



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA

GERSON PONCE REDONDO

Desenvolvimento, caracterização e estudos de dissolução de microencapsulados poliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem *Spray Drying*

MACEIÓ, 2018

GERSON PONCE REDONDO

Desenvolvimento, caracterização e estudos de dissolução de microencapsulados poliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem *Spray Drying*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Irinaldo Diniz B. Júnior

MACEIÓ, 2018

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecária Responsável: Janis Christine Angelina Cavalcante

R281d Redondo, Gerson Danovis Ponce.

Desenvolvimento, caracterização e estudo de dissolução de microemcapsulados poliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem *Spray Drying* / Gerson Danovis Ponce Redondo. - 2018.

65 f.: il. color., grfas., tabs.

Orientador: Irinaldo Diniz Basílio Júnior.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Maceió, 2018.

Bibliografia: f. 59-65.

1. Própolis vermelha. 2. Biopolímeros. 3. *Spray Drying*. 4. Microencapsulação. 5. Liberação controlada. I. Título.

CDU: 615.453.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Ata de Exame de Dissertação

Aos **dezesesseis dias** do mês de **abril** de **2018**, às nove horas, reuniu-se na Sala 214 do PPGCF/UFAL, a banca examinadora composta respectivamente pelos docentes doutores e pela docente doutora, Irinaldo Diniz Basílio Júnior Diniz; Ticiano Gomes do Nascimento e Ana Flávia Oliveira Santos, para a realização do exame de defesa da dissertação intitulada: "**Desenvolvimento, caracterização e estudos de dissolução de microencapsulados poliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem *Spray Drying***", elaborada pelo Mestrando **Gerson Danovis Ponce Redondo**, regularmente matriculado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Nível Mestrado, sob a orientação do **Prof. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Júnior Diniz**, que presidiu os trabalhos. Após apresentação por 50 minutos, o mestrando foi arguido pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 9:00 horas, os examinadores emitiram o seguinte parecer: APROVADO MEDIANTE CORREÇÃO DA

BANCA BEM COMO SUBMISSÃO DO ARTIGO EM REVISTA CIENTÍFICA

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 12:00 horas e eu, Daniel de Brito Ricarte, Secretário do PPGCF, Mestrado, lavrei a presente ata que será assinada pela banca examinadora e pelo mestrando. **Maceió, 16 de abril de 2018.**

**Presidente (Orientador):** Prof. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Júnior Diniz

**Examinador Interno:** Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento

Ticiano Gomes do Nascimento

**Examinadora Externa:** Profa. Dra. Ana Flávia Oliveira Santos

Ana Flávia Oliveira Santos

**Mestrando:** Gerson Danovis Ponce Redondo

Gerson Danovis Ponce Redondo

## AGRADECIMENTOS

*O ponto culminante deste processo acadêmico, eu quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, porque Ele me manteve saudável e vivo até esta importante instância da minha vida, o que mostra seu imenso amor.*

*A meus pais, pelo imenso apoio e amor incondicional que eles me deram ao longo da minha vida, por contribuir a ser essa pessoa que eu sou, por estarem dispostos a dar o melhor de si para mim, por TUDO, muito obrigado, os amo.*

*A meu orientador, Dr. Irinaldo, por ter me dado o voto de confiança para realizar este projeto, pelas oportunas sugestões dadas pra o avanço desse trabalho e por estar sempre disposto a me ajudar tanto no campo acadêmico quanto pessoal*

*Ao professor, Dr Ticiano, pelo apoio e o incentivo dado durante esses dois anos, pela paciência que teve comigo, por me fazer valorar e apreciar o trabalho científico, pela grande contribuição feita no meu trabalho e à minha formação como mestre.*

*A todos e cada um dos meus colegas de aula e laboratório: Valdemir, Ellen, Valcilaine, Fabio, Clinston, Danny, Geône, Saulo, Lucas, Thamires, Abiane e Fernanda, por terem compartilhado comigo a sua amizade, apoio social e acadêmico, para eles, quero desejar-lhes o melhor desse mundo e dizer-lhes que nunca os esquecerei.*

*A Andrés Guerra, por estar comigo, inclusive desde a distância, apoiando e encorajando-me a avançar em cada passo que dei, agradeço enormemente as vezes em que soube me fazer feliz quando precisava.*

*Aos meus amigos da republica, com quem compartilhei esses dois anos: lury, Léo, Cléber e André, obrigado pelas risadas, pelos bons momentos vividos e memoráveis, pelo aprendizado no dia a dia brasileiro.*

*Aos laboratórios, grupos de pesquisas e instituições envolvidas no desenvolvimento desse projeto: LAFA, LABTCOM e IFAL.*

*E, finalmente, a minha outra Alma Mater, Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da ESENFAR, meus agradecimentos por ter me fornecido uma casa, um espaço de formação como mestre e o mais importante, por ter me dado amigos para a vida toda.*

## RESUMO

A própolis vermelha é um produto natural emergente visto que a sua composição química complexa é rica em compostos fenólicos, com atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória. Embora a própolis apresenta diversas atividades biológicas, sua solubilidade e características sensoriais como sabor amargo, reduzem o seu consumo por parte dos consumidores potenciais. A microencapsulação dos compostos pelo spray drying é uma estratégia na qual os bioativos são revestidos de uma camada misturada de biopolímeros, que outorga ao produto as características farmacêuticas desejáveis como o controle de liberação, a dissolução das substâncias ativas, a redução do número de doses diárias e melhoraria as características sensoriais, contribuindo com eficácia no tratamento. As gomas arábica e xantana, maltodextrina e amido, constituem atualmente um dos materiais de maior interesse pela aplicabilidade no campo médico e farmacêutico devido à alta solubilidade em água, capacidade de formação de filme e alta estabilidade física e seu impacto ambiental é menor devido à o baixo consumo de energia envolvida na sua produção e seu status de recurso renovável. O objetivo neste trabalho foi desenvolver e caracterizar duas formulações de microencapsulados de spray-dryer de própolis vermelha utilizando os biopolímeros anteriormente citados e avaliar a compatibilidade e o perfil de liberação de flavonoides da própolis nas matrizes biopoliméricas. O extrato de própolis vermelha foi incorporado na solução de biopolímeros adequadamente misturados, e submetida logo a secagem por aspersão, obtendo-se microencapsulados que foram submetidos a ensaio de morfologia (MEV), térmicos (TG e DSC) com o propósito de avaliar sua estabilidade e confirmar a microencapsulação do extrato e testes de liberação com perfil de dissolução de flavonoides por um período de 12 horas em diferentes meios (água, ácido-tampão, tampão e ácido). As micropartículas observadas no MEV mostraram morfologia esféricas com tamanhos entre 2,5 e 35  $\mu\text{m}$ , sem porosidade aparente, revelando a integridade da parede das micropartículas. As análises térmicas, evidenciaram que o material de parede desacelera a degradação termo-oxidativa do extrato nos microencapsulados e de acordo às curvas calorimétricas (DSC) e espectros infravermelho houve microencapsulação do extrato. A quantificação dos compostos bioativos mostraram alta eficiência da microencapsulação, preservando os compostos fenólicos e o potencial da atividade antioxidante que possui o extrato etanólico. Por último o perfil de dissolução mostrou que os microencapsulados possuem liberação controlada em 12 horas nos diferentes meios, sendo altamente solúvel em água e meio tampão 6,8.

**Palavras-chave:** Própolis vermelha. Biopolímeros. *Spray-drying*. Microencapsulação. Liberação controlada.

## ABSTRACT

Red propolis is an emerging natural product because its complex chemical composition is rich in phenolic compounds with antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activity. Although propolis has several biological activities, its solubility and sensory characteristics as a bitter taste, reduce its consumption by the potential consumers. Microencapsulation of the compounds by spray drying is a strategy in which the bioactives are coated with a mixed layer of biopolymers, which gives the product the desired pharmaceutical characteristics such as release control, dissolution of active substances, reduction in the number of daily doses and improve sensory characteristics, contributing to treatment effectiveness. Arabic and xanthan gums, maltodextrin and starch, are currently one of the materials of greatest interest for applicability in the medical and pharmaceutical fields due to the high solubility in water, film forming capacity and high physical stability and their environmental impact is lower due to low energy consumption involved in its production and its status as a renewable resource. The objective of this work was to develop and characterize two formulations of red-propolis spray-dryer microencapsulates using the aforementioned biopolymers and to evaluate the compatibility and flavonoid release profile of propolis in biopolymer matrices. The red propolis extract was incorporated into the biopolymer solution, and then submitted to spray drying, obtaining microencapsulations that were submitted to morphology (SEM), thermal analysis (TG and DSC) and FTIR for the purpose of evaluate the stability and confirm microencapsulation of the extract and flavonoid dissolution profile release tests over a period of 12 hours in different media (water, acid-buffer, buffer and acid). The microparticles observed in SEM showed spherical morphology with sizes between 2.5 and 35  $\mu\text{m}$ , with no apparent porosity, revealing the integrity of the wall of the microparticles. The thermal analysis showed that the wall material decelerates the thermo-oxidative degradation of the extract in the microencapsules and according to the calorimetric curves (DSC) and infrared spectra there was microencapsulation of the extract. The quantification of the bioactive compounds showed high efficiency of the microencapsulation, preserving the phenolic compounds and the potential of the antioxidant activity of the ethanolic extract. Finally, the dissolution profile showed that the microencapsules have controlled release in 12 hours in the different media, being highly soluble in water and buffer 6,8.

**Keywords:** Red Propolis. Biopolymers. Spray-dryer. Microencapsulation. Controlled release.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da molécula do fenol.	20
Figura 2. Estrutura básica dos flavonoides e sistema de numeração.	20
Figura 3. Constituintes químicos da própolis vermelha do nordeste de Brasil.	24
Figura 4. Reação de Folin-Ciocalteu.	27
Figura 5. Forma radical (1) e não radical (2) do DPPH	28
Figura 6. Representação esquemática da estrutura do flavonoide quercetina.	28
Figura 7. Estrutura dos dois polissacáridos que conformam o amido.	31
Figura 8. Estrutura da maltodextrina	32
Figura 9. Estrutura da goma xantana.	34
Figura 10. Microencapsulados das formulações 1 (A) e 2 (B), obtidos pela técnica de secagem por aspersão.	43
Figura 11. Fotomicrografias das micropartículas da formulação 1	44
Figura 12. Fotomicrografias das micropartículas da formulação 2	44
Figura 13. Espectros de FTIR o para extrato de própolis vermelha (EPV) e as formulações F1 e F2 junto com os seus respectivos placebos.	45
Figura 14. Curvas termogravimétricas da formulação 1 (F1), mistura física (MF) e microencapsulados sem EPV (placebo).	47

Figura 15. Curvas termogravimétricas da formulação 2 (F2), mistura física (MF) e microencapsulados sem EPV (placebo).	48
Figura 16. Curvas termogravimétricas da formulação 1 (F1), formulação 2 (F2) e EPV (extrato de própolis vermelha).	49
Figura 17. Curvas DSC de F1, placebo, mistura física de F1 (MF) e extrato seco de própolis vermelha (EPV).	50
Figura 18. Curvas DSC da formulação 2 (F2), formulação sem extrato (placebo), mistura física de F2 (MF) e extrato seco de própolis vermelha (EPV).	51
Figura 19. Avaliação da atividade antioxidante do EPV e do Microencapsulado de F1 e F2.	53
Figura 20. Representação gráfica dos perfis de dissolução dos MPV F1 em meio de dissolução ácido-tampão, tampão pH 6,8 e meio gástrico simulado.	55
Figura 21. Representação gráfica dos perfis de dissolução de MPV F2 em meio de dissolução gastrointestinal sem enzima e entérico.	57

## LISTA DE TABELAS E QUADRO

Tabela 1. Formulações do microencapsulado de extrato de própolis vermelha.	36
Tabela 2. Condições da secagem no spray dryer.	36
Tabela 3. Teores de flavonoides e fenóis totais em amostras de extrato etanólico da própolis vermelha (EPV), em microencapsulado (MPV) de goma xantana (GX) e goma arábica (GA).	52
Tabela 4. Eficiência da microencapsulação dos MPV das diferentes formulações.	54
Quadro 1. Flavonoides e outros constituintes da própolis vermelha e <i>D. ecastophyllum</i> .	22

## LISTA DE ABREVIATURAS

AINE: Anti-inflamatório não esteróide

ATR: refletância total atenuada

CG-MS: Cromatografia gasosa acoplado a massa

°C: graus centígrados

DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil)

DSC: Calorimetria diferencial de Varredura

EE: Eficiência de Encapsulação

EPV: extrato etanólico de própolis vermelha

F1: Formulação 1

F2: Formulação 2

FTIR: Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

g: gramas

HCl: Ácido clorídrico

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência

kV: kilovoltios

L: Litro

M: molar

mL: mililitro

mg: miligrama

MEPV: microencapsulados de extrato de própolis vermelha

Mm: milímetro

m/m: proporção massa-massa

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MF: mistura física

nm: nanômetros

OMS: Organização mundial de saúde

OH: Hidroxila

pH: potencial de hidrônios

QFTE: Quantidade de fenóis totais determinados no EPV, “teoricamente adicionado no sistema polimérico”.

QFTM: Quantidade de fenóis totais determinado no sistema polimérico;

RPM: revoluções por minutos

RFC: Reagente de Folin-Ciocalteu

TG: Termogravimetria

USP: United States Pharmacopeia

UV-VIS: Ultravioleta visível

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
3.1 Própolis.....	18
3.1.1 Composição química da própolis e propriedades.....	19
3.2 Microencapsulação.....	28
3.3 Secagem por aspersão.....	28
3.4 Biopolímeros.....	29
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	35
4.1 Coleta da própolis Vermelha.....	35
4.2 Extrato etanólico de própolis vermelha (EPV).....	35
4.3 Preparo das formulações.....	35
4.4 Microencapsulação.....	36
4.5 Caracterização.....	37
4.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	37
4.5.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR).....	37
4.5.3 Análises Térmicas.....	37
4.5.3.1 Termogravimetria (TG).....	37
4.5.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	38
4.6 Extração de fenóis e flavonoides dos microencapsulados (MEPV).....	38
4.6.1 Determinação de teor de fenóis totais.....	38
4.6.2 Determinação de Flavonoides totais.....	39
4.6.3 Avaliação da atividade antioxidante do EPV e MEPV.....	40
4.6.4 Eficiência de encapsulação do EPV.....	41
4.7 Estudos de Dissolução.....	42
4.8 Análises estatístico.....	42
<b>5. RESULTADO E DISCUSSÕES</b> .....	43
5.1 Microencapsulados obtido no spray dryer.....	43

5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	43
5.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	45
5.4 Análises térmica .....	46
5.4.1 Análises Termogravimétrica (TG) .....	46
5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	49
5.5. Determinação de fenóis e flavonoides totais .....	51
5.6 Atividade Antioxidante .....	52
5.7 Grau de microencapsulação .....	53
5.8 Estudos de dissolução.....	54
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>59</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>60</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A sociedade atual tem como prioridade a saúde, é justamente por essa razão, que vai tomando força o interesse das pessoas levarem uma alimentação saudável e equilibrada, procurando comer alimentos com alto poder preventivo e curativo (MUNÁRIZ, DE LUIS, 2009), por tanto, não é estranho o crescente uso de alternativas medicinais de origem natural para o tratamento e prevenção de doenças, justificada por diversos motivos, entre elas: maior confiança nos medicamentos naturais, temor quase inexplicável aos medicamentos convencionais, insatisfação com os atuais serviços de saúde, entre outros (DIPIERRI, 2004; OMS, 2013).

É preciso dizer que embora os medicamentos naturais sejam de origem natural não significa que sejam inócuos, visto que eles estão compostos por substâncias ativas quimicamente não definidas ou não isoladas (RATES, 2001), com o qual é difícil determinar uma dose exata como “seguras” e por tanto as probabilidades de gerar efeitos adversos são maiores, também podem apresentar mal gosto, foto e termosensibilidade (OMS, 2007). Por essas razões, os medicamentos de origem natural não devem estar isentos de estratégias que os ajudem a cumprir uma melhor eficiência no tratamento e prevenção de doenças, uma dessas estratégias é o desenho de sistemas que garantam a proteção, controle de liberação e dissolução das substâncias ativas, incluindo a redução do número de doses diárias.

