxílio da máquina de corte Isomet (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e de disco diamantado, sob irrigação abundante. A coroa de cada dente foi seccionada longitudinalmente a fim de se obter 3 espécimes em forma de fatia de cada dente, com 2 mm de espessura.

Para a determinação do grau de conversão, foi realizada 1 leitura em cada espécime através de um espectrômetro micro-Raman (Xplora; HoribaScientific, Kyoto,

Japão). O espectro foi excitado a partir do uso de um laser com comprimento de onda em 532 nm através de uma objetiva (100 X). O espectro foi obtido de acordo com as seguintes condições: tempo de irradiação: 60s; número de acumulações: 10 e grade: 1200 linhas/mm. O grau de conversão foi calculado com base na redução da intensidade do pico correspondente aos grupos metacrilatos C=C em 1.636 cm⁻¹ e 1.608 cm⁻¹ polimerizada (P) comparado com o espécime não polimerizado (U), de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Grau de conversão} = \left(1 - \frac{P}{U}\right) \times 100$$

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas com o programa SigmaStat 4.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA). Os testes de Shapiro-Wilk e Brown-Forsythe foram aplicados em todos os grupos para analisar a distribuição normal dos dados e a igualdade de variância, respectivamente. Para a análise dos dados de grau de conversão e variação de cor do colágeno foi usado o teste de Análise de Variância e o nível de significância adotado foi de p<0,05.

RESULTADOS

Extração da Piperina

Através do processo de extração utilizando um sistema em refluxo em água foi obtido um sólido cristalino e amarelado, cujo ponto de fusão foi de 125°C. Após a extração, foram obtidos 78mg de piperina, com um rendimento de 92,86% e com a pureza de 99,9%.

Avaliação de cor do colágeno dentinário

Os dados referentes a avaliação de cor do colágeno estão representados na Tabela 3. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao ΔL, Δa, Δb e ΔE (p>0,05).

Tabela 3 – Valores médios de coordenadas de cor (ΔL , Δa , Δb e ΔE) de esmalte após exposição a diferentes agentes antioxidantes.

Grupos (n=6)	ΔL	Δa	Δb	ΔE
Água destilada	0,2±1,4 ^A	-0,1±1,1 ^A	0,2±1,1 ^A	1,9±0,4 ^A
Piperina 0,001%	0,4±0,8 ^A	0,2±0,7 ^A	0,1±1,1 ^A	1,1±0,8 ^A
Piperina 0,002%	1,3±0,6 ^A	0,5±0,8 ^A	0,5±0,4 ^A	1,6±0,7 ^A
Piperina 0,004%	0,3±1,0 ^A	0,4±0,4 ^A	0,3±1,4 ^A	1,5±1,0 ^A

* Letras maiúsculas semelhantes indicam que não houve diferença estatística nas colunas.

Grau de conversão *in situ*

Os dados referentes ao grau de conversão de cada grupo avaliado estão representados na Tabela 4. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem peróxido de hidrogênio, PH + 0,001% piperina, PH + 0,002% piperina e PH + 0,004% piperina ($p > 0,05$). O grupo PH + restauração imediata apresentou o menor grau de conversão quando comparado aos demais ($p < 0,05$).

Tabela 4 – Grau de conversão de valores *in situ* (mean \pm SD (*)), de acordo com o tratamento utilizado.

Grupos (n=6)	Grau de conversão <i>in situ</i>
Sem peróxido de hidrogênio (PH) (controle)	88,17±4,39 ^A
PH + restauração imediata	75,05±1,21 ^B
PH + restauração imediata após 7 dias	92,11±3,02 ^C
PH + 0,001% piperina + restauração imediata	86,13±3,85 ^A
PH + 0,002% piperina + restauração imediata	89,53±3,57 ^{AC}
PH + 0,004% piperina + restauração imediata	87,01±4,77 ^{AC}

* Letras maiúsculas semelhantes indicam que não houve diferença estatística nas colunas.

DISCUSSÃO

Após o uso de géis clareadores, os radicais livres gerados durante o tratamento continuam presentes nos túbulos dentinários provocando um efeito oxidativo que resulta em reações microestruturais no esmalte dentário, diminuição do tamanho, número e qualidade dos *tags* resinosos e na inibição da polimerização dos materiais resinosos (14).

