



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ÁLVARO SANTOS DE LIMA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO COM  
EXTRATO DE PRÓPOLIS MARROM DE UNIÃO DOS PALMARES - AL**

MACEIÓ - AL

2023



ÁLVARO SANTOS DE LIMA



**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO COM  
EXTRATO DE PRÓPOLIS MARROM DE UNIÃO DOS PALMARES - AL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao corpo docente do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como um dos requisitos para a conclusão da graduação, obtendo-se o título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento

MACEIÓ - AL  
2023

*"Suba o primeiro degrau.  
Não é necessário que você  
veja do começo todo caminho.  
Apenas dê o primeiro passo."  
- Martin Luther King Jr.*

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

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

L732o Lima, Álvaro Santos de.  
Obtenção e caracterização de complexos de inclusão com extrato de  
própolis marrom de União dos Palmares - AL / Álvaro Santos de Lima. – 2023.  
40 f. : il.

Orientador: Ticiano Gomes do Nascimento.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –  
Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió,  
2023.

Bibliografia: f. 32-40.

1. Própole - . 2. Extratos (Formas farmacêuticas). 3. Beta-ciclodextrina. 4.  
Álcool free. I. Título.

CDU: 615:638.135

## FOLHA DE APROVAÇÃO

ÁLVARO SANTOS DE LIMA

### OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO DO EXTRATO DE PRÓPOLIS MARROM DE UNIÃO DOS PALMARES - AL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao corpo docente do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como um dos requisitos para a conclusão da graduação, obtendo-se o título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento

Documento assinado digitalmente  
 TICIANO GOMES DO NASCIMENTO  
Data: 28/03/2024 08:48:07-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento - ICF/UFAL  
(Orientador)

#### **Banca Examinadora:**

Documento assinado digitalmente  
 SALVANA PRISCYLLA MANSO COSTA  
Data: 26/03/2024 20:48:32-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dr<sup>a</sup>. Salvana Priscylla Manso Costa – Membro externo PPGCF/UFAL

Documento assinado digitalmente  
 EURICA ADELIA NOGUEIRA RIBEIRO  
Data: 26/03/2024 18:55:47-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Profa. Dr.a Êurica Adélia Nogueira Ribeiro - ICF/UFAL

## AGRADECIMENTO

Por definição, o agradecimento é o reconhecimento dado a alguém quando se estar grato por algo oferecido ou feito, mas o agradecimento em si fala muito mais do que a sua definição, ele fala sobre a importância de estar cercado por pessoas que transmite positividade e confiança, pessoas que vão mover rios e montanhas para ajudar por vontade própria apenas para ver a felicidade do próximo, o agradecimento fala sobre como não é só importante ser o melhor profissional ou a melhor pessoa do seu país, do seu mundo, do seu universo, mas sim estar cercado pelas melhores pessoas, com isso em mente gostaria de agradecer a essas melhores pessoas.

Primeiramente aos meus pais, pois foram os pavimentadores da minha jornada, caminhando ao meu lado e sempre me direcionando para o caminho correto, são meus principais professores na disciplina da vida, e principais responsáveis pela formação do meu caráter como pessoa do princípio ao meu futuro fim.

À minha linda noiva, responsável por iluminar minha vida em todos os momentos sendo eles felizes ou tristes, sempre me trazendo paz e alegria com apenas um sorriso. Na vida nos acostumamos a receber presentes, quase todos os presentes são dados, mas os melhores são os escolhidos.

Aos meus colegas e preceptores da oncologia da Santa casa de Maceió, que me acolheram e me ensinaram como é ser um farmacêutico de verdade, me tratando como semelhante mesmo sendo apenas um graduando, me fornecendo a melhor experiência prática que eu poderia ter.

Aos meu colegas de turma, que me deram momentos de felicidade durante a graduação, momentos esses responsáveis por tornar-la mais leve e descontraída. Unidos na reprovação em química orgânica 2, sempre juntos seja no estudo quanto na “resenha”, que nem mesmo uma pandemia pode separar.

Aos meus colegas do laboratório de análises farmacêuticas e alimentícias, que me ajudaram e me ensinaram muito durante o tempo que estive com eles, sempre com muita paciência e companheirismo.