Nesse sentido, os biopolímeros constituem atualmente um dos materiais de maior interesse no âmbito da saúde visto a sua aplicabilidade no campo médico e farmacêutico como, por exemplo, sua utilização em dispositivos terapêuticos cardiovasculares, ortopédicos, oftalmológicos e dentários, substitutos da pele, sistemas de administração de fármacos e sensores para fins de diagnóstico (ROJAS, VALLEJO, PERILLA, 2008).

A microencapsulação de fármacos usando biopolímeros é uma técnica utilizada como sistema de administração pelo fato de fornecer ao princípio ativo um grande potencial terapêutico e, além disso, a prevenção da sua eliminação rápida do

organismo, a redução da sua toxicidade sistêmica, a estabilização e a otimização do seu metabolismo, compatibilidade com o organismo e o direcionamento específico ao local alvo (SEVERINO, *et al*, 2011).

O uso dos biopolímeros naturais apresentam várias vantagens como: alta solubilidade em água, capacidade de formação de filme e alta estabilidade física e química (GARCIA-CEJA, LÓPEZ-MALO, 2012), além disso, seu impacto ambiental em relação aos polímeros petroquímicos é menor, por exemplo: baixo consumo de energia envolvida na sua produção e seu status de recurso renovável (VERGARA, 2004).

O Brasil é um país destacado pela alta biodiversidade (CALIXTO, 2003), possui muitos medicamentos baseados em produtos naturais, um exemplo emergente é a própolis vermelha, um dos 13 tipos de própolis encontrado principalmente no litoral nordestino do país (MENDONÇA, *et al*, 2015), caracterizado por apresentar propriedades físico-químicas e biológicas diferenciadas das demais já estudadas (PEREIRA, *et al*, 2015), convertendo ela num produto natural com alto potencial na medicina, visto as grandes propriedades medicinais que ela possui, o que faz valorizar o produto e gera interesse nas indústrias farmacêuticas e cosméticas para a comercialização e desenvolvimento de novos produtos que contenham essa matéria-prima.

Embora a própolis apresenta diversas atividades biológicas, sua solubilidade e características sensoriais como sabor amargo, reduzem o seu consumo por parte do consumidores potenciais (DE ALMEIDA, 2017). A microencapsulação dos compostos pelo spray drying usando uma mistura de biopoliméricos majoritariamente de baixo custo, é uma estratégia na qual os bioativos são revestidos com uma camada misturada destes materiais, que outorga ao produto as características farmacêuticas desejáveis como dissolução homogênea e liberação controlada das substâncias ativas, contribuindo com a redução do número de doses diárias (ROJAS, VALLEJO, PERILLA, 2008) e tornando-se num produto terapêutico que pode ser utilizado concomitantemente com medicamentos convencionais para a prevenção e combate de doenças.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar microencapsulados biopoliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem Spray Drying visando a sua produção para uso terapêutico.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar o Extrato Etanólico da própolis vermelha (EPV);
- Caracterizar e quantificar os compostos bioativos presentes no extrato;
- Microencapsular o extrato utilizando o secado por aspersão como método de encapsulação, usando como material de parede amido, maltodextrina, goma arábica e goma xantana;
- Caracterizar os microencapsulados quanto à:
  - Morfologia,
  - Tamanho,
  - Interação através da análise infravermelho
  - Estabilidade e comportamento térmico,
  - Quantidade de compostos bioativos presentes nos microencapsulados,
  - Atividade inibitória do radical DDPH,
  - Eficiência de encapsulação,
- Avaliar o perfil de liberação das formulações propostas em diferentes meios.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Própolis

A própolis, é o material utilizado pelas abelhas para a manutenção e segurança da colmeia, é um produto complexo de natureza resinosa, elaborado a partir dos brotos e exsudatos vegetais, sendo enriquecido com secreções salivares e enzimáticas das abelhas como a enzima  $\beta$ -glicosidase, que provoca a hidrólise dos flavonóides glicosilados em flavonóides agliconas. Porém, ela não é vista só como um material de construção, mas também ela é usada como uma arma química contra os microrganismos patogênicos, visto que esta substância pode oferecer à colmeia um ambiente inadequado para o crescimento destes microrganismos (PARK; et al. 1988; Palomino et al., 2010). A própolis é segura quando administrada a animais ou seres humanos, tendo uma  $DL_{50}$  que varia de 2 a 7,3 g/kg em camundongos, e a dose segura sugerida para seres humanos é de 1,4 mg/kg e 70 mg/dia (SAYED, ASHRYA, AHMADB, 2012).

A espécie de abelha conhecida pela produção da própolis é a *Apis mellífera*, chamada comumente como abelha doméstica; ela é destacada por ser uma espécie bastante eficiente na polinização das plantas, polinizando mais do 30% da comida que comemos; além disso elaboram mel, geleia real e cera (University of Florida, 2013).

Da grande quantidade de medicamentos naturais produzidos no Brasil, encontram-se os popularizados extratos etanólicos de própolis. Estes extratos são utilizados pela comunidade para tratar diferentes afecções tais como: infecções bacteriana, virais e fúngicas, é utilizada também como cicatrizante e anti-inflamatório; isso sem contar que a mesma têm propriedades antioxidantes, anticancerígenas, entre outras propriedades que já foram confirmadas por numerosas pesquisas (OLIVEIRA, et al, 2012; SAYED, ASHRYA, AHMADB, 2012).

O uso da medicina alternativa está aumentando rapidamente (NOGALES, 2004) e de igual forma o uso da própolis. No ano 2012 as vendas da própolis tiveram um

aumento do 300%. Segundo a SEBRAE, de toda a própolis in natura consumida no Japão o 92% é de origem brasileira, onde o extrato alcoólico da substância é vendido a US\$ 110 o frasco, de acordo com dados da Japan Trade Organization (SEBRAE, 2014).

### 3.1.1 Composição química da própolis e propriedades

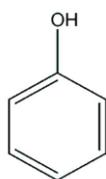
Desde tempos antigos a própolis é usada empiricamente no tratamento de muitas doenças, porém ninguém sabia o qual composto ou compostos eram responsável por fornecer as propriedades medicinais. Hoje o progresso das técnicas analíticas permitiu compreender melhor a sua composição e estudar a atividade dos componentes. Foi esse avanço que permitiu também saber que a composição química da própolis depende muito de vários fatores como: a flora da região onde ela é coletada (fitogeografia), sazonalidade e locais, técnica empregada para a produção e as diferentes características genéticas das abelhas, o que faz que a própolis apresente variações qualitativas e quantitativas (SILVA, 2016).

Estudos através de diferentes técnicas analíticas, especialmente cromatografia gasosa acoplado a massa (CG-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), permitiram elucidar sobre a composição do extrato etanólico de própolis, os resultados revelaram que a própolis contém cerca de 55% de resinas e bálsamos, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais e 5% de pólen (SAYED, ASHRYA, AHMADB, 2012). Estes componentes são ricos em vitaminas (B1, B2, B6, C e E), minerais (Ca, Cu, I, K, Mg, Na, Zn, Mn e Fe) e enzimas tais como a desidrogenase succínica, a adenosina trifosfatase, a glucose-6-fosfatase e a fosfatase ácida, além de um número de ácidos gordos, aminoácidos, terpenos, flavonoides e derivados de ácido cinâmico.

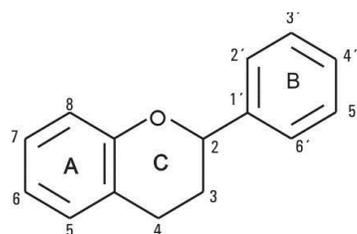
Embora a composição da própolis tenha variações, o perfil químico desta, pode ser caracterizado pelos seguintes parâmetros: teor de flavonoides e fenóis totais. Estes compostos são utilizados para expressar parâmetros de avaliação padrão para a própolis, e correlacionam melhor a atividade biológica, sendo mais informativos do que

a quantificação de componentes individuais (SFORCIN, BANKOVA, 2010; SAYED, ASHRYA, AHMADB, 2012) visto que os compostos fenólicos, têm sido considerados como um dos principais constituintes biologicamente ativos da própolis.

Os constituintes majoritários da própolis brasileira são os ácidos fenólicos, eles são uma grande família de compostos orgânicos de natureza aromática, caracterizados pela presença de um anel aromático ligado a um grupo hidroxila (figura 1) e a uma função orgânica de ácido carboxílico (OLIVEIRA, *et al*, 2012). Enquanto os flavonoides (figura 2), são moléculas polifenólicas e caracterizam-se pela coloração amarelada dos compostos, ainda que as antocianinas apresentam coloração vermelha e azul. Em geral, estas moléculas são produtos do metabolismo secundário das plantas e atuam como agentes protetores frente a patógenos, sendo eles utilizados como mecanismo de defesa, exemplo desses compostos são: flavanoles, chalconas, flavonas, flavanonas, isoflavonas, taninos, estilbenos, curcuminoídes, coumarinas, lignanos, etc (MUÑOZ, *et al*, 2007). Além disso, estes compostos permitem às plantas interagir com outros seres vivos, como os insetos e pequenos pássaros, atraindo eles através destes compostos para realizarem a polinização (SILVA, 2016).



**Figura 1.** Estrutura da molécula do fenol.



**Figura 2.** Estrutura básica dos flavonoides e sistema de numeração.

No que respeita à atividade biológica apresentada pelos compostos fenólicos, a atividade antioxidante é a principal propriedade, devido à capacidade de estabilizar radicais livres (espécies reativas ao oxigênio – ERO), oxidando-se elas mesmas através da doação de átomos de Hidrogênio, em outras palavras, estas moléculas ajudam à prevenção de formação de câncer evitando reações em cadeia de radicais livres que danificam as células de qualquer tecido (OLDINI, 2007)

No Brasil, encontram-se classificados 13 grupos de própolis baseados em suas características físico-químicas, dos quais cinco foram encontrados na região sul, um no sudeste e seis na região nordeste do Brasil. O último foi encontrado ao longo do mar e nas margens do rio na região nordeste e é especial por apresentar uma cor avermelhada em colmeias. Esta própolis é caracterizada pelo alto teor em flavonoides e ácidos fenólicos que vão conferir a ela principalmente alta atividade antioxidante, antimicrobiana, cicatrizantes e anticancerígena (CABRAL, *et al*, 2009; DE MENDONÇA, *et al*, 2015).

As análises cromatográficas da própolis vermelha revelaram que a origem botânica provém dos exsudatos da planta *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub, verificando-se que as amostras de própolis vermelha apresentaram perfis semelhantes a os exsudatos resinosos dessa planta, quadro 1 (DAUGSCH, 2008).

Desses compostos identificados (figura 3), 3 pertencem aos isoflavonoides (daidzeína, formononetina and biochanina A), segundo os autores do artigo Brazilian Red Propolis Chemical Composition and Botanical Origin, a presença dessas moléculas ocorrem quase que exclusivamente na família Leguminosae, como soja, grão-de-bico e lentilhas, fazendo a própolis vermelha única entre os outros tipos de própolis amplamente conhecidos.

Estas moléculas fornece vários benefícios para a saúde humana, como por exemplo o alívio para os sintomas da menopausa, osteoporose e câncer hormonal. As outras moléculas presentes na própolis vermelha também apresentam uma série de

propriedades farmacológicas, como a inibição do crescimento de câncer de próstata no caso da isoliquiritigenina e diminuição da enzima xantina oxidase para o tratamento da hepatites e tumor cerebral (DAUGSCH, 2008).

**Quadro 1.** Flavonoides e outros constituintes da própolis vermelha e *D. ecastophyllum*. Fonte: (adaptado de DAUGSCH, 2008).

Pico	Tempo de retenção	Composto	Teor em própolis (mg/g) †	Teor em <i>D. ecastophyllum</i> (mg/g) †
1	13.42	Rutina	0.7	1.3
2	16.99	Liquiritigenina	1.8	7.1
3	20.63	Daidzeine	0.3	4.3
4	22.35	Pinobanksina	1.7	6.0
5	23.84	UV $\lambda$ 251, 292 nm <sup>‡</sup>	+	+
6	24.59	Quercetina	0.5	1.9
7	28.40	Luteolina	1.2	2.1
8	30.46	UV $\lambda$ 241, 272, 282 nm <sup>‡</sup>	+	+
9	32.15	Dalbergina	0.4	0.9
10	34.62	Isoliquiritigenina	4.8	12.1
11	36.97	Formononetina	10.2	19.5
12	39.28	UV $\lambda$ 235, 263 nm <sup>‡</sup>	+	+
13	40.08	Pinocebrina	3.3	7.1
14	42.30	Pinobanksina-3-acetate	1.7	2.6
15	46.45	Biochanina A	0.5	1.5
16	55.96	UV $\lambda$ 238, 260, 269 nm <sup>‡</sup>	+	+
17	60.53	UV $\lambda$ 233, 249, 329 nm <sup>‡</sup>	+	+
18	63.43	UV $\lambda$ 233, 256 nm <sup>‡</sup>	+	+

† Quantidade de constituintes em mg/g de própolis e *D. ecastophyllum*

Símbolos: +: significa presentes mas ainda não quantificado.

‡: Os constituintes não identificados representam apenas o máximo de absorção espectral UV.

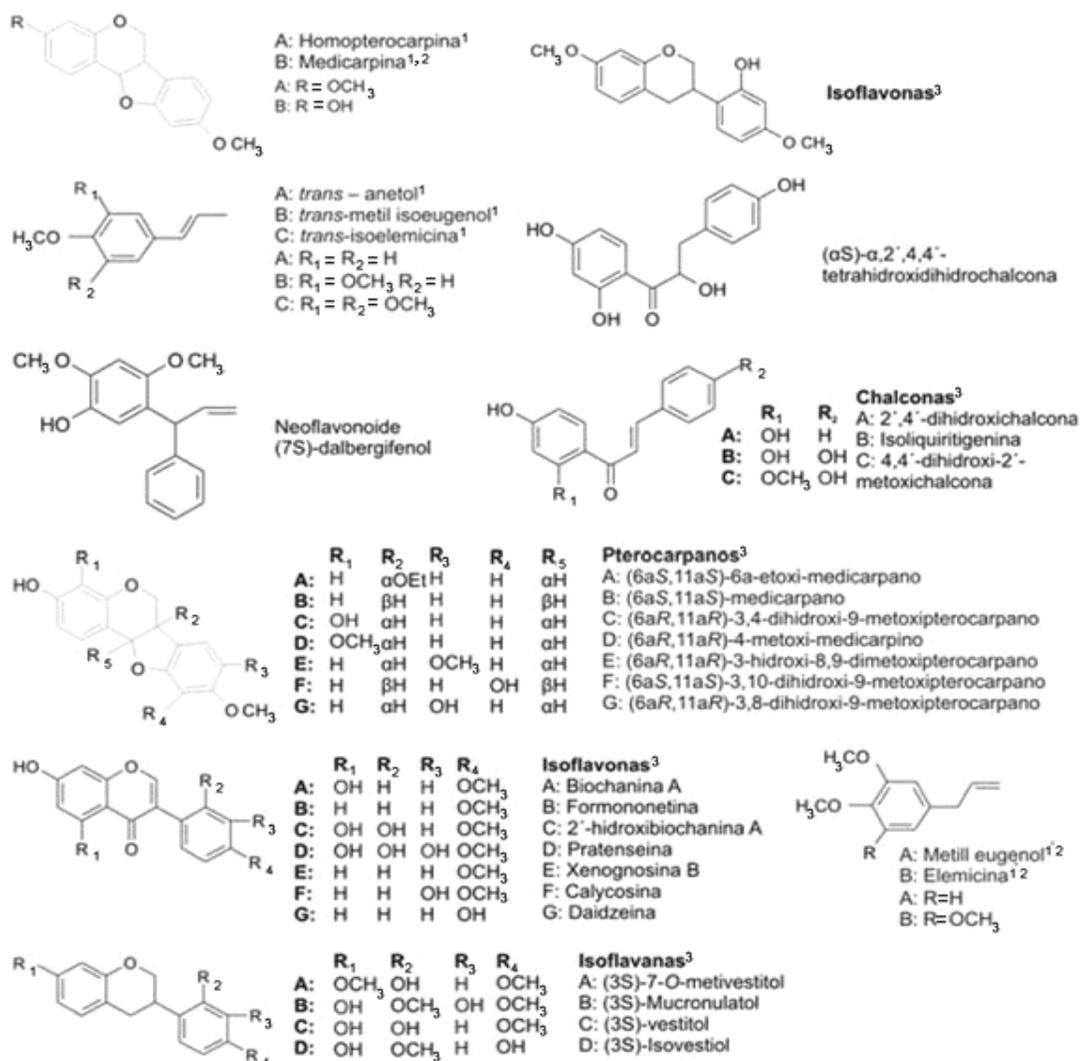
Outros estudos revelaram que a Rutina testada em ratos apresenta propriedades anti-inflamatórias e analgésicas e quando combinado com outro anti-inflamatório não

esteroidal (AINE) o efeito é potencializado (HERNANDEZ, FERNANDEZ, GONZALES, 2015; RANGEL, *et al*, 2016). Por outra parte, encontram-se a Quercetina e Luteolina, duas moléculas conhecidas pela sua atividade antioxidante, além disso apresentam atividades como anti-inflamatória, anti-ulcerosa, anti-hepatotóxica e anti-espasmódica, outras atividades reportadas foram antiplaquetárias e vasodilatadoras respetivamente (DIAZ, HEINZEN, 2006).

