



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - PPGCF

INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – ICF

SAULO VITOR SILVA

**ESTUDO DE COMPATIBILIDADE E ESTABILIDADE TÉRMICA DA PRÓPOLIS
VERMELHA ASSOCIADA A DIFERENTES EXCIPIENTES NA OBTENÇÃO DE
MEMBRANAS POLIMÉRICAS**

Maceió/AL

2023

SAULO VITOR SILVA

**ESTUDO DE COMPATIBILIDADE E ESTABILIDADE TÉRMICA DA PRÓPOLIS
VERMELHA ASSOCIADA A DIFERENTES EXCIPIENTES NA OBTENÇÃO DE
MEMBRANAS POLIMÉRICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Irinaldo Diniz
Basílio Júnior

Maceió/AL

2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586e Silva, Saulo Vitor.
Estudo de compatibilidade e estabilidade térmica da própolis vermelha associada a diferentes excipientes na obtenção de membranas poliméricas / Saulo Vitor Silva. – 2023.
112 f. : il. color.

Orientador: Irinaldo Diniz Basílio Júnior.
Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 101-112.

1. Própole. 2. Membranas (Biologia). 3. Análise Térmica. 4. Antioxidantes. I. Título.

CDU: 615.2:638.135

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelo seu amor infinito e sua bondade que tem derramado sobre mim. Pela saúde, pela família que me abençoou. Por Ele se fazer tão presente na minha vida.

Agradeço aos meus pais, José Cícero e Idalina, pelo amor e cuidado.

Agradeço ao meu amigo Allef por ser mais chegado que um irmão.

Agradeço aos meus amigos de graduação pela amizade que se continuou após o curso.

Agradeço aos meus colegas de laboratório pelos ensinamentos.

Agradeço ao professor Doutor Irinaldo pelo acolhimento em seu laboratório, ensinamento e confiança.

Agradeço também ao Plínio pelo incentivo.

Agradeço ao IBGE e todos os meus amigos de trabalho pelo acolhimento, que não foi citar nomes para não esquecer de algum.

Dedicatória

*“Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu”*

Fernando Pessoa

RESUMO

A própolis vermelha de Alagoas é uma resina pegajosa feita por uma mistura complexa de substâncias biologicamente ativas com grande potencial biotecnológico. Diversos estudos apontaram que extratos de própolis vermelha têm uma ampla variedade de atividades biológicas como antioxidante. Os ensaios de compatibilidade fármaco-excipiente é uma das fases mais fundamentais no processo de pesquisa de pré-formulação. O objetivo desta pesquisa é avaliar compatibilidade e estabilidade térmica da própolis vermelha associada a diferentes excipientes na obtenção de membranas poliméricas. O extrato etanólico de própolis vermelha foi obtido por maceração. Foram realizados ensaios de quantificação do teor de compostos fenólicos, pelo método do reagente de Folin-Ciocalteu, e de flavonoides, pelo método com cloreto de alumínio, do EEPV. Foi realizada a investigação da atividade antioxidante do Extrato Etanólico de Própolis Vermelha (EEPV) pelo método DPPH. Foram elaboradas as membranas sintéticas pelo método de evaporação do solvente. E foram analisadas as propriedades físico-químicas de estabilidade térmica das membranas, dos componentes, e das misturas binárias por Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Calorimétrica de Varredura Diferencial (DSC). Foi avaliado que o teor de compostos fenólicos totais foi de 208,0 mg EAG.g⁻¹, e o teor de flavonoides totais foi de 45,3 mg EAG.g⁻¹. A análise das atividades antioxidantes do EEPV pelo método DPPH variaram entre 59,36% e 88,31%. O perfil térmico obtido pelo TGA do EEPV apresentou 4 eventos de degradação térmica, nenhum foi sobreposto. As análises térmicas de termogravimetria (TGA) mostraram o benzoato de sódio como o excipiente mais estável. Na segunda curva houve a decomposição do benzoato de sódio, formando Na₂CO₃ sólido, e H₂ e CO gasosos. O propilenoglicol foi o excipiente menos estável e sua degradação na atmosfera de N₂ é explicada por um processo de desidratação que é a formação de propionaldeído e de acetona por meio da formação do óxido de propileno intermediário. A membrana MX1 foi a mais termicamente estável devido à grande quantidade de pectina cítrica, grande quantidade de benzoato de sódio e baixa quantidade de propilenoglicol. A membrana MX2 apresenta estabilidade térmica intermediária, pois tem baixa quantidade de pectina cítrica e baixa quantidade de sorbitol e quantidade intermediária de benzoato de sódio. A membrana MX3 foi a membrana com menor estabilidade térmica devido à grande quantidade de sorbitol, quantidade intermediária de propilenoglicol. Assim, o extrato etanólico própolis vermelha apresentou uma boa estabilidade térmica. E, dentre os excipientes, o benzoato de sódio foi o mais termicamente estável. Em contrapartida, o propilenoglicol foi o excipiente com menor estabilidade térmica. E todos os excipientes mostraram-se compatíveis com o extrato etanólico própolis vermelha. Todas as membranas foram obtidas com êxito, porém as análises termogravimétricas (TGA) determinaram que a MX1 tem uma melhor estabilidade térmica.

Palavras-chave: Própolis vermelha, Membrana, Análise Térmica, Atividade Antioxidante, Compatibilidade.

ABSTRACT

Red propolis from Alagoas is a sticky resin made from a complex mixture of biologically active substances with great biotechnological potential. Several studies have shown that red propolis extracts have a wide variety of biological activities as an antioxidant. Drug-excipient compatibility testing is one of the most fundamental phases in the pre-formulation research process. The objective of this research is to evaluate compatibility and thermal stability of red propolis associated with different excipients in obtaining polymeric membranes. The ethanolic extract of red propolis was obtained by maceration. Assays were carried out to quantify the content of phenolic compounds, using the Folin-Ciocalteu reagent method, and flavonoids, using the aluminum chloride method of the EEPV. The investigation of the antioxidant activity of Red Propolis Ethanol Extract (EEPV) was carried out by the DPPH method. Synthetic membranes were prepared using the solvent evaporation method. And the physical-chemical properties of thermal stability of membranes, components, and binary mixtures were analyzed by Thermogravimetric Analysis (TGA) and Differential Scanning Calorimetric Analysis (DSC). It was estimated that the content of total phenolic compounds was 208.0 mg EAG.g⁻¹, and the content of total flavonoids was 45.3 mg EAG.g⁻¹. The analysis of the antioxidant activities of EEPV by the DPPH method varied between 59.36% and 88.31%. The thermal profile obtained by the EEPV TGA showed 4 thermal degradation events, none of which were superimposed. Thermogravimetric thermal analyzes (TGA) showed sodium benzoate as the most stable excipient. In the second curve there was the decomposition of sodium benzoate, forming solid Na₂CO₃, and gaseous H₂ and CO. Propylene glycol was the least stable excipient and its degradation in the N₂ atmosphere is explained by a dehydration process that is the formation of propionaldehyde and acetone through the formation of the intermediate propylene oxide. The MX1 membrane was the most thermally stable due to the high amount of citrus pectin, high amount of sodium benzoate and low amount of propylene glycol. The MX2 membrane has intermediate thermal stability, as it has a low amount of citrus pectin and a low amount of sorbitol and an intermediate amount of sodium benzoate. The MX3 membrane was the membrane with the lowest thermal stability due to the large amount of sorbitol, intermediate amount of propylene glycol. Thus, the red propolis ethanolic extract showed good thermal stability. And, among the excipients, sodium benzoate was the most thermally stable. In contrast, propylene glycol was the excipient with the lowest thermal stability. And all excipients were compatible with red propolis ethanolic extract. All membranes were successfully obtained, however thermogravimetric analyzes (TGA) determined that MX1 has better thermal stability.

Keyword: Red propolis, Film, Thermal Analysis, Antioxidant activity, Compatibility.

LISTA DE ABREVIações E TERMOS

% Δ m	Variação de massa
ΔH_m	Entalpia de Fusão
CV	Coeficiente de Variação
DPPH	(1,1-difenil-2,2-picrilhidrazila)
DrTGA	Derivada da Análise Termogravimétrica
DSC	Calorimetria de Varredura Diferencial
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
EEPv	Extrato Etanólico de Própolis Vermelha
Endset	Final da Reação Térmica
NaCMC	Carboximetilcelulose de sódio
Onset	Início da Reação Térmica
PEG	Propilenoglicol
SD	Desvio Padrão
T _g	Temperatura de Transição Vítrea
TGA	Análise Termogravimétrica
T _m	Temperatura de Fusão

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alguns tipos de própolis com origem botânica conhecida e localização mundial correspondente.....	19
Figura 2. Abelha da espécie <i>Apis mellífera</i> coletando o exsudato resinoso da planta <i>Dalbergia ecastophyllum</i> (L) Taub.....	21
Figura 3. Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração.....	24
Figura 4. Estrutura química de formononetina, vestitol, neovestitol, biochanina A, quercetina, liquiritigenina, isoliquiritigenina e daidzeína.....	27
Figura 5. Fatores que afetam a compatibilidade fármaco-excipientes.....	38
Figura 6. Decomposição térmica do oxalato de cálcio mono hidratado ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$). TGA (em preto) e DrTGA (em azul).....	46
Figura 7. Termobalança.....	47
Figura 8. Localizações típicas do termopares: a) em cima lateralmente, b) embaixo, c) em cima, e d) em baixo e em contato com o cadinho.....	48
Figura 9. Modo de ensaios da TGA.....	49
Figura 10. Cadinhos de diferentes marcas, modelos e materiais.....	50
Figura 11. Decomposição do tiocianato de potássio (KSCN) com cadinho de platina e de cerâmica.....	54
Figura 12. Influência da taxa de aquecimento sobre a decomposição térmica de uma amostra.....	56
Figura 13. Influência da taxa de aquecimento sobre uma amostra.....	56
Figura 14. Condutibilidade térmica do gás de purga. Decomposição do CaCO_3 em atmosfera de hélio, de nitrogênio e de argônio.....	57

Figura 15. Principais tipos de traçados no TGA.....	58
Figura 16. Esquema dos componentes do equipamento de DSC.....	60
Figura 17. Tipos de DSC. DSC com compensação de potência (a) e DSC com fluxo de calor (b).....	61
Figura 18. Curvas genéricas de eventos endotérmicos e exotérmicos.....	62
Figura 19. Curva genérica de eventos térmicos típicos em uma curva DSC.....	63
Figura 20. Degradação pirolítica da pectina cítrica.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico.....	23
Tabela 2. Classes de flavonóides e algumas características mais importantes.....	25
Tabela 3. Resultados encontrados na busca de “red propolis” em 7 bancos de dados.....	29
Tabela 4. Resultados encontrados na busca de “drug-excipient compatibility” em 4 bancos de dados.....	30
Tabela 5. Resultados encontrados na busca de “compatibility” em 25 bancos de dados.....	31
Tabela 6. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND drug-excipient compatibility” em 1 banco de dados.....	32
Tabela 7. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND compatibility” em 4 bancos de dados.....	33
Tabela 8. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND drug-excipient compatibility AND thermal analysis” em 1 banco de dados.....	35
Tabela 9. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND compatibility AND thermal analysis” em 3 bancos de dados.....	35
Tabela 10. Prováveis reações entre amostra e material do cadinho (parte 1).....	51
Tabela 11. Prováveis reações entre amostra e material do cadinho (parte 2).....	52
Tabela 12. Prováveis reações entre amostra e material do cadinho (parte 3).....	53
Tabela 13. Formulações das membranas MX1, MX2 e MX3.....	67
Tabela 14. Teores totais dos compostos fenólicos e de flavonoides em amostras de extrato etanólico da própolis vermelha (EPPV).....	72

Tabela 15. Avaliação da atividade antioxidante do EEPV (% inibição do radical DPPH).....	73
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Cromatogramas de HPLC do extrato etanólico de própolis vermelha.....	26
Gráfico 2. Resultado da pesquisa por “red propolis” por ano.....	29
Gráfico 3. Resultado da pesquisa por “drug-excipient compatibility” por ano.....	30
Gráfico 4. Resultado da pesquisa por “compatibility” por ano.....	31
Gráfico 5. Resultado da pesquisa por “red propolis AND compatibility” por ano.....	33
Gráfico 6. TGA e DrTGA da decomposição controlada do EEPV.....	74
Gráfico 7. TGA da decomposição dos componentes das membranas.....	74
Gráfico 8. Curva de DSC do EEPV.....	76
Gráfico 9. Perfil de degradação térmica do benzoato de sódio em TGA.....	77
Gráfico 10. Curva de DSC do benzoato de sódio.....	78
Gráfico 11. Curva de DSC da mistura binária EEPV + benzoato de sódio.....	79
Gráfico 12. Comparação das curva de DSC do EEPV, do benzoato de sódio e da mistura binária EEPV + benzoato de sódio.....	79
Gráfico 13. Perfil de degradação térmica do propilenoglicol em TGA.....	80
Gráfico 14. Curva de DSC do propilenoglicol.....	81
Gráfico 15. Curva de DSC da mistura binária EEPV + propilenoglicol.....	82
Gráfico 16. Comparação das curva de DSC do EEPV, do propilenoglicol e da mistura binária EEPV + propilenoglicol.....	82
Gráfico 17. Perfil de degradação térmica da pectina cítrica em TGA.....	83
Gráfico 18. Curva de DSC da pectina cítrica.....	85

Gráfico 19. Curva de DSC da mistura binária EEPV + pectina cítrica.....	86
Gráfico 20. Comparação das curva de DSC do EEPV, da pectina cítrica e da mistura binária EEPV + pectina cítrica.....	86
Gráfico 21. Perfil de degradação térmica do NaCMC em TGA.....	87
Gráfico 22. Curva de DSC do carboximetilcelulose de sódio 3000 (NaCMC).....	88
Gráfico 23. Curva de DSC da mistura binária EEPV + NaCMC.....	89
Gráfico 24. Comparação das curva de DSC do EEPV, do NaCMC e da mistura binária EEPV + NaCMC.....	89
Gráfico 25. Perfil de degradação térmica do sorbitol em TGA.....	90
Gráfico 26. Curva de DSC do sorbitol.....	91
Gráfico 27. Curva de DSC da mistura binária EEPV + sorbitol.....	92
Gráfico 28. Comparação das curva de DSC do EEPV, do sorbitol e da mistura binária EEPV + sorbitol.....	92
Gráfico 29. TGA da decomposição das membranas.....	93
Gráfico 30. TGA e DrTGA da MX1.....	96
Gráfico 31. TGA e DrTGA da MX2.....	97
Gráfico 32. TGA e DrTGA da MX3.....	97
Gráfico 33. Decomposição controlada por DSC do EEPV, MX1, MX2 e MX3.....	98

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Própolis	19
2.2 Própolis Vermelha	21
2.3 Fenóis e Flavonoides presentes na Própolis Vermelha	23
2.4 Atividade Antioxidante	28
2.5 Estado da Arte	29
2.6 A Importância de Estudos de Pré-Formulação	37
2.7 Estudo de Compatibilidade e Estabilidade entre Fármaco-Excipiente	40
2.8 Técnicas de Análise Térmicas Empregadas nos Estudos de Estabilidade e Compatibilidade	43
2.8.1 Análise Termogravimétrica – TGA	46
2.8.2 Calorimetria de Varredura Diferencial – DSC	61
3. OBJETIVOS	65
3.1 Objetivo Geral	65
3.2 Objetivos Específicos	65
4. METODOLOGIA	66
4.1 Coleta da Própolis e Obtenção do Extrato Etanólico da Própolis Vermelha (EEPV)	66
4.2 Materiais	66
4.3 Obtenção das Misturas Binárias	66
4.4 Obtenção das Membranas	67
4.5 Produção das Membranas Poliméricas	67
4.6 Teor de Fenóis Totais	68
4.7 Teor de Flavonoides Totais	69
4.8 Avaliação da Atividade Antioxidante	70
4.9 Análise Termogravimétrica (TGA)	70
4.10 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)	71
4.11 Análises Estatísticas	71
5. RESULTADOS E DISCURSÕES	72
5.1 Aspectos das Misturas Binárias	72
5.2 Aspectos físicos macroscópicos das membranas	72

5.3	Teor de Fenóis Totais e de Flavonoides Totais	72
5.4	Avaliação da Atividade Antioxidante - DPPH•	73
5.5	Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) 75	
5.5.1	Perfil Térmico do EEPV	76
5.5.2	Perfil Térmico do Benzoato de Sódio	77
5.5.3	Perfil Térmico do Propilenoglicol	81
5.5.4	Perfil Térmico da Pectina Cítrica.....	84
5.5.5	Perfil Térmico do NaCMC	87
5.5.6	Perfil Térmico do Sorbitol	91
5.5.7	Perfil Térmico das Membranas	94
6.	CONCLUSÃO	100
7.	REFERÊNCIAS	101

1. INTRODUÇÃO

A própolis vermelha de Alagoas é uma resina pegajosa feita por uma mistura complexa de substâncias biologicamente ativas. A própolis vermelha é encontrada na região litorânea, no bioma de Mata Atlântica, do nordeste brasileiro. A composição química desta própolis está diretamente relacionada com as substâncias da sua origem vegetal, *Dalbergia ecastaphyllum* (L) Taub (RIGHI, 2011). A própolis vermelha é hoje o segundo tipo de própolis mais produzido e vendido, sendo produzido principalmente no litoral do estado de Alagoas (nordeste do Brasil) (SALATINO, 2018). A presença de atividade biológica na própolis vermelha se dá, majoritariamente, devido a presença de isoflavonas, que atuam em sinergia com os demais compostos químicos (RUFFATO et al., 2018; NANI, 2018).

Inúmeros estudos apontaram que extratos de própolis vermelha tem uma ampla variedade de atividades biológicas como: antioxidante (ALENCAR *et al.*, 2007), antimicrobiano (MACHADO *et al.*, 2016), antitumoral (AWALE *et al.*, 2008), anti-inflamatório (BUENO-SILVA *et al.*, 2013), antiparasitário (NASCIMENTO *et al.*, 2016). A própolis vermelha é atualmente reconhecida como a própolis mais promissora devido ao seu potencial biotecnológico. Os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, têm sido considerados os principais constituintes biologicamente ativos dessa resina, juntamente com os derivados do ácido cinâmico, ésteres e alguns terpenos (RUFFATO et al., 2018).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos está relacionada com a sua capacidade de doar elétrons para espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio (RIGHI *et al.*, 2011). O DPPH é um método que avalia a atividade antioxidante de uma determinada substância em reduzir o radical livre DPPH (1,1-difenil-2,2-picrilhidrazila) (SALES, 2012).

Durante as fases de desenvolvimento de novos medicamentos, os ensaios pré-clínicos têm a possibilidade de agregar o maior número de conhecimento a respeito do comportamento físico-químico dos novos derivados. Assim, esse conjunto de informações permite a escolha de uma formulação mais segura e eficaz (MAXIMIANO *et al.*, 2010). Esses estudos permitem que a preferência na escolha dos excipientes seja feita apoiada em propriedades como compatibilidade,

estabilidade e biodisponibilidade. Pois os adjuvantes têm a característica de aumentar ou diminuir a estabilidade e biodisponibilidade, influenciando assim na meia-vida terapêutica do produto final (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010).

Os ensaios de compatibilidade fármaco-excipiente é uma das fases mais fundamentais no processo de pesquisa de pré-formulação (TITA et al., 2011a, LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001). Esse estudo é necessário para garantir a qualidade, segurança e desenvolvimento de uma formulação de um medicamento (LILTROP et al., 2011).

As análises térmicas vêm sendo aplicadas na área farmacêutica como um importante meio para investigar as possíveis interações dos fármacos com os excipientes em pesquisas de compatibilidade na pré-formulação (RODANTE et al., 2001). Em estudos de pré-formulação, essas técnicas são bastantes importantes para a formação de diagramas de fases e ensaios de interação fármaco-excipiente. Como também examina a existência de polimorfismo, compostos de inclusão e dispersões sólidas, determinação de pureza química, estudos de reações no estado sólido, análise de formas farmacêuticas sólidas e controle de qualidade (NASSAR, et al., 2006). A caracterização da estabilidade dos princípios ativos e das suas possíveis interações físicas e químicas engloba a pesquisa de compatibilidade fármaco-excipiente que podem influenciar a natureza química, a estabilidade, e biodisponibilidade de drogas e, conseqüentemente, a sua eficácia terapêutica e de segurança (MENDONÇA et al., 2013).

A membrana polimérica com própolis vermelha pode ter possibilidades de aplicação como: membrana para revestir alimentos, cicatrização de feridas, sistema de liberação transdermal de própolis vermelha. Diante do exposto, esta pesquisa tem o objetivo de avaliar compatibilidade e estabilidade térmica da própolis vermelha associada a diferentes excipientes na obtenção de membranas poliméricas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Própolis

A própolis é uma resina pegajosa feita por uma mistura complexa de substâncias biologicamente ativas. A própolis é elaborada por abelhas da espécie *Apis mellifera* com exsudatos e resinas coletadas de várias partes das plantas (por exemplo: brotos e galhos), misturadas com cera de abelha e enzimas salivares da própria abelha (β -glicosidase, amilase, maltase, esterase, etc.). A palavra própolis vem do grego antigo, em que $\pi\rho\omicron$ - (pro-, “na frente de/para”, “em defesa de”) + $\pi\acute{o}\lambda\iota\varsigma$ (pólis, “cidade”), faz referência ao fundamental papel que este produto natural tem na proteção da colônia das abelhas. Uma vez que é utilizado pelas abelhas como material de construção para forrar a colmeia; vedar pequenas rupturas e rachaduras, mantendo a temperatura e a umidade da colmeia estável; e fortalecer o favo de mel. Também é necessário citar que a própolis é utilizada para proteger a colmeia contra parasitas e predadores, evitando assim infecções e crescimento microbiano, e mumifica intrusos mortos que as abelhas não conseguem eliminar, impedindo dessa forma a putrefação. A própolis também é capaz de defender a colmeia de micro-organismos como vírus, bactérias e fungos (RIVERA-YAÑEZ *et al.*, 2020; MAGNAVACCA *et al.*, 2022).

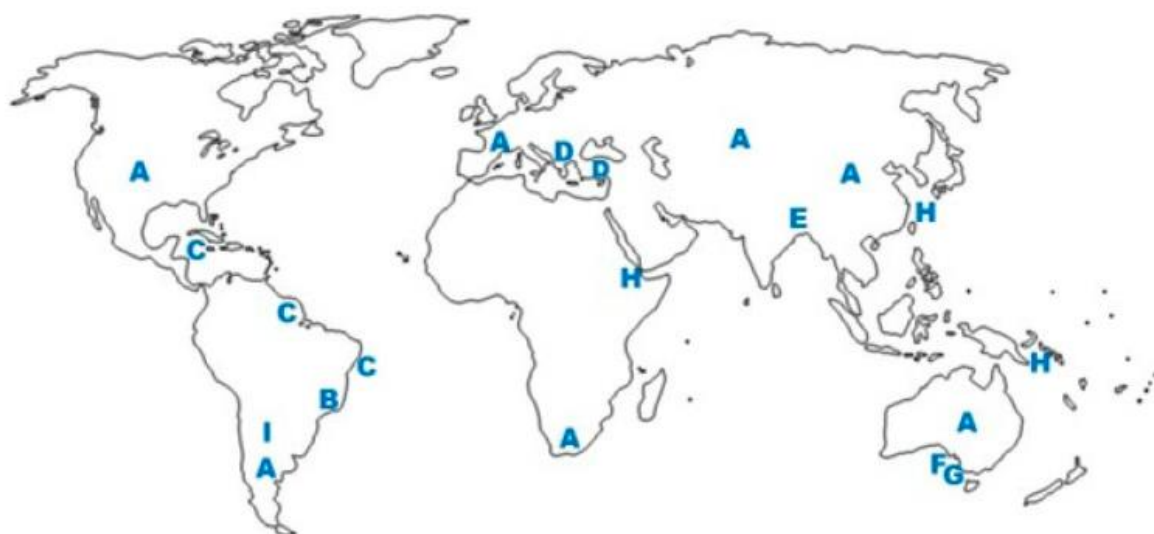
A composição da própolis é altamente mutável, pois está sujeita a influência de inúmeros fatores como: a localização geográfica das colmeias, estação do ano e características da vegetação que a abelha extrai exsudatos e ceras. Essa diversidade representa um desafio para padronização e controle de qualidade da própolis. Mesmo assim, geralmente a própolis se apresenta como uma mistura lipofílica pegajosa constituída por aproximadamente 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleo essencial, 5% de pólen e 5% de outras substâncias, incluindo uma diversidade de minerais (cálcio, cobre, iodo, ferro, magnésio, manganês, potássio, sódio e zinco), vitaminas (B1, B2, B6, C, E, D e provitamina A), poli e oligossacarídeos e compostos fenólicos (ou seja, flavonoides, ácidos aromáticos e ésteres, etc.) (SALATINO, 2022; MAGNAVACCA *et al.*, 2022).

Povos da antiguidade como gregos, romanos, egípcios, chineses, indianos e árabes foram pioneiros quando se trata da utilização da própolis de forma média

para aplicações na cicatrização de feridas e como substância desinfetante, e estima-se que a própolis seja usada desde 300 aC. A diminuição do uso medicinal da própolis ocorreu no último século, devido ao aumento do surgimento de drogas na forma pura (sintética ou natural) para a produção industrial de medicamentos. Os usos terapêuticos da própolis sobreviveram no século passado nos países balcânicos e nas clínicas soviéticas, incluindo o tratamento da tuberculose. Depois da Segunda Guerra Mundial, surgiu um novo interesse medicinal pelos recursos naturais nos países ocidentais. Atualmente, se tem um grande número de estudos publicados afirmando as inúmeras aplicações da própolis no tratamento de várias doenças devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitárias, antivirais, antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais, imunomoduladoras, entre outras (RIVERA-YAÑEZ *et al.*, 2020; WAGH, 2013).

A própolis se divide em vários tipos (figura 1) devido a sua origem geográfica, a vegetação de origem, e os seus componentes químicos.

Figura 1. Alguns tipos de própolis com origem botânica conhecida e localização mundial correspondente. **A:** própolis temperada, derivada da espécie *Populus*; **B:** própolis verde do sudeste do Brasil, derivada de *Baccharis dracunculifolia*; **C:** própolis vermelha do litoral do nordeste do Brasil, derivada de *Dalbergia ecastaphyllum*; **D:** própolis mediterrânea, derivada de coníferas e outras espécies vegetais; **E:** Própolis nepalesa, derivada de *Dalbergia sp.*; **F, G:** tipos de própolis das Ilhas Kangaroo, derivados de *Leptosperma sp.* e *Acacia paradoxa*; **H:** própolis Okinawa, Taiwan, Quênia e Ilhas Salomão, derivada de *Macaranga spp.*; **I:** própolis argentina, derivada da *Zuccagnia punctata*.



Fonte: SALATINO, 2022.

2.2 Própolis Vermelha

A própolis vermelha de Alagoas é encontrada na região litorânea, no bioma de Mata Atlântica, do nordeste brasileiro. A composição química desta própolis é diferente das demais e está diretamente relacionada com as substâncias da sua origem vegetal (figura 2), *Dalbergia ecastaphyllum* (L) Taub (RIGHI, 2011). A própolis vermelha é hoje o segundo tipo de própolis mais produzido e vendido, sendo produzido principalmente no litoral do estado de Alagoas (nordeste do Brasil) (SALATINO, 2018). A presença de atividade biológica na própolis vermelha se dá, majoritariamente, devido a presença de isoflavonas, que atuam em sinergia com os demais compostos químicos. A formononetina é a principal isoflavona que se faz presente nas amostras de própolis vermelha (NEVES *et al.*, 2016; RIBEIRO, 2015). Também foram indicados outros componentes em frações e extratos de própolis vermelha de Alagoas, como vestitol, neovestitol, biochanin A e liquiritigenina, também são considerados importantes marcadores e têm sido associados a diferentes efeitos biológicos (RUFFATO *et al.*, 2018; NANI, 2018).

Figura 2. Abelha da espécie *Apis mellífera* coletando o exsudato resinoso da planta *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub.



Fonte: <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/110/artigo5.htm>.

Várias pesquisas apontaram que extratos de própolis vermelha tem uma ampla variedade de atividades biológicas como: antioxidante (ALENCAR *et al.*, 2007), antimicrobiano (MACHADO *et al.*, 2016), antitumoral (AWALE *et al.*, 2008), anti-inflamatório (BUENO-SILVA *et al.*, 2013), antiparasitário (NASCIMENTO *et al.*, 2016). A própolis vermelha é atualmente reconhecida como a própolis mais promissora devido ao seu potencial biotecnológico. Os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, têm sido considerados os principais constituintes biologicamente ativos dessa resina, juntamente com os derivados do ácido cinâmico, ésteres e alguns terpenos (RUFFATO *et al.*, 2018).

As substâncias químicas presentes na própolis são responsáveis pela sua atividade biológica. E essas atividades vão mudar em cada tipo de própolis devido às variáveis na obtenção da própolis como sua origem geográfica, origem botânica, raça das abelhas, época de amostragem e condições climáticas da região (RISTIVOJEVIĆ *et al.*, 2018). Várias publicações analisaram a influência dos diferentes fatores na composição química da própolis (ANĐELKOVIĆ *et al.*, 2017). Entretanto, são poucos os estudos disponíveis que fazem a comparação de diferentes amostras de própolis vermelha colhidas em diferentes regiões do Brasil em relação a composição e atividade antioxidante, e atividade citotóxica contra

diferentes linhagens de células tumorais. Ensaio avaliando as atividades biológicas da própolis vermelha realizados apontaram diferenças na capacidade antimicrobiana e antitumoral, capacidade antioxidante e antiparasitária, hipertensão e capacidade de atenuação de danos renais, respectivamente, para amostras obtidas de diferentes fontes ((MACHADO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017; TELES *et al.*, 2015). Regueira-Neto *et al.* (2017) investigaram o efeito da sazonalidade na atividade antibacteriana e na composição química de uma amostra de própolis vermelha brasileira e encontraram uma diferença importante nas concentrações dos compostos investigados e, devido a isso, na atividade antibacteriana dos extratos de acordo com o período de amostragem (estação seca vs. estação chuvosa).