E especialmente aos meus professores Prof. Ticiano Gomes e Profa. Salvana Costa, que me orientaram durante minha formação profissional, doando tempo e esforço para me tornar um profissional melhor, e ainda, orientando esse trabalho tornando o mesmo possível de ser realizado com sucesso.

## RESUMO

Os primeiros registros da utilização da própolis pelo homem remontam ao Egito antigo. No Brasil, seu uso é empregado na medicina popular como terapia complementar no tratamento de várias doenças. A própolis é um material resinoso elaborado pelas abelhas *A. melliferas* que coletam a matéria-prima de diversas fontes vegetais, transformando-as pela adição de secreções salivares e cera. É altamente variável quanto aos aspectos físicos, dependendo da origem botânica, geográfica e época de sua coleta. Sendo a técnica mais popular para a produção de extratos de própolis é a extração com etanol, porém ela apresenta desvantagens e limitações de aplicação na indústria. Assim, para contornar esse problema a mudança para suspensões aquosas é uma opção, mas as substâncias biologicamente ativas apresentam baixa solubilidade em água. Com isso o desenvolvimento de complexos de inclusão (CI) de  $\beta$ -ciclodextrinas ( $\beta$ -CD) e extrato de própolis marrom de União dos Palmares (EPMUP) é uma solução para essa baixa solubilidade. Um dos métodos mais utilizados para melhorar a estabilidade e solubilidade em água dos compostos polifenólicos é a preparação de CI com as ciclodextrinas (CD). Existem diversos métodos para a produção dos CI de CDs, o método escolhido para o complexo  $\beta$ -CD:EPMUP foi o de coprecipitação agregado com o método de liofilização como método de secagem, as misturas físicas (MF) foram obtidas para estudos comparativos. Para comprovar a formação do CI bem como qual deles foi mais eficiente, foram empregados métodos de análise como a termogravimetria (TG), difratometria de raios-X (DRX), determinação de flavonóides totais, atividade antioxidante, ensaios de dissolução *in vitro* e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Com os resultados obtidos no DRX e na dissolução *in vitro* foi comprovada a formação do CI EPMUP: $\beta$ -CD, no DRX foi observado o desaparecimento de picos cristalinos característicos da  $\beta$ -CD indicando um reordenação da estrutura cristalina do CI, os resultados obtidos pela dissolução *in vitro* foram de um pico de dissolução de 32  $\mu\text{g/ml}$  para o CI 1:2 sendo o total possível 50 $\mu\text{g/ml}$ , onde se foi dissolvido cerca de 64% de todo o CI, a formação do CI gera um aumento na solubilidade em meio aquoso dos compostos orgânicos presentes no EPMUP. Sendo nesse cenário, uma ótima opção o desenvolvimento de formulações e produtos, que não podem conter álcool, utilizando o CI EPMUP: $\beta$ -CD.

**PALAVRAS-CHAVE:** Própolis; Extrato aquoso;  $\beta$ -ciclodextrina; Álcool free;

## ABSTRACT

The first records of the use of propolis by man date back to ancient Egypt. In Brazil, its use is used in popular medicine as a complementary therapy in the treatment of various diseases. Propolis is a resinous material made by *A. melifera* bees that collect the raw material from various plant sources, transforming them by adding salivary secretions and wax. It is highly variable in terms of physical aspects, depending on the botanical and geographic origin and time of its collection. The most popular technique for producing propolis extracts is extraction with ethanol, however it has disadvantages and limitations for application in industry. Therefore, to overcome this problem, switching to aqueous suspensions is an option, but biologically active substances have low solubility in water. Therefore, the development of inclusion complexes (IC) of  $\beta$ -cyclodextrins ( $\beta$ -CD) and brown propolis extract from União dos Palmares (EPMUP) is a solution to this low solubility. One of the most used methods to improve the stability and water solubility of polyphenolic compounds is the preparation of IC with cyclodextrins (CD). There are several methods for producing CD ICs, the method chosen for the  $\beta$ -CD:EPMUP complex was aggregate coprecipitation with the freeze-drying method as a drying method, physical mixtures (MF) were obtained for comparative studies. To prove the formation of IC as well as which one was more efficient, analysis methods such as thermogravimetry (TG), X-ray diffractometry (XRD), determination of total flavonoids, antioxidant activity, in vitro dissolution tests and microscopy were used. scanning electronics (SEM). With the results obtained in DRX and in vitro dissolution, the formation of the CI EPMUP: $\beta$ -CD was confirmed, in DRX the disappearance of crystalline peaks characteristic of  $\beta$ -CD was observed, indicating a reordering of the crystalline structure of the CI, the results obtained by in vitro dissolution were a dissolution peak of 32  $\mu$ g/ml for IC 1:2, with a possible total of 50 $\mu$ g/ml, where if around 64% of all IC was dissolved, the formation of IC generates an increase in solubility in an aqueous medium of the organic compounds present in EPMUP. In this scenario, a great option is the development of formulations and products, which cannot contain alcohol, using the CI EPMUP: $\beta$ -CD.