INUI e *et al* (2014) em seu trabalho “Identification of the phenolic compounds contributing to antibacterial activity in ethanol extracts of Brazilian red propolis” identificaram o Medicarpina como o composto com a maior potência anti-bacterial dentre todos os compostos da própolis vermelha testados contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A própolis em geral vem sendo objeto de análises como possível tratamento complementar ou como coadjuvante medicamentoso em doenças tratadas na área clínica, visto que o uso concomitante de medicamentos convencionais pode resultar em uma ação sinérgica favorável para o tratamento de doenças (FRANCO, 2011). Citando exemplos do anteriormente comentado, temos o estudo de DE SOUSA *et al* (2013), onde desenvolveram micropartículas de etilcelulose contendo própolis e metronidazole para o tratamento de infecções microbianas periodontal, onde os estudos revelaram que os microencapsulados mostraram atividade contra todas as cepas testadas. Além disso, observou-se também que a quantidade de metronidazol utilizado para inibir as cepas de microrganismos na mistura física com própolis foi menor do que no metronidazol sozinho, sugerindo efeito de potenciação entre a própolis e o metronidazol.

Em países como o Japão a própolis verde é utilizada como coadjuvante no tratamento do câncer visto que estudos clínicos evidenciaram atividade profilática contra diferentes linhagens de células tumorais (PORTAL MIE, 2016).



**Figura 3.** Constituintes químicos da própolis vermelha do nordeste de Brasil. Fonte: LUSTOSA, 2008.

Leve estudo realizado em Cuba, utilizou a tintura de própolis a 5 % para o tratamento da estomatites aftosa, onde foram obtidos resultados altamente satisfatórios, com uma diminuição do sinais e sintomas principalmente dentro de 72 horas após o início do tratamento (BELLON, CALZADILLA, 2007).

As pesquisas dos efeitos anti-inflamatórios do extrato de própolis vermelha, bem como os resultados de um ensaio clínico preliminar em pacientes com psoríase, encorajou os pesquisadores na Cuba à elucidação do potencial de atividade antipsoriática. Estudos em camundongos sobre o extrato da própolis vermelha de Cuba,

determinou que extratos na concentração de  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  apresentou atividade anti-inflamatória e antipsoríase (LEDÓN, *et al*, 1997).

Em quanto a leishmanioses, uma das doenças que prevalece no Brasil, a própolis (verde) demonstrou através de diferentes estudos, potencial atividade leishmanicida por diminuir o diâmetro das lesões na pele. Os autores avaliaram, o efeito leishmanicida do extrato da própolis verde brasileiro in vivo sobre a *L. braziliensis*. Camundongos BALB/c receberam injeção subcutânea na base da calda com  $2 \times 10^6$  formas promastigotas, após o aparecimento da lesão os camundongos foram divididos em três grupos: o primeiro recebeu tratamento oral, outro tratamento tópico e o outro recebeu os dois tratamentos concomitantes, todos na concentração de  $1,5 \text{ mg/kg/dia}$ , e o diâmetro da lesão foi medido mensalmente. Como controle positivo, utilizaram glucantime intraperitoneal na concentração de  $20 \text{ mg/dia}$ . O tratamento oral com extrato de própolis diminuiu em 78,6% o diâmetro das lesões, o tratamento tópico reduziu em 84,3% e o tratamento concomitante, oral e tópico do extrato, causou uma redução considerável de 90% no diâmetro das lesões (ODA, 2011).

Do Nascimento e *et al* (2016), testaram in vitro a atividade citotóxica tanto do extrato quanto das nanopartículas poliméricas de policaprolactona-pluronic carregada com extrato de própolis vermelha contra *L. braziliensis*. Os resultados obtidos foram positivos, encontrando valores de  $\text{IC}_{50}$  entre  $31 - 47 \text{ } \mu\text{g/mL}$  para duas formulações de nanopartículas carregadas e  $38 \text{ } \mu\text{g/mL}$  para o extrato etanólico. Esses estudos representam um grande avanço levando em consideração que a Leishmanioses é uma doença negligenciada e a mesmo tempo demonstrando o grande potencial que apresentam os extratos etanólicos da própolis, podendo num futuro ser o substituto dos medicamentos atuais usados para o combate da leishmaniose.

### 3.1.2 Análises e parâmetros para avaliação da qualidade da própolis

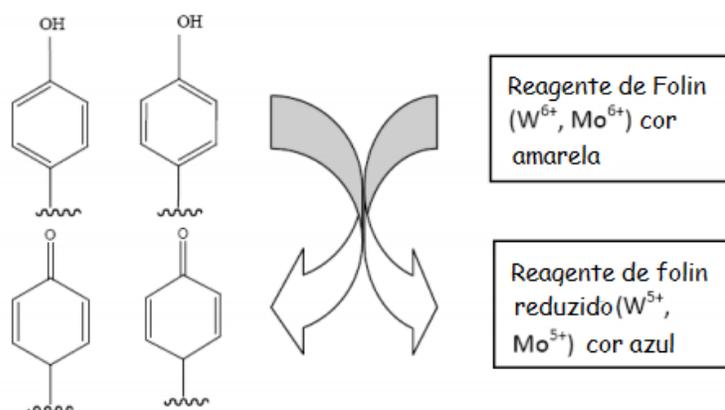
Como já descrito anteriormente, a composição química da própolis tem variações e umas das formas de obter informação sobre a composição quantitativa, é através da caracterização dos seguintes parâmetros: teor total de flavonoides e teor total de fenóis. O uso de essas análises para quantificar estes compostos em própolis comerciais é cada vez mais comum por serem análises simples de executar e principalmente, devido ao aumento e desenvolvimento de preparações comerciais a base de própolis (SALAMANCA, CORREO, PRINCIPAL, 2007).

Os métodos instrumentais para a quantificação de flavonoides e fenóis como a cromatografia gasosa e cromatografia de alta eficiência apontam informação que são definitivas na caracterização das amostras, mas, eles apresentam certas limitações devido aos custos do uso do equipamento e a participação de pessoal com formação específica na área instrumental. Em vez disso, os métodos espectrofotométricos permitem quantificar flavonoides com estruturas semelhantes e são adequados e apropriados para determinação de rotina, apesar das limitações de sensibilidade e especificidade (SALAMANCA, CORREO, PRINCIPAL, 2007).

A determinação de flavonoides totais num extrato em questão, misturada com uma solução de Cloreto de Alumínio ( $AlCl_3$ ), forma um complexo de cor amarelo é formado com moléculas de tipo flavonas e flavanoles (3,5-hidroxi flavonas e 3,5-hidroxi flavanoles) ajustando-se à quantificação espectrofotométrica através de UV-Vis.

A determinação de fenóis totais é realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, é um método colorimétrico cujo reagente é uma mistura de fosfomolibdato e fosfotungstato utilizado para a determinação e quantificação de compostos fenólicos e antioxidantes polifenólicos. No entanto, este reagente não só mede a concentração de fenóis, mas reagirá com qualquer substância redutora, por conseguinte, mede a capacidade redutora total de uma amostra. O ácido fosfomolibdotúngstico apresenta cor amarela, quando reduzido pelos grupos fenólicos transforma-se num complexo de cor

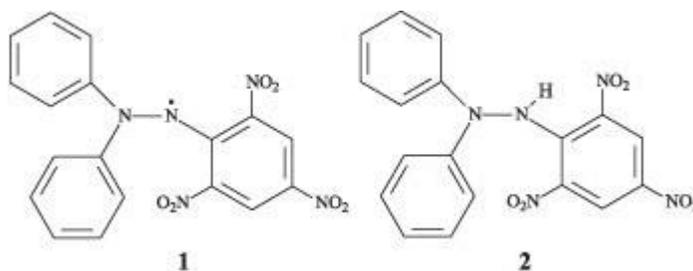
azul, que é medido em um comprimento de onda de 760 nm (GOMEZ, 2014).



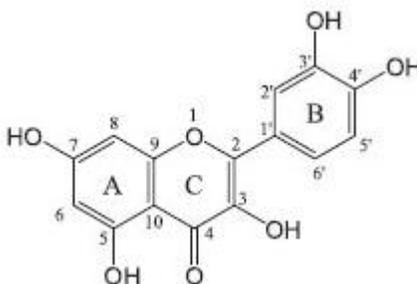
**Figura 4.** Reação de Folin-Ciocalteu. Fonte: Gomez, 2014.

Um dos métodos para avaliar o poder preventivo contra os agentes cancerígenos dos compostos fenólicos é mediante a medida da atividade antioxidante *in vitro*. Os resultados variam de acordo ao radical livre ou o agente oxidante usado (SILVA, 2016). Assim, o método direto com DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) é bastante utilizado e reportado na literatura por ser uma molécula estável, fácil, sensível e rápido. O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente, sem preparação, enquanto que outros devem ser gerados após uma reação química (KUSKOSKI, 2005).

A interação de um potencial agente antioxidante, neste caso compostos fenólicos com o DPPH depende, sobretudo, de sua conformação estrutural e do número de grupos hidroxílicos disponíveis (ALVES e *et al*, 2010). Os flavonoides com substituintes di-hidroxi nas posições 3' e 4' no anel B são mais ativos como antioxidantes e que este efeito é reforçado pela presença de uma ligação dupla entre os carbonos 2 e 3, um grupo OH livre na posição 3 e um grupo carbonila na posição 4 no anel C; tal como acontece com a quercetina, ver figura 6 (PEREZ, 2003).



**Figura 5.** Forma radical (1) e não radical (2) do DPPH. Fonte: CLAYTON, *Et al*, 2010



**Figura 6.** Representação esquemática da estrutura do flavonoide quercetina. Fonte: SIMOES, *Et al*, 2013.

### 3.2 Microencapsulação

É uma tecnologia que permite capturar componentes sensíveis em uma matriz homogênea ou heterogênea para a sua proteção e cuja reatividade com a substância encapsulada é nula. Existem diversos métodos de microencapsulação, os quais dividem-se em dois grupos: processos químicos e mecânicos. Nos processos químicos estão os métodos de coacervação e gelatinização iônica; enquanto que nos processos mecânicos estão os métodos de secagem por aspersão e liofilização (GARCIA-CEJA, LÓPEZ-MALO, 2012). Nestes processos formam-se camadas finas ou membranas semipermeáveis, utilizando diversos materiais como os biopolímeros.

### 3.3 Secagem por aspersão

Segundo a literatura, a técnica de secagem por aspersão é uma operação unitária que tem sido amplamente utilizada para a secagem de alimentos sensíveis ao calor, também produtos farmacêuticos e outras substâncias de interesse. É devido à

rápida evaporação do solvente a partir das gotículas atomizadas no spray dryer o que faz a esta técnica confiável, para o processo de microencapsulação a solução ou emulsão é pulverizada numa corrente de gás quente para, instantaneamente, obter um pó, embora frequentemente é considerada uma técnica de desidratação, a secagem por pulverização também pode ser utilizada como um método de encapsulamento de materiais ativos em uma matriz protetora que é essencialmente inerte em relação ao material a ser encapsulado (Ré, M. I, 1998).

Em comparação com outras técnicas de microencapsulação convencional (coaservação, liofilização), esta oferece uma vantagem atraente na produção de microencapsulados pela sua operação relativamente simples e ser de tratamento contínuo. O gás habitualmente utilizado é o ar, ou mais raramente, um gás inerte como o nitrogênio. Dependendo do material utilizado na alimentação e das condições da operação, a produção de pó pode atingir dimensões desde muito finas (10-50  $\mu\text{m}$ ) a partículas de grande dimensão (2-3 mm) (MARTÍNEZ *et al.*, 2004).

### 3.4 Biopolímeros

A palavra polímero vem das palavras gregas Poly e Mers que significam muitas partes. São moléculas grandes (ou macromoléculas) formadas pela união de muitas moléculas pequenas (denominadas monômeros) que podem ser iguais ou diferentes. Quando, em particular, mais de um tipo de moléculas (monómeros) são ligadas entre si, a macromolécula resultante é referida como o copolímero. À medida que os polímeros são formados pela união de um grande número de moléculas pequenas, têm pesos moleculares elevados. Muitas vezes, os polímeros têm pesos de 100.000 gramas por mole ou maior. (DUFFO, 2011).

Os polímeros foram oficialmente incluídos no campo farmacêutico em 1980 na USP XX, (United States Pharmacopeia) e, desde então, eles foram utilizados como auxiliares de formulação em medicamentos e como embalagens e materiais de embalagem. O uso dos biopolímeros no âmbito farmacêutico vai dirigido ao controle da

liberação do fármaco através da matriz polimérica em fluxos dentro da sua janela terapêutica, isto leva a diminuição dos efeitos adversos por flutuação em concentrações da droga no plasma e diminui o número de doses requeridas da droga (ROJAS, VALLEJO, PERILLA, 2008).

Os biopolímeros classificam-se de acordo a sua origem: naturais e sintéticos. As de origem natural provem de quatro grandes fontes: Origem animal (colágeno/gelatina), origem marinha (algas/quitosano), origem vegetal (polissacáridos) e origem microbiana (ácido poli-láctico e polihidroxi-alcenoatos) (GARCIA-CEJA, LÓPEZ-MALO, 2012).

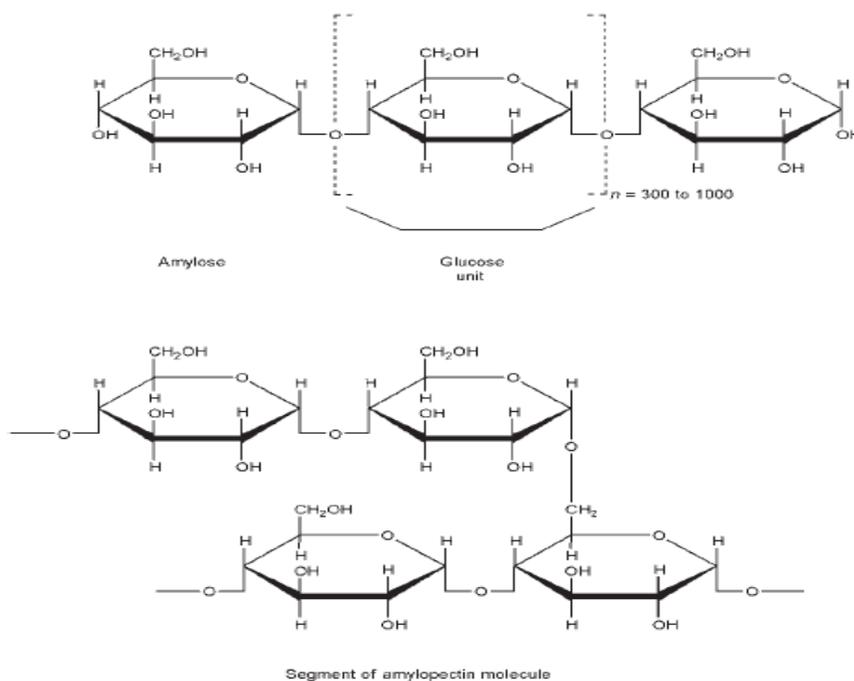
Para fazer a seleção dos polímeros na produção de sistemas terapêuticos farmacêuticos como os microencapsulados, é preciso conhecer em grande medida a natureza do princípio ativo. Por conseguinte, quando o princípio ativo for de natureza hidrofílica, recorre-se, em geral, a polímeros de natureza apolar e a preparação desse sistema deve ser feita em meio não aquoso. E quando o princípio ativo for hidrofóbico, devem ser utilizados polímeros de natureza hidrofílica usando um método de preparação em meio aquoso (SEVERINO, *et al*, 2011).