O extrato de própolis vermelha pode ser obtido a partir de diversos métodos de extração e inúmeros solventes, porém o solvente mais habitualmente usado é o álcool etílico (CAO *et al.*, 2017). OS extratos etanólicos de própolis vermelha são mais usados pela comunidade acadêmica por causa do seu conteúdo em ácidos fenólicos e flavonoides (DARENDELIOGLU *et al.*, 2016). Diversas pesquisas mostram diferentes composições químicas e atividades biológicas para extratos de própolis dependendo do método de extração utilizado, demonstrando assim que as condições de extração, bem como o solvente de extração utilizado, influenciam diretamente no rendimento e na seletividade de alguns compostos (BISCAIA, 2019) e, dessa forma, altera o potencial biotecnológico do extrato da própolis vermelha.

2.3 Fenóis e Flavonoides presentes na Própolis Vermelha

Os compostos fenólicos fazem parte de uma classe de substâncias com uma grande diversidade de estruturas simples e estruturas complexas. Os fenóis têm ao menos um anel aromático que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Em relação à classificação, os compostos fenólicos podem ser divididos de acordo com o tipo de esqueleto principal no qual o C6 corresponde ao anel benzênico e CX à cadeia substituinte com X átomos de carbono (tabela 1) (Carvalho, Gosmann, Schenkel, 2007).

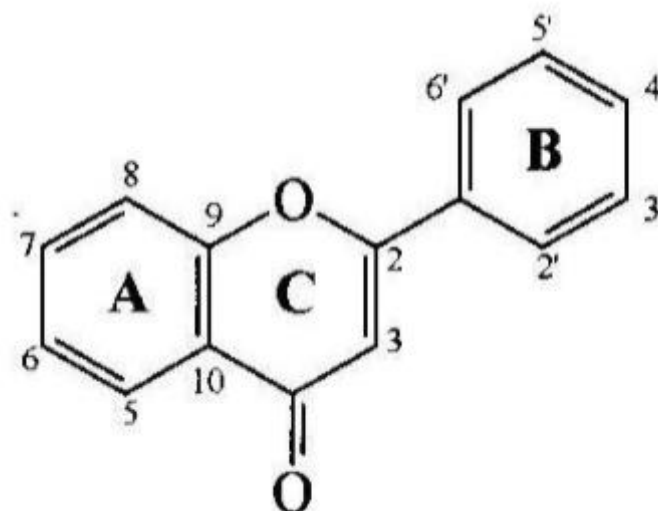
Tabela 1. Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico.

Esqueleto básico	Classe de compostos fenólicos
C6	Fenóis simples, benzoquinonas
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C6-C3	Fenilpropanóides: ácido cinâmicos e compostos análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antroquininos
C6-C3-C6	Flavonóides e isoflavonóides
(C6-C3) ₂	Lignanas
(C6-C3-C6) ₂	Diflavonóides
(C6) _n	Melaninas vegetais
(C6-C3) _n	Ligninas
(C6-C1) _n	Taninos hidrolisáveis
(C6-C3-C6) _n	Taninos condensados

Fonte: Carvalho, Gosmann, Schenkel, 2007.

Os flavonóides constituem uma classe importante de polifenóis. Um composto fenólico ou polifenólico é aquele que tem um ou mais núcleos aromáticos contendo substitutos hidroxilados e/ou seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos e etc). Porém, é importante dizer que não se pode conceituar os flavonóides apenas levando em consideração a estrutura química, pois existem compostos que têm hidroxilas fenólicas, que fazem parte de outra classe de metabólitos secundários. Assim, por conveniência, os flavonóides são definidos por origem biogenética. Os flavonóides são encontrados em várias formas estruturais, mas a maior parte desses compostos têm 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Os flavonóides tricíclicos possuem três unidades de anéis de carbonos chamados núcleos A, B e C e os átomos de carbono recebem a numeração com números ordinários para os núcleos A e C e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo B, como mostra a figura 3. A tabela 2 aponta as principais classes de flavonóides e suas características biológicas mais importantes (Zuanazzi, Montanha, 2007).

Figura 3. Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração.



Fonte: Zuanazzi, Montanha, 2007.

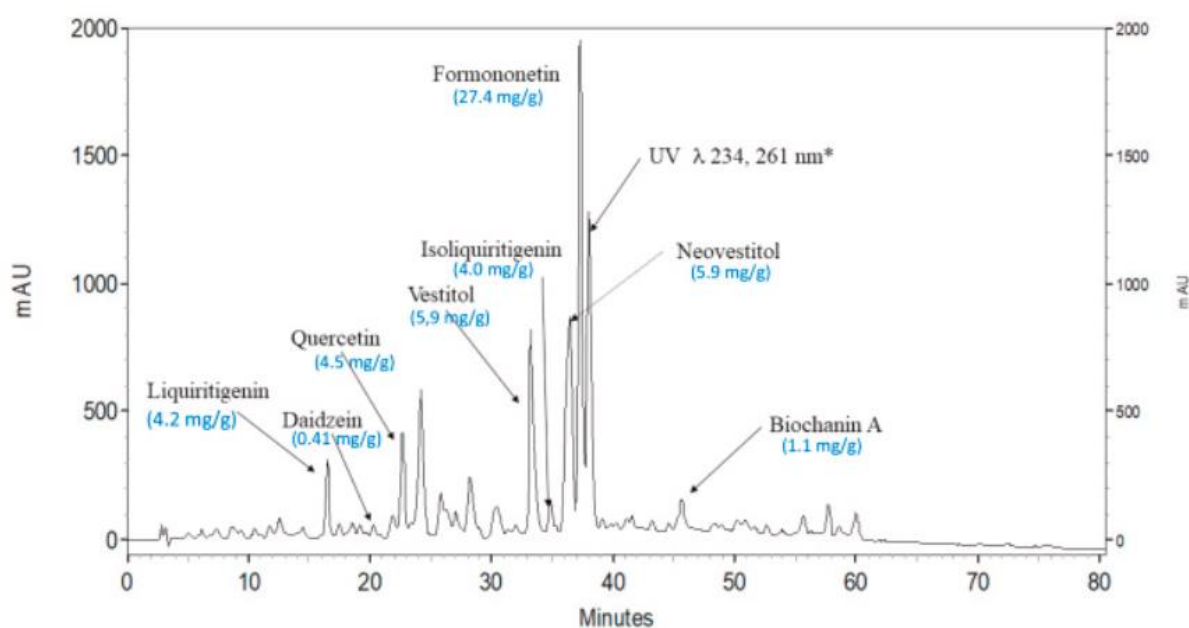
Tabela 2. Classes de flavonóides e algumas características mais importantes.

Classes	Número aproximado de estruturas conhecidas	Características
Flavonas, flavonóis e seus O-heterosídeos	1660	Co-pigmentação em flores; protetores contra raios UV nas folhas
C-heterosídeos	303	
Antocianos	256	Pigmentação do vermelho até o azul
Chalconas	197	Pigmentação amarela
Auroras	29	Pigmentação amarela
Di-hidro-flavonóis	110	Estão presentes frequentemente em tecidos de madeiras
Flavononas	319	Podem apresentar sabor amargo
Di-hidro-chalconas	71	Podem apresentar sabor amargo
Flavonas, leucoantocianidinas e proantocionidinas	309	Substâncias adstringentes com propriedades tanates
Isoflavonóides	630	Propriedades estrogênicas e/ou antifúngicas
Neoflavonóides	70	
Biflavonóides	134	Propriedades antifúngicas
Outras estruturas	100	

Fonte: Zuanazzi, Montanha, 2007.

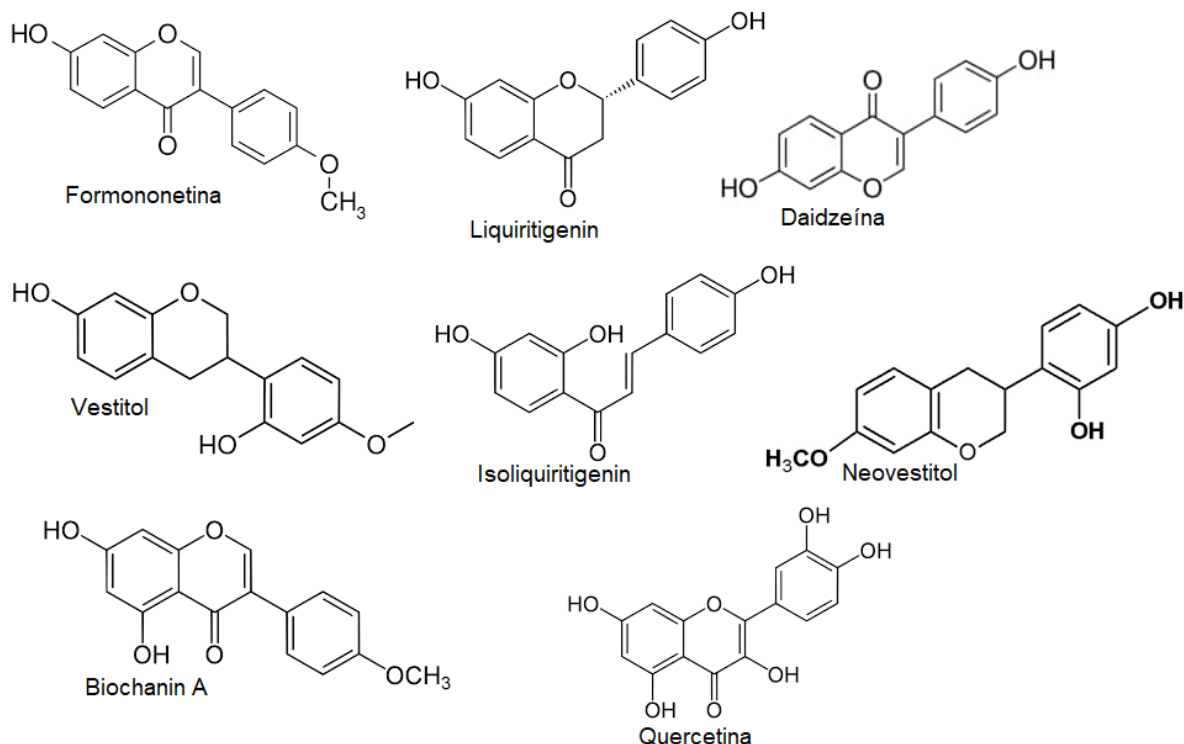
Pesquisadores investigaram a composição química do extrato etanólico de própolis vermelha por meio de espectroscopia RP-HPLC (gráfico 1). Foram identificados os seguintes constituintes: formononetina, vestitol, neovestitol, biochanina A, quercetina, liquiritigenina, isoliquiritigenina e daidzeína (figura 4). Dentre todos esses constituintes, a formononetina apresentou maior concentração neste extrato. (Santos, et al., 2021).

Gráfico 1. Cromatogramas de HPLC do extrato etanólico de própolis vermelha.



Fonte: Santos, et al., 2021.

Figura 4. Estrutura química de formononetina, vestitol, neovestitol, biochanina A, quercetina, liquiritigenina, isoliquiritigenina e daidzeína.



Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (adaptado).

2.4 Atividade Antioxidante

Os antioxidantes, segundo Ortega-Ramirez (2014) e Pisoschi (2016), são sequestradores de radicais livres, doadores de elétrons, enzimas inibidoras e quelantes de metais.

Os radicais livres podem ser o resultado da formação de moléculas com um elétron da camada de valência desemparelhado, como também moléculas com todos os elétrons na camada de valência. O que classifica de fato uma molécula como radical livre é a sua propriedade de tirar os elétrons de moléculas estáveis. Quando isso ocorre, essa nova molécula perde o seu elétron tornando-se um radical livre, iniciando assim um efeito em cascata (BADARINATH *et al.*, 2010).

Reações químicas oxidativas são produzidas naturalmente pelo metabolismo celular e levam a formação de radicais livres, que são espécies reativas do oxigênio

e espécies reativas do nitrogênio. Como exemplo de radicais livres derivados do oxigênio existem o ânion superóxido (O_2^-), oxigênio livre (O_2), hidrogênio em radicais de peróxido (H_2O_2), radical peroxil (ROO^-) e hidroxila reativa (OH^-) e as espécies reativas do nitrogênio são o óxido nítrico (NO) e o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$) (ALFADDA; SALLAM, 2012; GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2010; SAHA *et al.*, 2017).

Em circunstâncias patológicas como processos inflamatórios, isquemia e na presença de íons catalíticos do ferro, os radicais livres são produzidos em grande quantidade. Vale ressaltar que os radicais livres podem ser responsáveis por inúmeras alterações na fisiologia, causando assim danos celulares por peroxidação de lipídios da membrana, inativação da enzima sulfidril, reticulação de proteínas e quebra de DNA, que talvez estejam envolvidas na etiologia de diversas doenças humanas, como doença cardíaca coronária, inflamação, doenças neurodegenerativas como Parkinson, Alzheimer e neoplasias. Diante disso, os antioxidantes atuam impedindo que as espécies reativas do oxigênio e espécies reativas do nitrogênio fiquem livres no organismo (RIGHI *et al.*, 2011).

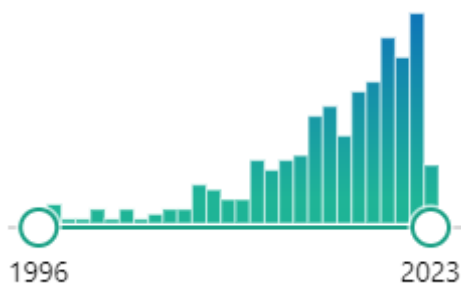
A atividade antioxidante de compostos fenólicos está relacionada com a sua capacidade de doar elétrons para espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio (RIGHI *et al.*, 2011). Para avaliação dessa atividade existem vários métodos, sendo os métodos FRAP, ORAC, ABTS e DPPH os mais utilizados. O DPPH é um método que avalia a atividade antioxidante de uma determinada substância em reduzir o radical livre DPPH (1,1-difenil-2,2-picrilhidrazila). Esse é um método colorimétrico que produz uma solução amarela a partir de uma solução violenta (SALES, 2012).

2.5 Estado da Arte

Foi feito um estudo prospecção literária no Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia, em inglês, National Center for Biotechnology Information, pela plataforma PubMed® através do site ncbi.nlm.nih.gov.

Quando o termo “red propolis” (própolis vermelha) é pesquisado na plataforma PubMed® encontram-se 275 artigos, como mostra o gráfico 2, e a tabela 3 aponta os resultados encontrados em 7 bancos de dados.

Gráfico 2. Resultado da pesquisa por “red propolis” por ano.



Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tabela 3. Resultados encontrados na busca de “red propolis” em 7 bancos de dados.

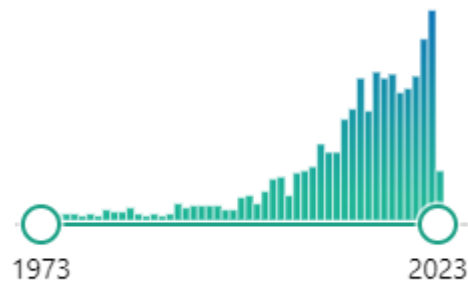
Literature	Genes	Proteins
Bookshelf	Gene	Conserved Domains
MeSH	GEO DataSets	Identical Protein Groups
NLM Catalog	GEO Profiles	Protein
PubMed	HomoloGene	Protein Family Models
PubMed Central	PopSet	Structure
Genomes	Clinical	PubChem
Assembly	ClinicalTrials.gov	BioAssays
BioCollections	ClinVar	Compounds
BioProject	dbGaP	Pathways
BioSample	dbSNP	Substances
Genome	dbVar	
Nucleotide	GTR	
SRA	MedGen	
Taxonomy	OMIM	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Quando o termo “drug-exipient compatibility” (compatibilidade fármaco-excipiente) é pesquisado na plataforma PubMed® encontraram-sse 964 resultados,

como mostra o gráfico 3, e a tabela 4 aponta os resultados encontrados em 4 bancos de dados.

Gráfico 3. Resultado da pesquisa por “drug-excipient compatibility” por ano.



Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tabela 4. Resultados encontrados na busca de “drug-excipient compatibility” em 4 bancos de dados.

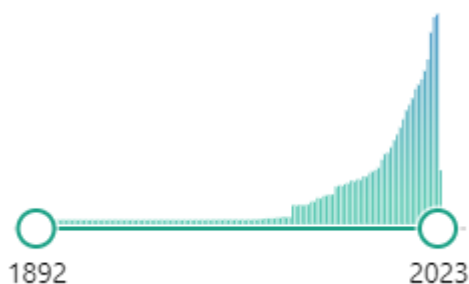
Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 5	Gene 0	Conserved Domains 0
MeSH 0	GEO DataSets 0	Identical Protein Groups 0
NLM Catalog 1	GEO Profiles 0	Protein 0
PubMed 964	HomoloGene 0	Protein Family Models 0
PubMed Central 3,676	PopSet 0	Structure 0

Genomes	Clinical	PubChem
Assembly 0	ClinicalTrials.gov 0	BioAssays 0
BioCollections 0	ClinVar 0	Compounds 0
BioProject 0	dbGaP 0	Pathways 0
BioSample 0	dbSNP 0	Substances 0
Genome 0	dbVar 0	
Nucleotide 0	GTR 0	
SRA 0	MedGen 0	
Taxonomy 0	OMIM 0	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Quando o termo “compatibility” (compatibilidade) é pesquisado na plataforma PubMed® encontraram-se 139.689 resultados, como mostra o gráfico 4, e a tabela 5 aponta os resultados encontrados em 25 bancos de dados.

Gráfico 4. Resultado da pesquisa por “compatibility” por ano.



Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tabela 5. Resultados encontrados na busca de “compatibility” em 25 bancos de dados.

Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 1,413	Gene 30	Conserved Domains 2
MeSH 4	GEO DataSets 345	Identical Protein Groups 0
NLM Catalog 276	GEO Profiles 0	Protein 387,650
PubMed 139,706	HomoloGene 0	Protein Family Models 15
PubMed Central 138,186	PopSet 129	Structure 118
Genomes	Clinical	PubChem
Assembly 45	ClinicalTrials.gov 273	BioAssays 769
BioCollections 0	ClinVar 2	Compounds 0
BioProject 144	dbGaP 7	Pathways 0
BioSample 1,806	dbSNP 0	Substances 0
Genome 1	dbVar 0	
Nucleotide 16,693	GTR 2	
SRA 6,199	MedGen 9	
Taxonomy 0	OMIM 5	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Quando são pesquisados os termos “(red propolis) AND (drug-excipient compatibility)” (própolis vermelha E compatibilidade fármaco-excipiente) na plataforma PubMed® não é encontrado nenhum resultado, e a **tabela 6** aponta os resultados encontrados em apenas 1 banco de dados.

Tabela 6. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND drug-excipient compatibility” em 1 banco de dados.

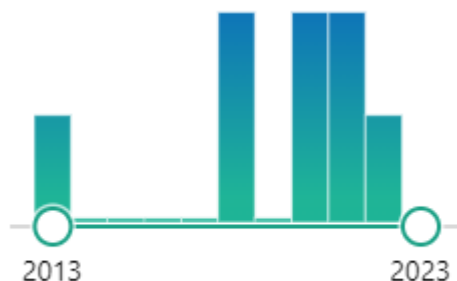
Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 0	Gene 0	Conserved Domains 0
MeSH 0	GEO DataSets 0	Identical Protein Groups 0
NLM Catalog 0	GEO Profiles 0	Protein 0
PubMed 0	HomoloGene 0	Protein Family Models 0
PubMed Central 39	PopSet 0	Structure 0

Genomes	Clinical	PubChem
Assembly 0	ClinicalTrials.gov 0	BioAssays 0
BioCollections 0	ClinVar 0	Compounds 0
BioProject 0	dbGaP 0	Pathways 0
BioSample 0	dbSNP 0	Substances 0
Genome 0	dbVar 0	
Nucleotide 0	GTR 0	
SRA 0	MedGen 0	
Taxonomy 0	OMIM 0	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Quando são pesquisados os termos “(red propolis) AND (compatibility)” (própolis vermelha E compatibilidade fármaco-excipiente) são encontrados apenas 8 resultados, como mostra o gráfico 5, e a tabela 7 aponta os resultados encontrados em 4 bancos de dados.

Gráfico 5. Resultado da pesquisa por “red propolis AND compatibility” por ano.



Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tabela 7. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND compatibility” em 4 bancos de dados.

Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 0	Gene 0	Conserved Domains 0
MeSH 0	GEO DataSets 0	Identical Protein Groups 0
NLM Catalog 0	GEO Profiles 0	Protein 0
PubMed 8	HomoloGene 0	Protein Family Models 0
PubMed Central 346	PopSet 0	Structure 0

Genomes	Clinical	PubChem
Assembly 0	ClinicalTrials.gov 0	BioAssays 0
BioCollections 0	ClinVar 0	Compounds 0
BioProject 0	dbGaP 5	Pathways 0
BioSample 0	dbSNP 0	Substances 0
Genome 0	dbVar 0	
Nucleotide 0	GTR 0	
SRA 0	MedGen 0	
Taxonomy 0	OMIM 2	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Quando são pesquisados os termos “(red propolis) AND (drug-excipient compatibility) AND (thermal analysis)” (própolis vermelha E compatibilidade fármaco-excipiente E análise térmica) na plataforma PubMed® não é encontrado nenhum resultado, e a tabela 8 aponta os resultados encontrados em apenas 1 banco de dados.

Quando são pesquisados os termos “(red propolis) AND (compatibility) AND (thermal analysis)” (própolis vermelha E compatibilidade E análise térmica) na plataforma PubMed® foi encontrado somente 2 resultados, e a tabela 9 aponta os resultados encontrados em apenas 1 banco de dados. Os resultados encontrados na plataforma PubMed® foram o artigo Própolis na saúde bucal: atividade antibacteriana de uma resina composta enriquecida com própolis vermelha brasileira (2021) dos autores José Marcos Dos Santos Oliveira, Théo Fortes Silveira Cavalcanti, Ingrid Ferreira Leite, Dávida Maria Ribeiro Cardoso Dos Santos, Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto, Fernanda Lima Torres de Aquino, Artur Falqueto Sonsin, Renata Matos Lamenha Lins, Rafael Pino Vitti, Johnnatan Duarte de Freitas, Emiliano de Oliveira Barreto, Samuel Teixeira de Souza, Regianne Umeko Kamiya, Ticiano Gomes do Nascimento, Josealdo Tonholo; e o artigo Plataforma de andaimes de poliuretano multicomponente de engenharia eletrospun compreendendo óleo de semente de uva e mel/própolis para regeneração de tecido ósseo (2018), dos autores Cui Yan Chao, Mohan Prasath Mani, Saravana Kumar Jaganathan.

Desse modo, devido à escassez de artigos que estudem a compatibilidade térmica da própolis vermelha com diferentes excipientes por misturas binárias, este presente estudo é inovador e necessário.

Tabela 8. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND drug-excipient compatibility AND thermal analysis” em 1 banco de dados.

Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 0	Gene 0	Conserved Domains 0
MeSH 0	GEO DataSets 0	Identical Protein Groups 0
NLM Catalog 0	GEO Profiles 0	Protein 0
PubMed 0	HomoloGene 0	Protein Family Models 0
PubMed Central 27	PopSet 0	Structure 0

Genomes	Clinical	PubChem
Assembly 0	ClinicalTrials.gov 0	BioAssays 0
BioCollections 0	ClinVar 0	Compounds 0
BioProject 0	dbGaP 0	Pathways 0
BioSample 0	dbSNP 0	Substances 0
Genome 0	dbVar 0	
Nucleotide 0	GTR 0	
SRA 0	MedGen 0	
Taxonomy 0	OMIM 0	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tabela 9. Resultados encontrados na busca de “red propolis AND compatibility AND thermal analysis” em 3 bancos de dados.

Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 0	Gene 0	Conserved Domains 0
MeSH 0	GEO DataSets 0	Identical Protein Groups 0
NLM Catalog 0	GEO Profiles 0	Protein 0
PubMed 2	HomoloGene 0	Protein Family Models 0
PubMed Central 193	PopSet 0	Structure 0

Genomes	Clinical	PubChem
Assembly 0	ClinicalTrials.gov 0	BioAssays 0
BioCollections 0	ClinVar 0	Compounds 0
BioProject 0	dbGaP 4	Pathways 0
BioSample 0	dbSNP 0	Substances 0
Genome 0	dbVar 0	
Nucleotide 0	GTR 0	
SRA 0	MedGen 0	
Taxonomy 0	OMIM 0	

Fonte: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

2.6 A Importância de Estudos de Pré-Formulação

Calcula-se que em cada 30 mil novos compostos estudados, apenas 0,003% dessas substâncias tornam-se de fato medicamentos disponíveis para a população. Esse baixo índice ocorre devido a dificuldades na biodisponibilidade e na toxicidade, que são identificadas em estudos sobre as características da molécula de interesse. Durante o caro e complexo processo de pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos, é fundamental a presença de estudos de pré-formulação para entender das características físico-químicas da substância ativa e dos excipientes, como também a interação fármaco-excipiente na forma farmacêutica esperada (MAXIMIANO *et al.*, 2010).

Desse modo, nas fases de desenvolvimento de novos medicamentos, os ensaios pré-clínicos têm a possibilidade de agregar o maior número de conhecimento a respeito do comportamento físico-químico dos novos derivados. Assim, esse conjunto de informações permite a escolha de uma formulação mais segura e eficaz (MAXIMIANO *et al.*, 2010). Esses estudos permitem que a preferência na escolha dos excipientes seja feita apoiada em propriedades como compatibilidade, estabilidade e biodisponibilidade. Pois os adjuvantes têm a característica de aumentar ou diminuir a estabilidade e biodisponibilidade, influenciando assim na meia-vida terapêutica do produto final (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010).

Outras inúmeras características físico-químicas das substâncias são importantes na escolha do excipiente como solubilidade, tamanho de partícula, grau de cristalinidade, grau de amorfização, o polimorfismo, a higroscopicidade, a densidade, e outros (NARANG; DESAI; BADAWAY, 2012). Assim, os ensaios de pré-formulação são um instrumento imprescindível no processo de avanço no desenvolvimento de novas tecnologias de saúde ou na melhora de formas farmacêuticas que já estão disponíveis para a população (CERESOLE *et al.*, 2013).

O emprego de misturas binárias em ensaios de pré-formulação é uma excelente estratégia para mensurar a compatibilidade e estabilidade fármaco-excipiente. A majoritária quantidade de estudos usa a proporção 1:1 (m/m), contendo o fármaco e um excipiente, com o objetivo de maximizar a probabilidade

de interações químicas. Entretanto, também existem estudos que usam diferentes formas de concentração da relação fármaco-excipiente como a mistura 1:2 (m/m), misturas molares, entre outras (CHADHA; BHANDARI, 2014).

As interações físico-químicas fármaco-excipientes podem acontecer tanto durante o processo de produção do medicamento, como também durante o armazenamento. As interações fármaco-excipientes podem ser classificadas como interações físicas e interações químicas (FATHIMA et al., 2011). Os ensaios de compatibilidade fármaco-excipiente analisam a estabilidade do princípio ativo na presença dos excipientes. E, no mundo ideal, o fármaco deveria ser absolutamente inerte quando entrasse em contato com o excipiente, isso é, sem qualquer tipo de interação física ou química entre eles. Porém, ao colocar compostos químicos em contato entre si, como ocorre na mistura de uma formulação, eles podem interagir e sofrer interações físicas ou químicas (BERNARDI et al., 2009; KUMAR et al., 2009; PANI et al., 2012; JULIO et al., 2013).

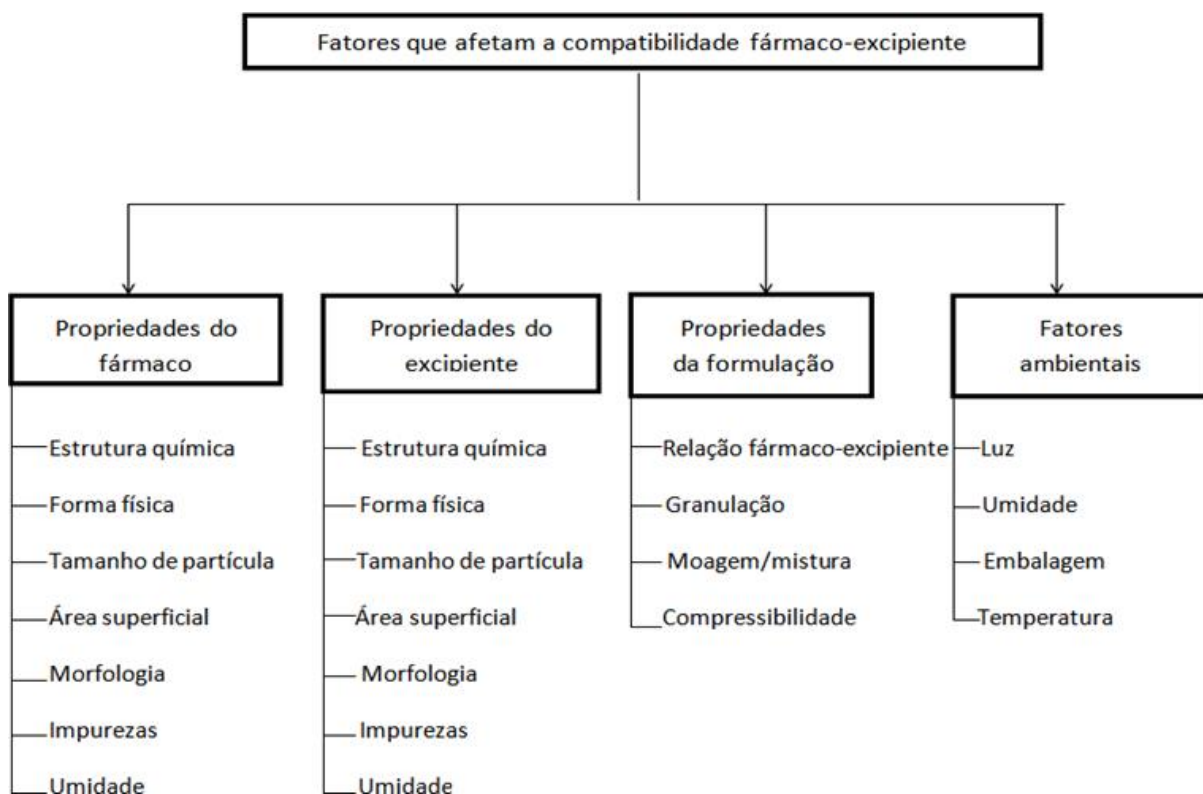
As interações físicas, muitas vezes, não estão ligadas a incompatibilidade, pois não catalisa a degradação do fármaco. As interações físicas são aquelas que não acontecem reações químicas como oxidação, redução, hidrólise, fotodegradação, porém ocorre mudanças nos parâmetros organolépticos (cor, odor, sabor). As interações físicas podem apresentar uma modificação do polimorfismo do fármaco (amorfização, recristalização, formação de co-cristal), e mudanças em características biofarmacotécnicas como solubilidade, velocidade de dissolução, a biodisponibilidade interação intermolecular entre os grupos funcionais dos componentes da formulação (ligação de hidrogênio, por exemplo) (FATHIMA et al., 2011; BERNARDI et al., 2009; KUMAR et al., 2009; PANI et al., 2012; JULIO et al., 2013).