**KEYWORDS:** Propolis; Aqueous extract;  $\beta$ -cyclodextrin; Alcohol free.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Classificação das própolis brasileiras de acordo com a cor do extrato etanólico e a região de origem.....	7
<b>Tabela 2</b> – Flavonóides ligados a sua atividade farmacológica.....	11
<b>Tabela 3</b> – Dados das curvas TG do CI e MF.....	23

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – <i>Apis mellifera</i> .....	3
<b>Figura 2</b> – Colmeia de abelhas melíferas.....	4
<b>Figura 3</b> – <i>Populus</i> spp.....	4
<b>Figura 4</b> – Fontes vegetais onde as abelhas buscam a resina para a produção da própolis brasileira.....	5
<b>Figura 5</b> – Diferentes aspectos de algumas própolis brasileiras .....	6
<b>Figura 6</b> – Principais compostos químicos encontrados na própolis marrom.....	8
<b>Figura 7</b> – Estrutura química básica dos flavonoides.....	9
<b>Figura 8</b> – Estruturas químicas das principais classes de flavonoides.....	10
<b>Figura 9</b> – Estruturas químicas das ciclodextrinas.....	14
<b>Figura 10</b> – Método de coprecipitação.....	15
<b>Figura 11</b> – Complexação da quercetina com cloreto de alumínio.....	16
<b>Figura 12</b> – Mecanismos de reação entre o DPPH e um antioxidante.....	18
<b>Figura 13</b> – Apresentação visual das amostras (A) LIOF1, (B) LIOF2, (C) LIOF3, (D) MF1, (E) MF2 e (F) MF3.....	21
<b>Figura 14</b> – Curvas TG dos CI em comparação com a curva de $\beta$ -CD e EPMUP.....	22
<b>Figura 15</b> – Curvas TG das MF em comparação com a curva de $\beta$ -CD e EPMUP.....	23
<b>Figura 16</b> – Teor de flavonoides totais.....	24
<b>Figura 17</b> – Atividade antioxidante do EPMUP, CI e MF em IC <sub>50</sub> do DPPH.....	25
<b>Figura 18</b> – Dissolução in vitro CI 1:1, CI 1:2 e MF 1:1.....	26
<b>Figura 19</b> – MEV das amostras LIOF 1:2 e MF 1:1.....	27
<b>Figura 20</b> – Difratoograma da $\beta$ -CD livre (azul), do CI $\beta$ -CD:EPMUP 1:1 (rosa) e da MF $\beta$ -CD:EPMUP (cinza).....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E UNIDADES