É importante também que o agente encapsulante possua propriedades emulsificantes, que ajudem à formação de película envolvente, que tenha baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos e apresente baixa higroscopicidade, que seja econômico, de sabor leve ou agradável e de fácil produção. Um único material encapsulante não consegue englobar todas estas propriedades mencionadas, pelo qual, na prática, são utilizadas combinações destes materiais (MARFIL, 2014).

Na tentativa de obter um ótimo material de parede e levando em consideração o anteriormente escrito, foram escolhidos os seguintes biopolímeros de natureza hidrofílica para a microencapsulação de extrato de própolis vermelha por apresentar hidrofobia.

O primeiro deles é o amido, um polímero natural dos cereais e tubérculos mais importante, cujos grânulos consistem em estruturas macromoleculares dispostas em camadas. Os grânulos de amido são compostos por camadas externas de amilopectina (ramificado) e camadas internas de amilose (linear), cuja proporção varia de acordo com a fonte do amido. Sua composição química é a de um polissacarídeo formado apenas por unidades glicosídicas, ou seja, é uma macromolécula formada por um grande número de moléculas de glicose repetidas (MENESES, CORRALES, VALENCIA, 2007).

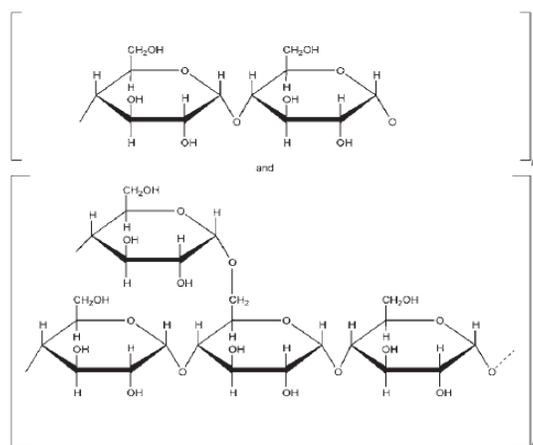
O amido tem potencial para ser aplicado na microencapsulação por spray-drying devido sua capacidade de formar agregados esféricos porosos com elevado potencial de encapsulação (SILVA, 2016) e além disso, a sua grande versatilidade como polímero, muito útil não só por tratar-se de um material natural e barato, senão também pela facilidade que ele tem de ser alterado na suas propriedades físico-químicas através de diferentes modificações, sejam físicas, químicas ou enzimáticas (PALMA, 2012).



**Figura 7.** Estrutura dos dois polissacarídeos que conformam o amido. Fonte: rowe of pharmaceutical excipients, 2009.

A maltodextrina é um dos biopolímeros amplamente utilizados na microencapsulação por fornecer maior solubilidade ao princípio ativo e é descrita como uma mistura de polímeros sacarídeo nutritivo, não-doce, que consistem em unidades de D-glucose. As unidades de D-glucose estão unidas principalmente por ligações alfa 1,4 mas há segmentos ramificados unidos através de ligações alfa 1,6. A maltodextrina é preparada pela hidrólise parcial de um amido de grau alimentar com ácidos e/ou enzimas adequados (HANDBOOK, 2009).

Ao selecionar os materiais de parede para encapsulamento, a maltodextrina é uma boa solução entre o custo e a eficácia porque ele é insípido, tem baixa viscosidade com uma proporção alta de teor de sólidos e está disponível em diferentes pesos moleculares. As vantagens de usar polissacarídeos como a maltodextrina incluem sua solubilidade, sabor suave, baixa higroscopicidade e capacidade de proteger os compostos bioativos da oxidação, incoloro e permite a formação de pós de livre fluxo. (RAVICHANDRAN, 2014; ARTEAGA, A; ARTIAGA, H, 2016).



**Figura 8.** Estrutura da maltodextrina, Fonte: Handbook of pharmaceutical excipients, 2009.

Do mesmo modo, outro dos agentes encapsulantes mais amplamente utilizados, além de maltodextrinas e amidos, é a goma arábica. A goma arábica em combinação com esses agentes (maltodextrina e amido) proporciona uma melhor eficiência e estabilidade no encapsulamento (ARTEAGA, A; ARTIAGA, H, 2016). A

goma arábica é um biopolímero obtido a partir do exsudado da acácia, cuja estrutura química corresponde a um complexo de polissacarídeo que contém pequenas quantidades de material nitrogenado (KUSKOSKI, 2009).

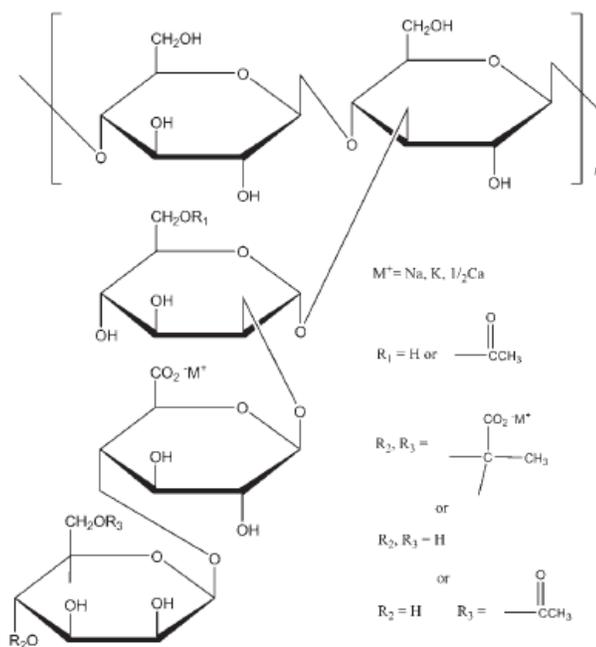
A goma arábica, devido a sua estrutura molecular, tem um caráter anfifílico, que permite absorver em superfícies lipofílicas, atuar como coloide protetor, e portanto, como um bom agente formador de película (LOPERA, *et al*, 2009); essa característica e a resistência a condições físico-químicas, como as ácidas, fazem dela uma boa opção para a microencapsulação de moléculas pouco estáveis em condições ácidas e para o desenho de sistemas de liberação modificada (ZOKTI, *et al*, 2016).

Finalmente, juntando-se a este grupo seletivo de biopolímeros de revestimento, temos a goma xantana. Amplamente utilizada em formulações farmacêuticas orais e tópicas, cosméticos e alimentos como agente de suspensão e estabilização, a goma xantana é uma goma de polissacarídeo de elevado peso molecular. Contém D-glucose e D-manose como as unidades de hexose dominantes, juntamente com ácido D-glucurônico, e é preparado como o sal de sódio, potássio ou cálcio (HANDBOOK, 2009).

Em comprimidos de liberação controlada de cloridrato de diltiazem preparados com goma xantana foram relatados por sustentar a liberação do fármaco de uma maneira previsível e os perfis de liberação do fármaco desses comprimidos não foram afetados pelo pH e pela taxa de agitação (HANDBOOK, 2009). Na microencapsulação tanto pelo spray drying enquanto liofilização, a goma xantana junto a maltodextrina pode aumentar consideravelmente o teor de princípio ativo encapsulado (RAVICHANDRAN, 2014).

Segundo LOPERA e *et al* (2009), o uso de misturas com hidrocolóides como goma arábica/xantana e maltodextrina é uma alternativa para o encapsulação de princípios ativos por secagem por pulverização, pois compensam o alto custo das

gomas e a deficiência de atividade interfacial apresentada pela maltodextrina.



**Figura 9.** Estrutura da goma xantana. Fonte: Handbook of pharmaceutical excipients, 2009.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Coleta da própolis Vermelha

A própolis subtipo 13 (própolis vermelha), foi obtida dos apiários localizados na região de mangue dos municípios de Marechal Deodoro-AL (S9° 42'10.2924"e W35°54'21.5316"). As amostras foram coletadas e acondicionadas sob refrigeração por 24 horas. Após este tempo, foram trituradas em liquidificador industrial, acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados e armazenadas em freezer (18°C).

### 4.2 Extrato etanólico de própolis vermelha (EPV)

Para a obtenção do extrato, pesou-se 300,0 g de própolis vermelha bruta e foi devidamente limpa e submeteu-se a um processo de maceração num frasco com álcool etílico absoluto 99°GL (1L) a temperatura ambiente, com troca do solvente de 48 em 48 horas durante uma semana. O extrato foi filtrado e submetido a rotaevaporação, depois acondicionado em frasco de vidro âmbar e identificado para conservação.

### 4.3 Preparo das formulações

Foram preparadas duas formulações com diferentes misturas de biopolímeros com EPV. A Tabela 1 resume os componentes presentes no produto final obtido. A composição placebo (microencapsulados submetido a secagem sem extrato de própolis vermelha) e as misturas físicas das formulações também foram preparadas pesando as mesmas proporções quanto aos microencapsulados com extrato de própolis.

O preparo dos microencapsulados (F1) e 2 (F2) foi feito da seguinte forma: num beacker de 1000 mL adicionou-se amido e depois adicionou-se água destilada até formar uma suspensão; formada a suspensão, esta foi aquecida a 60 °C e posteriormente adicionou-se uma solução de maltodextrina e uma solução de goma, agitou-se num agitador mecânico até homogeneizar. Uma vez pronta a solução de revestimento, esta foi levada a um liquidificador e logo adicionado o extrato de própolis

vermelha, a mistura foi submetida a agitação de alta velocidade durante 2 minutos e depois adicionado 1000 mL de etanol para deixar a solução mais fluida e solubilizar o extrato, dessa forma é assegurado a incorporação do extrato no material de revestimento.

**Tabela 1.** Porcentagens (m/m) dos polímeros e extrato na elaboração das micropartículas.

<b>Componentes</b>	<b>Formulação 1</b>	<b>Formulação 2</b>
Própolis vermelha	15	15
Goma Xantana	5	----
Goma Arábica	----	5
Amido	44	44
Maltodextrina	36	36

#### 4.4 Microencapsulação

A obtenção do microencapsulado, foi feita através da secagem no Spray-Dryer (Labmaq MSD 1,0) usando uma corrente de ar comprimido à pressão de 2,6 bar. A alimentação da solução a secar foi efetuada usando uma bomba peristáltica. As condições de secagem estão representadas na tabela 2.

**Tabela 2.** Condições da secagem no spray dryer.

<b>Temperatura de entrada (°C)</b>	<b>Temperatura de saída (°C)</b>	<b>Soprador (m<sup>3</sup>/h)</b>	<b>Taxa de alimentação (mL/h)</b>
185	105-109	3	10,7

## 4.5 Caracterização

### 4.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise morfológica dos microencapsulados foi realizada com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura TESCAN VEGA3 com distância de trabalho de 15.97 mm, as amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro. Foi aplicado uma corrente de 45 mA por 200 segundos e aceleração de voltagem igual a 20 kV, no laboratório de Química do Instituto Federal de Alagoas.

### 4.5.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR)

Os microencapsulados carregados com extrato de própolis (MEPV), microencapsulados sem extrato (placebo) e o extrato seco liofilizado, foram submetido a análise de infravermelho com transformada de Fourier, que foi realizada por refletância total atenuada (RTA), na região do infravermelho médio, compreendida entre 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e número de scan 64. Os resultados foram expressos na porcentagem de transmitância de infravermelho. O equipamento utilizado foi um IRAffinity-1-Shimadzu acoplado ao software Ommic para aquisição de dados.

### 4.5.3 Análises Térmicas

Foram feitas as análises térmicas das amostras F1 e F2, placebo e as misturas físicas dos componentes de cada formulação pra efeitos de comparação, assim como extrato de própolis seco.

#### 4.5.3.1 Termogravimetria (TG)

A degradação térmica das amostras foi realizada num TGA-50 Shimadzu sob uma atmosfera de nitrogênio e oxigênio a 50  $\text{mL min}^{-1}$ , com uma taxa de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  na faixa de temperatura de 26-900  $^{\circ}\text{C}$ . A massa das amostras analisadas foi de  $5,0 \pm 10\%$  mg.

#### 4.5.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas calorimétricas das amostras, foram obtidas em um calorímetro, modelo DSC 50 de Shimadzu (Tóquio, Japão), utilizando uma massa de  $2,0 \pm 10\%$  mg, embalado em cadinho de alumínio hermeticamente fechado. A taxa de aquecimento foi de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  na faixa de temperatura de 30-400  $^{\circ}\text{C}$  sob uma atmosfera de nitrogênio e taxa de fluxo de  $50\text{ mL min}^{-1}$ .

#### 4.6 Extração de fenóis e flavonoides dos microencapsulados (MEPV)

Para efeitos de comparação, foi necessária a extração dos compostos da própolis dos microencapsulados para quantificar o teor de flavonoides e de fenóis totais, assim como avaliar a atividade antioxidante, seguindo a metodologia de NORI e *et al* (2011) com modificações. Considerando a porcentagem de umidade determinada nos microencapsulados (5 % para cada um) pesaram-se 0,21g do MPV e transferiu-se para um balão de 10 mL, a este foi acrescentado 2,0 mL de citrato de sódio a 10% e agitou-se vigorosamente no vórtex por 2 minutos. Em seguida, adicionou-se 5 mL de etanol absoluto e agitou-se no vórtex por mais 2 minutos e finalmente completou-se o volume com etanol seguido de agitação no vórtex por 2 minutos. A mistura foi centrifugada a 3000 rpm durante 5 minutos e ao termino o sobrenadante foi utilizado para as análises.

##### 4.6.1 Determinação de teor de fenóis totais

A determinação do teor total de fenóis foi realizada de acordo com o método de Reagente de Folin-Ciocalteu (RFC) descrito por WOISKY (1996). Antes da quantificação do teor de fenóis dos microencapsulados foi necessário a construção de uma curva de calibração utilizando-se ácido gálico padrão em diferentes concentrações (2,0; 2,5; 3,0; ..., 6,0  $\mu\text{g/mL}$ ). O preparo foi feito da seguinte forma: adicionou-se para um balão volumétrico de 5 mL, contendo 3,5 mL de água deionizada, uma alíquota correspondente a cada concentração da solução estoque de ácido gálico e depois 0,4 mL de RFC. Agitou-se levemente por 15 segundos e no intervalo de 1 a 9 minutos,

adicionou-se 0,6 mL da solução saturada de Carbonato de Sódio, completou-se volume com água e agitou-se por mais 15 segundos. A reação ocorreu no escuro por 2 horas para que ocorresse a oxidação de fenóis. Observou-se a mudança de coloração, de esverdeado para azul. A leitura foi realizada no espectrofotômetro UV-VIS mini Shimadzu, no comprimento de onda de 760 nm. Calculou-se a equação da reta através da regressão linear dos dados obtidos.