Carr *et al.* (1999) (15) foi um dos pioneiros a utilizar antioxidantes para neutralizar os óxidos do peróxido de hidrogênio, aumentando a força de adesão das restaurações em resina composta no elemento clareado, tanto em dentina, como em esmalte. No presente estudo observa-se que o uso da piperina elevou o grau de conversão da resina composta, quando se analisa o resultado do substrato restaurado imediatamente e o substrato restaurado utilizando a menor concentração de piperina.

Jordão *et al.* (2016) (16) demonstrou em seu estudo que o uso de géis de clareamento dental reduz a resistência de união do material restaurador com a dentina, sendo assim, diminuindo as propriedades de adesão do material devido à altas concentrações de radicais livres presentes no substrato. No presente estudo, percebemos que o uso do antioxidante diminuiu esses radicais livres, contribuindo para uma adequada reação de adesão entre os materiais restauradores e o dente.

De acordo com os resultados anteriores, observou-se que o valor do grau de conversão do primeiro grupo teste, na interface de união entre agente restaurador e dente mostrou-se o mais baixo, isso se explica devido a esse corpo de prova receber o material imediatamente após o clareamento, não havendo nenhum preparo com antioxidante. O que se confirma nos estudos de Turkmen *et al.* (2016) (17) e Ozelin *et al.* (2014) (18).

De acordo com a literatura, a piperina age contra danos oxidativos, inibindo os radicais livres e espécies reativas do oxigênio, através da enzima 5-LO que participa da biossíntese dos leucotrienos, sendo efetiva como antioxidante (19). Estes achados corroboram com os resultados do presente estudo em que a utilização da piperina como agente antioxidante impediu a redução do grau de conversão de um sistema adesivo aplicado em dentina após clareamento dental. Desta forma, a hipótese do estudo falhou em ser rejeitada.

A aplicação da solução antioxidante de piperina foi testada por 60 segundos por ser um tempo clinicamente viável para o paciente e para o cirurgião-dentista, demonstrando que mesmo sendo aplicada em baixas concentrações e em tempo

moderado, esta solução demonstra ser eficiente. Outros achados na literatura, que utilizaram outros agentes antioxidante como o ascorbato de sódio, demonstraram que para que ocorra um efeito antioxidante, o seu uso deve ser de pelo menos 5 minutos (20, 21).

No presente estudo, o uso de um espectrofotômetro foi utilizado para análise de cor dos substratos estudados antes e após a aplicação da piperina. De acordo com a literatura, o uso desses espectrofotômetros deve ser sempre utilizado para fazer leitura de cor, pois possuem uma técnica que demonstra precisão e rapidez nos resultados (22).

Para estudos que avaliem estabilidade de cor é recomendado utilizar o sistema CIE L*, a* e b, onde o L vai fazer referência às coordenadas relacionadas com a cor nas axiais vermelho-verde e amarelo-azul, respectivamente (23).

As proantocianidinas, uma categoria de flavonóides, apresentam coloração marrom escuro e alguns estudos apontam que após a sua aplicação sobre o colágeno dentinário, acabam resultando em pigmentação do mesmo, sendo referida como um obstáculo para a estética (24, 25). Da mesma maneira, estudos mostram que a epigallocatequina-3-galato que possuem na sua composição os flavonóides que derivam dos polifenóis, também apresenta essa desvantagem e pigmentam o colágeno dentinário com tons rosados (26). Contudo, no presente estudo podemos destacar que a aplicação da piperina no colágeno dentinário não promoveu mudanças de cor (27). A não alteração de cor do colágeno após aplicação da piperina pode ser devido ao seu uso em baixas concentrações e devido à cor amarela pálida, que se assemelha muito a cor da dentina.

Dessa forma, mais estudos na área da odontologia se fazem necessário para que seja mais aprofundado o uso da Piperina, pois esta planta tem demonstrado bons resultados na pesquisa, mesmo que seu uso ainda seja escasso na área odontológica.

CONCLUSÃO

É possível concluir que, a piperina, quando utilizada como antioxidante, não alterou a coloração do colágeno dentinário e, adicionalmente, evitou a redução do grau de conversão de um sistema adesivo universal aplicado imediatamente após ao clareamento dentário com peróxido de hidrogênio a 35%.

CONCLUSÃO GERAL

A piperina, extraída da *piper nigrum*, quando utilizada sobre o colágeno dentinário não promover alterações cromáticas significativas neste tecido e, adicionalmente, evita a redução do grau de conversão de um sistema adesivo universal aplicado imediatamente após o clareamento dental com peróxido de hidrogênio a 35%.