As interações químicas, por sua vez, são de fato uma incompatibilidade, uma vez que causa degradação química do princípio ativo, e a presença dos produtos de degradação faz com que o medicamento não atinja a concentração plasmática terapêutica. É importante ressaltar que esses produtos da degradação podem ser substâncias tóxicas. As interações químicas abrangem uma reação direta dos excipientes ou impurezas com o princípio ativo através de ligações covalentes, a alteração do pH, e reações que catalisam a decomposição do produto. Vale ressaltar

que a presença de uma interação química tem a capacidade de formar substâncias tóxicas e/ou reduzir a capacidade terapêutica do medicamento (KUMAR *et al.*, 2011; LILTORP *et al.*, 2011; TITA *et al.*, 2011; JULIO *et al.*, 2013).

Os ensaios de compatibilidade fármaco-excipiente é uma das fases mais fundamentais no processo de pesquisa de pré-formulação (TITA *et al.*, 2011; LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001). Esse estudo é necessário para garantir a qualidade, segurança e desenvolvimento de uma formulação de um medicamento (LILTORP *et al.*, 2011). Além do mais, é de suma importância compreender as interações químicas e físicas entre o princípio ativo e os excipientes podem interferir na natureza química, a estabilidade, a solubilidade, a absorção *in vivo* do fármaco (MURA *et al.*, 1998), a segurança e a eficácia do medicamento (DOUSA *et al.*, 2011). Os estudos de compatibilidade permitem a escolha ideal dos componentes e de suas quantidades, identificação dos produtos de degradação e compreensão das reações. As interações que afetam a compatibilidade entre os componentes de uma formulação estão mostradas na figura 5 (SCHMITT *et al.*, 2001).

Figura 5. Fatores que afetam a compatibilidade fármaco-excipiente.



Fonte: adaptado de Schmitt *et al.*, 2001.

É importante dizer ainda que quando comprovada a presença de uma interação fármaco-excipiente, esta deve ser examinada, devido ao fato de que não é inevitavelmente um indício significativo de instabilidade ou de incompatibilidade farmacotécnica, pelo contrário, a interação pode ser desejada quando se tem a intenção de mudar algum parâmetro físico-químico, como por exemplo aumentar a solubilidade do princípio ativo na forma de medicamento (CHADHA; BHANDARI, 2014).

2.7 Estudo de Compatibilidade e Estabilidade entre Fármaco-Excipiente

A associação de um princípio ativo (fármaco), ou de mais de um, com excipientes é chamada de formulação farmacêutica. Os excipientes, também chamados de adjuvantes, não possuem atividade terapêutica porém têm a funcionalidade de promover uma forma farmacêutica mais eficaz e com terapêutica mais satisfatória. Os excipientes podem ser usados como diluentes, estabilizantes, conservantes, corantes, flavorizantes, entre outras funções (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011).

A palavra estabilidade, quando aplicado a um medicamento, relaciona-se ao período que o produto farmacêutico mantém suas mesmas características e propriedades nas quais tinha na data que foi produzido - levando em consideração as condições de armazenamento, o tempo de estocagem e a forma que foi usado (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011). Segundo a Resolução nº 01/2015, estabilidade é capacidade de um produto farmacêutico em manter suas características originais conforme as suas especificações de pureza, qualidade e potência. E a atividade de examinar a estabilidade de medicamentos e de fármacos é descrita por guias de boas práticas de órgãos reguladores internacionais e governamentais como o FDA (Food Drug Administration), o EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) e a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (PEREIRA; FREITAS, 2008; ORIQUI; MORI; WONGTSCHOWSKI, 2013).

Segundo a Resolução nº 01/2005, conceito de estabilidade é definido como capacidade de um produto farmacêutico em manter suas propriedades de origem de acordo com as suas especificações de pureza, qualidade e potência. Esse cuidado

exigido na legislação na monitoração do controle de qualidade de medicamentos se dá ao fato de que a qualidade dos produtos vai variar no decorrer do tempo em função de inúmeros fatores ambientais, como temperatura, umidade, luz, e em decorrência da decomposição química ou física, ou até mesmo aqueles inerentes às características físico-químicas do próprio fármaco, a exemplo da composição molecular com a presença de grupos funcionais reativos, que tendem a se degradar de forma lenta e gradativa (AMMANN, 2011; KIM *et al.*, 2013).

Ou seja, quando não há estabilidade de um produto farmacêutico há degradação do fármaco e uma alteração do medicamento mesmo dentro do prazo de validade, modificando assim sua ação desejada. A qualidade do medicamento é diretamente afetada pela estabilidade dos seus componentes, em outras palavras a eficácia e segurança do medicamento são influenciadas pela estabilidade. A eficácia é um parâmetro farmacológico ligado a manutenção do princípio ativo na forma farmacêutica, como também que seja mantida a solubilidade e a biodisponibilidade do fármaco, para que atinja a janela terapêutica nos níveis plasmáticos desejados da sua atividade farmacológica. Por sua vez, a segurança de um medicamento está ligado à não formação de produtos tóxicos ou a modificações na solubilidade e biodisponibilidade do princípio ativo devido ao processo de degradação que acaba formando produtos com atividade toxicológica no organismo. Para atingir a eficácia e segurança, é necessário a presença de estudos de estabilidade e compatibilidade nos ensaios de pré-formulação que determinem qual a formulação mais estável e compatível para o princípio ativo. Uma formulação compatível e estável é uma formulação com a capacidade de atender todos os parâmetros de controle de qualidade de medicamentos (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011; World Health Organization; WHO Collaborating Centre for International Drug Monitoring, 2002).

Durante os últimos anos, a indústria farmacêutica mundial tem aumentado de forma significativa, sendo comum a produção de um medicamento em um país e sua comercialização em outro. Esse acontecimento gerou um interesse da comunidade internacional com o controle de qualidade de medicamentos em cada país que o produto farmacêutico está sendo produzido, e instigou ao aparecimento de um processo de padronização de regulamentos técnicos relacionados ao

desenvolvimento e produção mundial de produtos farmacêuticos (World Health Organization, WHO Collaborating Centre for International Drug Monitoring, 2002).

Em virtude disso, em 1990, foi constituída a “Conferência Internacional de Harmonização dos Requisitos Técnicos para Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano” também chamada como ICH (International Conference on Harmonisation), cujo comitê, formado por autoridades reguladoras e representantes da indústria farmacêutica da Europa, Japão e Estados Unidos, se reúne a cada 2 anos para discutir aspectos científicos e técnicos de registro de medicamentos com o objetivo de alcançar uma maior harmonização que garanta o desenvolvimento e registro de medicamentos seguros, eficazes e de alta qualidade (International Conference on Harmonisation). Os órgãos sanitários de vários países vêm optando pelas diretrizes da ICH como regulamentos e normas estabelecidos por suas agências reguladoras. Essa medida é interessante para que os produtos de cada país tenham maior credibilidade no mercado farmacêutico mundial. No Brasil, o órgão responsável por essa regulamentação é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que considera as diretrizes da ICH como requisitos para o desenvolvimento e produção de medicamentos no país (BRASIL, 2005).

A estabilidade de formulações farmacêuticas é um dos quesitos abordados pela ICH, uma vez que a manutenção dela é um fator importantíssimo para a qualidade dos medicamentos. A estabilidade pode ser estudada por cinco pontos de vista (físico, microbiológico, terapêutico e toxicológico) (Allen; Popovich; Ansel., 2011). Os procedimentos operacionais usados para a execução dos ensaios de estabilidade de uma formulação são discutidos nas diretrizes da ICH, na categoria “Quality Guidelines” (Diretrizes de Qualidade), com a finalidade de apresentar evidências da qualidade do medicamento sofre influência de variáveis como o tempo, fatores ambientais, temperatura, umidade e luz (International Conference on Harmonisation; Center for Drug; Research; Research, 2003).

No desenvolvimento de um projeto de pesquisa que trate da pré-formulação de um novo medicamento, é fundamental que ocorra a caracterização correta do princípio ativo e dos excipientes que vão ser utilizados na formulação (GIRON, 1998). E, para que essa caracterização possa acontecer, é necessário o uso de técnicas analíticas apropriadas para definir suas propriedades físicas e químicas

(AHUJA, 2005). Tita et al (2011) utilizaram as técnicas de análise térmica [Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Termogravimetria (TGA)], além de outras técnicas como Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) e Difractometria de Raios X (PXRD) para caracterizar o fármaco cetoprofeno e excipientes farmacêuticos antes de iniciar um estudo de pré-formulação. Rahman et al (2010) utilizaram as técnicas análise térmica (DSC e TGA) para caracterização do fármaco risperidona, além de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), FT-IR, e Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR - do inglês Near Infrared). É de suma importância que esses ensaios de caracterização aconteçam, por que o princípio ativo pode ser alterado devido a existência de alguns excipientes na formulação, e essa alteração pode prejudicar a qualidade do medicamento. Essas possíveis alterações devem ser averiguadas segundo os testes de estabilidade. (AUTON, 2005).

Atualmente, no Brasil, quando se deseja fazer registro de um novo medicamento, seja ele inovador (ou seja, um novo fármaco que ainda não é comercializado para a população), similar ou genérico. A ANVISA requer que sejam apresentados os resultados desses ensaios de acordo o aconselhado pelo ICH. Porém, muitos pesquisadores vêm usando ensaios adaptados das condições do ICH, com o fim de alcançar resultados de forma mais rápida, e assim escolher os excipientes também mais adequados. É fundamental dizer que, hoje em dia, existem novas técnicas analíticas, como as análises térmicas, que permitem a obtenção de resultados mais instantâneos, que proporcionam uma pré-escolha dos excipientes a serem submetidos às condições de armazenamento do ICH (BRASIL, 2005).

2.8 Técnicas de Análise Térmicas Empregadas nos Estudos de Estabilidade e Compatibilidade

A análise térmica é um conjunto de técnicas que avalia as características físicas de uma substância e/ou produtos da reação de duas ou várias substâncias. Essas propriedades são medidas em função da temperatura, em um sistema de temperatura controlável que não se utilize solventes orgânicos como também não se use reagentes tóxicos. O começo da criação das técnicas termoanalíticas se deu no início do século XX com o esforço de poucos grupos de pesquisadores que

manipularam uma instrumentação limitada e rudimentar; desenvolvida em seus próprios laboratórios. Algumas das técnicas difundidas e utilizadas estão: Termogravimetria, Termogravimetria Derivada (TGA, DrTGA), Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Detecção e Análise de gás desprendido (EGD/EGA), Análise termomecânica (TMA), entre outras. As técnicas termoanalíticas possibilitam conhecer características da amostra como: variação de massa, estabilidade térmica, água livre e água ligada, pureza, ponto de fusão, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética da reação, estudos de catalisadores, transições vítreas, etc. (GIOLITO, 2004).

O ato de submeter uma amostra e observar como ela se comporta é uma forma simplória de se estudar um material. Isso acontece devido ao fato das propriedades termodinâmicas, como por exemplo capacidade calorífica, entalpia e entropia, são características únicas de cada substância. Devido a isso, os métodos de análise térmica foram desenvolvidos com o fim de se entender o desempenho termodinâmico de uma determinada amostra (HAINES, 2002). As propriedades físicas da matéria são submetidas a um estresse térmico controlado e analisadas em função da temperatura ou do tempo (GIRON, 1998; VERMA, 2005). Esses métodos usados são um instrumento útil e valioso para a análise de princípios ativos e medicamentos (GIRON, 1998).

Atualmente, a análise térmica é uma das técnicas mais usadas entre as técnicas instrumentais na pesquisa de ciências farmacêuticas, para a caracterização das propriedades térmicas de diferentes materiais sólidos e semissólidos, que possuem importância no campo farmacêutico. A palavra caracterização térmica faz alusão a estabilidade térmica de produtos farmacêuticos e decomposição das substâncias. Os estudos da estabilidade térmica de um fármaco são feitos pela caracterização da sua decomposição em condições não-isotérmicas e isotérmicas. Geralmente, isso se dá devido a perda de massa irreversível (TITA *et al.*, 2013). A análise térmica é um método analítico rápido usado para investigar as interações fármaco-excipiente através do deslocamento ou desaparecimento de eventos endotérmicos e exotérmicos (TITA; FULIAS; TITA, 2011).

O emprego de técnicas de análise térmica em estudos de medicamento é de grande importância, pois são usadas no controle de qualidade, indicação da estabilidade térmica, compatibilidade de fármaco-excipientes, informações sobre o comportamento em relação às transformações dos medicamentos em outros, nos processos de industrialização, umidade dos medicamentos, interação com outros compostos alterando a sua classe terapêutica e/ou pureza da droga, já que essas funções dependem de propriedades físico-químicas dos medicamentos a serem comercializados, e também na pesquisa de descoberta de novos princípios ativos para a terapia de novas e antigas enfermidades (GIRON, 2002).

As termoanálises vêm sendo aplicadas na área farmacêutica como um importante método para investigar as possíveis interações dos fármacos com os excipientes em pesquisas de compatibilidade na pré-formulação (RODANTE *et al.*, 2001). Em estudos de pré-formulação, essas técnicas são bastantes importantes para a formação de diagramas de fases e ensaios de interação fármaco-excipiente. Como também examina a existência de polimorfismo, compostos de inclusão e dispersões sólidas, determinação de pureza química, estudos de reações no estado sólido, análise de formas farmacêuticas sólidas e controle de qualidade (NASSAR, *et al.*, 2006). A caracterização da estabilidade dos princípios ativos e das suas possíveis interações físicas e químicas engloba a pesquisa de compatibilidade fármaco-excipiente que podem influenciar a natureza química, a estabilidade, e biodisponibilidade de drogas e, conseqüentemente, a sua eficácia terapêutica e de segurança (MENDONÇA *et al.*, 2013).

O ensaio de caracterização de um sólido puro (princípio ativo ou excipiente) em determinada forma cristalina apresenta curvas termoanalíticas peculiares, delas são extraídas informações como: temperatura de fusão, entalpia de mudança de fase e temperatura de decomposição. Se tratando de uma mistura de sólidos, como acontece em uma formulação farmacêutica, na qual o princípio ativo está associado a um ou mais excipientes, ocorrem interações entre as substâncias, as quais podem promover modificações nas propriedades do fármaco que são reveladas por alterações nas curvas termoanalíticas (BROWN, 2001).

O estudo dessas interações é fundamental, uma vez que elas estão intimamente ligadas à qualidade, segurança e eficácia do medicamento na sua

forma final. O emprego das termoanálises em pesquisas de pré-formulação é algo recém-chegado, entretanto tem ganhado cada vez mais espaço entre os pesquisadores. Entre as técnicas de análise térmica, a DSC e a TGA são as técnicas que possibilitam obter dados preliminarmente sobre a compatibilidade de maneira rápida, com baixo custo e consumo mínimo de amostra (em torno de 2 a 20 mg por análise) (TITA *et al.*, 2011; TITA *et al.*, 2013; VERONEZ *et al.*, 2013).

2.8.1 Análise Termogravimétrica – TGA

A análise termogravimétrica ou termogravimetria é uma técnica analítica que mostra a variação da massa da amostra em função da temperatura (aquecimento ou resfriamento) ou do tempo, em condições de atmosfera e temperatura controladas. A partir dessa variação de massa, que é uma propriedade física, é possível observar bastantes fenômenos químicos como: desidratação, oxidação, combustão e decomposição (CASTELLO; DWECK; ARANDA, 2009). O mais comum é observar um evento de perda de massa devido ao processo de decomposição térmica, entretanto também é possível observar um ganho de massa que acontece quando a amostra reage com algum componente da atmosfera. O ganho de massa pode estar associado a processo oxidativo formando óxido não voláteis; enquanto a perda de massa pode estar ligada a volatilização da umidade absorvida, aditivos, oligômeros, produtos de reação ou decomposição (BROWN, 2001; HAINES, 2002).

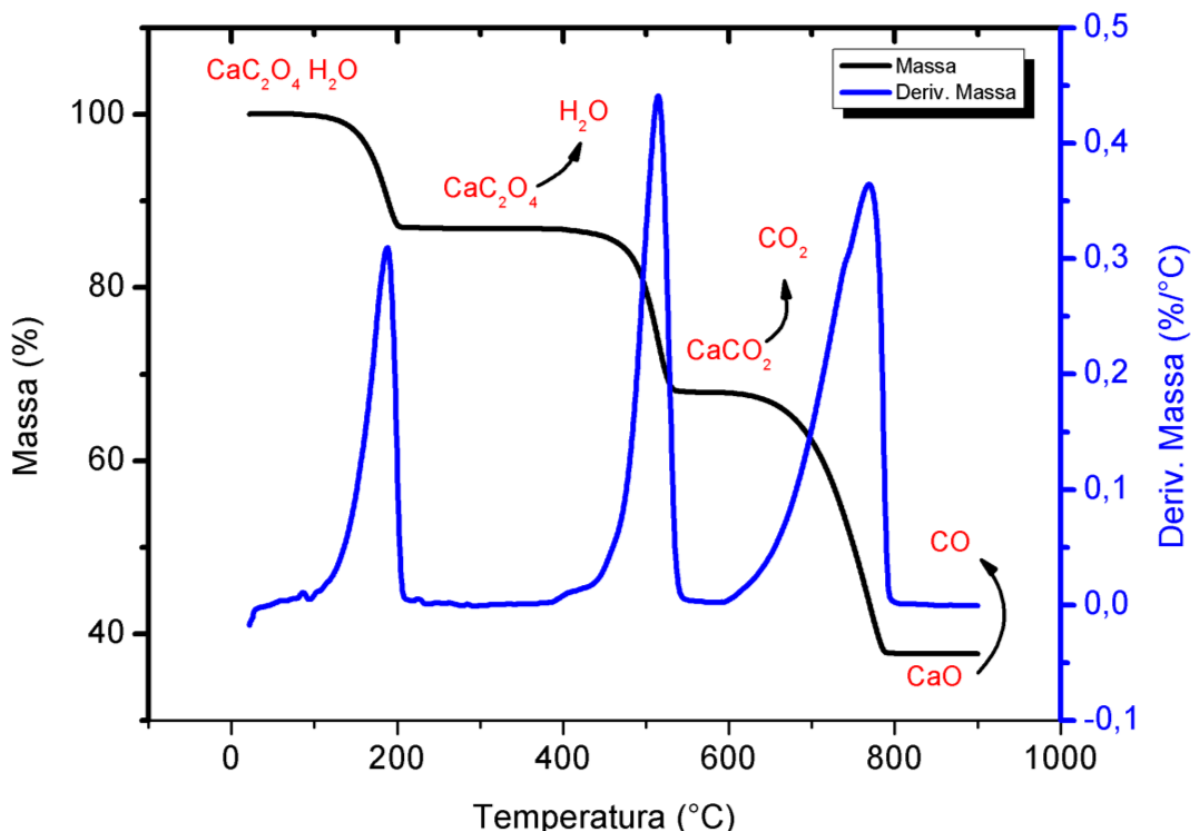
O gráfico da curva de TGA manifesta a modificação da massa em função da temperatura, e permite entender a estabilidade térmica, além da composição inicial da amostra, dos compostos intermediários e do resíduo final. É a estabilidade térmica que possibilita perceber a capacidade de uma substância de sustentar suas propriedades sob variações térmicas (SALGADO *et al.*, 2005). O resultado da TGA também pode ser apresentado pela derivada (DrTGA). A derivada é a inclinação da reta tangente que passa por uma determinada curva. Ela é usada para evidenciar a taxa de variação, no caso do TGA é a variação de massa. A DrTGA é um recurso matemático que calcula a derivatização da variação da massa em relação ao tempo ou temperatura. A DrTGA, que pode ser obtida através do software do TGA, facilita a

interpretação, pois deixa as mudanças de variação mais evidentes (GIRON, 1986; IONASHIRO, 2004).

Desse modo, as informações são observadas nas curvas com ajuda da determinação da derivada. A variação da massa é apresentada no formato de picos, delimitados pelas áreas proporcionais às variações de massa da amostra (% Δm). A curva da DrTGA expressa dados de fácil interpretação (como mostra a figura 6), e possibilita obter a relação da variação da massa e a temperatura na qual o evento térmico irá ocorrer com mais alta intensidade a partir da altura do pico em qualquer temperatura (OLIVEIRA; YOSHIDA; LIMA-GOMES, 2011).

O forno é o coração da TGA e foi projetado para que se leve em consideração a faixa de temperatura para os parâmetros de operação e o tempo de resposta. No forno é possível manipular o sistema de controle de fluxo de gás de purga ou reativo e o sistema de controle de pressão para raros estudos específicos (PMT, 2017).

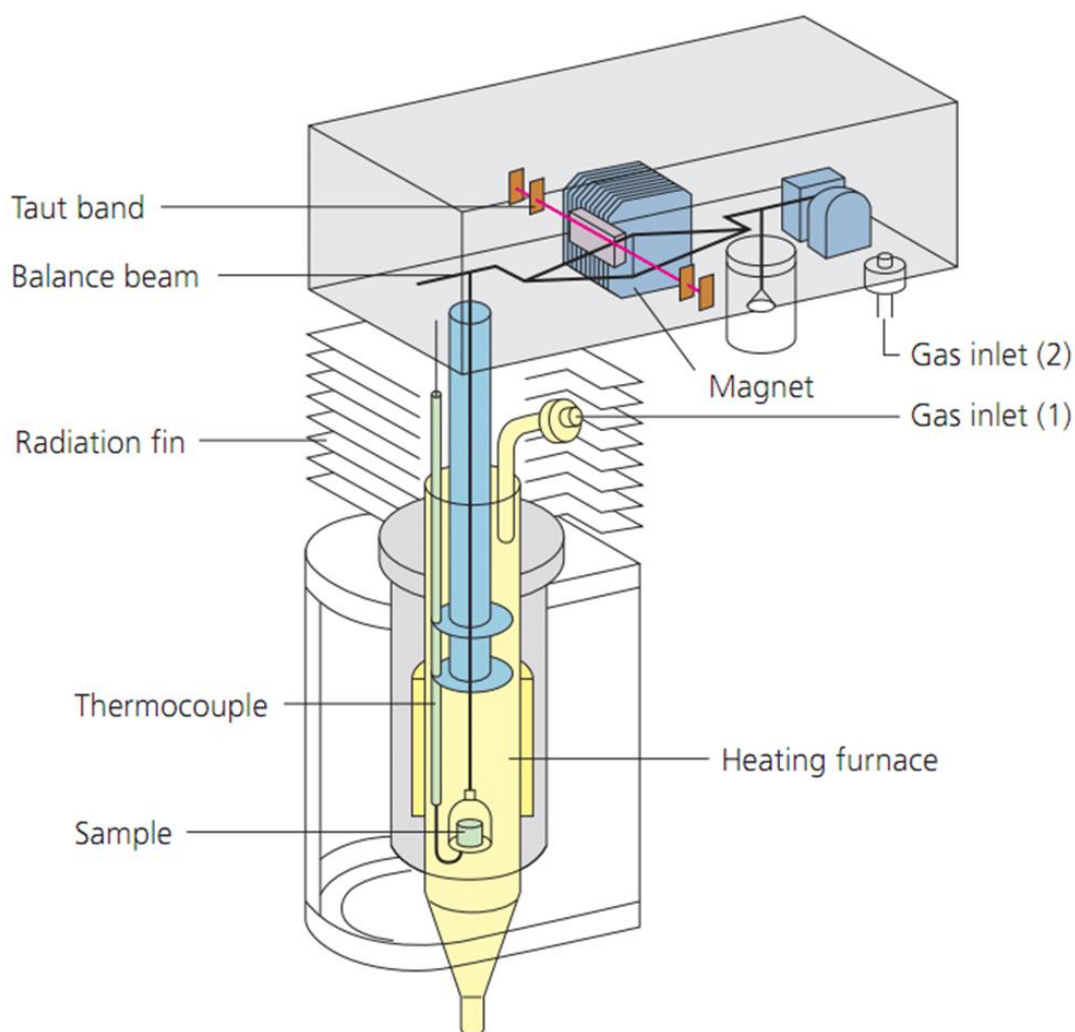
Figura 6. Decomposição térmica do oxalato de cálcio mono hidratado ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). TGA (em preto) e DrTGA (em azul).



Fonte: Figura adaptada do banco de dados da TA Instruments®

Os dados criados por meio dessa termoanálise respalda-se na examinação das variações de massa da substância analisada em função da temperatura, através de uma termobalança. Por se tratar de uma balança, o equipamento é calibrado com pesos padrões. Os principais componentes de uma termobalança típica são a balança sensível; forno e controladores associados; equipamentos periféricos para registrar, armazenar e elaborar dados. Esta termobalança permite que os ensaios sejam feitos em inúmeras condições experimentais, como por exemplo: atmosferas gasosas, massas de amostras variáveis, razões de aquecimento e condições isotérmicas (MUNOZ; GOMEZ-RICO; FONT, 2013). Na figura 7 é possível observar a anatomia detalhada do equipamento de TGA-50 Shimadzu (Tokyo/Japão).

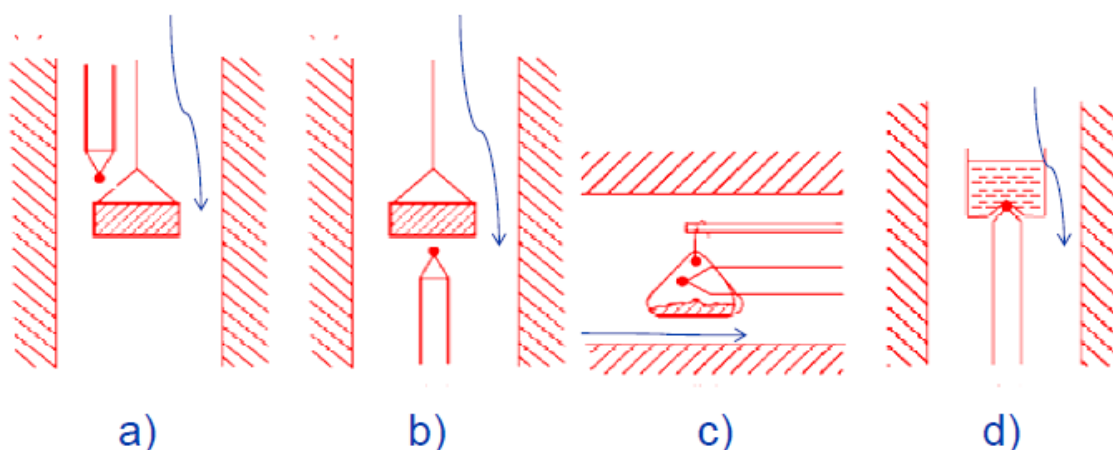
Figura 7. Termobalança.



Fonte: Shimadzu (Tokyo/Japão).

O termopar é responsável pelo registro da temperatura da amostra. É importante dizer que a temperatura real da amostra deve ser equivalente à temperatura medida pelo termopar. A temperatura real da amostra depende se o posicionamento do termopar, conforme a figura 8, está acima ou abaixo ou lateralmente do cadinho (onde está a amostra). O cadinho pode acompanhar ou ficar em retardo em relação a temperatura do forno. A calibração do termopar é feita usando uma amostra padrão com decomposição térmica já conhecida, como por exemplo o $\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (PMT, 2017).

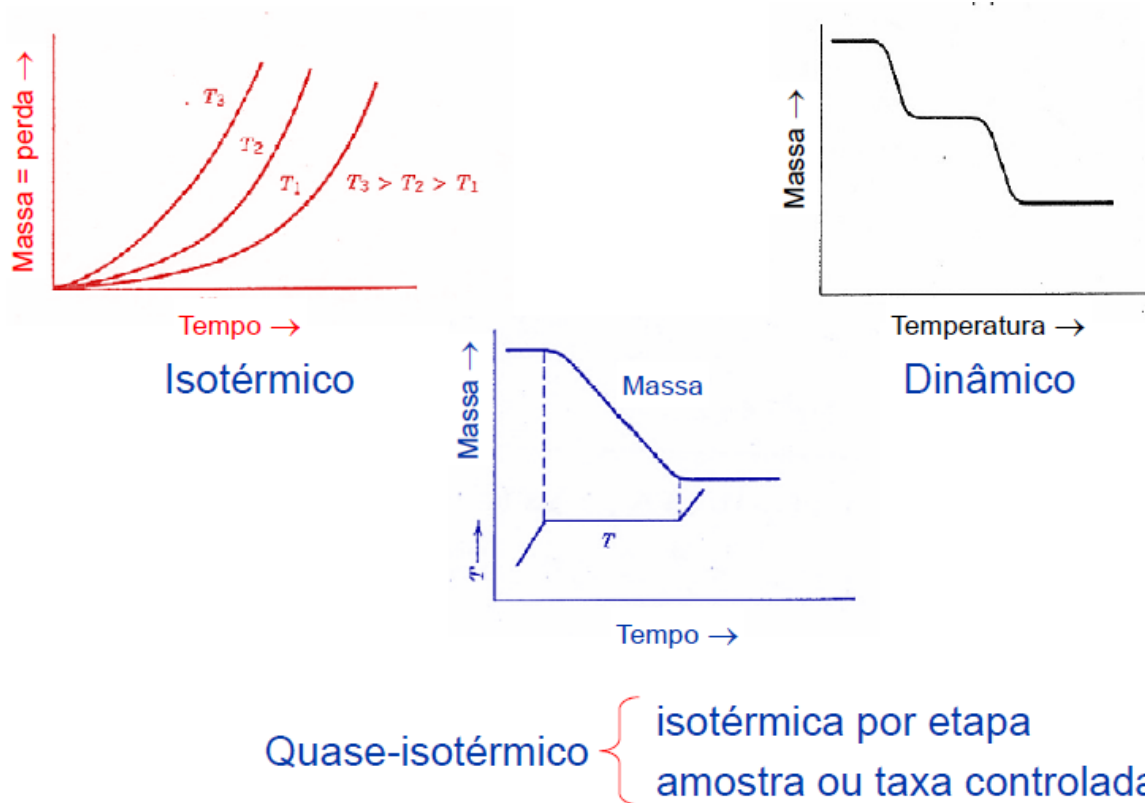
Figura 8. Localizações típicas dos termopares: a) em cima lateralmente, b) embaixo, c) em cima, e d) em baixo e em contato com o cadinho.