- Teor de fenóis totais do EPV e MPV

Para a quantificação dos fenóis totais, preparou-se uma solução estoque tanto do extrato como de microencapsulados (12,8 mg/mL do EPV e 3 mg/mL do MEPV), tomando-se alíquotas do EPV/MPV para as respectivas concentrações de 160, 200 e 240 µg/mL e foram adicionados em balões de 5mL que continha 3,5 mL de água deionizada. A seguir, utilizou-se a mesma metodologia descrita no item a cima. Os valores das absorbâncias obtidos com as leituras das amostras foram substituídos na variável y, da equação  $y=a+bx$ . Para calcular a porcentagem de fenóis totais presentes na amostra analisada utilizaram-se as seguintes fórmulas:

**Equação 1** 
$$C = \frac{\text{Absorbância} - A}{B}$$

Onde: **A**, coeficiente linear da equação da reta e **B**, coeficiente angular da equação da reta.

#### 4.6.2 Determinação de Flavonoides totais

A determinação de flavonoides total foi realizada de acordo com o método de Cloreto de Alumínio ( $AlCl_3$ ) descrito por WOISKY em 1996 com algumas modificações. Antes da quantificação do teor de flavonoides dos microencapsulados foi necessário a construção de uma curva de calibração utilizando-se Quercetina padrão em diferentes concentrações (2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10 e 12 µg/mL). O preparo foi feito da seguinte forma: adicionou-se para um balão volumétrico de 5 mL, contendo 4 mL de Metanol, uma alíquota correspondente a cada concentração da solução estoque de quercetina e

depois 100  $\mu\text{L}$  da solução Cloreto de Alumínio (5%), imediatamente completou-se volume com Metanol, agitou-se e deixou-se no escuro por 30 minutos. Após o tempo, fez-se a leitura no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 425 nm e calculou-se a equação da reta através da regressão linear dos dados obtidos.

- Teor de flavonoides do EPV e MPV

Para a quantificação dos flavonoides, preparou-se uma solução estoque (12.8 mg/mL do EPV e 3 mg/mL do MEPV), diluiu-se para balões de 5mL, concentrações de 160, 200, 240  $\mu\text{g/mL}$ . Adicionou-se uma alíquota do EPV ou MPV para um balão volumétrico de 5mL, contendo 4 mL de Metanol. O passo a seguir, foi o mesmo descrito na metodologia para a construção da curva. Os valores das absorvâncias obtidos com as leituras das amostras foram substituídos na variável  $y$ , da equação:  $y = a + bx$ . Para calcular a porcentagem de fenóis totais presentes nas amostras analisadas utilizaram-se as fórmulas descritas acima.

#### 4.6.3 Avaliação da atividade antioxidante do EPV e MEPV

A atividade sequestrante do radical DPPH foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Sales (2012), com modificações. Para avaliar a atividade antioxidante das soluções amostra, foi preparado uma solução 0,12 mg/mL de radical DPPH em etanol absoluto e armazenada em um frasco de vidro âmbar, depois procedeu-se a adicionar 2 mL desta solução em balões volumétricos âmbar de 5 mL, em seguida adicionou-se alíquotas do EPV ou do MEPV nas respectivas concentrações (5, 10, 20 e 40  $\mu\text{g/mL}$ ), completou-se volume e posteriormente aguardou a reação no escuro durante 30 minutos.

Pós reação, fez-se a leitura das amostras no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 517 nm. O branco das amostras foi etanol absoluto e o controle foi feito com uma pequena alíquota de etanol absoluto + solução de DPPH. A porcentagem de radical DPPH• remanescente, no tempo de 30 minutos, foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de DPPH} \bullet \text{ Remanescente} = [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{controle}} - A_{\text{branco}})] \times 100$$

Onde:

**A amostra** = absorvância da reação entre a solução do radical DPPH• e a amostra antioxidante;

**A branco** = absorvância da solução de solvente utilizado para preparar a amostra;

**A controle** = absorvância do radical DPPH• com uma pequena alíquota do solvente utilizado para preparar a amostra, em substituição à solução da própria amostra em estudo.

Após a determinação do radical DPPH remanescente, determinou a porcentagem de inibição do radical DPPH• através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH} \bullet = 100 - \% \text{ DPPH} \bullet \text{ Remanescente}$$

#### 4.6.4 Eficiência de encapsulação do EPV

Utilizaram-se o sobrenadante obtido da ruptura das microencapsulados nas concentrações de 20, 30 e 40 µg/mL, para quantificar o teor de fenóis totais no MPV pelo método de Folin-Ciocalteu e comparar em termo de percentual com o teor de fenóis totais determinado no EPV nas mesmas concentrações. Para o cálculo de eficiência foi utilizado.

#### **Equação 2**

$$EE (\%) = [QFTM / QFTE] * 100$$

**EE**= Eficiência de Encapsulação;

**QFTM**= Quantidade de fenóis totais determinado no sistema polimérico;

**QFTE**= Quantidade de fenóis totais determinados no EEPV, “teoricamente adicionado no sistema polimérico”.

#### 4.7 Estudos de Dissolução

Para avaliar a liberação, os microencapsulados foram acondicionados em cápsulas de tamanho 00 foram pesadas em balança analítica Shimadzu AX 200 e foram enchidas com uma quantidade de pó equivalente a 75 mg de própolis vermelha.

Os estudos de perfil de dissolução foram realizados no Laboratório de Análises Farmacêutica e de Alimentos (LAFA) da ESENFAR – UFAL utilizando dissolutor Agilent Technologies 708 - DS de oito cubas. Cada formulação foi avaliada em 4 diferentes meios de dissolução. O primeiro foi meio ácido-tampão (baseado na USP dos Estados Unidos com algumas modificações), onde na primeira hora de funcionamento do dissolutor, as cubas foram enchidas com 450 mL de meio HCl 0,1 M, após 2 horas da etapa ácida procedeu-se para etapa tampão fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), na qual consistiu em adicionar 450 mL de meio tampão fosfato 0.2 M a pH 6,8 para um total de 900 mL de meio em cada cuba. Os outros meios de dissolução foram tampão fosfato pH 6,8; meio gástrico simulado (baseado na farmacopeia brasileira) e água de osmose inversa (DE ALMEIDA, 2017). A temperatura e velocidade de agitação para os testes foram de  $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5$  e 100 rpm.

Os perfis de dissolução foram realizados tomando alíquotas de 5 mL à 1, 2, 3, 6, 8, 10, 12 horas de iniciado o ensaio, fazendo as reposições correspondentes. As alíquotas filtradas foram avaliadas em quanto a seu teor de princípio ativo liberado mediante espectrofotometria UV/Visível a um comprimento de onda de 280 nm, utilizando uma curva de calibração preparada com o mesmo extrato etanólico de própolis vermelha utilizado durante todo este trabalho.

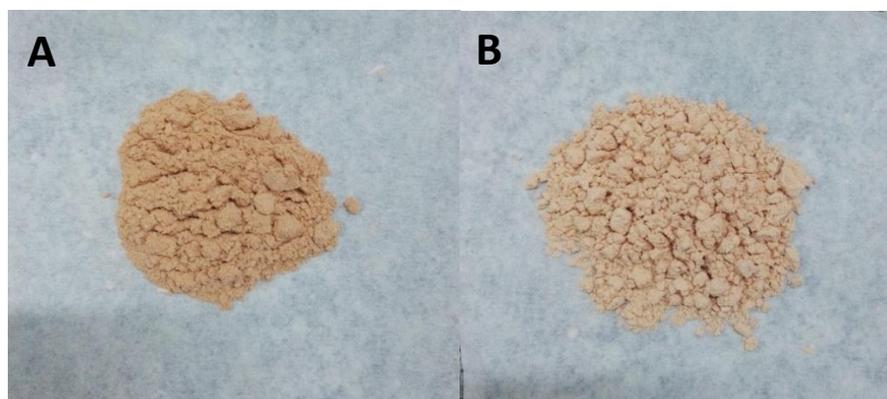
#### 4.8 Análises estatístico

Os resultados obtidos foram sometidos a análises estatísticas mediante um estudo de t student para diferenças significativas, empregando ferramentas estatísticas do programa: MS Excel 2007 e GraphPad Prism Versión 5.0.

## 5. RESULTADO E DISCUSSÕES

### 5.1 Microencapsulados obtido no spray dryer

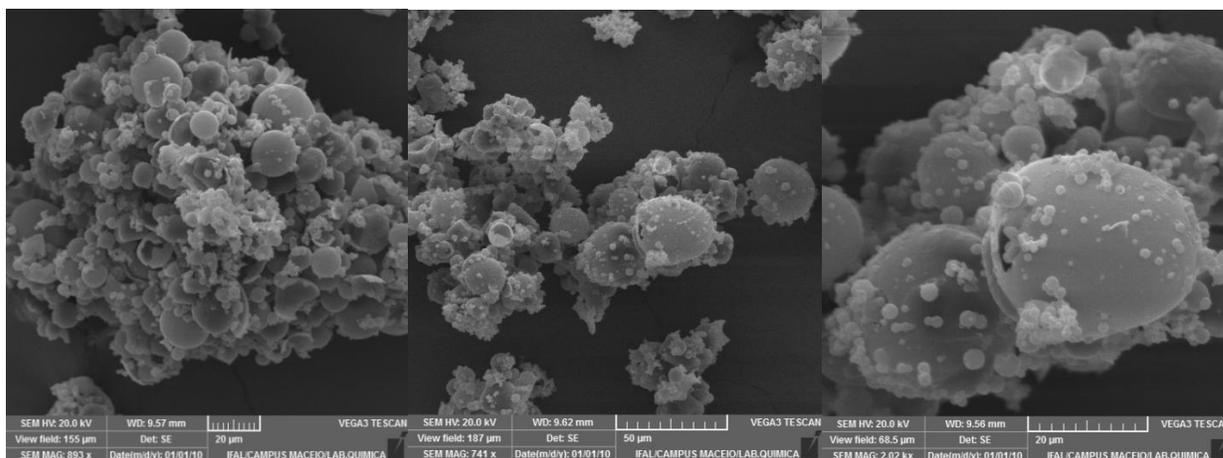
Ambos microencapsulados obtidos apresentaram características de um pó fluido e solto na qual prevaleceu a cor avermelhada e o aroma característico do EPV. A porcentagem de rendimento das duas formulações foi de 53 % para F1 e 35 % para F2 com uma porcentagem de umidade de 5 % em ambas formulações.



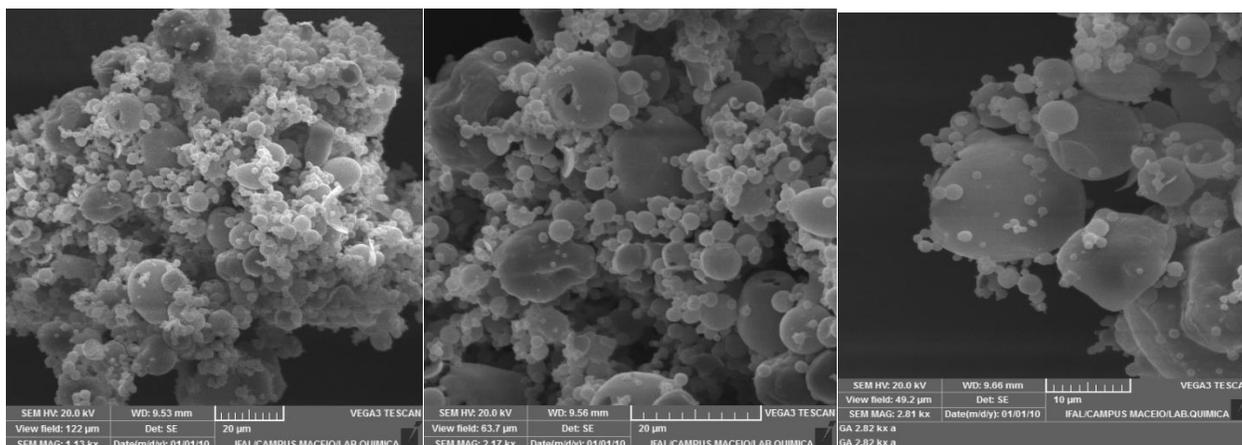
**Figura 10.** Microencapsulados das formulações 1 (A) e 2 (B), obtidas pela técnica de secagem por aspersão. Fonte: autor, 2017.

### 5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As fotomicrografias dos microencapsulados F1 e F2 mostraram semelhanças enquanto a morfologia (figura 11 e 12 respectivamente). Em ambos casos, as micropartículas apresentaram forma granular que quando ampliada, pode-se observar que esses grânulos consistem em agregados de microesferas majoritariamente simétricas, cujos tamanhos estão entre 2,58 e 35  $\mu\text{m}$ , a simples vista as microesferas possuem superfície lisa, sem aparente porosidade e sem rachaduras.



**Figura 11.** Fotomicrografias das micropartículas da formulação 1. Fonte: autor, 2017



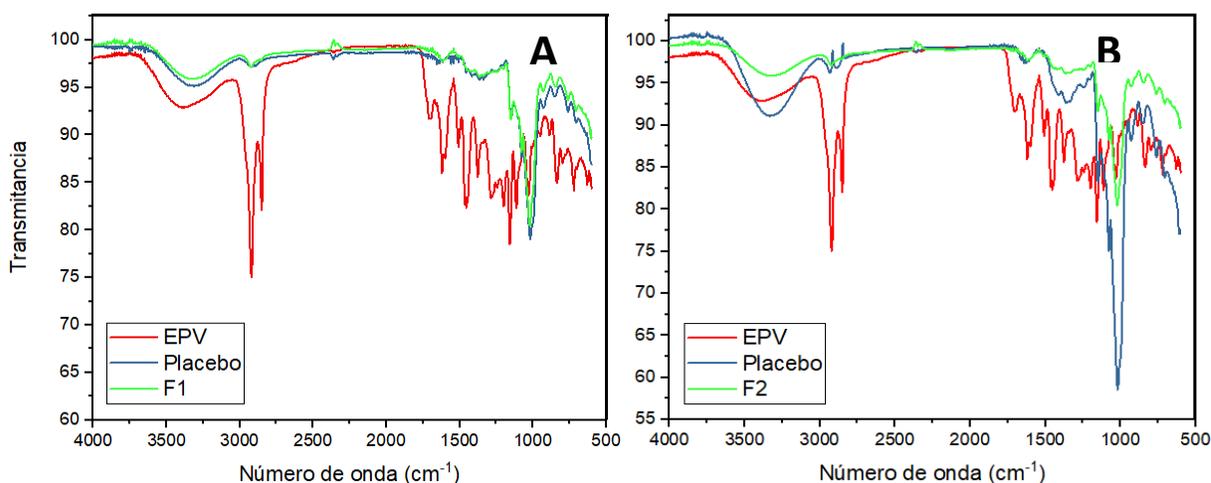
**Figura 12.** Fotomicrografias das micropartículas da formulação 2. Fonte: autor, 2017.

Com estes resultados pode-se confirmar que além das condições de secagem utilizadas no spray dryer para a produção de microencapsulados, os biopolímeros escolhidos e as proporções usadas nas formulações, foram ideais para a sua integridade e simetria. O estudo feito pelos autores FERNANDES, BORGUES, BOTREL (2013) evidenciaram em seu trabalho de microencapsulação de óleo essencial de Rosemary com 4 polímeros (Maltodextrina, goma arábica, inulina e amido) em diferentes combinações, que a combinação com maior proporção de partículas esféricas foi maltodextrina-amido, sugerindo que provavelmente essas matrizes proporcionam mais elasticidade durante o processo de secagem. Neste trabalho esses dois biopolímeros estão em maior proporção nos microencapsulados por tanto é uma

hipótese a levar em consideração embora não se descarta a influência das gomas em cada formulação em melhorar a elasticidade dos microencapsulados durante a secagem.

### 5.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Ao realizar a análise dos espectros de IR, concentrou-se na busca de grupos funcionais que correspondem a compostos fenólicos, visto que a atividade biológica e funcional do extrato de própolis vermelha é atribuída a eles. Na Figura 13, podem ser observados os espectros do extrato de própolis, as duas formulações de microencapsulados e o placebo das correspondentes formulações.



**Figura 13.** Espectros de FTIR do extrato de própolis vermelha (EPV), microencapsulados carregado com extrato (F1 e F2) e sem extrato (placebo). Fonte: Autor, 2017.