REFERÊNCIAS GERAIS

1. ABE, A.T.; YOUSSEF, M.N. TURBINO, M.L. Effect of Bleaching Agents on the Nanohardness of Tooth Enamel, Composite Resin, and the Tooth-Restoration Interface. *Operative Dentistry*, 2015; 40-6.
2. ALVES JKG, Aued N, Soares FZM, Jacques LB, Kaizer MR, Mallmann A. Avaliação da cor de um compósito com espectrofotômetro em diferentes modos de leitura e condições de armazenagem. *Rev RFO*. 2014;19(1):101-106.
3. ARAÚJO, et al. Caracterização fitoquímica e atividade antioxidante dos extratos em etanol de capsicum chinense (pimenta de cheiro). *CONGIC*, Rio Grande do Norte, 4 a 6 de julho de 2013.
4. BASTING, Roberta Tarkany et al. Shear bond strength after dentin bleaching with 10% carbamide peroxide agents. *Brazilian oral research*, v. 18, n. 2, p. 162-167, 2004.
5. BASTING, ROBERTA TARKAN et al. Shear bond strength of enamel treated with seven carbamide peroxide bleaching agents. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, v. 16, n. 4, p. 250-259, 2004.
6. BEDRAN-RUSSO AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, et al. Dentin biomodification: Strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater*. 2014;30(1):62–76.
7. CARR, A. C.; FREI, B. Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J*, 13, 1999.
8. CARNAVALLI, D.; ARAÚJO, A. Atividade Biológica da Pimenta Preta (*Piper Nigrum* L.): Revisão de Literatura. *Uniciências*, v. 17, nº 1, p. 41-6, 2013.
9. FERREIRA, W. S.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N. D.; DE LIMA, M. E. F. Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários. *Rev. Virtual Quim.*, v. 4, n. 3, p. 208-224, 2012.
10. FREIRE A et al. Reaction kinetics of sodium ascorbate and dental bleaching gel. *Journal of Dentistry* 2009, v. 37, p. 932-936.
11. GUTTERIDGE, John MC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico Biological Interactions*, v. 91, n. 2, p. 133-140, 1994.

12. HAYWOOD, Van B.; HEYMANN, Harald O. Nightguard vital bleaching: how safe is it?. *Quintessence international*, v. 22, n. 7, 1991.
13. HAYWOOD, Van Benjamine; ROBINSON, F. G. Vital tooth bleaching with nightguard vital bleaching. *Current opinion in cosmetic dentistry*, v. 4, p. 45-52, 1997.
14. JORDÃO-BASSO KCF, Kuga MC, Dantas AAR, Tonetto MR, Lima SNL, Bandéca MC. Effects of alpha-tocopherol on fracture resistance after endodontic treatment, bleaching and restoration. *Braz. Oral Res.* 2016;30(1): e69.
15. JUNIOR, Bartolomeu Bezerra Pinto et al. APLICABILIDADE DA PIMENTA (CAPSAICINA) NA ESTÉTICA. *Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde*, v. 4, n. 2, p. 109-119, 2016.
16. KAYA, A. D.; TÜRKÜN, M. Reversal of dentin bonding to bleached teeth. *Operative Dentistry*, v. 28, n. 6, p. 825-829, 2003.
17. KUM, K. Y. et al. Effects of removing residual peroxide and other oxygen radicals on the shear bond strength and failure modes at resin-tooth interface after tooth bleaching. *American journal of dentistry*, v. 17, n. 4, p. 267-270, 2004.
18. LAI, S. C. N. et al. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *Journal of Dental Research*, v. 81, n. 7, p. 477-481, 2002.
19. LOPES RG, Oliveira-Reis B, Maluly-Proni AT, Silva MHT, Briso ALF dos Santos. PH influence Influence of green tea extract in the color of composite resin restorations. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;100.
20. MARCOCCI, Lucia et al. The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 201, n. 2, p. 748-755, 1994.
21. MARQUES, J. V.; DE OLIVEIRA, A.; RAGGI, L.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Antifungal Activity of Natural and Synthetic Amides from Piper Species. *J. Braz. Chem. Soc*, v. 21, p. 1807–1813, 2010.
22. MARSON, Fabiano Carlos; SENSI, Luís Guilherme; DE OLIVEIRA, FABIANO. Efeito do clareamento dental sobre a resistência adesiva do esmalte. *REVISTA UNINGÁ*, v. 6, n. 1, 2017.
23. MINOUX, Maryline; SERFATY, Rene. Vital tooth bleaching: Biologic adverse effects—A review. *Quintessence international*, v. 39, n. 8, 2008.