Fonte: Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - PMT (2017).

Como exemplifica a figura 9, a temperatura na TGA pode ser controlada de três diferentes formas: TGA isotérmica, TGA quase isotérmica e TGA dinâmica. Na TGA isotérmica, a temperatura não varia; assim a massa da amostra é registrada em função do tempo e da temperatura constante. Na TGA quase isotérmica, a amostra é aquecida a uma razão linear enquanto não ocorre variação de massa. Na TGA dinâmica, que é mais convencional, a temperatura da amostra varia de maneira predeterminada, preferencialmente, a uma razão de aquecimento ou resfriamento linear (WENDLANDT, 1980; BROWN; GALLAGHER, 2008).

Figura 9. Modo de ensaios da TGA.



Fonte: Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - PMT (2017).

Em virtude da natureza dinâmica das curvas TGA, as curvas sofrem influência de inúmeros fatores instrumentais que estão relacionados às características físico-químicas dos materiais do equipamento e da amostra. Dentre estes temos a razão de aquecimento; atmosfera do forno, forma, tamanho e composição do cadinho. Em relação às características da amostra, podemos citar a massa da amostra, tamanho da partícula ou granulometria da amostra. As fontes de erros mais frequentes na TGA são a impulsão da atmosfera, correntes de sentido de fluxo e turbulência, medida de temperatura, flutuação de temperatura, condensação de produtos liberados (STORPITIS, et al., 2009).

O cadinho (figura 10) é o recipiente onde a amostra fica acomodada para sofrer o processo de degradação térmica. Como o cadinho fica em contato direto com a amostra é necessário garantir que o material do cadinho não reaja com a amostra. Assim, como mostram as tabelas 10, 11 e 12, para cada tipo de material da

amostra (por exemplo: argilas, minerais, óxidos de cerâmica, sais, gases, metais, polímeros, materiais de carbono, inorgânicos, entre outros) deve ser usado um cadinho de determinado material: platina e ródio (Pt/Rh), alumina (Al_2O_3), alumínio (Al), platina e alumina (Pt + Al_2O_3), alumina revestida com peróxido de ítrio (Al_2O_3 + Y_2O_2) (MATOS, ARAÚJO, 2017; PMT, 2017).

Figura 10. Cadinhos de diferentes marcas, modelos e materiais.



TA Instruments



Shimadzu



Perkin Elmer



Mettler Toledo



Netzsch

Fonte: MATOS e ARAÚJO, 2017; e Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais
- PMT, 2017, com adaptações.

Tabela 10. Prováveis reações entre amostra e material do cadinho (parte 1).

Aplicações gerais						
Material do Cadinho	Platina e ródio (Pt/Rh)	Alumina (Al ₂ O ₃)	Alumínio (Al)	Platina e alumina (Pt + Al ₂ O ₃)	Alumina revestida com peróxido de ítrio (Al ₂ O ₃ + Y ₂ O ₃)	Grafite
Argilas	✓	✓*	✓	✓*	✓*	Não**
Minerais	✓	✓*	✓	✓*	✓*	Não**
Óxidos de cerâmica	✓	✓*	✓	✓*	✓*	Não**
Sais	✓	Não**	✓	Não**	Não**	Não**
Vidros	✓	Não**	✓	Não**	Não**	✓*
Metais	Não**	✓	Não**	✓	✓	Não**
Polímeros	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Materiais de Carbono	✓*	✓*	✓	✓*	✓*	✓
Inorgânicos	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*

Tabela 11. Prováveis reações entre amostra e material do cadinho (parte 2).

Inorgânicos						
Material do Cadinho	Platina e ródio (Pt/Rh)	Alumina (Al ₂ O ₃)	Alumínio (Al)	Platina e alumina (Pt + Al ₂ O ₃)	Alumina revestida com peróxido de ítrio (Al ₂ O ₃ + Y ₂ O ₂)	Grafite
Silicone	Não**	Não**	✓	Não**	Não**	✓*
Óxido de ferro	✓	Não**	✓	Não**	Não**	Não**
Óxido de chumbo	Não**	✓*	✓*	✓*	✓*	Não**
Fluoreto de magnésio	✓	Não**	✓	Não**	Não**	Sem informações
Fluoreto de cálcio	✓	Não**	✓	Não**	Não**	✓
Óxido de cobre	✓	Não**	✓	Não**	Não**	Não**
Grafite	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓
Carbonetos	✓	✓*	✓	✓*	✓*	Não**
Sulfatos	✓	✓*	✓	✓*	✓*	Não**

Tabela 12. Prováveis reações entre amostra e material do cadinho (parte 3).

Cerâmicas						
Material do Cadinho	Platina e ródio (Pt/Rh)	Alumina (Al ₂ O ₃)	Alumínio (Al)	Platina e alumina (Pt + Al ₂ O ₃)	Alumina revestida com peróxido de ítrio (Al ₂ O ₃ + Y ₂ O ₃)	Grafite
Al ₂ O ₃	✓	✓	✓	✓	✓	✓*
Zircônia (ZrO ₂)	✓	✓	✓	✓	✓	✓*
Y ₂ O ₃ ou MgO	✓	✓	✓	✓	✓	✓*
Dióxido de silício (SiO ₂)	✓	Não**	✓	Não**	Não**	Não**
Nitreto de silício (Si ₃ N ₄)	Não**	✓*	✓	✓*	✓*	✓*
Nitreto de alumínio (AlN)	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*
Nitreto de boro (BN)	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*
Carboneto de silício (SiC)	Não**	✓*	✓	✓*	✓*	✓*
Óxido de titânio (TiO ₂)	✓	✓	✓	✓	✓	✓*

Legenda:

✓ - Nenhuma reação esperada;

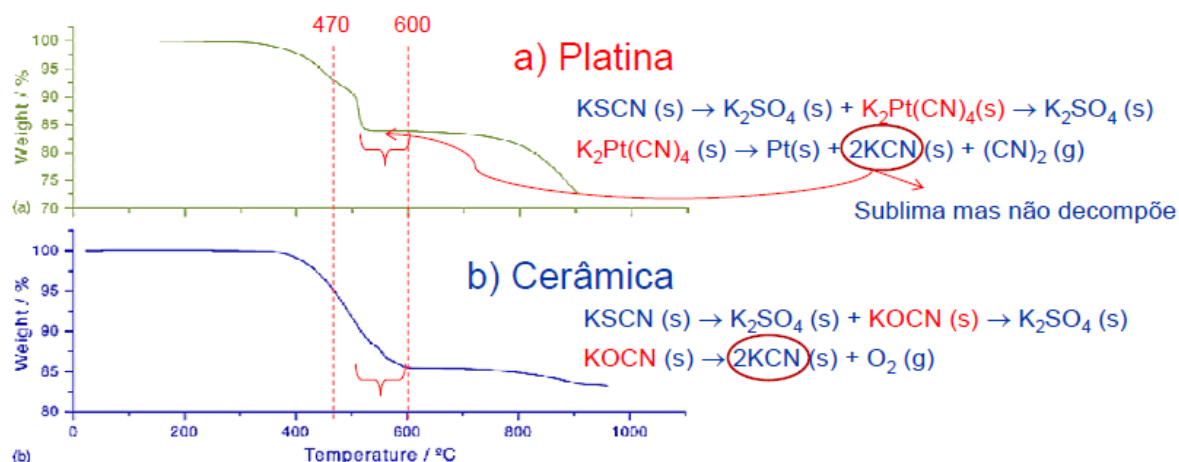
✓* - Possíveis reações em altas temperaturas;

Não** - Não recomendado, pois podem ocorrer reações antes ou durante a fusão e pode causar dano ao cadinho e/ou sensor.

Fonte: <https://www.netzsch-thermal-analysis.com/us/products-solutions/simultaneous-thermogravimetry-differential-scanning-calorimetry/sta-449-f1-jupiter/> (adaptado)

O efeito do material do cadinho em curvas de TGA foi estudado por Korsi e Valkonen (2003) durante a decomposição do tiocianato de potássio (KSCN) primeiro com cadinho de platina e depois com cadinho de cerâmica em atmosfera de ar sintético a 2 °C por minuto, como mostra a figura 11. Onde mostra que o KSCN reage com a platina formando tetracianoplatinato de potássio ($K_2Pt(CN)_4$), enquanto que não reage na presença de cerâmica (KORSI, VALKONEN, 2003).

Figura 11. Decomposição do tiocianato de potássio (KSCN) com cadinho de platina e de cerâmica.



Fonte: KORSI, RM; VALKONEN, J. Thermochemica acta, 401(2), 225-231, 2003.

Existem ainda fatores que podem interferir nos resultados da TGA. Esses podem estar relacionados com a massa, com a temperatura, com a amostra e com o equipamento. Os principais fatores relacionados com a massa são: empuxo e expansão térmica; turbulência atmosférica; condensação e reação; forças eletrostáticas e magnéticas; e flutuações eletrônicas. Quanto aos fatores relacionados com a temperatura, os principais são: taxa de aquecimento; entalpia dos processos; condutibilidade térmica; configuração do sensor forno-amostra, e flutuações eletrônicas. Os fatores relacionados com a amostra são: quantidade de amostra; solubilidade dos gases evoluídos na amostra; tamanho de partícula; calor de reação; condutibilidade térmica; e natureza da amostra. Os fatores que estão relacionados com o equipamento são: atmosfera no forno; geometria do porta amostra e forno; composição do porta amostra; e taxa de aquecimento (PMT, 2017).

A taxa de aquecimento tem importância devido ao seu efeito nas temperaturas de decomposição, que acontece em um determinado momento. Uma taxa de aquecimento lenta irá diminuir a temperatura inicial e final do evento térmico de decomposição. Enquanto que uma taxa de aquecimento mais acelerada irá aumentar a temperatura de inicial e final do evento térmico de decomposição, como exemplificam as figuras 12 e 13) (PMT, 2017).

Figura 12. Influência da taxa de aquecimento sobre a decomposição térmica de uma amostra.

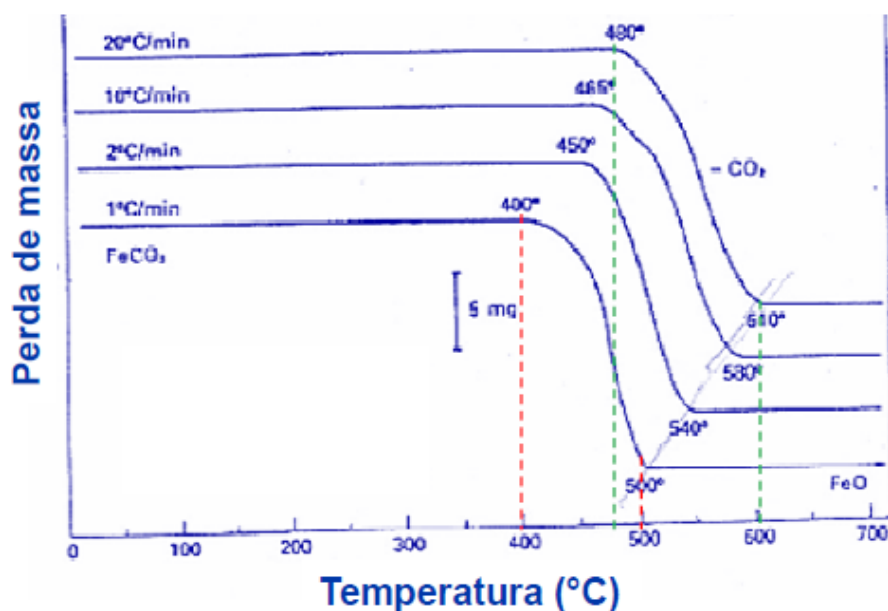
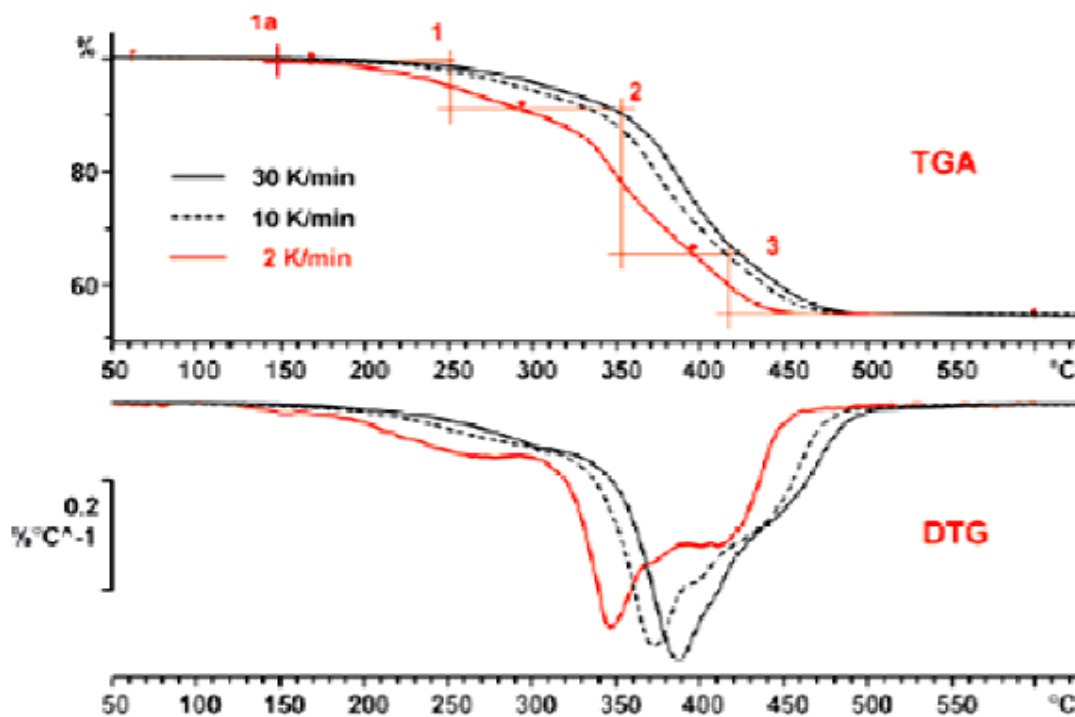


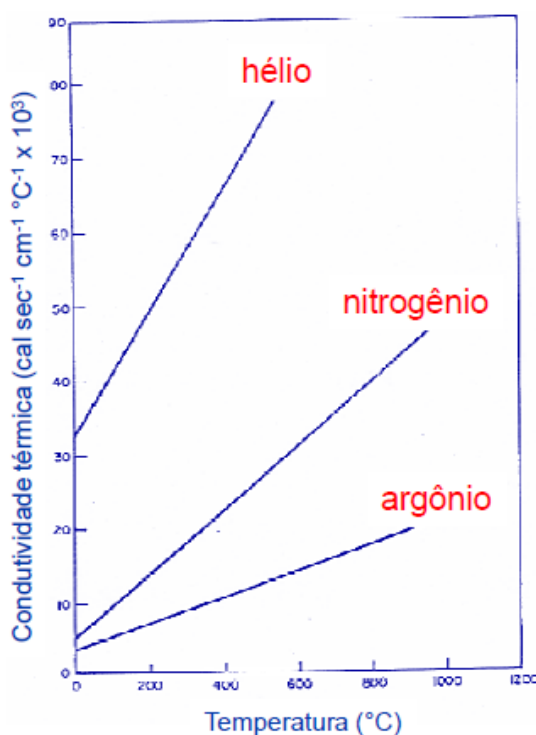
Figura 13. Influência da taxa de aquecimento sobre uma amostra.



Fonte: Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - PMT, 2017, com adaptações.

Ao levar em consideração a atmosfera do forno, é fundamental entender variáveis como a condutibilidade térmica do gás de purga. Esta propriedade pode afetar a decomposição térmica de alguns materiais. Uma vez que cada material conduz o calor de uma determinada maneira e essa condutibilidade se mantém na matéria independente do seu estado físico (sólido, líquido ou gasoso). Como exemplo da influência da condutibilidade térmica do gás, a decomposição do CaCO_3 acontece mais rapidamente em atmosfera de hélio que tem maior condutibilidade térmica se comparado ao nitrogênio e ao argônio (figura 14). Isto ocorre devido ao fato de que algumas taxas de reação dependem da velocidade de troca de calor no sistema. Ainda se tratando da atmosfera do forno, há fatores que devem ser observados, incluídos e informados em uma análise. Isso porque um determinado gás pode ou não reagir com a amostra. Ou seja, o gás pode ser inerte: nitrogênio (N_2), argônio (Ar), e hélio (He); o gás pode ser oxidante: oxigênio (O_2) e ar; e o gás pode ser redutor: mistura de 10% de hidrogênio (H_2) em N_2 (PMT, 2017).

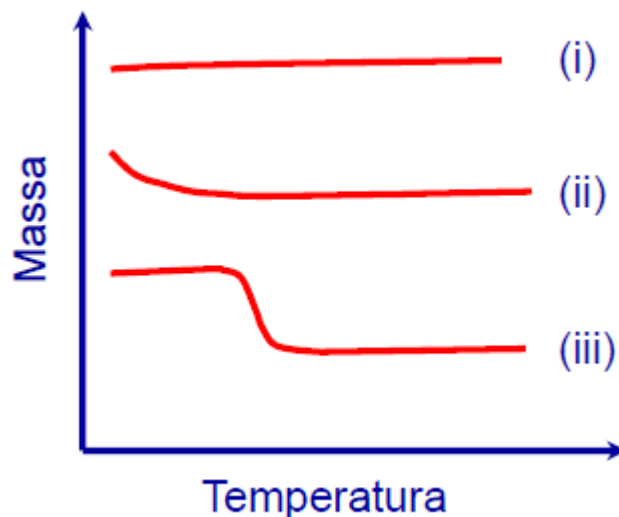
Figura 14. Condutibilidade térmica do gás de purga. Decomposição do CaCO_3 em atmosfera de hélio, de nitrogênio e de argônio.

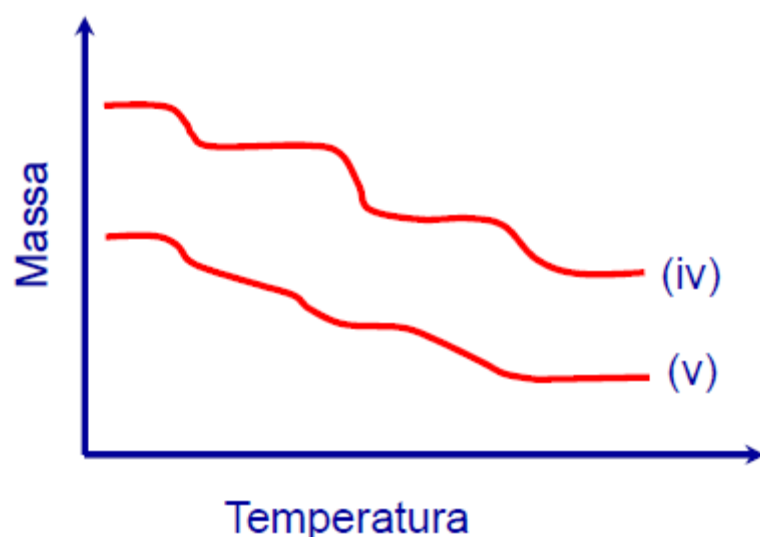
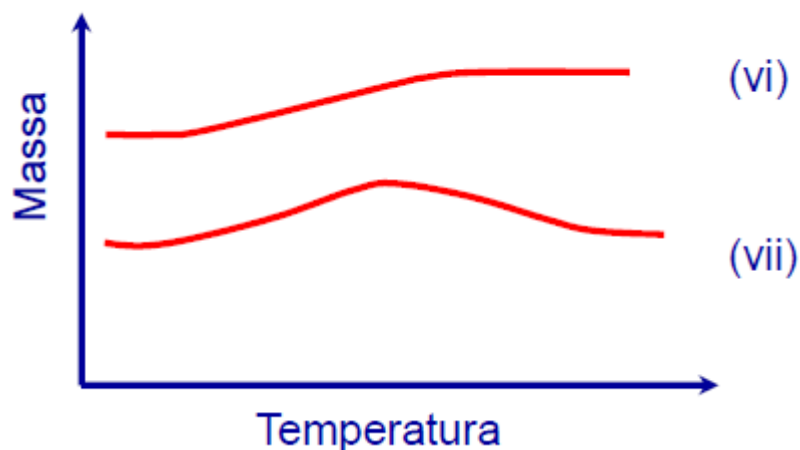


Fonte: Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - PMT, 2017, com adaptações.

Segundo Durval (1963) e Daniels (1973), as curvas de TGA apresentam alguns principais tipos de traçados (figura 15). Um tipo de traçado (i) mostra que a amostra não sofre nenhuma decomposição térmica com perda de produtos voláteis na faixa de temperatura observada. O traçado tipo (ii) indica que a perda de massa inicial rápida é característica de secagem. O tipo (iii) aponta que a decomposição da amostra ocorre em um único estágio, este tipo de traço pode ser usado para: definir os limites de estabilidade da amostra, determinar a estequiometria da reação, e investigar a cinética da reação. Há um tipo (iv) traçado também que mostra que a decomposição da amostra em multiestágios com intermediários relativamente estáveis. O tipo (v) indica também a decomposição da amostra em multiestágios, porém não são formados intermediários estáveis. O tipo (vi) apresenta um ganho de massa como resultado de uma reação de amostra com a atmosfera circulante. Também existe um tipo de traçado (vii), porém mais raro de ser encontrado, que é o produto de uma reação de oxidação se decompondo a temperaturas mais altas.

Figura 15. Principais tipos de traçados no TGA.





Fonte: Durval (1963) e Daniels (1973).

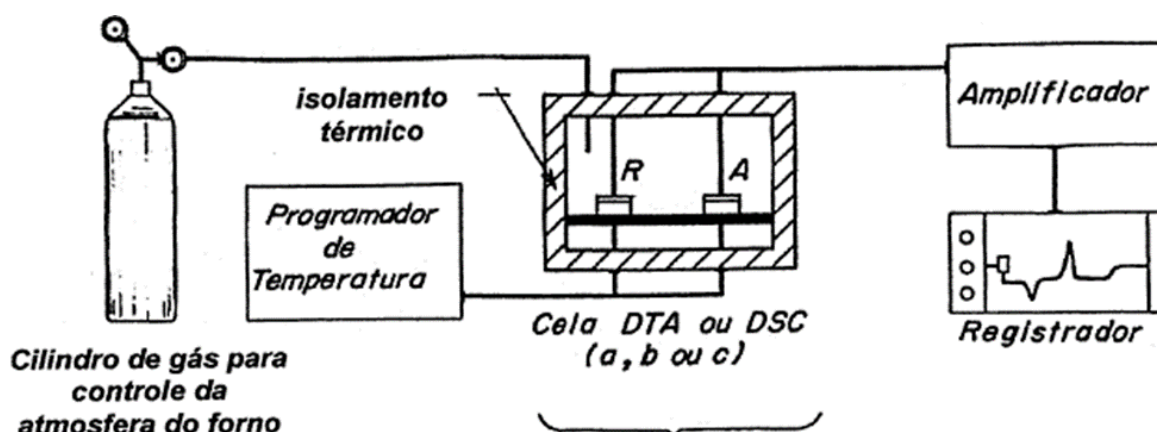
A estabilidade térmica é definida como a habilidade de uma determinada substância em manter as suas propriedades tanto quanto possível de forma inalterada durante um estresse térmico de aquecimento ou resfriamento. Para avaliar a estabilidade térmica de uma amostra é preciso considerar o ambiente que o medicamento irá ser submetido durante seu armazenamento e administração e as atividades farmacoterapêuticas que irá desempenhar. Para que uma análise termogravimétrica seja validada é necessário assegurar uma bom desempenho da técnica analítica através da qualidade das medidas instrumentais, e garantir a confiabilidade estatística dos cálculos feitos durante o processamento dos

resultados. As análises térmicas apresentam validade também por atender a parâmetros como linearidade, repetibilidade, limite de detecção e limite de quantificação (PMT, 2017).

2.8.2 Calorimetria de Varredura Diferencial – DSC

A Calorimetria de Varredura Diferencial ou Calorimetria Exploratória Diferencial ou, em inglês, *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) é uma técnica analítica que mede a diferença de energia entre uma amostra e um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura ou do fluxo de calor. A amostra e a referência são submetidas a um estresse térmico com variação de temperatura controlado, podendo ser se aquecimento ou resfriamento. É mediante essa técnica termoanalítica que se observa as variações de entalpia, mudança de calor específico e temperaturas dos eventos endotérmicos ou exotérmicos que ocorrem durante a análise da amostra (CRAIG; READING, 2007; OLIVEIRA, 2011). A figura 16 esquematiza os componentes do equipamento de DSC.

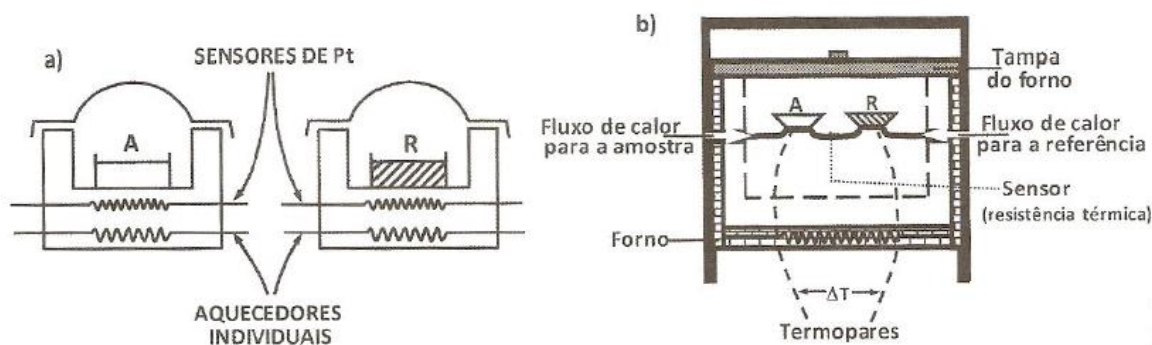
Figura 16. Esquema dos componentes do equipamento de DSC.



Como mostra a figura 17, dependendo do mecanismo de operação do equipamento de DSC, esta técnica pode ser classificada de duas maneiras: DSC

com compensação de potência e DSC com fluxo de calor (MENCZEL; PRIME, 2009).

Figura 17. Tipos de DSC. DSC com compensação de potência (a) e DSC com fluxo de calor (b).



Fonte: Sportitiset *et al.* (2009), com adaptações.

O DSC com compensação de potência é composto por uma célula calorimétrica contendo dois fornos (um onde se coloca a amostra e outro sendo destinado para um cadinho de referência). Um sistema controla as diferenças de temperatura entre a amostra e a referência. A detecção de temperaturas diferentes nos dois compartimentos promove uma correção desta diferença o que gera os picos endotérmicos ou exotérmicos que são mostrados no gráfico de resultado de análise. Já o DSC com fluxo de calor é composto por uma célula calorimétrica composta por um único forno que apresenta sensor calorimétrico para detecção da amostra e da referência (GIRON, 1986).

No DSC, são analisados eventos térmicos que podem ser classificados em relação a sua origem, reação física ou química, como também podem ser classificados pelo fluxo de calor da reação (figura 18), que pode ser endotérmico (entalpia < 0) ou exotérmico (entalpia > 0). A entalpia (ΔH) pode ser descrita pelas seguintes unidades de medidas: joules por grama (J/g), calorias por grama (cal/g), watts por grama (W/g). Desse modo, os principais eventos físicos endotérmicos são: a transição vítrea (T_g), fusão (T_m), vaporização, sublimação, já os exotérmicos são:

transição cristalina e adsorção. Os químicos endotérmicos são: a desidratação, decomposição e reação de óxido-redução. Os químicos exotérmicos são: decomposição, degradação oxidativa, polimerização, combustão (FORD; MANN, 2012). A figura 19 exemplifica de maneira genérica os eventos térmicos típicos em uma curva DSC.

Figura 18. Curvas genéricas de eventos endotérmicos e exotérmicos.