O espectro ATR-FTIR do extrato de própolis mostrou estiramento característico de Hidrogênio ligado ao grupo hidroxila (O-H), típicos de compostos fenólicos a  $3392\text{ cm}^{-1}$ . Também pode-se observar em  $1620$ ,  $1506$  e  $1454\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondentes aos alongamentos C=C do anel aromático, assim como bandas a  $1030\text{ cm}^{-1}$  atribuídas ao estiramento da ligação C-O-C de éter aromático (para flavonóides), e a presença da banda a  $835\text{ cm}^{-1}$  corresponde à deformação angular fora do plano de C-H aromático. As bandas a  $2920\text{ cm}^{-1}$  e  $2850\text{ cm}^{-1}$  correspondem a estiramentos simétricos de C-H<sub>3</sub>

(sp<sup>3</sup>) e a estiramentos assimétricos de C-H<sub>2</sub> (sp<sup>3</sup>) respectivamente, tais picos estão associados a remanentes de ceras de acordo com a apreciação visual do extrato etanólico mas não é descartável a presença de terpenos visto que são bandas características deles.

O espectro da matriz de revestimento polimérico F1 sem EPV (placebo) e a amostra carregada com EPV, F1, apresentaram alongamentos semelhantes entre 3550 e 3200 cm<sup>-1</sup>, o qual está relacionado com estiramentos de hidrogênio de grupo hidroxila de glucósidos, sinal que está um pouco deslocado em relação à O-H livre (3650-3584 cm<sup>-1</sup>), o que sugere a possível formação de pontes intermoleculares de hidrogênio. Também têm bandas semelhantes a 1015 cm<sup>-1</sup>, atribuídas a vibrações de ligações C-O dos carboidratos presentes no material de parede. O desaparecimento do alongamento axial de C=C das bandas em 1620, 1506 e 1454 cm<sup>-1</sup> (característica do anel aromático) pertencente aos flavonóides e compostos fenólicos do extrato de própolis vermelha no espectro de F1, indica que houve microencapsulação de extrato no sistema polimérico (figura 13A).

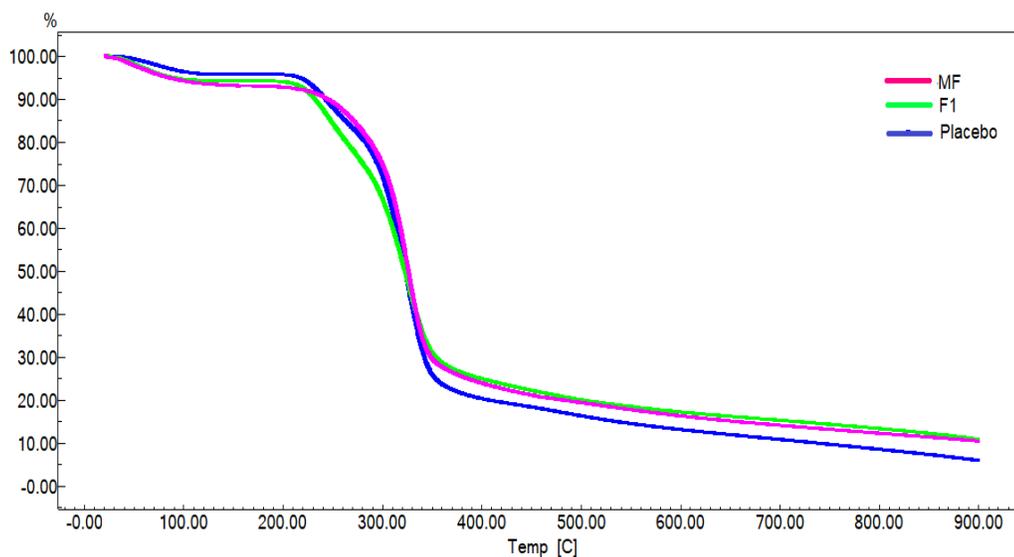
De acordo a figura 13B, a formulação 2, também apresentou microencapsulação do extrato devido a que o espectro de F2 tem as mesmas bandas do placebo em 1018 cm<sup>-1</sup> associado a ligações C-O e a banda a 3329 cm<sup>-1</sup> associada grupo O-H glicosídico (ZARA, *et al*, 2017), além, não apresenta as bandas características de EPV.

## 5.4 Análises térmica

### 5.4.1 Análises Termogravimétrica (TG)

A figura 14 corresponde à curva termogravimétrica da Formulação 1 (F1), os microencapsulados sem própolis (Placebo) e a mistura física dos componentes de F1 (MF). O perfil de degradação das amostras é caracterizado pela presença de 4 eventos ligados a perdas significativa de massa. No termograma de F1 e MF foram observado o

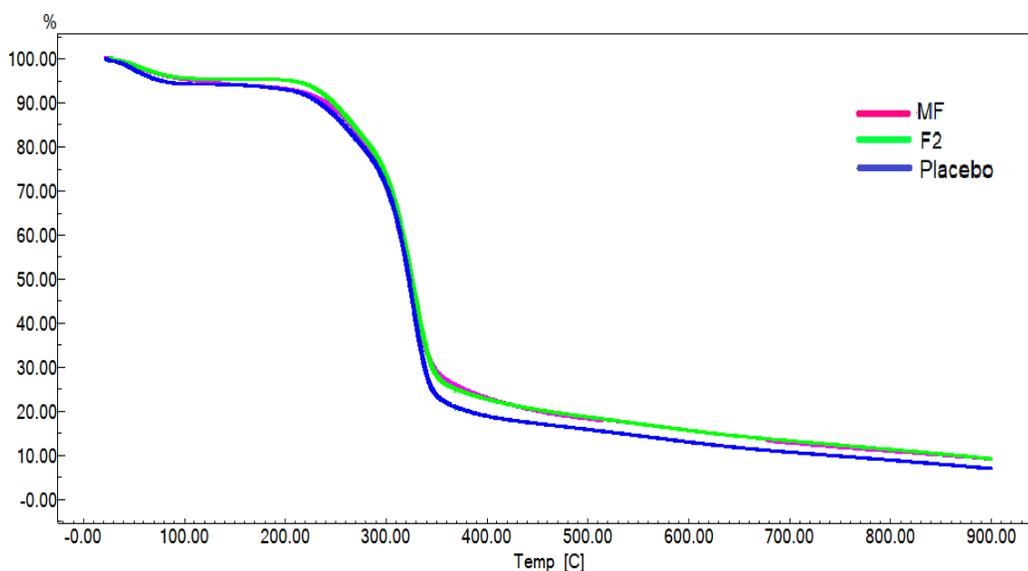
primeiro evento relacionado à perda de massa (5,5% e 6,4 respectivamente) correspondente à saída de água entre os 31°C e 85 °C. Enquanto ao Placebo (4%), o mesmo evento associado à saída de água esteve deslocado um pouco para a direita com início em 44 °C e culminando em 104 °C.



**Figura 14.** Curvas termogravimétricas do microencapsulado F1, mistura física (MF) e microencapsulados sem EPV (placebo). Fonte: autor, 2017.

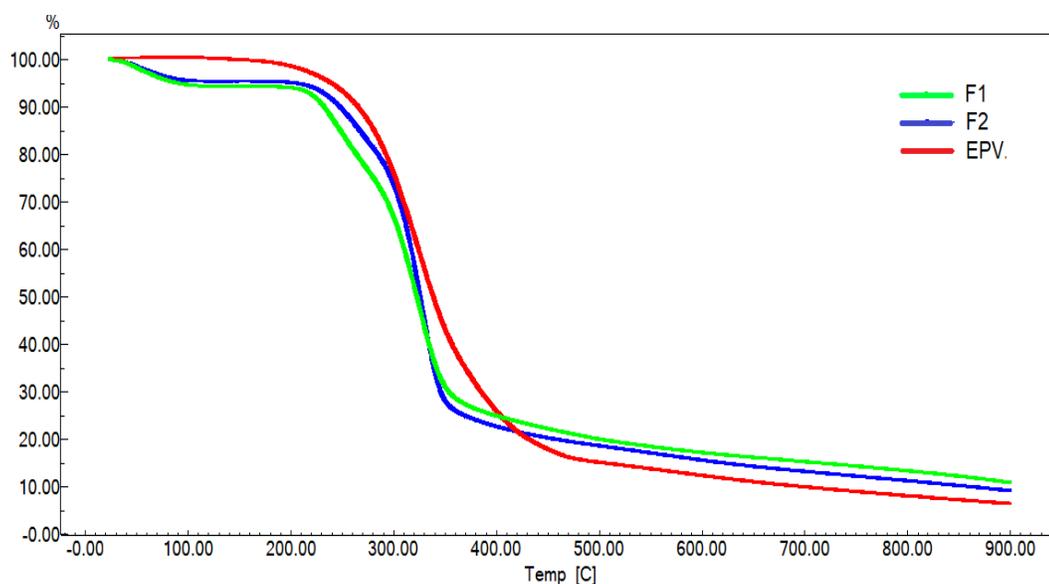
A segunda perda de massa é vista quando as amostras F1 e Placebo são submetidas a temperaturas superiores de 200 °C, na qual iniciam processos de perda de massa por despolimerização das cadeias glicosídicas dos biopolímeros (OMS, 1999). No caso de F1 o processo inicia a 221°C, placebo a 218°C e para MF a 262°C. Já em 297°C e 300°C começa a degradação termo-oxidativa das amostras F1 e MF respectivamente, finalizando o processo de decomposição em 344°C em ambas amostras, e no placebo, o evento de degradação inicia em 290°C, culminando em 347°C. A diminuição total de massa desses eventos corresponde a 69% para F1, 70% para MF e 76% para o Placebo. Quando acaba o evento de degradação, inicia a carbonização da quantidade remanente das amostras até os 900 °C, sendo esse o último evento térmico. A similitude entre os perfis de degradação entre F1 e MF é devida à presença de extrato de própolis nas matrizes, o que faz aumentar a resistência térmica e desacelerar significativamente a degradação quando comparado com a amostra placebo.

Na figura 15 mostra a degradação térmica dos microencapsulados com EPV (F2), microencapsulados sem EPV (Placebo) e a mistura física dos componentes de F2 (MF). No termograma é observado que entre os 30 e 40°C, inicia o primeiro evento de perda de massa das 3 amostras analisadas relacionada à saída de água, terminando o processo em 76 °C para o placebo e para as amostras F2 e MF, o evento terminou em 85 °C. As perdas de massa (entre 4,5 e 6%) abaixo dos 150 °C correspondem à temperatura de eliminação de umidade adquirida. Em 230 °C inicia a perda de massa mediante despolimerização dos biopolímeros da amostra F2, em 244°C do placebo e em 253 °C a MF. Após esse evento, as 3 amostras vão direto a sua temperatura de degradação termo-oxidativa que em F2 tem início a 287°C, no placebo em 303°C e na MF, a 300°C, isso representa perdas de massa de 70 %, 76% e 73% para esses eventos térmicos respectivamente. A seguinte etapa, a etapa de carbonização das três amostras, tem início depois dos 400 °C concluindo até os 900°C. De acordo com a figura 14, as amostras F2 e MF tiveram o mesmo perfil de decomposição atribuído ao extrato de própolis e também houve desaceleração da degradação térmica das amostras mas teve diminuição da resistência térmica de F2.



**Figura 15.** Curvas termogravimétricas do microencapsulado F2, mistura física (MF) e microencapsulados sem EPV (placebo). Fonte: autor, 2017.

Por último, a figura 16 faz uma comparação do perfil de decomposição das amostras F1, F2 e EPV seco. Nela é visualizado que o extrato seco não apresenta a primeira fase de perda de massa característico de F1 e F2 relacionado à saída de água, visto ao processo de desidratação na qual foi submetido o extrato previamente, portanto, repercute na forma na qual a amostra é degradada. O primeiro evento relacionado a perda de massa no extrato tem início a 272°C, na qual começa a degradação termo-oxidativa do EPV, o qual é estendido até 380 °C com uma porcentagem de perda de massa de 84 %, um valor que é superior quando comparado com F1 (69%) e F2 (70 %) cujas temperaturas de início de decomposição termo-oxidativa foram 297 e 280 °C. Com estes resultados pode-se afirmar que a parede de biopolímeros em ambas formulações, conseguiu diminuir a degradação térmica do EPV.



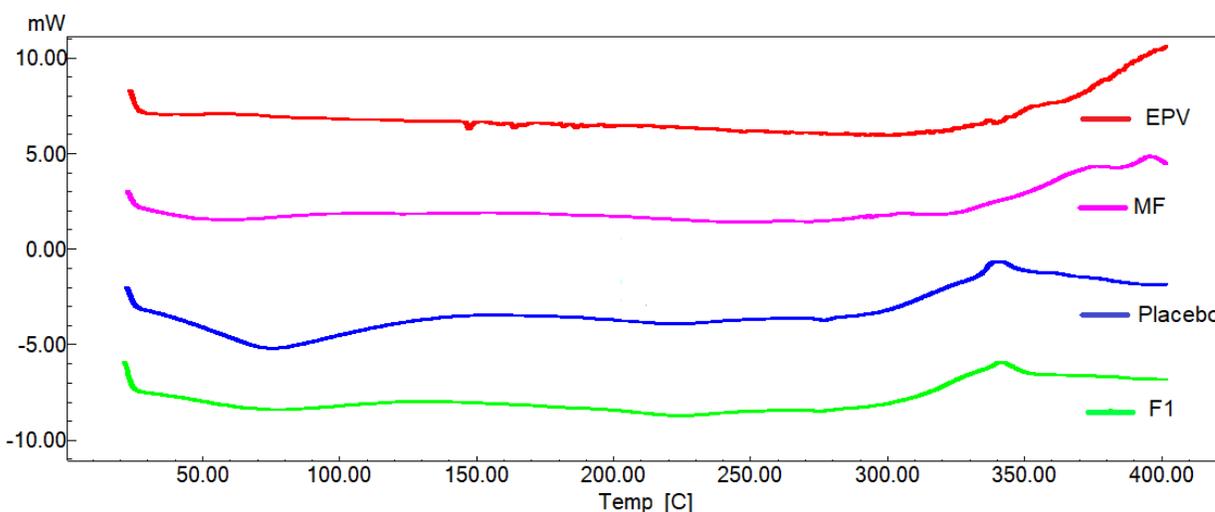
**Figura 16.** Curvas termogravimétricas dos microencapsulados F1, F2 e EPV (extrato de própolis vermelha). Fonte: autor, 2017.

#### 5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A figura 17, mostra a curva calorimétrica obtida por DSC do extrato seco de própolis vermelha (EPV), a qual apresenta picos de eventos endotérmicos simultâneos na faixa de 145 e 200 °C (possivelmente por processos de fusão de compostos fenólicos) e em 300 °C, início de um único pico exotérmico correspondente a

decomposição do extrato que vai além dos 400 °C. A mistura física da formulação 1 (MF) apresenta evento endotérmico entre 25°C e 105°C devido à desidratação dos polímeros e em 300°C observa-se o evento exotérmico de decomposição, seguindo um fluxo de energia semelhante ao extrato, sendo um indicativo da não microencapsulação do extrato.