24. MITTAL, R.; GUPTA, R. L. In vitro antioxidant activity of piperine. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, v. 22, n. 5, p. 271-274, 2000.
25. MIZOOKU Y, Yoshikawa M, Tsuneyoshi T, Arakawa R. Analysis of oxidized epigallocatechin gallate by liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2003;17:1915-8.
26. MOOSAVI, Horieh et al. Effects of two antioxidants on the microleakage of resin-based composite restorations after nonvital bleaching. *J Contemp Dent Pract*, v. 11, n. 6, p. E033-40, 2010
27. NAIDU, K. Akhilender. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition journal*, v. 2, n. 1, p. 7, 2003.
28. OZELIN AA, Guiraldo RD, Carvalho RV, et al. Effects of green tea application time on bond strength after enamel bleaching. *Braz Dent J*. 2014;25(5):399–403.
29. PARTHASARATHY, V. A.; CHEMPAKAM, B.; JOHN ZACHARIAH, T. *Chemistry of spices*. CAB International: Oxfordshire, 2008, cap. 2.
30. PAVAN, S.; BERGER, S.; BEDRAN-RUSSO, A. K. B. The effect of dentin pretreatment on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cements. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, v. 104, n. 4, p. 258-264, 2010.
31. PERDIGÃO J et al. Ultra-morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide-bleached enamel. *American Journal of Dentistry* 1998, v. 11, p. 291-301.
32. PERDIGAO, Jorge. Dental whitening--revisiting the myths. *Northwest dentistry*, v. 89, n. 6, p. 19-21, 23-6, 2010.
33. PORTERO PP et al. Análise Instrumental da Correspondência de Cor de Resinas Compostas. *Dental science*. 2010;3:130- 140.
34. SELVARAJ G, Kaliamurthi S, Thiruganasambandam R. Molecular Docking Studies of rutin on matrix Metalloproteinase Insight Biomed. 2016;1(4):1–5.
35. SHARAFEDDIN F, Motamedi M, Modiri S. Effect of immediate application of promaganate peel, grape seed and green tea extracts on composite shear bond strength of in-office bleached enamel. *Research Journal of Biological Sciences*. 2013;8:83–87.
36. SILVA, Ana Paula Brito da et al. Efeito do tempo de aplicação de gel antioxidante sobre a resistencia de união ao esmalte dental clareado. 2006.

37. SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. *European Journal of Biochemistry*, Berlin, v.215, n.2, p.213- 219, 1993
38. SMIT, M. J.; ANDERSON, R. Biochemical mechanisms of hydrogen peroxide- and hypochlorous acid-mediated inhibition of human mononuclear leukocyte functions *in vitro*: Protection and reversal by anti-oxidants. *Agents and actions*, v. 36, n. 1-2, p. 58-65, 1992.
39. SRINIVASAN, K. Black Pepper and its Pungent Principle-Piperine: A Review of Diverse Physiological Effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 47, n. 8, p. 735-748, 2007.
40. TORRES, C. R. G. et al. Influence of hydrogen peroxide bleaching gels on color, opacity, and fluorescence of composite resins. *Operative dentistry*, v. 37, n. 5, p. 526-531, 2012.
41. Turkmen C, Guleryuz N, Atali PY. Effect of sodium ascorbate and delayed treatment on the shear bond strength of composite resin to enamel following bleaching. *Niger J Clin Pract*. 2016;19(1):91–98.
42. TÜRKÜN, M.; TÜRKÜN, L. Ş. Effect of nonvital bleaching with 10% carbamide peroxide on sealing ability of resin composite restorations. *International Endodontic Journal*, v. 37, n. 1, p. 52-60, 2004.
43. USBERCO J, SALVADOR E. *Química Orgânica*. 3ed. São Paulo: Ed. Saraiva, 1997.
44. VIDHYA, S. et al. Effect of grape seed extract on the bond strength of bleached enamel. *Operative dentistry*, v. 36, n. 4, p. 433-438, 2011.