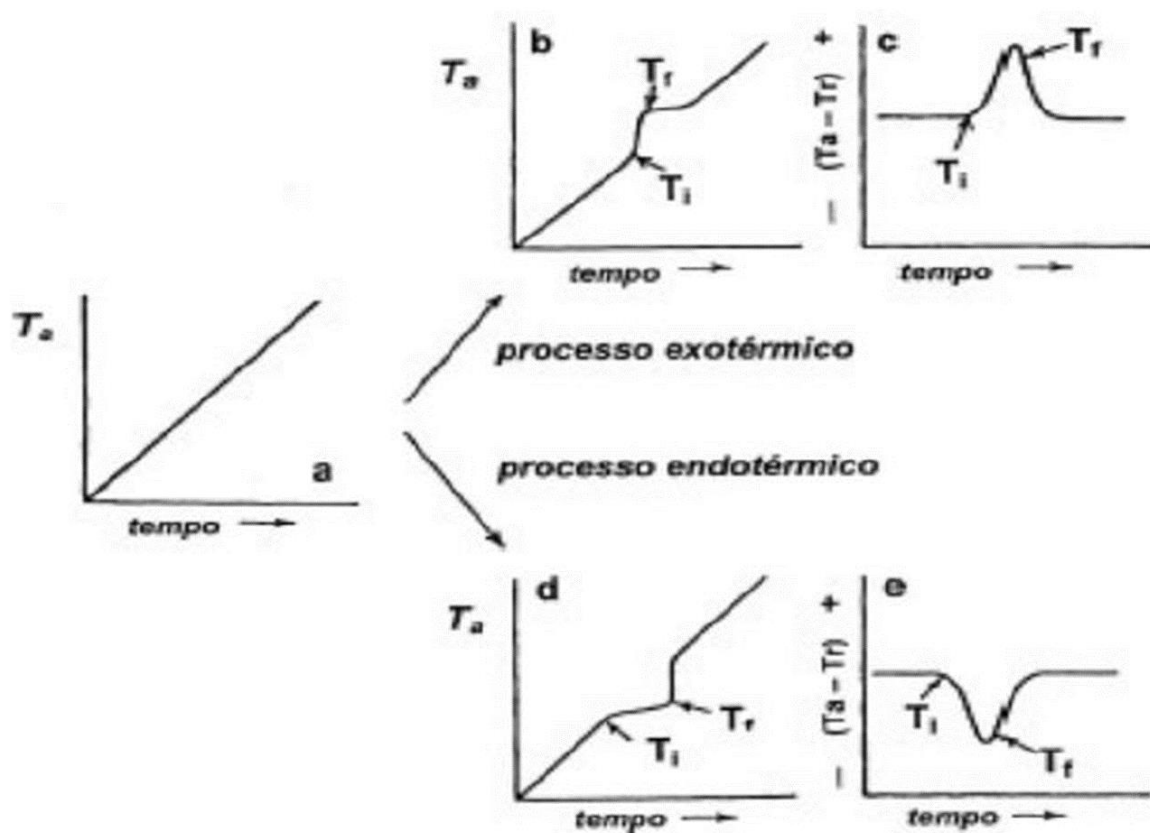
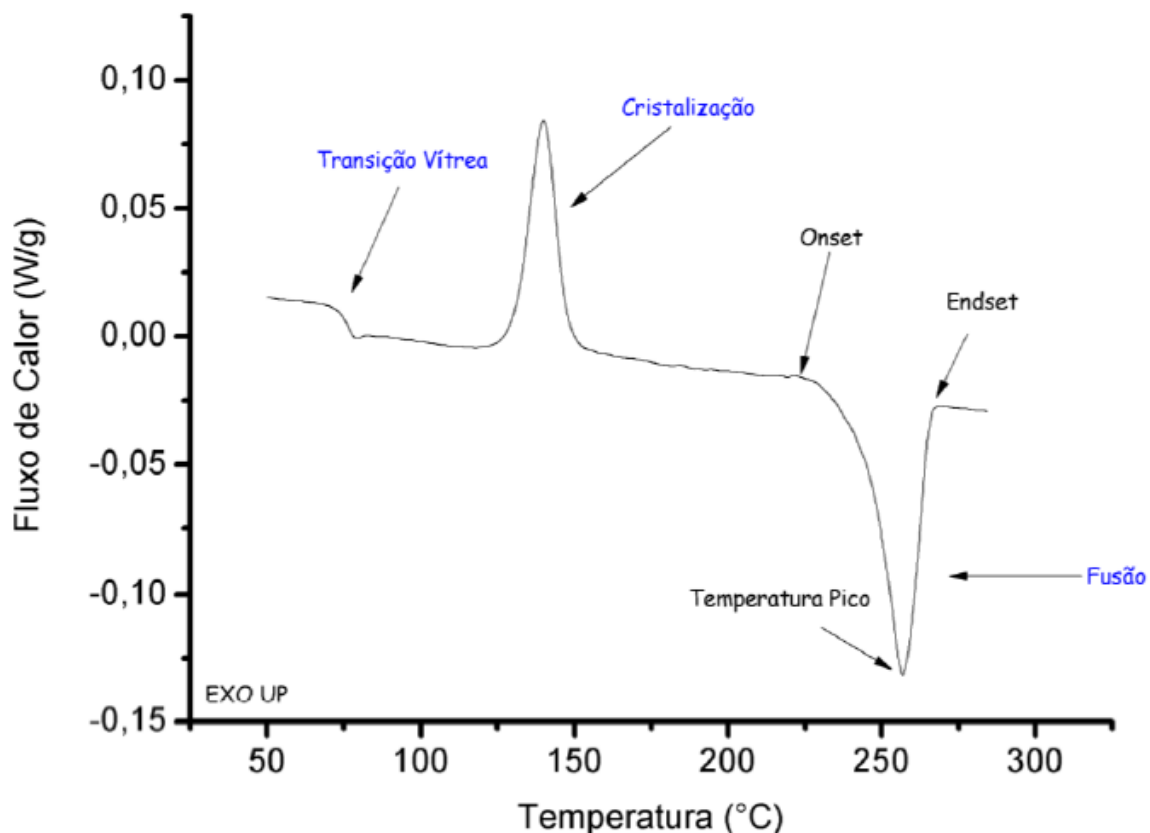


Figura 19. Curva genérica de eventos térmicos típicos em uma curva DSC.



Fonte: Figura adaptada do banco de dados da TA Instruments®.

Nas ciências farmacêuticas, o uso do DSC em pesquisas pode ter as seguintes aplicações: caracterização térmica e determinação da pureza de fármacos, estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina (OLIVEIRA, 2011).

Em pesquisas de pré-formulação, a análise por DSC é realizada com o fármaco puro, o excipiente puro e a mistura dos dois componentes. Desse modo, as possíveis incompatibilidades físico-químicas fármaco-excipientes podem ser determinadas por meio do surgimento, deslocamento ou desaparecimento de eventos exotérmicos e/ou endotérmicos, como também mediante de grandes variações na entalpia da reação (MURA *et al.*, 1998).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar compatibilidade e estabilidade térmica da própolis vermelha associada a diferentes excipientes na obtenção de membranas poliméricas.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter e caracterizar físico-quimicamente o extrato etanólico de própolis vermelha;
- Quantificar o teor total de compostos fenólicos e o teor total de flavonoides;
- Investigar o potencial antioxidante da própolis vermelha por análise da atividade sequestrante do radical DPPH;
- Caracterizar propriedades físicas e físico-químicas da própolis vermelha e dos excipientes empregando técnicas analíticas TG e DSC;
- Estudar a estabilidade dos excipientes farmacêuticos e misturas binárias de Própolis vermelha/excipiente.
- Avaliar a estabilidade térmica das membranas poliméricas.

4. METODOLOGIA

4.1 Coleta da Própolis e Obtenção do Extrato Etanólico da Própolis Vermelha (EEPV)

A própolis vermelha bruta foi obtida em um apiário da região dos mangues do município de Marechal Deodoro-AL (S9°42'10.2924" e W35°54'21.5316"), acondicionada em sacos plásticos e armazenada em um freezer a -18°C.

Para o preparo do extrato etanólico de própolis vermelha (EEPV), foi usada a técnica de maceração. Foi pesado 300g da própolis vermelha previamente triturada e colocada em um frasco âmbar com 700mL de álcool etílico P.A (99 °GL). A troca do solvente ocorreu de 48 em 48 horas durante uma semana. Posteriormente o extrato foi filtrado e concentrado em um rotaevaporador. O EEPV foi acondicionado em frasco âmbar hermeticamente fechado e identificado. Guardou-se o EEPV em geladeira com temperatura controlada.

4.2 Materiais

O carboximetilcelulose de sódio 3000 (NaCMC) foi fornecido pela Via Farma, a pectina cítrica foi fornecida pela Dinâmica Química Contemporânea Ltda., o benzoato de sódio foi fornecido pela Êxodo Científica, o sorbitol 70% e o propilenoglicol foram fornecidos pela Synth. Todos foram usados sem processo de purificação adicional, e, com exceção do sorbitol 70%, todos eram de pureza absoluta.

4.3 Obtenção das Misturas Binárias

As amostras analisadas foram o EEPV isolado, os 5 excipientes isolados, e as misturas binárias fármaco-excipiente na proporção 1:1 (m/m). As misturas binárias foram feitas de forma física com o uso de grau e pistilo.

4.4 Obtenção das Membranas

O carboximetilcelulose de sódio 3000 (NaCMC) e a pectina cítrica (agente reticulador) foram solubilizados em 200mL de água destilada (q.s.p.) continuamente com um misturador mecânico do modelo IKA RW 20 digital da marca IPAS por (01) uma hora a uma velocidade de 500 rpm, para formar uma mistura homogênea. Posteriormente, deixou-se a mistura em repouso por 24h.

Transcorridas as 24h, separadamente, solubilizou-se o benzoato de sódio em água destilada. E a seguir, adicionou-se à mistura de NaCMC e pectina cítrica a solução aquosa de benzoato de sódio, o sorbitol, o propilenoglicol e homogeneizou com a mistura no misturador mecânico por 01 (uma) hora e, por fim, incorporou-se o EEPV. Misturando por mais uma hora no agitador mecânico nas mesmas condições.

A mistura foi colocada em uma forma de vidro e levada para secar em uma estufa bacteriológica de modelo SL 101 da marca Solab com circulação de ar a 37°C por 120h.

4.5 Produção das Membranas Poliméricas

Preparou-se (03) três membranas a base de hidrogel pelo método de evaporação do solvente. Essas foram denominadas MX1, MX2 e MX3. Todas as membranas contêm os mesmos componentes, porém em concentrações diferentes (como mostra a tabela 13). Com exceção do EEPV e do NaCMC, que foram incorporados em uma mesma concentração em todas as membranas.

Tabela 13. Formulações das membranas MX1, MX2 e MX3.

	EEPV	NaCMC	Pectina Cítrica	Sorbitol	Benzoato	Propilenoglicol
MX1	5%	2,85g	5g	5,71mL	0,089g	1mL
MX2	5%	2,85g	3,5g	4,5mL	0,0692g	10mL
MX3	5%	2,85g	5g	5,71mL	0,078g	7mL

Fonte: Do autor.

O NaCMC e a pectina cítrica (agente reticulador) foram solubilizados em 200mL de água destilada (q.s.p.) continuamente com um misturador mecânico do modelo IKA RW 20 digital da marca IPAS por (01) uma hora a uma velocidade de 500 rpm, para formar uma mistura homogênea. Posteriormente, deixou-se a mistura em repouso por 24h.

Transcorridas as 24h, separadamente, solubilizou-se o benzoato de sódio em água destilada. E a seguir, adicionou-se à mistura de NaCMC e pectina cítrica a solução aquosa de benzoato de sódio, o sorbitol, o propilenoglicol e homogeneizou com a mistura no misturador mecânico por 01 (uma) hora e, por fim, incorporou-se o EEPV. Misturando por mais uma hora no agitador mecânico nas mesmas condições.

A mistura foi colocada em uma forma de vidro e levada para secar em uma estufa bacteriológica de modelo SL 101 da marca Solab com circulação de ar a 37°C por 120h.

4.6 Teor de Fenóis Totais

A determinação espectrofotométrica dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com metodologia descrita por Woisky (1996) com adaptações, utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Construiu-se uma curva de calibração analítica foi

obtida fazendo-se uso de oito diluições de ácido gálico (2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0 µg/mL). A equação da curva de calibração obtida através de regressão linear.

Foram adicionados 3mL de água destilada em balões volumétricos de 5mL. Adicionou-se a amostra em análise utilizando a concentração de 20 ug/mL e 400µL do reagente Folin-Ciocalteu. Os balões foram levemente agitados e adicionados 600µL de solução de carbonato de sódio à 20%. Completaram-se os balões até o menisco com água destilada e foram agitados novamente. A reação ocorreu em banho-maria por 20 minutos a uma temperatura de 40°C. Todo o ensaio foi feito em triplicata e em ambiente com baixa luminosidade.

As mensurações das absorbâncias em função da concentração foram feitas em espectrofotômetro UVVIS Shimadzu Mini1240 a 760 nm, em triplicata. Os resultados foram expressos como percentual (m/m), mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de amostra.

4.7 Teor de Flavonoides Totais

A determinação espectrofotométrica dos flavonoides foi realizada de acordo com metodologia descrita por Woisky e Salatino (1998). Inicialmente, uma curva padrão com quercetina dihidratada. Construiu-se uma curva de calibração fazendo uso de oito diluições de quercetina dihidratada (2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0, 12,0, 14,0, 16,0 µg/mL). A equação da curva de calibração obtida através de regressão linear.

Foram adicionado 3mL de metanol P.A em balões volumétricos de 5mL. Adicionou-se a amostra em análise utilizando a concentração de 300 ug/mL. Adicionou-se 100µL de cloreto de alumínio a 5% e agitou-se levemente os balões. Completou-se os balões até o menisco com metanol P.A. A reação ocorreu por 30 minutos em câmara escura. O ensaio foi feito em triplicata e em ambiente com baixa luminosidade.

Foi tomada a leitura de cada solução a 425 nm, em espectrofotômetro UVVIS Shimadzu Mini1240. Os resultados foram expressos como percentual (m/m), mg de equivalente de quercetina por grama de amostra.

4.8 Avaliação da Atividade Antioxidante

A atividade sequestrante do radical DPPH foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Sales (2012), com modificações. Preparou-se uma solução 0,1 mM do radical DPPH• (Sigma Aldrich). Inicialmente adicionou-se alíquotas em balões de 5 mL da solução estoque correspondente as concentrações 1, 5, 10 e 25 µg/mL, respectivamente, do EEPV.

Foram adicionados 2 ml do reagente DPPH em cada balão respeitando também o mesmo intervalo de tempo. A reação ficou no escuro por 30 minutos. Depois do decorrido o tempo, os balões foram completados com etanol absoluto até a marca do menisco. As mensurações das absorbâncias em função da concentração foram feitas em espectrofotômetro UVVIS Shimadzu Mini1240 a 517 nm, em triplicata.

4.9 Análise Termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas das membranas (MX1, MX2 e MX3) e dos componentes isolados foram obtidas por um equipamento TGA-50 Shimadzu (Tokyo/Japão). Antes dos ensaios foi verificada a calibração da balança do equipamento através de peso padrão.

Na TGA, foram usados 5mg de amostra foram submetidos a uma temperatura de 25°C, com aumento de temperatura de 10°C/min, até 900°C, com atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20mL/min. Com o uso de um cadinho de platina. Os dados de TGA foram analisados utilizando o software TasyS da Shimadzu.

4.10 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

Para analisar os processos de transição de fases físicas das membranas (MX1, MX2 e MX3), do EEPV, dos excipientes isolados, e das misturas binárias foi utilizado o equipamento DSC-60 Plus Shimadzu (Tokyo/Japão). Antes dos ensaios foi verificada a calibração do equipamento empregando uma amostra padrão de índio sob as mesmas condições experimentais.

A amostra (2mg) foi submetida a uma temperatura de 25°C, com aquecimento de 10°C/min, até 500°C. Em uma atmosfera de nitrogênio, com fluxo de gás de 100mL/min. Com o uso de um cadinho de alumina. Os dados de DSC foram analisados utilizando o software Tasys da Shimadzu.

4.11 Análises Estatísticas

Os resultados estatísticos presentes nesse trabalho foram obtidos através programa Excel 2013.

5. RESULTADOS E DISCURSÕES

5.1 Aspectos das Misturas Binárias

As misturas binárias foram obtidas com êxito. Apresentam-se como uma mistura de coloração e granulometria uniforme. Esses aspectos são fundamentais para analisar a amostra.

5.2 Aspectos físicos macroscópicos das membranas

As membranas foram formadas com êxito e demonstraram característica porosa na superfície superior e lisa na inferior. As membranas mostraram-se maleáveis devido ao NaCMC e mantiveram o caráter flexível mesmo na presença de um agente reticulante (pectina cítrica).

Além disso, foi possível observar a alta capacidade de intumescimento, sendo esta característica desejável para absorver exsudatos das feridas com a finalidade de mantê-las secas. As membranas apresentaram boa resistência mecânica. O tempo e a temperatura da estufa foram ideais para evitar que as membranas ficassem quebradiças e rachadas.

5.3 Teor de Fenóis Totais e de Flavonoides Totais

O percentual de fenóis totais do EEPV está expresso na tabela 14. O teor encontrado em 20 µg/mL do EEPV foi de 208,0 mg EAG.g⁻¹, expressos como equivalente de ácido gálico por grama de própolis vermelha. E o percentual de flavonoides totais, como mostra a tabela 2, encontrado em 300 µg/mL foi de 45,3 mg EQ.g⁻¹, expressos como equivalente de quercetina, por grama de própolis vermelha.

Tabela 14. Teores totais dos compostos fenólicos e de flavonoides em amostras de extrato etanólico da própolis vermelha (EEPV).

Substâncias Dosadas	Concentração (µg/mL)	EEPV (%) CV*	EEPV (mg/g)
¹ Fénóis Totais	20	20,80 ± 1,69	208,0
² Flavonoides Totais	300	4,53 ± 1,27	45,3

Média ±, CV = 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).

Fonte: Do autor.

Um estudo quantificou no EEPV os teores de compostos fenólicos totais em 416,31 mg EAG.g⁻¹ e flavonoides totais em 32,91 mg EQ.g⁻¹ (RIGHI *et al.*, 2011). Essa diferença no percentual de compostos fenólicos e de flavonoides é provavelmente devido a sazonalidade que a abelha produziu a própolis vermelha (MACHADO *et al.*, 2016). A própolis do presente trabalho mostrou-se rica em compostos fenólicos quando comparada com a literatura.

A composição química do extrato deste trabalho atende os requisitos mínimos de qualidade do Ministério da Agricultura para extratos etanólicos de própolis vermelha. É determinado que um extrato alcoólico de própolis vermelha contenha um mínimo de 0,5% (m/m) de compostos fenólicos e um mínimo de 0,25% (m/m) de flavonoides (BRASIL, 2001).

5.4 Avaliação da Atividade Antioxidante - DPPH•

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante do EEPV mostraram-se satisfatórios, conforme mostra a tabela 15. As concentrações mínimas e máximas do

extrato (1µg/mL e 25 µg/mL) apresentaram percentual de inibição do radical DPPH de 59,36% e 88,31%, respectivamente. A capacidade sequestradora do radical DPPH• foi proporcional ao aumento da concentração do extrato, mostrando-se ascendente.

Tabela 15. Avaliação da atividade antioxidante do EEPV (% inibição do radical DPPH).

Amostras	µg/mL	Atividade antioxidante (%)
		CV*
EEPV	1	59,36 ± 0,48
	5	66,94 ± 2,58
	10	73,63 ± 3,46
	25	88,31 ± 3,12

Média ±, CV = Coeficiente de Variação*

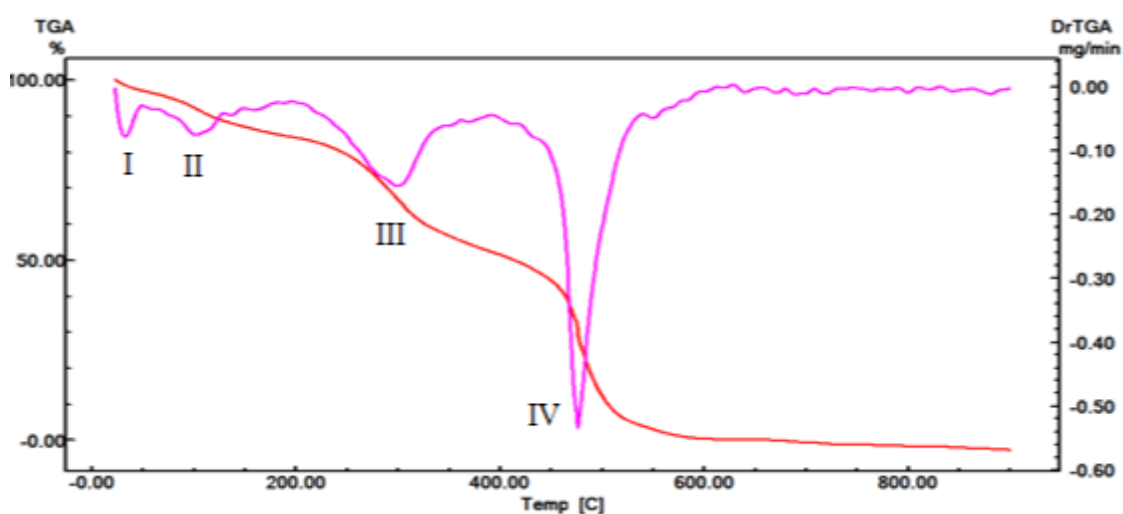
Fonte: Do autor.

Os resultados obtidos revelam que o EEPV apresenta atividade antioxidante aumentada devido apresentar alto teor de compostos fenólicos, incluindo os flavonoides. Muitos estudos relataram atividade antioxidante para os flavonoides, devido à sua capacidade de reduzir a formação de radicais livres e eliminar os radicais livres (RUFATTO et al., 2017).

5.5 Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

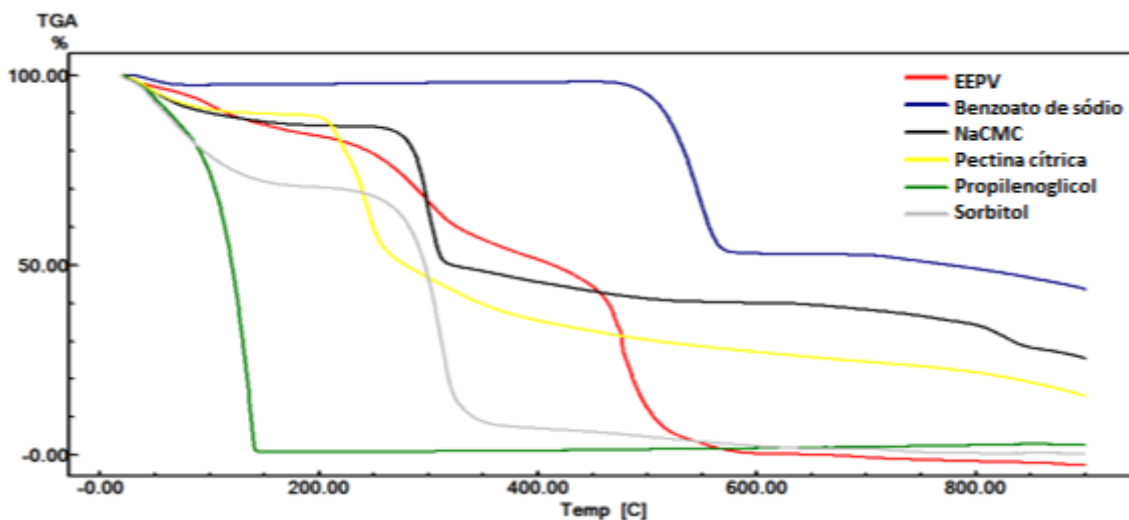
Foram obtidos os perfis de degradação térmica do EEPV (gráfico 6) e dos componentes de forma isolada (gráfico 7). O gráfico 1b faz a comparação dos perfis de todos os componentes.

Gráfico 6. TGA e DrTGA da decomposição controlada do EEPV.



Fonte: Do autor.

Gráfico 7. TGA da decomposição dos componentes das membranas.



Fonte: Do autor.

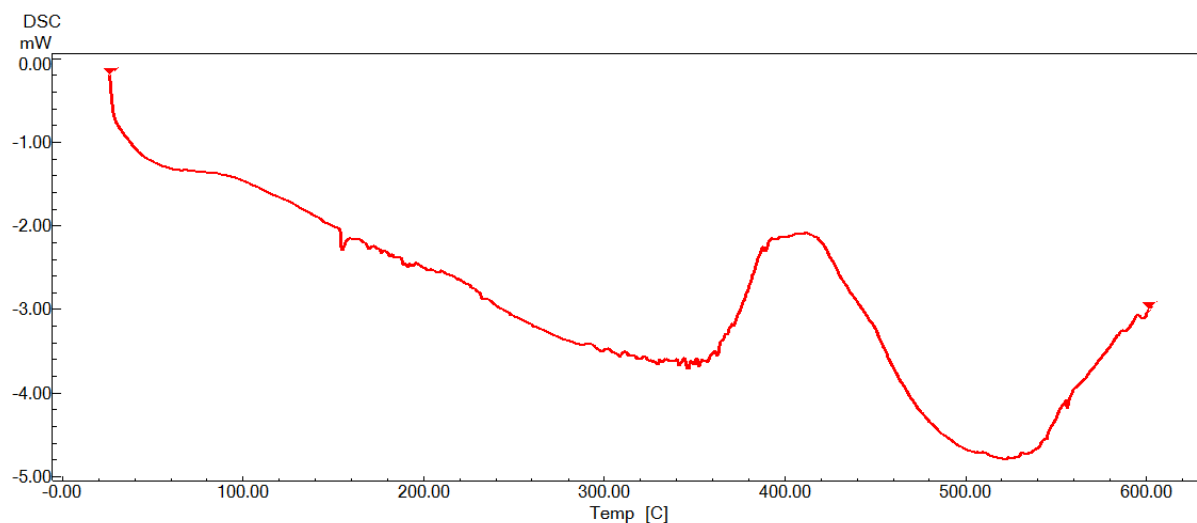
5.5.1 Perfil Térmico do EEPV

O perfil térmico obtido pelo TGA do EEPV, como mostra o gráfico 6, apresenta 4 eventos de degradação térmica, nenhum foi sobreposto. O primeiro foi referente ao teor de umidade (início: 27,83 °C, fim: 39,53 °C e perda de massa de 2,65%) que ocorreu provavelmente devido à presença de traços de álcool etílico no processo de extração. O segundo evento (início: 82,01 °C, fim: 135,29 °C e perda de massa de 12,83%), o terceiro evento (início: 253,86 °C, fim: 327,49 °C e perda de massa de 31,88%), e o quarto evento (início: 474,56 °C, fim: 489,01 °C e perda de massa de 53,86%).

A curva de decomposição do EEPV por DSC, como mostra o gráfico 8, apresentou dois eventos térmicos. O primeiro processo de transição foi endotérmico (início: 153,32 °C; fim: 364,35 °C; pico: 346,48 °C; entalpia: -152,62 J/g). E o segundo processo de transição foi exotérmico (início: 374,45 °C; fim: 436,31 °C; pico: 411,93 °C; entalpia: +162,56 J/g).

Várias substâncias pertencentes a diversas classes de metabólitos secundários foram encontradas no extrato etanólico de própolis vermelha como: isoflavonóides, pterocarpans, chalconas, flavonóides, benzofenonas preniladas, terpenos e taninos. E os principais marcadores químicos da própolis vermelha são isoflavonóides como: formononetina, biochanina A, pinocembrina e medicarpina (FREIRES; DE ALENCAR; ROSALEN, 2016). Para a elucidação de cada evento de degradação térmica do EEPV é necessário novos estudos de caracterização físico-química.

Gráfico 8. Curva de DSC do EEPV.

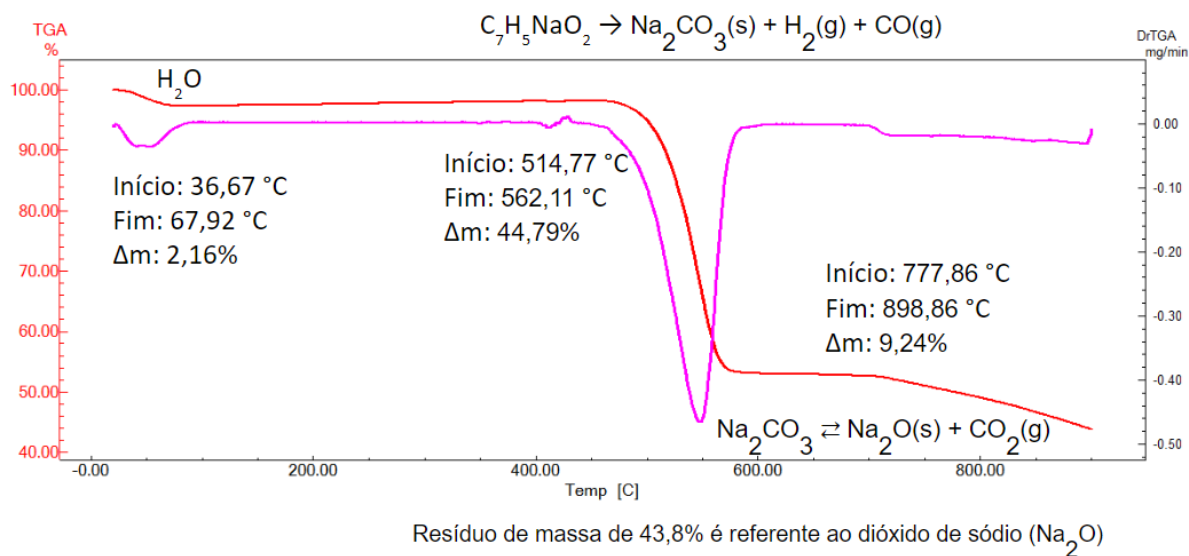


Fonte: Do autor.

5.5.2 Perfil Térmico do Benzoato de Sódio

O benzoato de sódio apresentou 3 curvas térmicas (gráfico 9). Nenhuma curva ficou sobreposta. Sendo a primeira curva (início: 36,67 °C, fim: 67,92 °C e perda de massa de 2,16%) ocorreu devido a um processo de desidratação. Na segunda curva (início: 514,77 °C, fim: 562,11 °C e perda de massa de 44,79%) houve a decomposição do benzoato de sódio, formando Na_2CO_3 sólido, e H_2 e CO gasosos. Na terceira curva (início: 777,86 °C, fim: 898,86 °C e perda de massa de 9,24%) ocorreu a decomposição do Na_2CO_3 , formando do dióxido de sódio (Na_2O) e CO_2 gasoso. O total de perda de massa durante toda a degradação foi de 56,2%. O resíduo de massa de 43,8% é referente ao dióxido de sódio (Na_2O) (MASŁOWSKA; WIĘDŁOCHA, 2000).

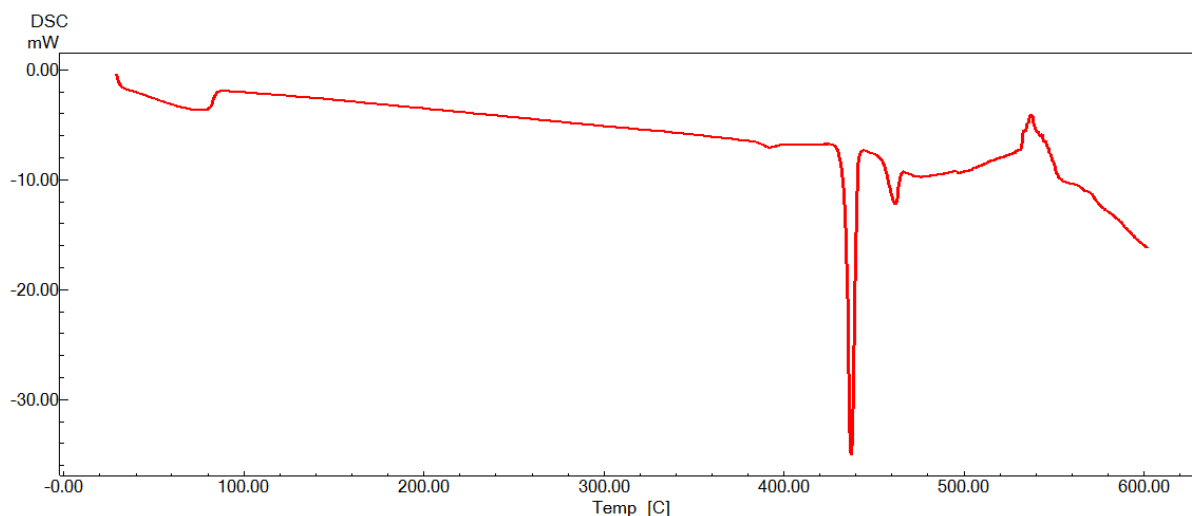
Gráfico 9. Perfil de degradação térmica do benzoato de sódio em TGA.