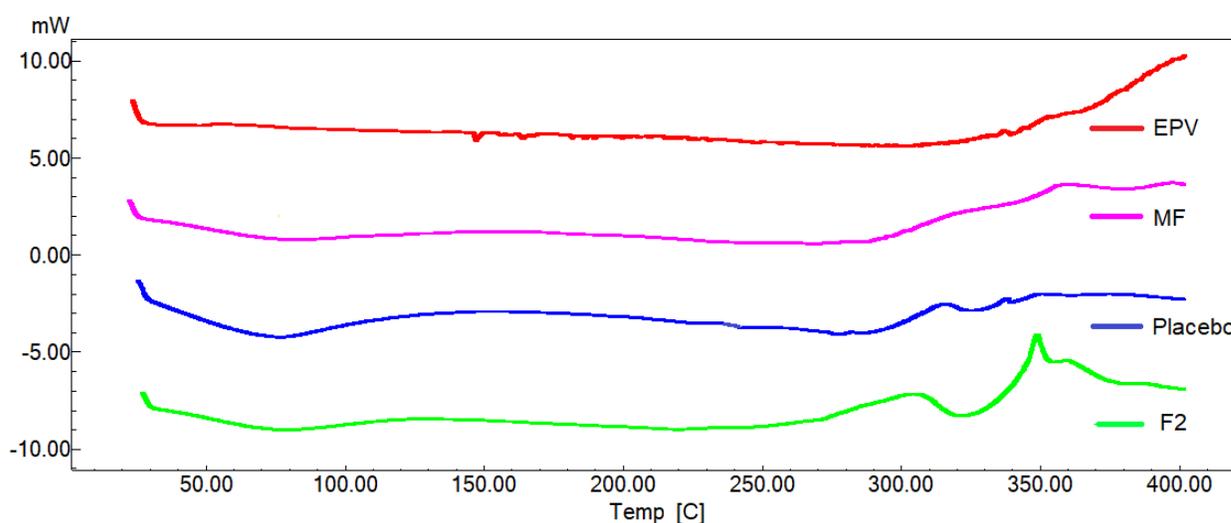
As curvas calorimétricas dos microencapsulados sem EPV (Placebo) e os microencapsulados com EPV (F1) apresentaram curvas calorimétricas parecidas, ambos possuem eventos endotérmicos no começo, referente à perda de água adsorvida entre os 25 e 120 °C. A partir de 280 °C é originado em ambas amostras, um evento exotérmico de decomposição cujo pico máximo se dá em 345 °C aproximadamente. Semelhanças do perfil calorimétrico de F1 com a curva do Placebo, somado à ausência dos picos de EPV, indica que houve microencapsulação do extrato e que há também compatibilidade térmica.



**Figura 17.** Curvas DSC dos microencapsulados com extrato (F1), placebo, mistura física de F1 (MF) e extrato seco de própolis vermelha (EPV). Fonte: autor, 2017.

De acordo com a figura 18, as curvas de MF, placebo e F2 apresenta variação de fluxo endotérmico entre os 20 e 100 °C, evento que está relacionado com a saída de água. Tanto o placebo quanto a MF possuem em 285°C evento exotérmico associado a

decomposição térmica. Em F2 a partir dos 270 °C observam-se picos exotérmicos simultâneos e pronunciados, relacionados a eventos de degradação. Esse deslocamento e pronunciamento dos picos exotérmicos em F2 com respeito à curva do placebo é causada por uma diminuição da resistência térmica causada pela interação da matriz com o EPV, demonstrando então que também houve microencapsulação (REINAS, *et al*, 2014) mas de acordo com os resultados, a compatibilidade térmica é menor quando comparado com F1.



**Figura 18.** Curvas DSC dos microencapsulados com extrato (F2), sem extrato (placebo), mistura física de F2 (MF) e extrato seco de própolis vermelha (EPV). Fonte: autor, 2017.

### 5.5. Determinação de fenóis e flavonoides totais

Através do método de Folin-Ciocalteu foi possível concluir que tanto a quantidade de compostos fenólicos totais e quanto de flavonoides, presentes no extrato de própolis analisado (tabela 3), encontram-se dentro dos critérios de aceitação do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), onde os extratos de própolis devem conter, no mínimo, 0,25% (m/m) de flavonoides e 0,50% (m/m) de fenólicos (Brasil, 2001).

Embora, tem estudos que evidenciam um maior teor de fenóis totais para o EPV do que os reportados neste estudo, por exemplo o autor RIGHI (2008), quantificou um

41,6 % para fenóis totais, porém a quantidade de flavonoides que ele quantificou foi semelhante (3,29%) com os percentuais quantificados neste trabalho.

Com um 8 % de fenóis totais determinado, os valores no trabalho de De Mendonça (2015) são mais próximos com o nosso resultado, ditas variâncias em compostos fenólicos com respeito ao primeiro estudo podem estar determinadas pela sazonalidade em que as abelhas fazem a coleta dos compostos bioativos oriundo das fontes vegetais (CASTRO, CURY, ROSALEN, 2007).

**Tabela 3** – Teores de flavonoides e fenóis totais em amostras do extrato etanólico da própolis vermelha (EPV) e nos microencapsulados F1 e F2.

Substâncias dosadas	Amostras		
	EPV (%) ± CV*	F1 (%) ± CV*	F2 (%) ± CV*
<sup>1</sup> Fenóis Totais	9,58 ± 2,23	9,45 ± 1,44	9,42 ± 1,55
<sup>2</sup> Flavonoides Totais	3,51 ± 0,6	3,43 ± 0,2	3,26 ± 0,1

\* Média ± Coeficiente de variação

1– Expressos como equivalente de ácido gálico sobre extrato de própolis (m/m)

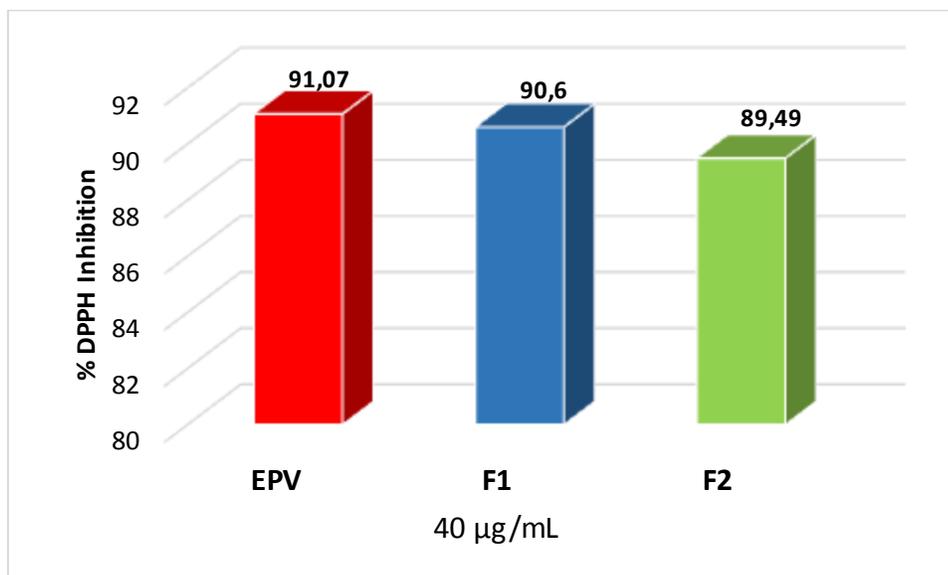
2– Expressos como equivalente de quercetina sobre extrato de própolis (m/m)

Para os teores obtidos dos microencapsulados se evidencia na tabela 3 que os resultados são parecidos quanto aos obtidos no extrato para os dois parâmetros quantificados (fenóis e flavonoides), e de acordo a análise estatística tukey, não há diferença estatística significativa entre estes e os valores de fenóis e flavonoides totais do EPV, inferindo que o processo da microencapsulação nas duas formulações foi eficiente.

## 5.6 Atividade Antioxidante

A figura 19 mostra a capacidade de inibição do radical DPPH pelo EPV, F1 e F2, e como era de esperar-se, os resultados obtidos nos microencapsulados foram parecidos e não houve diferença estatisticamente significativa (test de tukey) quando comparado com o EPV, inferindo que o processo de secagem não foi nocivo para os

compostos responsável da atividade antioxidante e que o material de revestimento não interfere com a atividade referida.



**Figura 19.** Porcentagem de inibição do radical DPPH das amostras EPV e dos microencapsulados F1 e F2. Fonte: autor 2017.

Os valores estão de acordo com os obtidos no estudo executado por ALMEIDA *et al* (2017), na qual uma concentração do EPV de 50 µg/mL teve uma capacidade de inibição do 98,0 %. Os microencapsulados desse estudo, também obtidas pela técnica de secagem spray drying, usando 6 excipientes de revestimento em 3 formulações diferentes, tiveram uma atividade antioxidante entre 83,3 – 86,06 %, resultados próximos aos microencapsulados obtidos neste trabalho.

### 5.7 Grau de microencapsulação

Os fenóis totais quantificados nos microencapsulados foram usados para determinar a eficiência da microencapsulação. Mediante os resultados apresentados na tabela 4, pode-se inferir que a porcentagem dos biopolímeros utilizados na obtenção dos microencapsulados foram ideais para a microencapsulação de fenóis totais. A eficiência da microencapsulação além de depender da matriz polimérica utilizada,

também pôde ter sido influenciada pelos parâmetros estabelecidos nas condições de secagem no spray dryer.

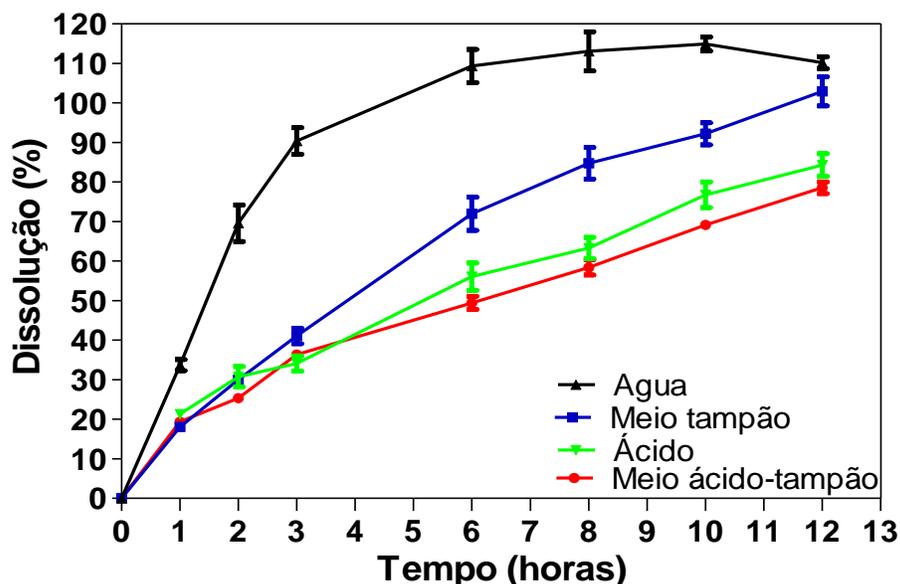
**Tabela 4** – Eficiência da encapsulação do extrato dos microencapsulados F1 e F2.

Microencapsulados	Eficiência (%)
F1	98,64
F2	98,32

Enquanto se há ou não interação química entre o material de parede e os compostos fenólicos, o autor RUTZ e *et al* (2013), sugere em seu trabalho -na qual microencapsulou suco de pitanga usando goma xantana e goma tara-, que na eficiência de encapsulação pôde ter ocorrido ligações de hidrogênio e interações dipolo-dipolo, devido à presença de grupos hidroxila livres nos compostos presentes no extrato e também nos biopolímeros, e além disso, também pôde ter ocorrido interações de tipo dipolo permanente com os compostos fenólicos devido à natureza aniônica da goma xantana (pela presença de ácido acético e ácido pirúvico na cadeia).

## 5.8 Estudos de dissolução

Realizados os experimentos para determinação do perfil de dissolução dos microencapsulados, foram gerados os gráficos com os respectivos tempos de liberação versus a concentração liberada de flavonoides totais, quantificado em função da concentração de naringenina obtida por curva de calibração. As figuras 20 e 21 ilustram os perfis de liberação da própolis a partir das formulações avaliadas em meio de dissolução ácido-tampão, água de osmose inversa, tampão fosfato pH 6,8 e gástrico simulado.



**Figura 20.** Representação gráfica dos perfis de dissolução de MPV F1 em meio de dissolução ácido-tampão, água, gástrico simulado, tampão fosfato pH 6,8. Cada ponto de dados representa a média de quadruplicata e a barra de erro indica o desvio padrão da média. Fonte: autor, 2017.

Nos quatro meios de dissolução avaliados com a amostra F1, a liberação aconteceu de forma escalonada ao longo do tempo, com um 110% liberado ao final das 12 horas do ensaio em água, 100% em meio tampão, 84% em meio gástrico simulado e 80% em meio ácido-tampão. Os microencapsulados F1 apresentaram uma taxa de liberação do extrato parecida em todos os meios nas três primeiras horas de estudo, exceto em água de osmose inversa (figura 20), que desde a primeira hora apresentou uma liberação maior e em apenas 6 horas de ensaio, F1 liberou o 100% dos compostos, tal comportamento é atribuído a dois fatores, o primeiro devido à grande afinidade que tem goma xantana pela água e o segundo, à ausência de íons no meio visto que a liberação dum princípio ativo em uma matriz que possua goma xantana está determinada pela força iônica do meio de dissolução, ou seja à somatória do resultado da multiplicação entre a concentração molar de cada uma das espécies iônicas presentes e a carga da espécie iônica ao quadrado (Equação 3) (TALUKDAR,1995). A diferença na porcentagem liberada no meio tampão com respeito aos perfis restantes é devido a um maior valor de pH, onde os compostos fenólicos são mais solúveis. Conforme os resultados obtidos, por teste t student, realizada entre os resultados obtidos

dos perfis de dissolução em meio ácido-tampão e gástrico simulado, sugere que não há diferença estatisticamente significativa na porcentagem de liberação ( $p < 0,05$ ). Embora esperava-se que a taxa de liberação dos microencapsulados fosse maior em meio ácido-tampão do que em meio ácido pelo fato de ter um estágio tampão mas a realidade foi que os perfis resultaram semelhantes por causa de uma maior força iônica no meio de dissolução ácido-tampão que como já foi expresso anteriormente, influencia na liberação.

### **Equação 3.**

$$I = \frac{1}{2} \sum C * Z^2$$

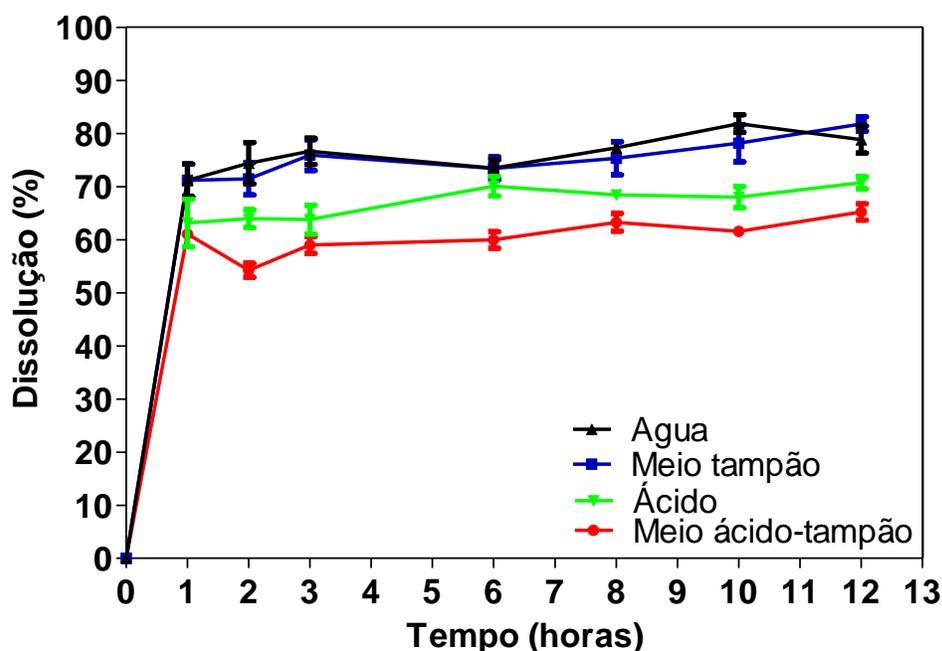
Onde

**C**= concentração molar do íon no meio

**Z**= carga eléctrica do íon

Embora a formulação F1 também contém amido e maltodextrina, é a capacidade de inchamento e formação de filme da goma xantana quem determina o mecanismo de liberação na formulação (difusão), tais características tornam à goma xantana num excipiente ideal para formulações de liberação controlada de acordo com a Handbook of Pharmaceutical excipients.

Os microencapsulados de F2 (figura 21) tiveram liberação controlada dos compostos fenólicos nos quatro meios testados, liberando na primeira hora mais do 60% em cada meio, e a dose remanente foi liberada de maneira gradual, mantendo as concentrações semelhantes entre os pontos de amostragem ao longo do estudo. Os microencapsulados apresentaram uma taxa de liberação maior e parecida entre si em meio tampão 6,8 e meio água de osmose inversa quando comparado com os outros dois meios, liberando no final das 12 horas do teste 82% e 79% respectivamente.



**Figura 21.** Representação gráfica dos perfis de dissolução de MPV F2 em meio de dissolução ácido-tampão, água, gástrico simulado, tampão fosfato pH 6,8. Cada ponto de dados representa a média de quadruplicata e a barra de erro indica o desvio padrão da média. Fonte: autor, 2017.

Como aconteceu com os microencapsulados de F1, também esperava-se uma quantidade de compostos liberados nos microencapsulados de F2 maior em meio ácido-tampão (65% liberado) do que em meio ácido (71%), porém aconteceu o contrário. A razão também pôde ter sido à grande concentração de íons nesse meio com respeito ao ácido, visto que a goma arábica possui uma fração proteica, cuja solubilidade diminui com o aumento da força iônica. De acordo com TEIJÓN e *et al* (2004), uma alta concentração de sal em uma solução proteica, ajuda a aumentar a interação proteína-proteína e portanto, a interação proteína-meio diminui, dificultando assim a liberação dos compostos ativos dos microencapsulados.

Por último, o mecanismo de liberação de F2 é devida à pouca capacidade que teve a quantidade de goma arábica utilizada no desenvolvimento dos microencapsulados para formar um gel na mesma proporção da goma xantana antes da secagem, fazendo com que o amido depois da secagem fica mais exposto ao meio de dissolução e pela capacidade que ele possui de absorber água, provoca um aumento de volume dos grânulos, originando assim a desintegração rápida (erosão) e

uniforme (HERNANDEZ, MELGOZA, 2014), e é justamente por isso que o amido é usado como agente desintegrante nas formulações de formas farmacêuticas sólidas (comprimidos e cápsulas) com o fim de promover a penetração da umidade, fazendo que a matriz fique dispersa no meio de dissolução, aumentando a superfície de contato entre os microencapsulados e o meio, facilitando a liberação e dissolução dos compostos.

Foi importante a realização dos estudos de dissolução dos microencapsulados F1 e F2 em distintos meios porque através deles pôde-se constatar qual é a cinética de liberação de cada formulação e permitiu saber sobre o que afeta a liberação do extrato e gera uma ideia sobre como seria o comportamento dentro dos compartimentos do corpo.

## 6. CONCLUSÕES

Foi possível encapsular o extrato etanólico da própolis vermelha com as mistura de biopolímeros propostas através da técnica de secagem *spray-drying*.

As análises de caracterização química demonstraram que não houve alterações significativas na qualidade e quantidade dos teores fenólicos e flavonóides totais do extrato etanólico da própolis, após secagem, demonstrando que a mistura de biopolímeros empregados neste trabalho, manteve a integridade dos compostos e o potencial antioxidante não foi reduzido.

As análises térmicas por Termogravimetria, evidenciaram que o material de parede desacelera a degradação termo-oxidativa do extrato de própolis vermelha nos microencapsulados, protegendo ambas formulações e de acordo com às curvas calorimétricas (DSC) houve microencapsulação do extrato em ambos casos.

Os dois tipos de microencapsulados desenvolvidos tiveram diferentes cinéticas de liberação controlada nos diferentes meios testados, onde F1 apresentou uma cinética de liberação controlada de forma escalonada, liberando o 100% dos compostos bioativos do extrato quando terminada as 12 horas do teste em meio tampão 6,8 e F2 apresentou liberação controlada sustentada, liberando um 82% dos compostos em meio tampão no final do estudo.

Por último, foi obtido um produto fitoterapêutico na qual ambas formulações são ideais por apresentarem propriedades funcionais e características adequadas para o uso terapêutico.

## REFERENCIAS

ALENCAR, S.m. et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 113, n. 2, p.278-283, set. 2007.

ALMEIDA, E.: *et al.* Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract. **Journal Of Pharmaceutical Analysis**, [s.l.], v. 7, n. 5, p.1-8, mar. 2017.

ALMEIDA, E.; MENEZES, H. Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. *J. Venom. Anim. Toxins, Botucatu*, v. 8, n. 2, p. 191-212, 2002.

ALVAREZ, L.; ALVAREZ, A. Estilos de vida y alimentación. *Revista Gazeta de Antropología*, n. 25 /1, Artículo 27, 2009.

ALVES, Clayton Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ARTEAGA, A.; ARTEAGA, H. Optimización de la capacidad antioxidante, contenido de antocianinas y capacidad de rehidratación en polvo de arándano (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulado con mezclas de hidrocoloides. **Scientia Agropecuaria**, [S.l.], v. 7, p. 191-200, sep. 2016.

BELLON, S.; CALZADILLA, X. Efectividad del uso del propóleo en el tratamiento de la estomatitis aftosa. *Rev Cubana Estomatol*, Ciudad de La Habana, v. 44, n. 3, sept. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. *Diário Oficial da União* de 23/01/2001, Seção 1, Página 18.

CABRAL, I.: *et al.* Composição fenólica. atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 6, p.1523-1527, 2009.

CALIXTO, J. **Biodiversidade como fonte de medicamentos**. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.

CASTRO, M.; CURY, J.; ROSALEN, P. Própolis do sudeste e nordeste do brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Química Nova*. São Paulo, v. 30, n. 7, p. 1512 – 1516, 2007.

Consulta FAO/OMS de Expertos sobre los Carbohidratos en la Nutrición Humana (1998: Roma, Italia) & World Health Organization. (1999). Los carbohidratos en la nutrición humana: informe de una consulta mixta FAO/OMS de expertos, Roma, 14-18 de abril de 1997. Roma: FAO

DAUGSCH, A.; *et al.* Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 5, n. 4, p.435-441, 2008.

DIPIERRI, J. IMPACTO E INTEGRACIÓN ENTRE LA MEDICINA ALTERNATIVA Y LA CONVENCIONAL. *Cuadernos de la Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales - Universidad Nacional de Jujuy*, n. 22, p. 241-263, Mayo, 2004

DA SILVA, C.; HEINZEN, H. Variaciones en el Perfil de Flavonoides y en la Cantidad de Quercetina Libre en Diferentes Extractos de *Achyrocline satureoides*. *Acta farmacéutica Bonaerense*. V. 25, n. 4, p. 574 – 577, 2006.

DE ALMEIDA, P. Obtenção e Caracterização de Microencapsulados de Caseinatos carregados com Extrato de Própolis Vermelha. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alagoas.

DO NASCIMENTO, T.: *et al.* Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Research Letters**, [s.l.], v. 11, n.1, p.1-16, 17 jun. 2016

DUFFO, G. Materiales y materias primas: Biomateriales, capítulo 8, Guía didáctica, colec. Encuentro INET, Ministerio de Educación-Instituto Nacional de Educación Tecnológica, Buenos Aires, 2011.

FERNANDES, R; BORGES, S; BOTREL, D. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, [s.l.], v. 101, p.524-532, jan. 2014

FRANCO, M. O uso de própolis nas doenças respiratórias e otorrinolaringológicas em crianças. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Atenção Básica em Saúde da Família) - Universidade Federal de Minas Gerais.

FARRÉ, R.; FRASQUET, I.; SÁNCHEZ, A. El própolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*; v. 45, n.1, p. 21-43, 2004.

FERREIRA, S.; *et al.* Microparticles containing propolis and metronidazole: in vitro characterization, release study and antimicrobial activity against periodontal pathogens. **Pharmaceutical Development And Technology**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.173-180, 28 jan. 2013.

GARCIA-CEJA, A.; LÓPEZ-MALO, A. Biopolímeros utilizados en la encapsulación. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, v. 6, n. 1, p. 84-97, 2012.

GOMEZ, S. Medida de los fenoles totales y de la capacidad antioxidante y antirradicalaria de los hongos comestibles *Marasmius orandes*, *Lactarius deliciosus* y *Macrolepiota procera* y su degradación a diferentes tiempos y temperaturas. 2014. Disertación (MÁSTER DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD) – Universidad DE Valladolid.

HERNANDEZ-LEON, A.; FERNÁNDEZ-GUASTI, A.; GONZÁLEZ-TRUJANO, R. antinociception involves opioidergic mechanism and descending modulation of ventrolateral periaqueductal grey matter in rats. *European Journal of Pain*, v. 20, n.2, p. 274–283, April 2015.

HERNANDEZ, J.; MELGOZA, L. Principales superdisgregantes sintéticos, mecanismos y factores que influyen en su actividad. *Revista colombiana ciencias químico-farmacéutico*, Bogotá, v. 43, n. 2, p. 234-247, Dec. 2014

INUI, S.; *et al.* Identification of the phenolic compounds contributing to antibacterial activity in ethanol extracts of Brazilian red propolis. **Natural Product Research**, [s.l.], v. 28, n. 16, p.1293-1296, 2014.

KUSKOSKI, E. *et al.* Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, Dec. 2005.

LEDÓN, N.; *et al.* Antipsoriatic, anti-inflammatory, and analgesic effects of an extract of red propolis. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 18, n. 3, p. 274-276, 1997.

LOPERA, C; SENEIDA, M; *et al.* Desarrollo y caracterización de micropartículas de ácido fólico formadas por secado por aspersión, utilizando goma arábiga y maltodextrina como materiales de pared. *Vitae*, Medellín, v. 16, n. 1, p. 55-65, 2009.

LUSTOSA, S. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. Rev. bras. farmacogn, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 447-454, Setembro, 2008.

MARFIL, P. Microencapsulação de óleo de palma por coacervação complexa em matrizes de gelatina/goma arábica e gelatina/alginato. 2014. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista.

MARTÍNEZ, H. F.; REVILLA, G. O.; VELÁZQUEZ, T. G. Optimal Spray-Drier Encapsulation Process of Orange Oil. Proceedings of the 14th International Drying Symposium. vol. A, p.621-627, 2004.

DE MENDONÇA, Izabel Cristina Gomes de et al. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.1-12, 2015.

MENESES, J; CORRALES, C; VALENCIA, M. síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. Rev. EIA. Esc.Ing.Antioq, Envigado, n. 8, p. 57-67, 2007.

MUÑOZ, A.; et al. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN RECURSOS VEGETALES PROMISORIOS. Revista Sociedad Química del Perú, Lima, v. 73, n. 3, p.142-149.

NOGALES-GAETE, Jorge. Medicina alternativa y complementaria. Rev. chil. Neuro-psiquiatría, Santiago, v. 42, n. 4, p. 243-250, octubre, 2004.

NORI, M.; et al. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. Food Science and Technology: LWT; v. 44, n. 2, p. 429-435, 2011.

OLIVEIRA, K.; et al. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, [s.l.], v. 33, n. 2, p. 211-222, 19 março 2013.

ODA, J.; et al. Ação do extrato de própolis na Leishmaniose. Semina: Ciências biológicas e da saúde, Londrina, v. 32, n.1, p. 111-121, junho 2011.

Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023, 2013. Organización Mundial de la Salud. Disponível em: <<http://www.who.int/iris/handle/10665/95008>> Acesso em: 05 de Nov. 2016.

PALOMINO, L. et al. Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleo en el municipio de la unión (Antioquia, Colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, v. 63, n. 1, p. 5373-5383, 2010.

PALMA, H. M. Caracterización de Almidones de diferentes Fuentes tratados con Ácido para la Encapsulación de Vitamina C. 2012. Tese (Doctorado en Ciencias en Desarrollo de Productor Bióticos) – Instituto Politécnico.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. & ALCICI, N.M.F. 1988. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.183, p. 13–318, 1998.

PEREZ, G. Los Flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. *Revista cubana Investigaciones biomédicas. Victoria de Girón*, v 22, n. 1, p. 48-57, 2003

PEREIRA, D.; *et al.* Histórico e principais usos da própolis apícola. *Agropecuária Científica No Semi-Árido*, v.11, n.2, p.1–21, 2015.

RANGEL, J.; *et al.* Evaluación de la antinociceptiva entre rutina y naproxeno utilizando análisis isoblográfico. *Revista Jóvenes en la ciencia*, v. 2, n. 1, p. 334 – 338, enero 2016.

RATES, S. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

Ravichandran, K.; *et al.* “Effects of Different Encapsulation Agents and Drying Process on Stability of Betalains Extract.” *Journal of Food Science and Technology*, v. 51, n. 9, p. 2216–2221, 2014.

REINAS, A.; *et al.* Preparation and characterization of microcapsules of *Pterodon pubescens* Benth. by using natural polymers. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 50, n. 4, p. 919-930, 2014.

RIGHI, A. A. Perfil químico de amostras de própolis brasileira. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Botânica), Universidade de São Paulo.

ROJAS, M.; VALLEJO, B.; PERILLA, J. Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico. *Ing. Investig.* Bogotá, v. 28, n. 1, p. 57-71, 2008.

Rowe, Raimond C., Sheskey, Paul J., Quinn, Marian E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6. ed. Great Britain: Pharmaceutical Press, 2009.

RUTZ, J.; et al. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 98, n. 2, p.1256-1265, November, 2013.

SALAMANCA, G.; CORREA, I.; PRINCIPAL, J. Perfil de Flavonoides e índices de oxidação de alguns propóleos colombianos. *Zootecnia trop*, Tolima, v. 25, n. 2, p. 95 – 102, 2007.

SALES, B.A. Produção de Sucedâneos de Cereais de Pequeno-Almoço ricos em compostos bioativos a partir de subprodutos da indústria agro-alimentar. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Alimentar). Universidade Técnica de Lisboa.

SEBRAE. O mercado da própolis, 2014. Disponível em: [http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS\\_CHRONUS/bds/bds.nsf/cd/b856e1dedd81e245438b6ba5ea2c4f/\\$File/4612.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/cd/b856e1dedd81e245438b6ba5ea2c4f/$File/4612.pdf)> Acesso em: 05 de Nov. 2016

SAYED, E.; ASHRYA, E.; AHMADB, T. The use of propolis as vaccine's adjuvant. Elsevier, Alexandria, v. 31, n. 14, p. 31-39, 2012.

SEVERINO, Patrícia et al. Polímeros usados como sistemas de transporte de princípios ativos. *Polímeros*, São Carlos, v. 21, n. 5, p. 361-368, 2011.

SFORCIN, J.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal Of Ethnopharmacology*, [s.l.], v. 133, n. 2, p.253-260, jan. 2011.

SILVA, V. Desenvolvimento de cápsulas de microencapsulados da própolis vermelha obtidas por secagem em spray-drying. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso.

SILVERSTEIN, R.; WEBSTER, F.; KIEMLE, D. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7 edição. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SIMOES, V, et al. Síntese, caracterização e estudo das propriedades de um novo complexo mononuclear contendo quercetina e íon Ga (III). *Quím. Nova*, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 495-501, 2013.

TALUKDAR, M. Swelling and drug release behaviour of xanthan gum matrix

tablets. **International Journal Of Pharmaceutics**, Leuven, v. 120, n. 1, p.63-72, 1995.

TEIJÓN, J.; *et al.* Bioquímica Estructural. 2. ed. Madrid: TEBAR, 2004.

VERGARA, R. Biopolímeros: Futuro y oportunidad para el tercer mundo. Revista virtual Pro, v.1, n. 33, p. 1-14, 2004.

WOISKY, G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal of Apicultural Research, São Paulo, SP. v. 37, n. 2, p. 99–105, 1998.

WHO Guidelines on Good Manufacturing Practices (GMP) for Herbal Medicines. Editorial de la OMS. Francia, 2007.

Zara, J.; *et al.* Empleo de la Espectroscopia Infrarroja (FT-IR-ATR) como herramienta para la caracterización del bagazo de caña proveniente de la Sierra Falconiana". *Química Viva*, v. 16, n. 3, p. 17-24, 2017.

ZOKTI, A; *et al.* Microencapsulation of Green tea Extracts and its Effects on the Physico-Chemical and Functional Properties of Mango Drinks. International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS, v. 16, n. 2, p. 16-32, 2016.