Fonte: Do autor.

A curva de decomposição do benzoato de sódio (gráfico 10) apresenta 4 eventos térmicos. O primeiro evento foi endotérmico (início: 49,90 °C; fim: 84,362 °C; pico: 76,14 °C; entalpia: -39,42 J/g). O segundo evento foi endotérmico (início: 433,97 °C; fim: 440,42 °C; pico: 437,26 °C; entalpia: -234,94 J/g). O terceiro evento também foi endotérmico (início: 454,89 °C; fim: 464,10 °C; pico: 461,65 °C; entalpia: -57,71 J/g). E o último evento foi exotérmico (início: 531,42 °C; fim: 545,59 °C; pico: 536,83 °C; entalpia: +100,92 J/g).

Gráfico 10. Curva de DSC do benzoato de sódio.

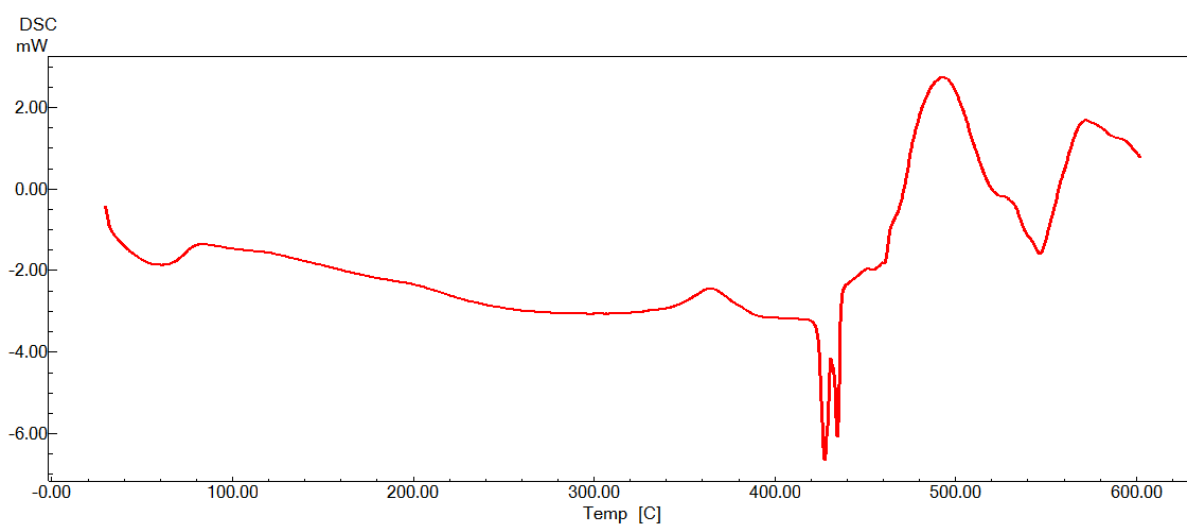


Fonte: Do autor.

A curva da mistura binária EEPV + benzoato de sódio (gráfico 11) apresenta 6 eventos térmicos. O primeiro evento foi endotérmico (início: 35,12 °C; fim: 79,85 °C; pico: 61,38 °C; entalpia: -36,04 J/g), a entalpia negativa mostra que houve quebra de ligações químicas que foi uma volatilização de umidade. O segundo evento térmico foi exotérmico (início: 341,77 °C; fim: 387,54 °C; pico: 364,08 °C; entalpia: +44,48 J/g), que foi uma cristalinização de componentes da própolis vermelha. O terceiro e o quarto evento apresentam-se endotérmicos e sobrepostos, estes eventos são referentes a dois eventos de degradação do benzoato de sódio, porém a mistura binária com o EEPV impediu que liberação de energia fosse grande; sendo o terceiro (início: 423,85 °C; fim: 430,43 °C; pico: 427,48 °C; entalpia: -16,30 J/g) e o quarto (início: 431,08 °C; fim: 436,42 °C; pico: 434,43 °C; entalpia: +8,97 J/g). O quinto evento foi exotérmico, referente a uma degradação do EEPV, porém a mistura aumentou a estabilidade térmica (início: 470,89 °C; fim: 515,24 °C; pico: 492,54 °C; entalpia: + 174,07 J/g). E o último evento foi endotérmico, referente ao último processo de degradação do benzoato de sódio, a mistura aumentou a estabilidade térmica (início: 531,83 °C; fim: 565,48 °C; pico: 546,60 °C; entalpia: - 87,80 J/g).

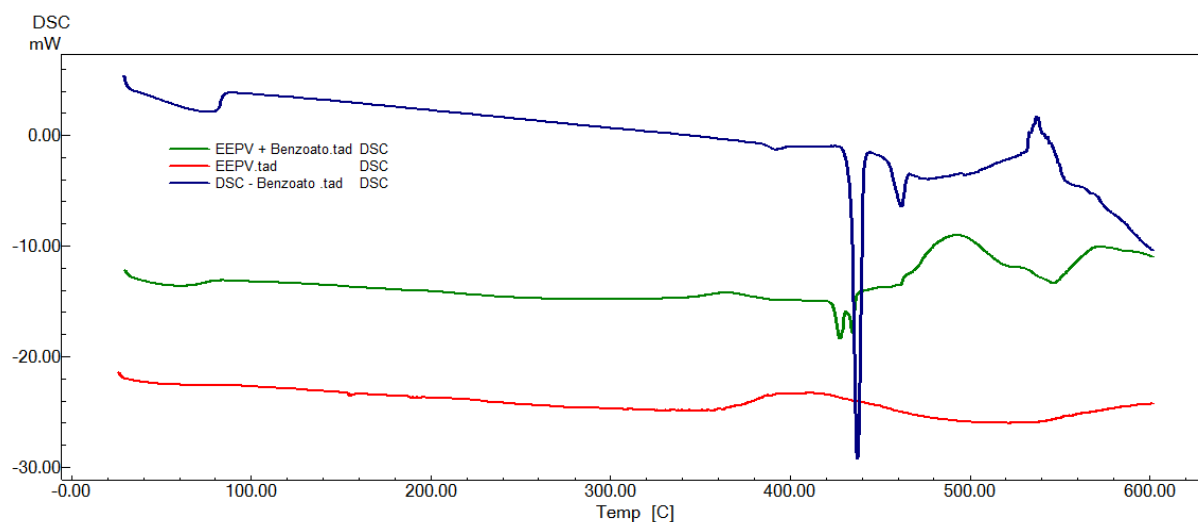
O gráfico 12 faz a comparação das curva de DSC do EEPV, do benzoato de sódio e da mistura binária EEPV + benzoato de sódio.

Gráfico 11. Curva de DSC da mistura binária EEPV + benzoato de sódio.



Fonte: Do autor.

Gráfico 12. Comparação das curva de DSC do EEPV, do benzoato de sódio e da mistura binária EEPV + benzoato de sódio.

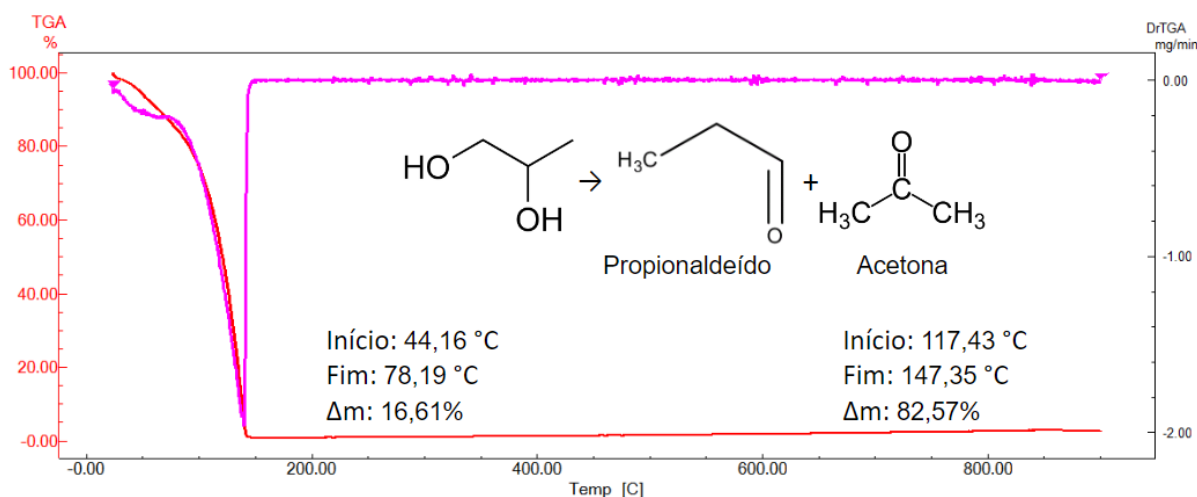


Fonte: Do autor.

5.5.3 Perfil Térmico do Propilenoglicol

O propilenoglicol apresentou 2 curvas (gráfico 13), sendo que elas ficaram sobrepostas. A primeira curva (início: 44,16 °C, fim: 78,19 °C e perda de massa de 16,61%) e a segunda (início: 117,43 °C, fim: 147,35 °C e perda de massa de 82,57%). A degradação do propilenoglicol na atmosfera de N₂ é explicada por um processo de desidratação que é a formação de propionaldeído e de acetona por meio da formação do óxido de propileno intermediário (SALIBA et al., 2018).

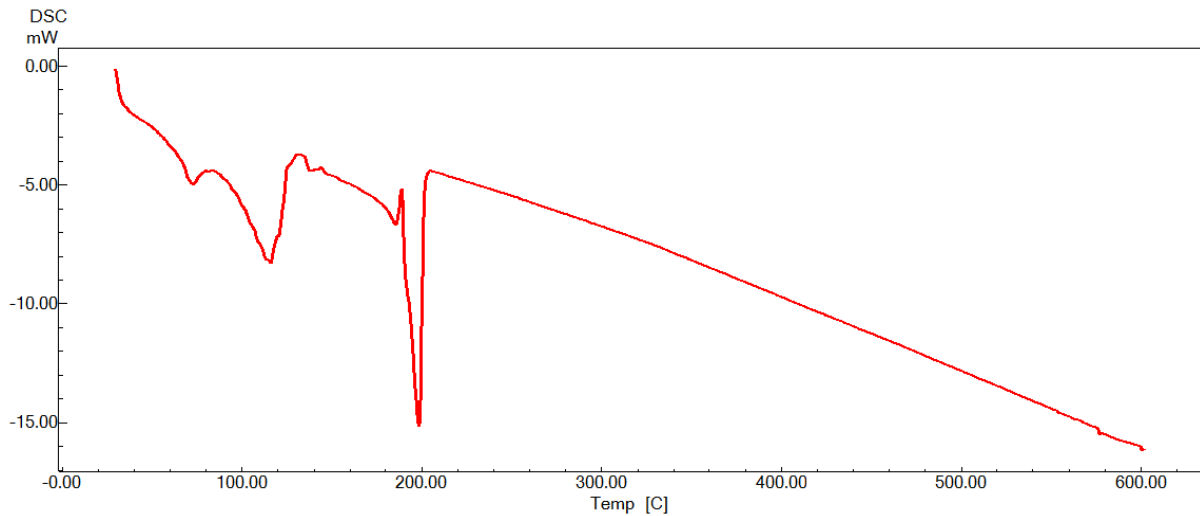
Gráfico 13. Perfil de degradação térmica do propilenoglicol em TGA.



Fonte: Do autor.

A curva de degradação do propilenoglicol (gráfico 14) apresenta 3 eventos térmicos. O primeiro evento foi endotérmico (início: 63,59 °C; fim: 78,62 °C; pico: 72,68 °C; entalpia: -28,05 J/g). O segundo evento foi endotérmico (início: 100,28 °C; fim: 125,68 °C; pico: 116,11 °C; entalpia: -161,93 J/g). E o último evento foi endotérmico (início: 189,39 °C; fim: 201,33 °C; pico: 198,34 °C; entalpia: -122,46 J/g).

Gráfico 14. Curva de DSC do propilenoglicol.

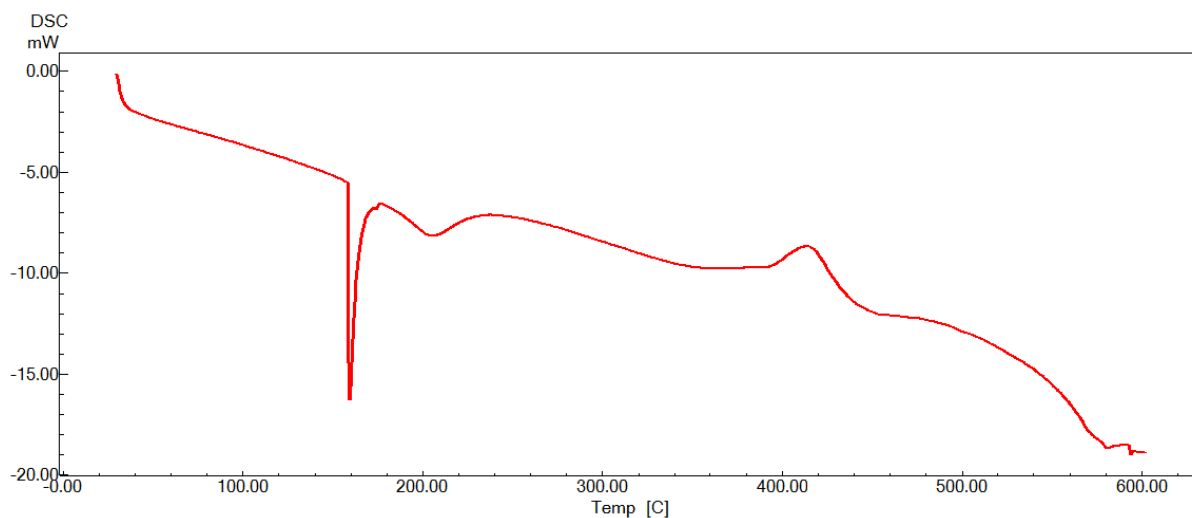


Fonte: Do autor.

A curva de degradação da mistura binária EEPV + propilenoglicol, como mostra o gráfico 15, apresenta 3 eventos térmicos. O primeiro foi endotérmico, mostrando que o propilenoglicol diminuiu a estabilidade térmica (início: 158,34 °C; fim: 164,65 °C; pico: 159,51 °C; entalpia: -86,28 J/g). O segundo evento térmico mostrou-se também endotérmico, a mistura binária diminuiu a estabilidade do último evento do propilenoglicol (início: 189,03 °C; fim: 228,05 °C; pico: 205,87 °C; entalpia: -54,50 J/g). O terceiro evento térmico apresentou-se exotérmico, referente ao último evento térmico do EEPV (início: 395,97 °C; fim: 438,52 °C; pico: 413,74 °C; entalpia: +145,81 J/g).

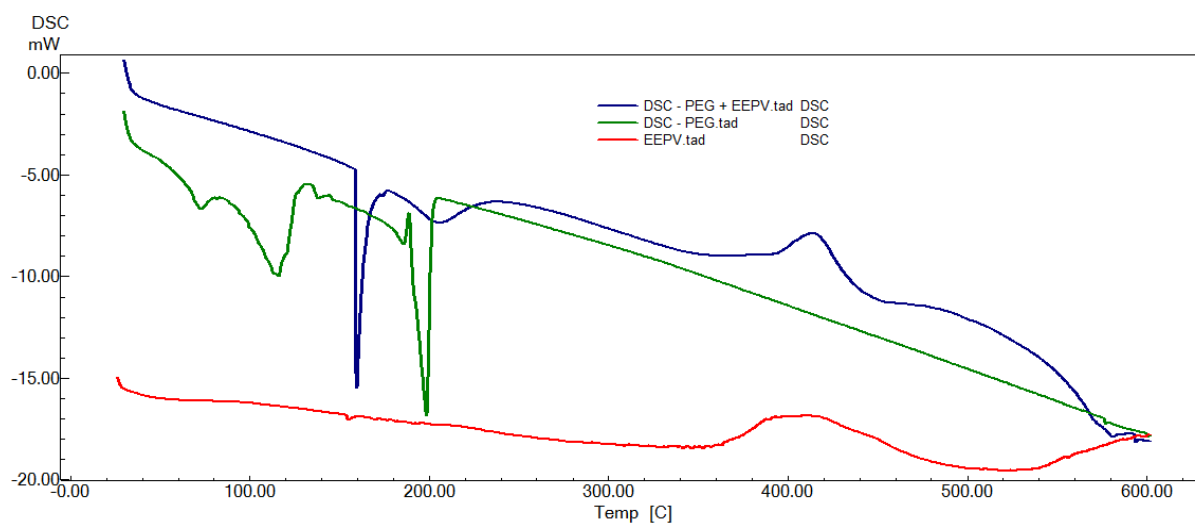
O gráfico 16 faz a comparação das curvas de DSC do EEPV, do propilenoglicol e da mistura binária EEPV + propilenoglicol.

Gráfico 15. Curva de DSC da mistura binária EEPV + propilenoglicol.



Fonte: Do autor.

Gráfico 16. Comparação das curva de DSC do EEPV, do propilenoglicol e da mistura binária EEPV + propilenoglicol.

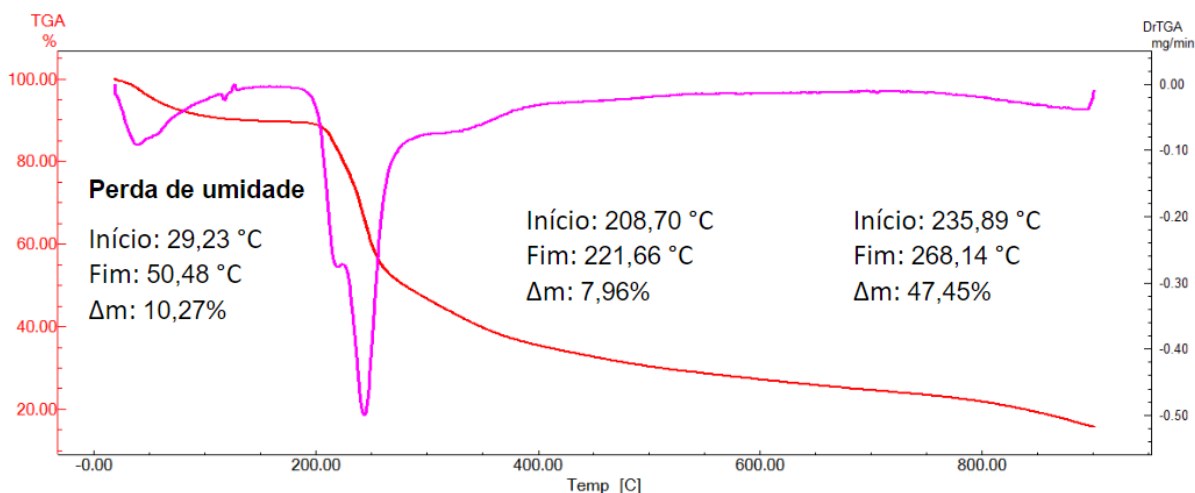


Fonte: Do autor.

5.5.4 Perfil Térmico da Pectina Cítrica

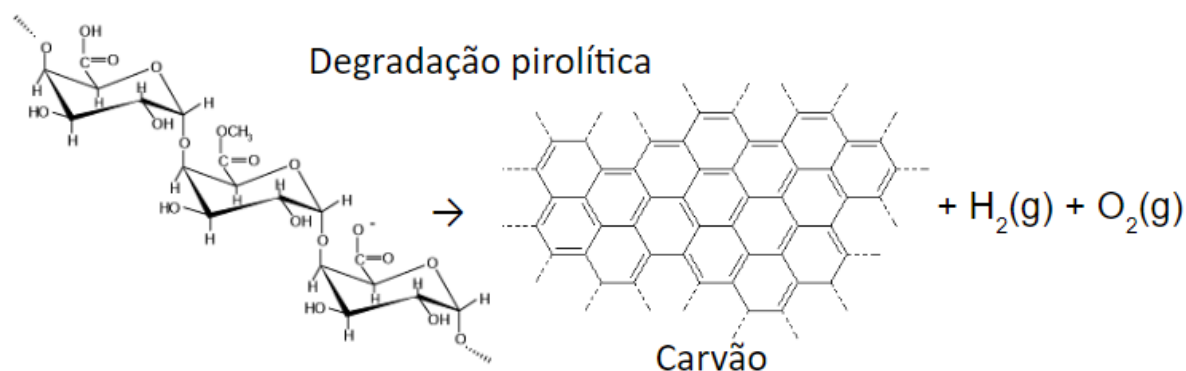
A pectina cítrica, componente em maior quantidade em todas as membranas, apresentou 3 curvas de degradação (gráfico 17). A primeira curva (início: 29,23 °C, fim: 50,48 °C e perda de massa de 10,27%) ocorreu devido à perda de umidade, a segunda curva (início: 208,70 °C, fim: 221,66 °C e perda de massa de 7,96%) e a terceira (início: 235,89 °C, fim: 268,14 °C e perda de massa de 47,45%). A segunda e terceira curvas ocorrem devido à degradação pirolítica do polissacarídeo (figura 20). As cadeias do ácido galacturônico sofrem decomposição térmica, e, em seguida, ocorre a descarboxilação do grupo ácido e do carbono no anel, com a evolução de diversos produtos gasosos e a formação de carvão sólido. A partir disso, há apenas a degradação térmica do carvão (WANG et al., 2016).

Gráfico 17. Perfil de degradação térmica da pectina cítrica em TGA.



Fonte: Do autor.

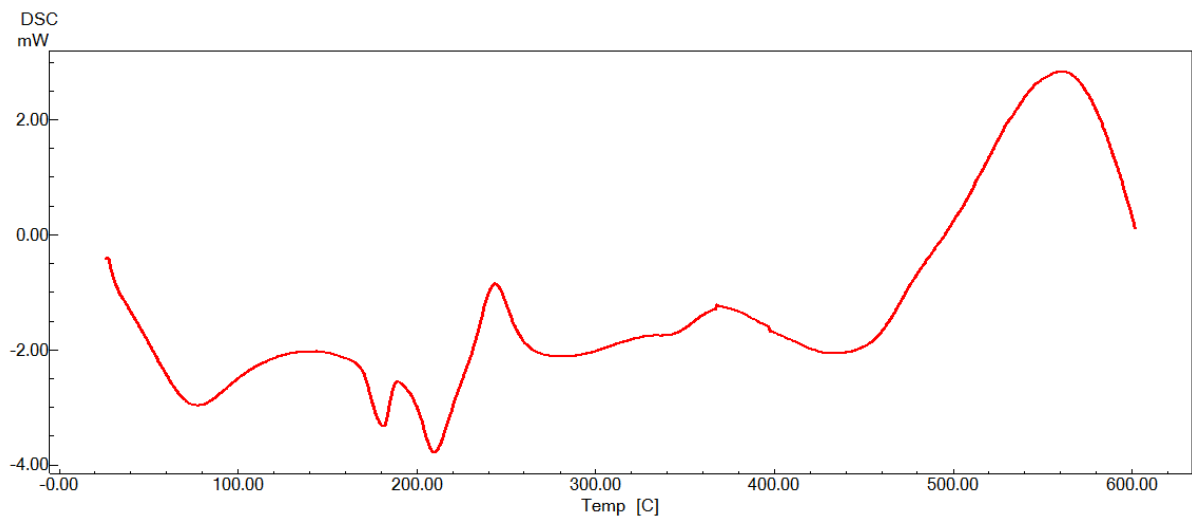
Figura 20. Degradação pirolítica da pectina cítrica.



Fonte: WANG et al., 2016 (com adaptações).

A curva de decomposição da pectina cítrica (gráfico 18) apresentou 6 eventos térmicos. O primeiro evento foi endotérmico (início: 33,22 °C; fim: 115,90 °C; pico: 77,22 °C; entalpia: -169,25 J/g). O segundo evento térmico foi endotérmico (início: 168,41 °C; fim: 186,84 °C; pico: 181,40 °C; entalpia: -17,03 J/g). O terceiro eventos térmico foi endotérmico (início: 197,82 °C; fim: 221,63 °C; pico: 209,75 °C; entalpia: -47,15 J/g). O quarto evento térmico foi exotérmico (início: 232,72 °C; fim: 260,50 °C; pico: 243,91 °C; entalpia: +52,84 J/g). O quinto eventos térmico foi exotérmico (início: 358,40 °C; fim: 403,61 °C; pico: 367,81 °C; entalpia: +106,52J/g). E o último processo térmico foi exotérmico (início: 471,22 °C; fim: 585,75 °C; pico: 560,42 °C; entalpia: +491,49 J/g).

Gráfico 18. Curva de DSC da pectina cítrica.

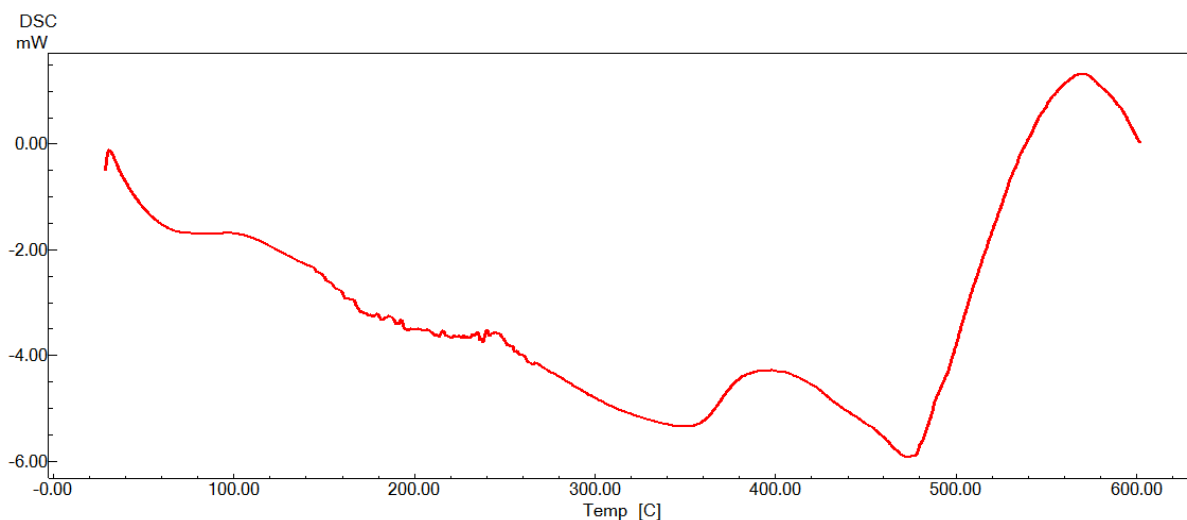


Fonte: Do autor.

A curva de decomposição da mistura binária EEPV + pectina cítrica, com mostra o gráfico 19, apresenta três eventos térmicos. O primeiro evento foi exotérmico (início: 239,01 °C; fim: 255,75 °C; pico: 243,49 °C; entalpia: +13,75 J/g). O segundo evento foi exotérmico (início: 358,95 °C; fim: 469,12 °C; pico: 396,12 °C; entalpia: +183,14 J/g). E terceiro evento foi também exotérmico (início: 482,83 °C; fim: 593,43 °C; pico: 569,87 °C; entalpia: +429,70 J/g). A mistura binária EEPV + pectina cítrica mostrou que a presença da pectina cítrica favorece um aumento na estabilidade térmica do EEPV.

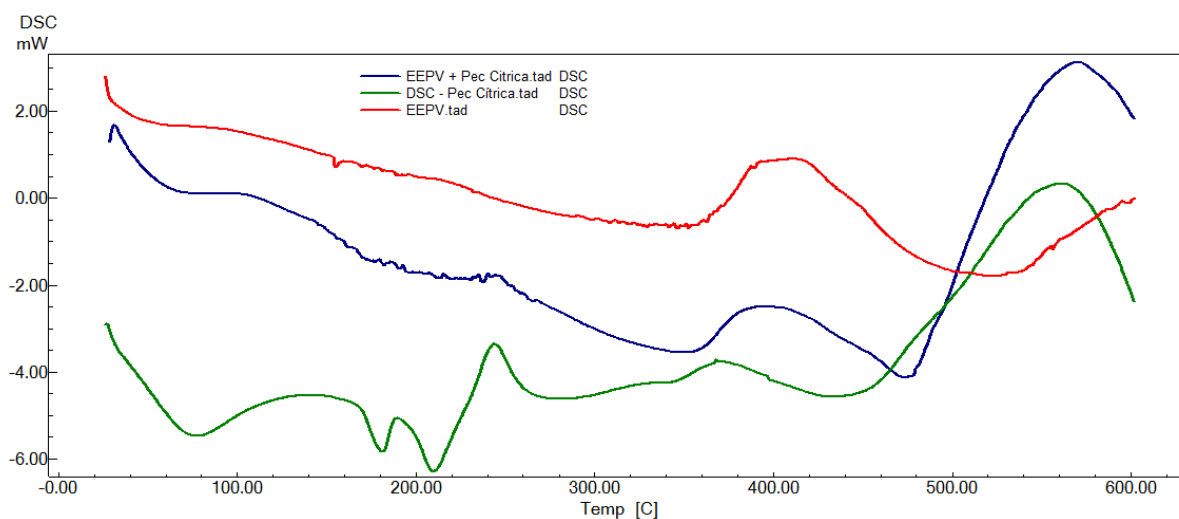
O gráfico 20 faz a comparação das curva de DSC do EEPV, da pectina cítrica e da mistura binária EEPV + pectina cítrica.

Gráfico 19. Curva de DSC da mistura binária EEPV + pectina cítrica.



Fonte: Do autor.

Gráfico 20. Comparação das curva de DSC do EEPV, da pectina cítrica e da mistura binária EEPV + pectina cítrica.



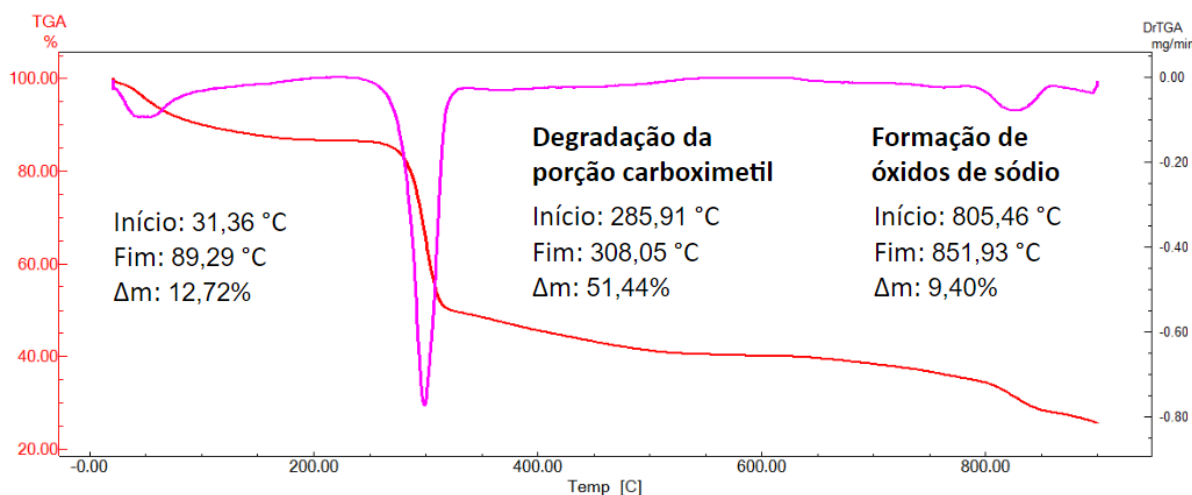
Fonte: Do autor.

5.5.5 Perfil Térmico do NaCMC

O NaCMC apresentou 3 curvas de degradação (gráfico 21), nenhuma ficou sobreposta. Sendo a primeira curva (início: 31,36 °C, fim: 89,29 °C e perda de

massa de 12,72%) foi referente a perda de umidade ligada a amostra, a segunda curva (início: 285,91 °C, fim: 308,05 °C e perda de massa de 51,44%) foi a degradação da porção carboximetil, que confere a substância a sua estabilidade térmica (KUMAR VARMA et al., 2016), e a terceira curva (início: 805,46 °C, fim: 851,93 °C e perda de massa de 9,40%) foi o evento de carbonização. O total de perda de massa durante toda a degradação foi de 73,57%, esse resíduo aconteceu devido à presença de óxidos de sódio.

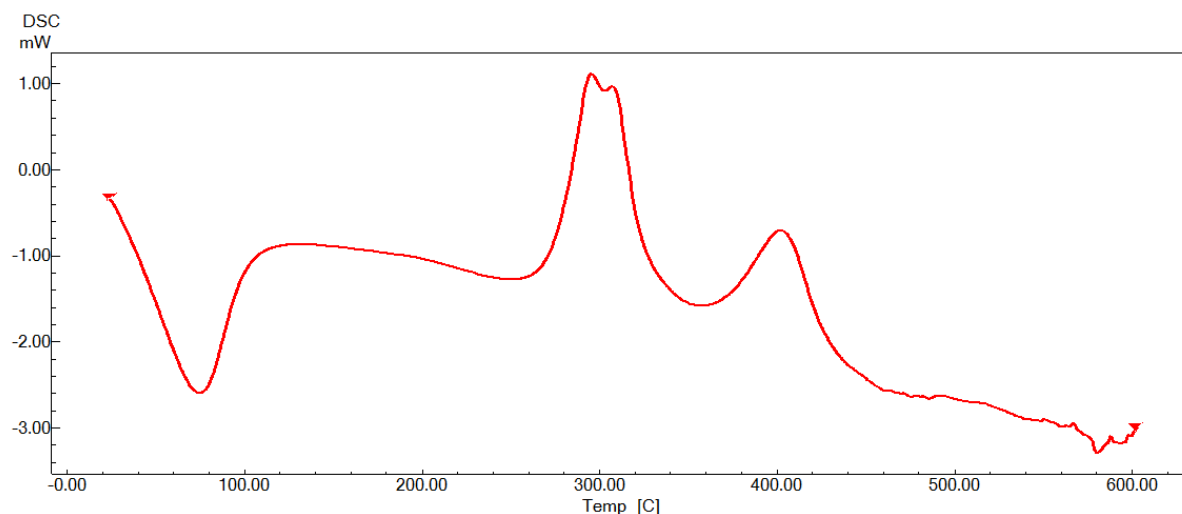
Gráfico 21. Perfil de degradação térmica do NaCMC em TGA.



Fonte: Do autor.

A curva de decomposição do NaCMC (gráfico 22) apresenta 3 eventos térmicos. O primeiro evento foi endotérmico (início: 39,37 °C; fim: 101,47 °C; pico: 74,68 °C; entalpia: - 254,87 J/g). O segundo evento foi exotérmico (início: 273,87 °C; fim: 325,59 °C; pico: 295,36 °C; entalpia: +291,23 J/g). E o terceiro evento térmico foi exotérmico (início: 371,81 °C; fim: 430,14 °C; pico: 401,88 °C; entalpia: +148,24 J/g).

Gráfico 22. Curva de DSC do carboximetilcelulose de sódio 3000 (NaCMC).

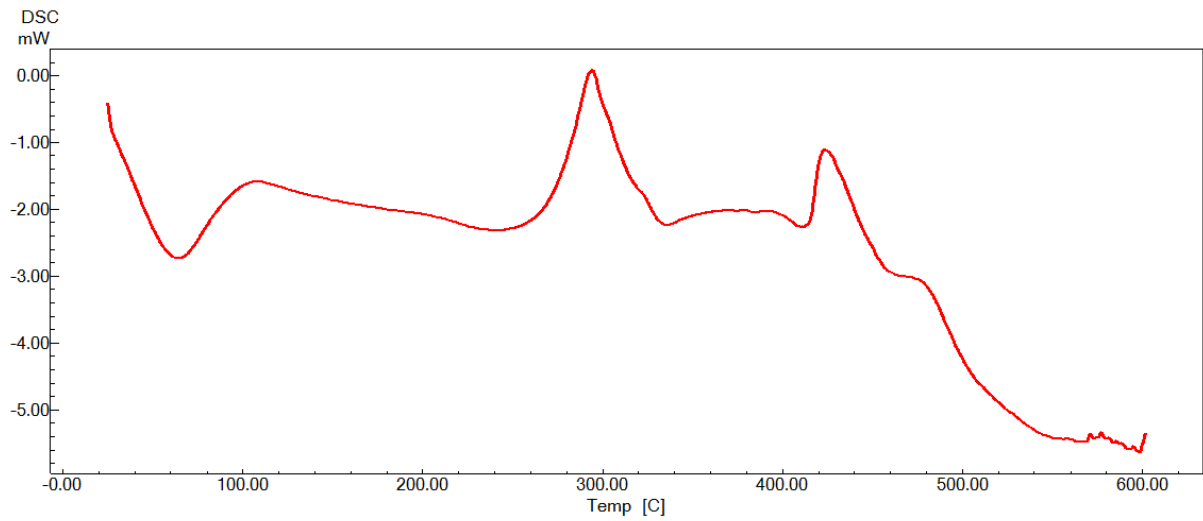


Fonte: Do autor.

A curva de decomposição da mistura binária EEPV + NaCMC (gráfico 23) apresentou 4 eventos térmicos. O primeiro evento foi endotérmico, referente a perda de umidade ligada ao NaCMC (início: 38,20 °C; fim: 95,02 °C; pico: 64,23°C; entalpia: -118,44 J/g). O segundo evento foi exotérmico, foi referente a degradação da porção carboximetil do NaCMC por cristalinização (início: 272,74 °C; fim: 312,27 °C; pico: 294,32 °C; entalpia: + 146,91 J/g). O terceiro evento foi exotérmico, foram eventos característicos do EEPV e do NaCMC (início: 337,17 °C; fim: 408,31 °C; pico: 377,20 °C; entalpia: + 24,61 J/g). E o último evento foi também exotérmico, referente a formação de óxidos (início: 415,36 °C; fim: 451,79 °C; pico: 423,82 °C; entalpia: + 56,92 J/g).

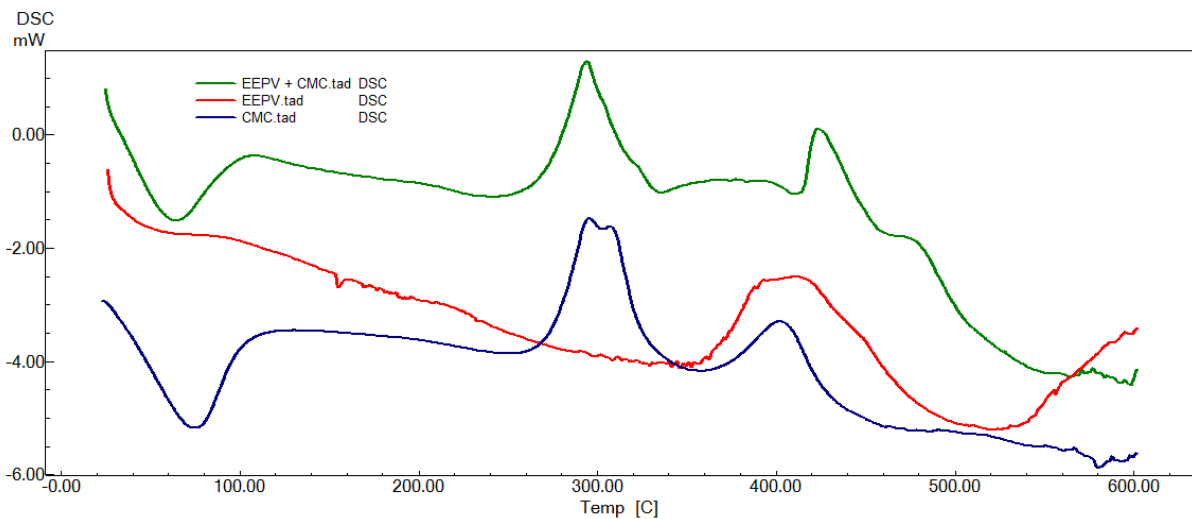
O gráfico 24 faz a comparação das curvas de DSC do EEPV, do NaCMC e da mistura binária EEPV + NaCMC.

Gráfico 23. Curva de DSC da mistura binária EEPV + NaCMC.



Fonte: Do autor.

Gráfico 24. Comparação das curva de DSC do EEPV, do NaCMC e da mistura binária EEPV + NaCMC.

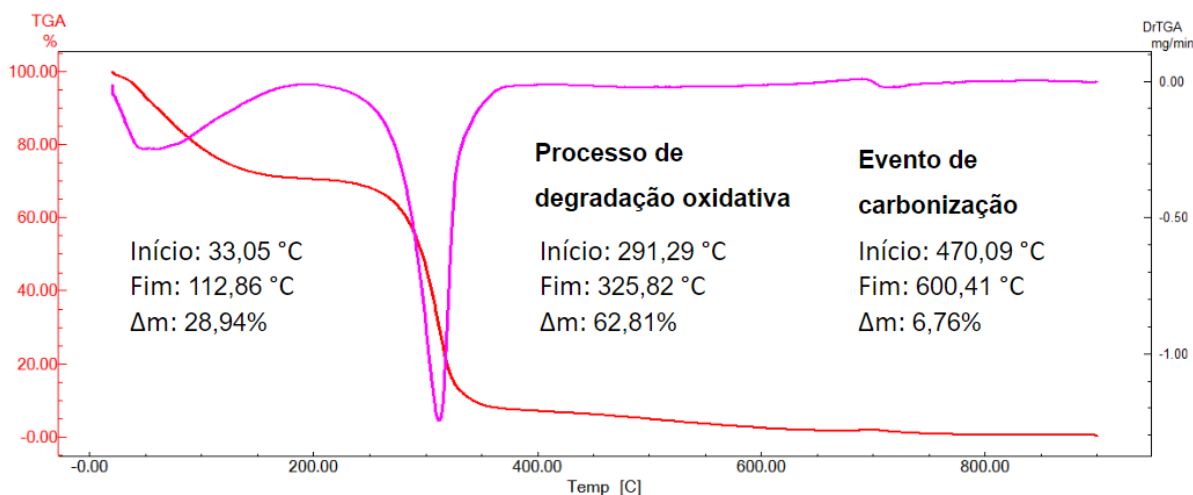


Fonte: Do autor.

5.5.6 Perfil Térmico do Sorbitol

O sorbitol apresentou 3 curvas de degradação (gráfico 25), nenhuma ficou sobreposta. A primeira curva (início: 33,05 °C, fim: 112,86 °C e perda de massa de 28,94%) foi referente a desidratação havendo assim formação de isossorbita. A segunda curva (início: 291,29 °C, fim: 325,82 °C e perda de massa de 62,81%) é referente a um processo de degradação oxidativa (BIRTA et al., 2008), a terceira curva (início: 470,09 °C, fim: 600,41 °C e perda de massa de 6,76%) é a degradação térmica do carvão.

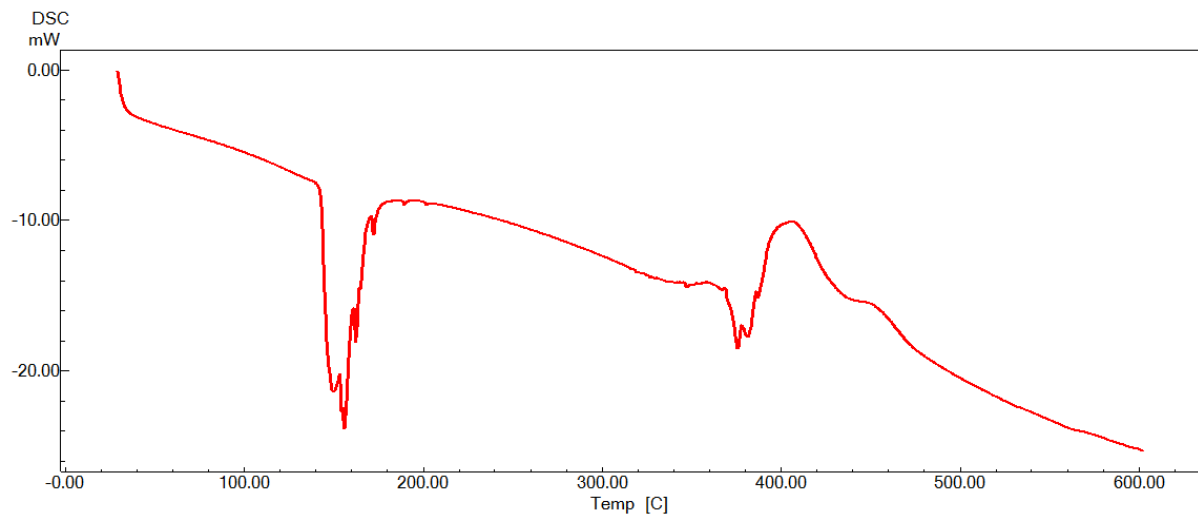
Gráfico 25. Perfil de degradação térmica do sorbitol em TGA.



Fonte: Do autor.

A curva de decomposição do sorbitol (gráfico 26) apresentou dois eventos térmicos. O primeiro foi endotérmico (início: 150,09 °C; fim: 166,98 °C; pico: 155,78 °C; entalpia: -593,52 J/g). E o último evento foi endotérmico (início: 370,39 °C; fim: 383,96 °C; pico: 375,83 °C; entalpia: -188,15 J/g).

Gráfico 26. Curva de DSC do sorbitol.

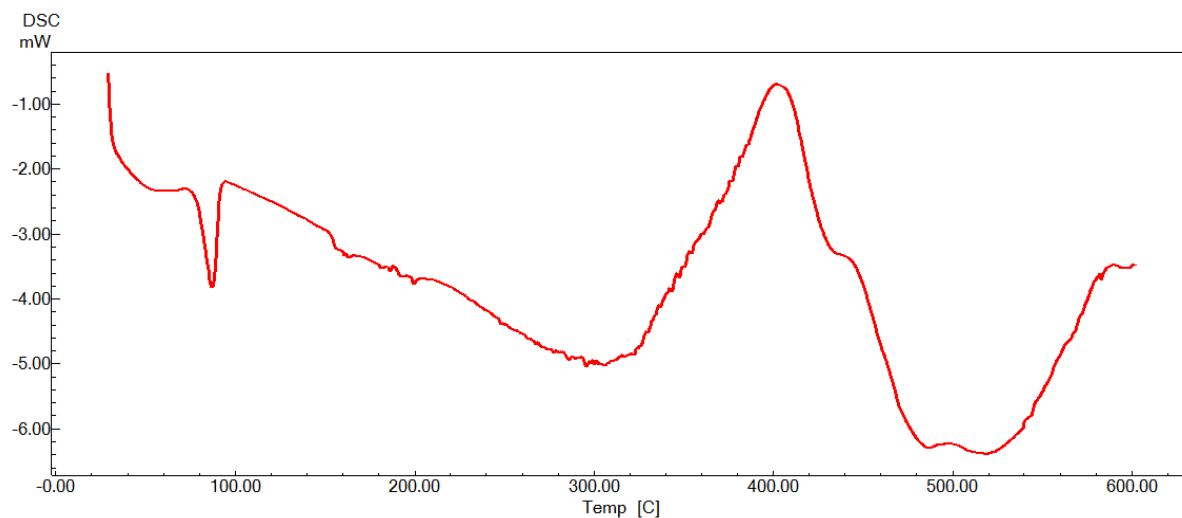


Fonte: Do autor.

A curva da mistura binária EEPV + sorbitol (gráfico 27) apresentou 4 eventos térmicos. O primeiro evento térmico foi endotérmico, mostrando que diminuiu a estabilidade térmica do EEPV (início: 78,86 °C; fim: 91,57 °C; pico: 87,17 °C; entalpia: -15,98 J/g). O segundo evento térmico foi endotérmico, referente a degradação oxidativa do sorbitol (início: 192,65 °C; fim: 315,94 °C; pico: 295,74 °C; entalpia: -39,53 J/g). O terceiro evento térmico apresentou-se como exotérmico (início: 356,86 °C; fim: 426,56 °C; pico: 402,04 °C; entalpia: +352,30 J/g). E o último evento térmico foi endotérmico, referente a carbonização do sorbitol (início: 450,48 °C; fim: 560,23 °C; pico: 518,85 °C; entalpia: -541,43 J/g).

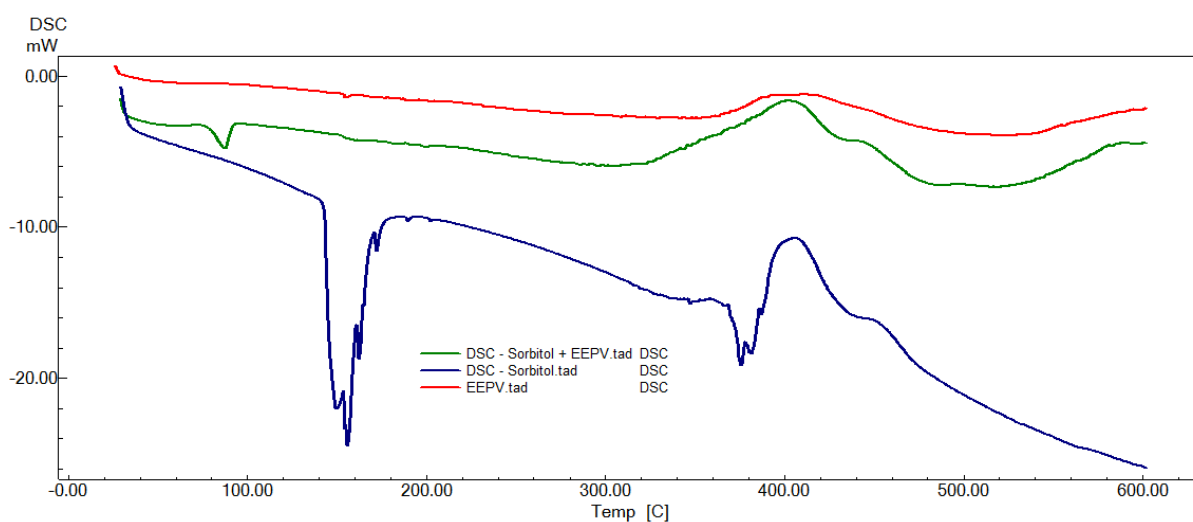
O gráfico 28 faz a comparação das curvas de DSC do EEPV, do sorbitol e da mistura binária EEPV + sorbitol.

Gráfico 27. Curva de DSC da mistura binária EEPV + sorbitol.



Fonte: Do autor.

Gráfico 28. Comparação das curva de DSC do EEPV, do sorbitol e da mistura binária EEPV + sorbitol.

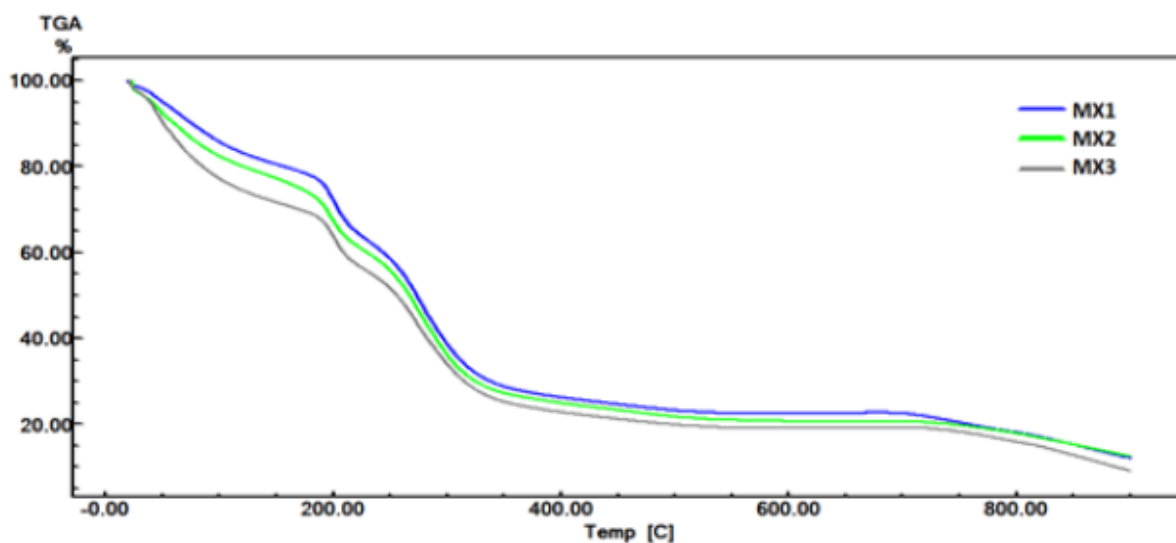


Fonte: Do autor.

5.5.7 Perfil Térmico das Membranas

O gráfico 29 compara os perfis térmicos das membranas MX1, MX2 e MX3 por TGA.

Gráfico 29. TGA da decomposição das membranas.



Fonte: Do autor.

A membrana MX1 apresentou 7 eventos de degradação térmica por TGA (gráfico 30), sendo que se apresentaram sobrepostos o 1º com o 2º, o 3º com o 4º, e o 6º com o 7º. O primeiro evento térmico (início: 30,96 °C, fim: 44,83 °C e perda de massa de 2,9%), o segundo (início: 54,75 °C, fim: 104,48 °C e perda de massa de 15,88%). Esses dois eventos correspondem ao teor de umidade da membrana, transformação do sorbitol em isossorbita por desidratação, degradação do propilenoglicol, e degradação de alguns componentes do EEPV. O terceiro (início: 190,83 °C, fim: 210,77 °C e perda de massa de 17,77%) está relacionado com degradação pirolítica da pectina cítrica. O quarto evento térmico (início: 257,78 °C, fim: 316,18 °C e perda de massa de 36,19%) corresponde com a degradação do NaCMC em membrana (PRIYA; NARENDRAKUMAR; MANJUBALA, 2019) e decomposição de alguns componentes do EEPV. O quinto (início: 510,63 °C, fim:

533,82 °C e perda de massa de 3,5%) está relacionado com a decomposição do benzoato de sódio. Os dois últimos eventos, sexto (início: 703,94 °C, fim: 780,28 °C e perda de massa de 4,31%) e o sétimo (início: 809,34 °C, fim: 899,84 °C e perda de massa de 6,3%), correspondem a degradação de óxidos de sódio e carbonificação do resíduo da membrana.

A curva de decomposição da MX1 por DSC (gráfico 33) apresentou 4 processos de transição. Sendo o primeiro e o terceiro endotérmico, e o segundo e quarto exotérmico. O primeiro (início em 126,49 °C, final em 136,09, e entalpia de -21,53 J/g) sugere a quebra de interações intermoleculares de alguns componentes da própolis vermelha e das interações intermoleculares dos polímeros, NaCMC e pectina cítrica. O segundo (início em 181,15 °C, final em 201,20, e entalpia de +19,44 J/g), sugerindo uma cristalização dos componentes da membrana. O terceiro processo (início em 250,30 °C, final em 279,02, e entalpia de -10,13 J/g) ocorre uma volatilização de substâncias como H₂, CO₂ e CO. O quarto processo (início em 298,54 °C, final em 360,17, e entalpia de +39,27 J/g) é referente ao processo de carbonificação da decomposição da membrana.

A membrana MX2 apresentou 7 eventos de degradação térmica por TGA (gráfico 32), sendo que se apresentaram sobrepostos o 1º com o 2º, o 3º com o 4º, e o 6º com o 7º. O primeiro (início: 34,61 °C, fim: 48,47 °C e perda de massa de 6,11%), o segundo (início: 48,86 °C, fim: 90,77 °C e perda de massa de 13,53%). Esses dois eventos correspondem ao teor de umidade da membrana, transformação do sorbitol em isossorbida por desidratação, degradação do propilenoglicol, e decomposição de alguns componentes do EEPV. O terceiro (início: 186,93 °C, fim: 207,91 °C e perda de massa de 18,34%) está relacionado com degradação pirolítica da pectina cítrica. O quarto evento (início: 254,50 °C, fim: 313,38 °C e perda de massa de 33,79%) está relacionado com a degradação do NaCMC em membrana (PRIYA; NARENDRAKUMAR; MANJUBALA, 2019) e degradação de alguns componentes do EEPV. O quinto (início: 365,00 °C, fim: 467,97 °C e perda de massa de 6,03%) está relacionado com a decomposição do benzoato de sódio. O sexto (início: 783,59 °C, fim: 831,43 °C e perda de massa de 4,49%) e o sétimo (início: 848,52 °C, fim: 891,21 °C e perda de massa de 3,65%) eventos

correspondem a degradação de óxidos de sódio e carbonificação do resíduo da membrana.

A curva de decomposição da MX2 por DSC (gráfico 33) apresentou 4 processos de transição. Sendo o primeiro e o terceiro endotérmico, e o segundo e quarto exotérmico. O primeiro (início em 40,77 °C, final em 127,15, e entalpia de -128,67 J/g) mostra uma baixa estabilidade térmica em comparação com as outras membranas devido à grande quantidade de propilenoglicol e baixa quantidade de benzoato de sódio. Sugerindo assim que a formulação da MX2 não favorece uma boa estabilidade térmica devido à grande quantidade de energia liberada. O segundo (início em 181,98 °C, final em 193,92, e entalpia de +14,29 J/g) sugere uma cristalização dos componentes da membrana. O terceiro (início em 244,18 °C, final em 297,91, e entalpia de -29,75 J/g) ocorre uma volatilização de substâncias como H₂, CO₂ e CO. O quarto (início em 311,82 °C, final em 360,19, e entalpia de +93,15 J/g) é referente ao processo de carbonificação da decomposição da membrana.

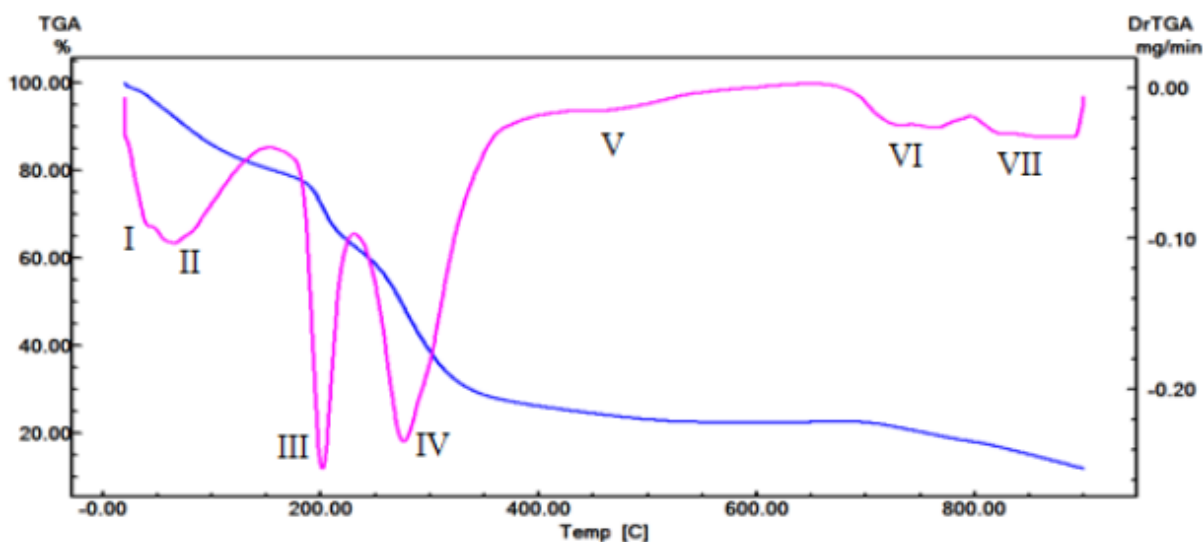
A membrana MX3 apresentou 6 eventos de degradação térmica por TGA (gráfico x), sendo que se apresentaram sobrepostos o 2º com o 3º, e o 5º com o 6º. O primeiro evento (início: 33,24 °C, fim: 84,24 °C e perda de massa de 27,08%) corresponde ao teor de umidade da membrana, transformação do sorbitol em isossorbida por desidratação, degradação do propilenoglicol, e degradação de alguns componentes do EEPV. O segundo (início: 190,78 °C, fim: 210,73 °C e perda de massa de 14,73%) está relacionado com degradação pirolítica da pectina cítrica. O terceiro (início: 254,49 °C, fim: 316,53 °C e perda de massa de 33,1%) está relacionado com a degradação do NaCMC em membrana (PRIYA; NARENDRAKUMAR; MANJUBALA, 2019) e decomposição de alguns componentes do EEPV. O quarto (início: 409,68 °C, fim: 514,02 °C e perda de massa de 3,48%) está relacionado com a decomposição do benzoato de sódio. O quinto (início: 738,72 °C, fim: 794,46 °C e perda de massa de 3,4%) e o sexto (início: 822,16 °C, fim: 892,03 °C e perda de massa de 6,35%) eventos correspondem a degradação de óxidos de sódio e carbonificação do resíduo da membrana.

A curva de decomposição da MX3 por DSC (gráfico 33) apresentou 4 processos de transição. Sendo o primeiro e o terceiro endotérmico, e o segundo e quarto exotérmico. O primeiro processo (início em 124,94 °C, final em 140,58, e

entalpia de -116,87 J/g) sugere a quebra de interações intermoleculares de alguns componentes da própolis vermelha e das interações intermoleculares dos polímeros, NaCMC e pectina cítrica, o segundo (início em 187,25 °C, final em 262,39, e entalpia de +17,57 J/g) sugerindo uma cristalização dos componentes da membrana. O terceiro (início em 239,71 °C, final em 300,06, e entalpia de -20,83 J/g) ocorre uma volatilização de substâncias como H₂, CO₂ e CO. O quarto (início em 309,41 °C, final em 358,95, e entalpia de +84,90 J/g) é referente ao processo de carbonificação da decomposição da membrana.

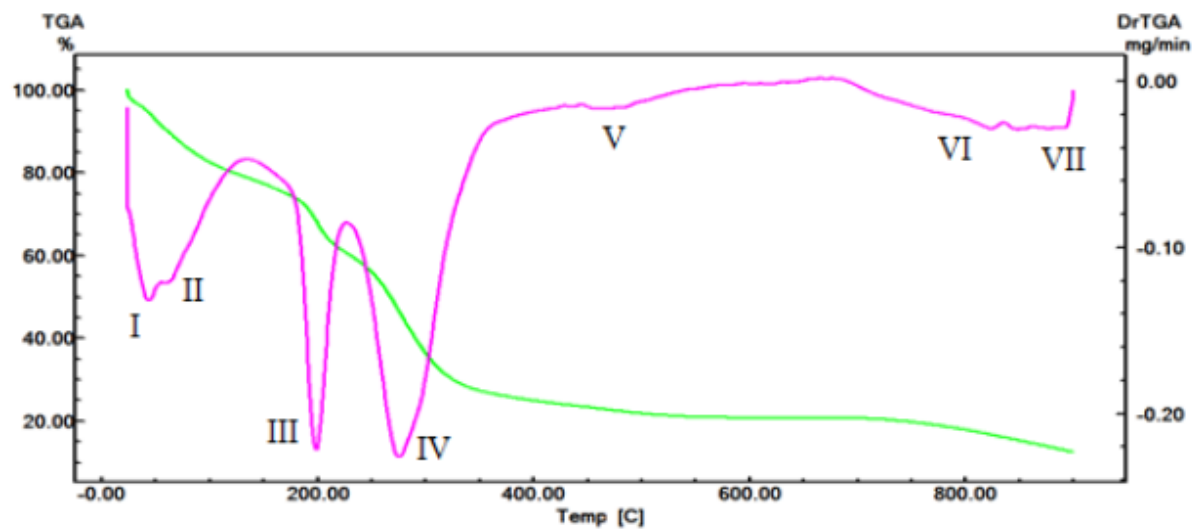
A membrana MX1 foi a mais termicamente estável devido à grande quantidade de pectina cítrica, grande quantidade de benzoato de sódio e baixa quantidade de propilenoglicol. A membrana MX2 apresenta estabilidade térmica intermediária, pois tem baixa quantidade de pectina cítrica e baixa quantidade de sorbitol e quantidade intermediária de benzoato de sódio. A membrana MX3 foi a membrana com menor estabilidade térmica devido à grande quantidade de sorbitol, quantidade intermediária de propilenoglicol.

Gráfico 30. TGA e DrTGA da MX1.



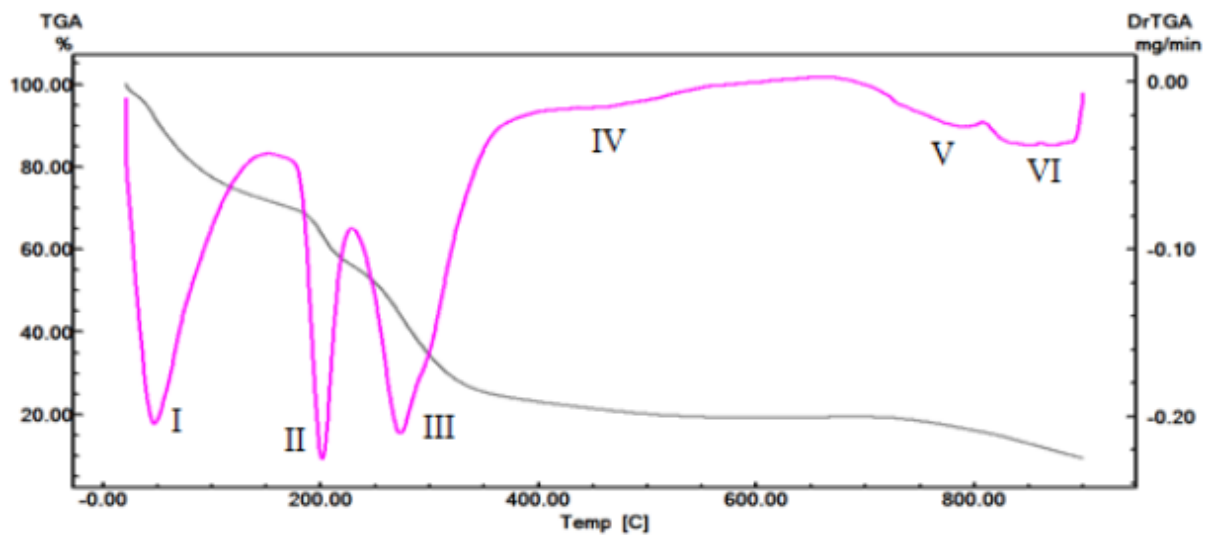
Fonte: Do autor.

Gráfico 31. TGA e DrTGA da MX2.



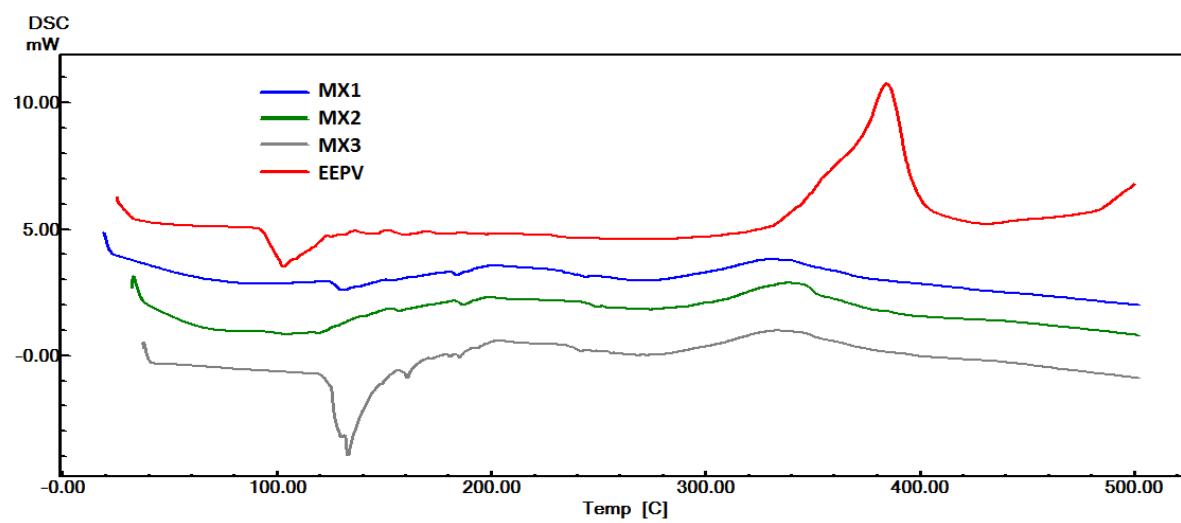
Fonte: Do autor.

Gráfico 32. TGA e DrTGA da MX3.



Fonte: Do autor.

Gráfico 33. Decomposição controlada por DSC do EEPV, MX1, MX2 e MX3.



Fonte: Do autor.

6. CONCLUSÃO

O desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos é um processo desafiador, uma vez que lida com substâncias com diferentes propriedades físico-químicas.

Diante dos resultados, pode-se afirmar que o método extrativo utilizado na obtenção do extrato (maceração em solvente alcóolico) proporcionou uma concentração bastante satisfatória de compostos fenólicos e flavonoides, e que esses compostos têm atividade antioxidante comprovada pelo método DPPH.

As técnicas termoanalíticas de TGA e DSC foram utilizadas como meios úteis para uma rápida avaliação das interações químicas do princípio ativo (própolis vermelha de Alagoas) com excipientes, através da avaliação de estabilidade de misturas binárias, estabilidade das membranas.

O extrato etanólico própolis vermelha apresentou uma boa estabilidade térmica. E, dentre os excipientes, o benzoato de sódio foi o mais térmica mente estável. Em contrapartida, o propilenoglicol foi o excipiente com menor estabilidade térmica. E todos os excipientes mostraram-se compatíveis com o extrato etanólico própolis vermelha.

Todas as membranas foram obtidas com êxito, porém as análises termogravimétricas (TGA) determinaram que a MX1 tem uma melhor estabilidade térmica. Devido à baixa quantidade de propilenoglicol e grande quantidade de pectina cítrica.

7. REFERÊNCIAS

AHUJA, S. D. M. W. **Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC**. Disponível em: <<http://site.ebrary.com/id/10138148>>. 2005.

Alencar SM, Oldoni TLC, Castro ML, Cabral ISR, Costa-Neto CM, Cury JA, et al. Composição química e atividade biológica de um novo tipo de própolis brasileira: a própolis vermelha. **J Ethnopharmacol**. 113 : 278–283, 2007. 10.1016/j.jep.2007.06.005

ALFADDA, A. A., & SALLAM, REEMM. Reactive oxygen species in health and disease. **Journal Of Biomedicine and Biotechnology**, 13(6), 304–310. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/936486>

ALLEN, L. V., POPOVICH, N. G.; ANSEL., H. C. Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. **Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins**, 2011.

AMMANN, C. Stability Studies Needed to Define the Handling and Transport Conditions of Sensitive Pharmaceutical or Biotechnological Products. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 4, 2011.

AUTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. Porto Alegre: **Artmed**, 2005.

AWALE S, LI F, ONOZUKA H, ESUMI H, TEZUKA Y, KADOTA S. Constituintes da própolis vermelha brasileira e sua atividade citotóxica preferencial contra a linha celular de câncer pancreático humano PANC-1 em condição de privação de nutrientes. **Bioorg Med Chem**. 16:181–189, 2008. 10.1016/j.bmc.2007.10.004

BADARINATH, A. V., MALLIKARJUNA RAO, K., MADHU SUDHANA CHETTY, C., RAMKANTH, S., RAJAN, T. V. S., & GNANAPRAKASH, K. A review on In-vitro antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations. **International Journal of PharmTech Research**, 2(2), 1276–1285, 2010.

BERNARDI, L. S., ET AL. Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 2, p. 729-733, 2009.

BHARATE, Sonali S.; BHARATE, Sandip B.; BAJAJ, Amrita N. Incompatibilities of Pharmaceutical Excipients with Active Pharmaceutical Ingredients: A Comprehensive Review. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, [S.l.], v. 1, n. 3, p. 3-26. 2010. ISSN 21502668. Available at: <<https://ojs.abo.fi/ojs/index.php/jefc/article/view/26>>. Date accessed: 29 jan. 2023.

BRASIL. **ANVISA**. Alerta SNVS/Anvisa/Ufarm nº 10, de 29 de abril de 2002. Disponível em: <<http://lilas.anvisa.gov.br/site/mensagem.php?id=321>>.

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, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis, 97 300 (2001).

BIRTA, N., DOCA, N., VLASE, G., & VLASE, T. Kinetic of sorbitol decomposition under non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2008, 92(2), 635–638. <https://doi.org/10.1007/s10973-007-7938-6>.

BISCAIA D, FERREIRA SRS. Extratos de própolis obtidos por métodos de baixa pressão e extração com fluido supercrítico. **J Supercrit Fluidos**. 51:17–23, 2009. 10.1016/J.SUPFLU.2009.07.011

BROWN, M. E. Introduction to thermal analysis: techniques and applications. **Dordrecht: Kluwer Acad**, 2001.

BROWN, ME; GALLAGHER, PK. Introduction to recent advances, techniques and applications of thermal analysis and calorimetry In: **Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2008.

BUENO-SILVA B, ALENCAR SM, KOO H, IKEGAKI M, SILVA GVJ, NAPIMOGA MH, et al. Avaliação Anti-Inflamatória e Antimicrobiana do Neovestitol e Vestitol Isolado da Própolis Vermelha Brasileira. **J Agric Food Chem**. 61:4546–4550, 2013. 10.1021/jf305468f

CAO J, PENG LQ, DU LJ, ZHANG QD, XU JJ. Extração micelar à base de líquido iônico assistida por ultrassom combinada com celulose microcristalina como sorvente em microextração dispersiva para determinação de compostos fenólicos em própolis. **Anal Chim Acta**. 963:24–32, 2017. 10.1016/j.aca.2017.01.063

CARVALHO, JOSÉ CARLOS TAVARES; GOSMANN, GRACE; SCHENKEL, ELOIR PAULO. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, CLÁUDIS MARIAS OLIVEIRA; SCBENKEL, ELOIR PAULO; GOSMANN, GRACE; DE MELLO, JOÃO CARLOS PALAZZO; MENTZ, LILIAN AULER; PETROVICK, PEDRO ROS (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª edição, Porto Alegre: Editora da UFSC; Florianópolis: Editoras UFRGS, p. 519-536, 2007.

CASTELLO, ML; DWECK, J; ARANDA, DGA. Thermal stability and water content determination of glycerol by thermogravimetry. **J Therm Anal Calorim**, V. 97, 2009.

CHADHA, R; BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening—Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **J Pharm Biomed Anal**, v. 87, n. 18, 2014.

CHAVAN, SP et al. Enantioselective synthesis of R-(+)- α -lipoic acid and S-(+)- α -lipoic acid. **Tetrahedron Letters**. Vol. 45, 2004.

CERESOLE, R. et al. Drug-excipient compatibility studies in binary mixtures of avobenzene. **J Cosm Sci**. v. 64, n. 5, 2013.

CRAIG, DQM; READING, M. Thermal Analysis of Pharmaceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press; 2007 dihydrochloride monohydrate in tablets. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, 2013.

DANIELS, T. Thermal Analysis, **Kogan Page, London**. 1973.

DARENDELIOGLU E, AYKUTOGLU G, TARTIK M, BAYDAS G. A própolis turca protege as células endoteliais humanas in vitro da apoptose induzida por homocisteína. **Acta Histochem**, v. 118, p. 369–376, 2016.
10.1016/j.acthis.2016.03.007

Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - PMT. Análise Termogravimétrica I: Variáveis. Aplicação de Métodos Termoanalíticos aos Materiais. **Escola Politécnica da Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2017.

DOUSA, M.; GIBALA, P.; HAVLÍČEK, J.; PLACEK, L.; TKADLECOVÁ, M.; BRICHÁČ, J., Drug-excipient compatibility testing—Identification and characterization of degradation products of phenylephrine in several pharmaceutical formulations

against the common cold, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 949-956, 2011.

DURVAL, C. Inorganic Thermogravimetric Analysis, **Elsevier**, Amsterdam, 2^a Ed, 1963.

FATHIMA, N et al. Drug-excipient interaction and its importance indosage form development. **J App Pharm Sci**, v. 01, n. 06, 2011.

FREIRES, I. A., DE ALENCAR, S. M., & ROSALEN, P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 110, p. 267–279, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.01.033>

GIOLITO, I. **Princípios Básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/ Calorimetria Exploratória Diferencial**. v. 34, p. 7-98, 2004.

GIRON, D., Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 4, p. 755–770,1986.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, p. 335-357, 2002.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals - Part 1. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 1, n. 5, p. 191-199, 1998.

GUTTERIDGE, J. M. C., & HALLIWELL, B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. In **Biochemical and Biophysical Research Communications** (pp. 561–564). Elsevier, 2010.

HAINES, P. J. R. S. O. C. Principles of thermal analysis and calorimetry. **Cambridge: Royal Society of Chemistry**, 2002.

IONASHIRO, M. Giolito: Fundamentos da Termogravimetria – Analise Termica Diferencial – Calorimetria Exploratoria Diferencial. **Giz Editorial**: 2004.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. **ICH** Official website.
Disponível em: <https://www.ich.org/>.

JULIO, T. A., ET AL. Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC-UV. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 2037-2044, 2013.

KIM, J et al., **Influence of pharmaceutical excipients on stability of pramipexole**, 2013

KUMAR, BP et al. A review on mechanism, importance and methods of compatibility testing in the formulation of dosage forms. **J Chem Pharm Sci**, v.4, n.4, 2011.

KUMAR VARMA, C. A., KOLEY, R. K., SINGH, S., SEN, A. K., & KUMAR, K. J. Homogeneous carboxymethylated orange pulp cellulose: Characterization and evaluation in terms of drug delivery. In **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 1141–1146, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.084>

KUMAR, V., ET AL. Compatibility of atenolol with excipients: LC-MS/TOF characterization of degradation/interaction products, and mechanisms of their formation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 4, p. 880888, 2009.

KORSI, RM; VALKONEN, J. **Thermochimica acta**, v. 401(2), p. 225-231, 2003.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.; KANIG, J., Teoria e prática na indústria farmacêutica, Lisboa, **Fundação Calouste**, 2001.

LILTROP, K., ET AL. Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 3, p. 424-428, 2011.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C., Caracterização de polímeros: Determinação de peso molecular e análise térmica, Rio de Janeiro, **E-papers**, 2001.

MACHADO, B. A. S., SILVA, R. P. D., BARRETO, G. D. A., COSTA, S. S., DA SILVA, D. F., BRANDÃO, H. N., DA ROCHA, J. L. C., DELLAGOSTIN, O. A., HENRIQUES, J. A. P., UMSZA-GUEZ, M. A., & PADILHA, F. F. Chemical

composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. **PLoS ONE**, v. 11(1), p. 1–27, 2016.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145954>

MAGNAVACCA A, SANGIOVANNI E, RACAGNI G, DELL'AGLI M. The antiviral and immunomodulatory activities of propolis: An update and future perspectives for respiratory diseases. **Med Res Rev**. Mar; v. 42(2), p. 897-945, 2022. doi:

10.1002/med.21866. Epub 2021 Nov 2. PMID: 34725836; PMCID: PMC9298305.

MASŁOWSKA, J., & WIĘDŁOCHA, M. Thermal decomposition of some chemical compounds used as food preservatives and kinetic parameters of this process.

Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 60(1), p. 305–312, 2000.

<https://doi.org/10.1023/A:1010194501649>

MATOS, J. R.; ARAUJO, G. L. B. Introdução aos Métodos Termoanalíticos.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017.

MAXIMIANO, PIRES, F., HIDEKI YOSHIKANE COSTA JACQUELINE DE SOUZA, G., & SÉRGIO SOARES DA CUNHA-FILHO, M.. Caracterização Físico-Química do Fármaco Antichagásico Benznidazol. In **Quim. Nova**, v. 33, issue 8, 2010.

MENDONÇA, C. M. S. et al. Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2013.

MUNOZ, M; GOMEZ-RICO, MF; FONT, R. Use of thermogravimetry for single characterisation of samples of the composting process from sewage sludge. **J Anal Appd Pyr**, v. 103, 2013.

MURA, P.; FAUCCI, M. T. ; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; CECCARELLI, L., Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 18, p. 151-163, 1998.

MURA, P.; FURLANETTO, S.; CIRRI, M.; MAESTRELLI, F.; MARRAS, A. M.; PINZAUTI, S., Optimization of glibenclamide tablet composition through the combined use of differential scanning calorimetry and D-optimal mixtures experimental design, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, p. 65-71, 2005.

Nani BD, Franchin M, Lazarini JG, Freires IA, da Cunha MG, Bueno-Silva B, et al. Os isoflavonoides da própolis vermelha brasileira diminuem a expressão de proteínas-alvo relacionadas ao câncer: uma análise farmacogenômica. **Phyther Res**. v. 32, p. 750–754, 2018. 10.1002/ptr.6016

NARANG, AS; DESAI, D; BADAWAY, S. Physicochemical interactions in solid dosage forms. **Pharm Res**, v. 29, n. 10, 2012.

NASCIMENTO, TG; da Silva PF; Azevedo LF; da Rocha LG; de Moraes Porto ICC; Lima; Moura TFA, *et al.* Nanopartículas Poliméricas do Extrato de Própolis Vermelha Brasileira: Preparo, Caracterização, Atividade Antioxidante e Leishmanicida. **Nanoscale Res Lett**, v. 11, p. 301, 2016. 10.1186/s11671-016-1517-3

NASSAR, E. J. M., L.C.; CAETANO, B.L.; ROCHA, L.A.; FERREIRA, E.M.; CESTARI, A., KFURI C.R.; CIUFFI, K.J.; CALEFI, P.S.; MELLO, C.; CUNHA, W.R., Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 27, p. 151-155, 2006.

Neves MVM, Silva TMS, Lima EO, Cunha EVL, Oliveira EJ. A isoflavona formononetina da própolis vermelha atua como fungicida contra *Candida* sp . **Braz J Microbiol**, v. 47, p. 159–66, 2016. 10.1016/j.bjm.2015.11.009

OLIVEIRA, A. M. Y., M. I; GOMES, E.C. L.,. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Quim. Nova**, v. 34, p. 1224-1230, 2011.

OLIVEIRA, MA et al. Thermal characterization of fluvastatin in pharmaceutical formulations. **J Therm Anal Calorim**. v. 106, n. 3, 2011.

ORIQUI, LR; MORI, M; WONGTSCHOWSKI, P. Guia para a determinação da estabilidade de produtos químicos. **Quím. Nova**, v. 36, n. 2, 2013.

ORTEGA-RAMIREZ, L. A., RODRIGUEZ-GARCIA, I., LEYVA, J. M., CRUZ-VALENZUELA, M. R., SILVA-ESPINOZA, B. A., GONZALEZ-AGUILAR, G. A., SIDDIQUI, M. W., & AYALA-ZAVALA, J. F. Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: A hypothesis. **Journal of Food Science**, v. 79(2), p. 129–137, 2014. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12341>.

PANI, N. R., ET AL. Application of DSC, IST, and FTIR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 219-226, 2012.

PEREIRA, LRL; FREITAS, O. A evolução da Atenção Farmacêutica e a perspectiva para Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Farm**, vol.44, n.4, p. 601-612, 2008.

PISOSCHI, A. M., POP, A., CIMPEANU, C., & PREDOI, G. Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9130976>

PRIYA, G., NARENDRAKUMAR, U., & MANJUBALA, I. Thermal behavior of carboxymethyl cellulose in the presence of polycarboxylic acid crosslinkers. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138(1), p. 89–95, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08171-2>

RAHMAN, Z., ZIDAN, A. S.; KHAN, M. A. Risperidone solid dispersion for orally disintegrating tablet: Its formulation design and non-destructive methods of evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 400, n. 1-2, p. 49-58, 2010.

REGUEIRA MS, TINTINO SR, DA SILVA ARP, DO COSTA MS, BOLIGON AA, MATIAS EFF, et al. Variação sazonal da própolis vermelha brasileira: atividade antibacteriana, efeito sinérgico e triagem fitoquímica. **Food Chem Toxicol**, v. 107, p. 572–580, 2017. 10.1016/j.fct.2017.03.052.

RIBEIRO DR, ALVES ÂVF, DOS SANTOS EP, PADILHA FF, GOMES MZ, RABELO AS, et al. Inibição do Crescimento de Carcinoma de Células Escamosas Induzido por DMBA por Própolis Vermelha Brasileira em Modelo de Roedor. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 117, p. 85–95, 2015. 10.1111/bcpt.12374

RIGHI, A. A., ALVES, T. R., NEGRI, G., MARQUES, L. M., BREYER, H., & SALATINO, A. Brazilian red propolis: Unreported substances, antioxidant and

antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91(13), p. 2363–2370, 2011. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4468>.

RIVERA-YAÑEZ N, RIVERA-YAÑEZ CR, POZO-MOLINA G, MÉNDEZ-CATALÁ CF, MÉNDEZ-CRUZ AR, NIETO-YAÑEZ O. Biomedical Properties of Propolis on Diverse Chronic Diseases and Its Potential Applications and Health Benefits. **Nutrients**. Dez 29; v. 13(1), p. 78, 2020. doi: 10.3390/nu13010078. PMID: 33383693; PMCID: PMC7823938.

RODANTE, F.; et al. Application of ta and kinetic study to Compatibility and stability problems in some commercial drugs. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 66, p. 155–178, 2001.

RUFATTO LC, LUCHTENBERG P, GARCIA C, THOMASSIGNY C, BOUTTIER S, HENRIQUES JAP, et al. Própolis vermelha brasileira: composição química e atividade antibacteriana determinadas por fracionamento bio guiado. **Microbiol Res**. v. 214, p. 74–82, 2018. 10.1016/j.micres.2018.05.003

RUFATTO, L. C., SANTOS, D. A. DOS, MARINHO, F., HENRIQUES, J. A. P., ELY, M. R., & MOURA, S. Red propolis: Chemical composition and pharmacological activity. Asian Pacific **Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6(11), p. 591–598; 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.04.014>

SAHA, S. K., LEE, S. BIN, WON, J., CHOI, H. Y., KIM, K., YANG, G. M., DAYEM, A. A., & CHO, S. G. Correlation between oxidative stress, nutrition, and cancer initiation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18(7), 2017. <https://doi.org/10.3390/ijms18071544>

SALATINO A, SALATINO MLF. Brazilian red propolis: legitimate name of the plant resin source. **MOJ Food Process Technol**, v. 6, 1–0, 2018.

SALATINO A. Perspectives for Uses of Propolis in Therapy against Infectious Diseases. **Molecules**, Jul 19; v. 27(14), p. 4594, 2022. doi: 10.3390/molecules27144594. PMID: 35889466; PMCID: PMC9320184.

SALES, B. A. **Produção de Sucedâneos de Cereais de Pequeno-Almoço ricos em compostos bioativos a partir de subprodutos da indústria agroalimentar**, 2012.

SALGADO, H. R. N. et al. Análise térmica de esparfloxacino. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 26, p. 119-123, 2005.

SALIBA, N. A., EL HELLANI, A., HONEIN, E., SALMAN, R., TALIH, S., ZEAITER, J., & SHIHADDEH, A. Surface chemistry of electronic cigarette electrical heating coils: Effects of metal type on propylene glycol thermal decomposition. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 134, p. 520–525, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.07.019>.

SANTOS, LAUANA APARECIDA; ROSALEN, PEDRO LUIZ; DIAS, NAYARA ANDRADE, GRISOLIA, JULIANNE CARAVITA; GOMES, BRUNO JOSÉ NASCIMENTO; BLOSFELD-LOPES, LUCAS; IKEGAKI, MASAHARU; DE ALENCAR, SEVERINO MATIAS; BURGER, EVA. Brazilian Red Propolis shows antifungal and immunomodulatory activities against *Paracoccidioides brasiliensis*, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 277, 2021, 114181, ISSN 0378-8741,
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114181>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874121004086>)

SILVA RPD, MACHADO BAS, DE BARRETO GA, COSTA SS, ANDRADE LN, AMARAL RG, et al. Propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antiparasitárias e citotóxicas de vários extratos de própolis brasileiros . Gupta V, editor. **PLoS One**. Biblioteca Pública de Ciências; 12 : e0172585; 2017. 10.1371/journal.pone.0172585

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, José E.; CHIANN, C.; GAI, María N. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2009.

TELES F, DA SILVA TM, DA CRUZ FP JÚNIOR, HONORATO VH, DE OLIVEIRA COSTA H, BARBOSA APF, et al. Própolis Vermelha Brasileira Atenua Hipertensão e Danos Renais em Modelo de Ablação Renal 5/6. **PLoS One**. 2015; 10 : e0116535
10.1371/journal.pone.0116535

TITA, D.; FULIAS, A.; TITA, B. Thermal stability of ketoprofen-active substance and tablets. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 105, n. 2, p. 501-508, 2011.

TITA, B., ET AL. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 2, p. 221-227, 2011.

TITA, D., ET AL. Compatibility study of the acetylsalicylic acid with different solid dosage forms excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 112, n. 1, p. 407-419, 2013.

VERMA, R. K.; GARG, S. Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug-excipient compatibility testing. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 4, p. 633-644, 2005.

VERONEZ, I., ET AL. Characterization and compatibility study of desloratadine. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, n. p. 1-8, 2013.

WAGH VD. um produto maravilhoso das abelhas e seus potenciais farmacológicos. **Adv. Pharmacol. Ciência**, 2013; :308249. doi: 10.1155/2013/308249.

WANG, W., MA, X., JIANG, P., HU, L., ZHI, Z., CHEN, J., DING, T., YE, X., & LIU, D. Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. In **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 730–739, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.019>.

WENDLANDT, W. W. **Thermochim Acta**, v. 36, p. 393, 1980.

WOISKY, R. G. DO R. **Métodos de controle químico de amostras de própolis**, 1996.

WOISKY, R. G., & SALATINO, A. Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37(2), p. 99–105, 1998. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961>

WORLD HEALTH ORGANIZATION; WHO COLLABORATING CENTRE FOR INTERNATIONAL DRUG MONITORING. The importance of pharmacovigilance. Geneva: **World Health Organization**, 2002.

ZUANAZZI, JOSÉ ANGELO SILVEIRA; MONTANHA, JARBAS ALVES. Flavonoides. In: SIMÕES, CLÁUDIS MARIAS OLIVEIRA; SCBENKEL, ELOIR PAULO; GOSMANN, GRACE; DE MELLO, JOÃO CARLOS PALAZZO; MENTZ, LILIAN

AULER; PETROVICK, PEDRO ROS (org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª edição, **Porto Alegre: Editora da UFSC; Florianópolis: Editoras UFRGS**, p. 577-614, 2007.