**AL:** Alagoas

**AICl<sub>3</sub>:** Cloreto de Alumínio

**CAPE:** Éster Fenólico do Ácido Cafeico

**CD:** Ciclodextrina

**CI:** Complexos de inclusão

**CI<sub>50</sub>:** Concentração Inibitória de 50%

**CLAE:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**COX:** Cicloxigenase

**DPPH:** 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

**DRX:** Difração de raio-X

**EPMUP:** Extrato de própolis marrom de União dos Palmares

**HCl:** Ácido Clorídrico

**HIV:** Vírus da Imunodeficiência Humana

**MAPA:** Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**MEV:** Microscopia Eletrônica de Varredura

**MF:** Mistura física

**MTT:** Redução do metiltetrazólio

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:** Carbonato de Sódio

**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:** Fosfato de sódio

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** Fosfato de potássio

**PGE<sub>2</sub>:** Prostaglandina E<sub>2</sub>

**PGE<sub>2a</sub>:** Prostaglandina E<sub>2a</sub>

**pH:** Potencial hidrogenionico

**TG:** Análise Termogravimétrica

**TGI:** Trato gastrointestinal

**URSS:** União das Repúblicas Socialistas Soviéticas

**UV:** Ultravioleta

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	3
2.1 Própolis .....	3
2.1.1 Contexto histórico .....	3
2.1.2 Origem botânica e variabilidade brasileira .....	4
2.1.3 Composição química .....	8
2.1.4 Principais atividades farmacológicas .....	11
2.1.4.1 Atividade antimicrobiana .....	12
2.1.4.2 Atividade antitumoral .....	13
2.1.4.3 Atividade antioxidante .....	13
2.1.4.4 Atividade anti-inflamatória .....	14
2.2 Ciclodextrina .....	15
3 OBJETIVOS .....	16
3.1 Geral .....	16
3.2 Específicos .....	16
4 METODOLOGIA .....	17
4.1 Obtenção dos Complexos de inclusão (CI) .....	17
4.2 Termogravimetria (TG) .....	18
4.3 Determinação de flavonóides totais .....	18
4.4 Atividade antioxidante .....	19
4.5 Ensaio de dissolução in vitro .....	20
4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	21
4.7 Difração de Raio-X (DRX) .....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
5.1 Complexos de inclusão .....	22
5.2 Termogravimetria (TG) .....	22
5.3 Determinação de flavonóides totais .....	24
5.4 Atividade antioxidante .....	25
5.5 Ensaio de dissolução in vitro .....	26
5.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	27
5.7 Difratometria de Raio-X .....	29
6 CONCLUSÃO .....	31
7 REFERÊNCIAS .....	32

## 1 INTRODUÇÃO

Os primeiros registros da utilização da própolis pelo homem remontam ao Egito antigo, seus sacerdotes utilizavam-na para embalsamar seus mortos (CASTALDO & CAPASSO, 2002). Na guerra da África do Sul ao final do século XIX, foi amplamente utilizada como cicatrizante (MARCUCCI, 1996) e na segunda guerra mundial foi empregada em várias clínicas soviéticas (IOIRISH, 1982). No Brasil, seu uso é amplamente difundido, sendo empregado na medicina popular como terapia complementar para a tuberculose, dos distúrbios do trato gastrointestinal (TGI), na redução da febre, contra doenças inflamatórias, antimicrobianas entre outras (SALATINO, *et al* 2005).

A própolis é um material resinoso de consistência viscosa elaborado pelas abelhas que coletam a matéria-prima de diversas partes das plantas, transformando-as dentro da colméia pela adição de secreções salivares e cera (BURDOCK, 1998; ADELMANN, 2005). É altamente variável quanto ao aspecto físico e cor, dependendo da origem botânica, geográfica e época de sua coleta. Em geral, é composta por 50% de resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias, incluindo detritos orgânicos. Estão presentes ainda, microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês, magnésio, silício, titânio, bromo, zinco e vitaminas B1, B2, B6, C e E (KALOGEROPOULOS, *et al.*, 2009; GHISALBERTI, 1979).

A amplitude das atividades farmacológicas da própolis é maior em regiões tropicais do planeta e menor nas regiões temperadas, refletindo a diversidade vegetal destas regiões, já que o espectro de vôo de uma abelha *A. mellifera* abrange um raio de cerca de 4 a 5 km em torno da colméia, de onde abelhas coletam pólen, néctar, e resina para a própolis.

A técnica mais popular para a produção de extratos de própolis é a extração com etanol. Este método é adequado para a obtenção de extratos de própolis com baixo teor de cera e ricos em compostos biologicamente ativos (PIETTA, *et. al*, 2002). Embora a extração com etanol seja um método simples e eficaz, apresenta desvantagens como forte sabor residual, limitações de aplicação na indústria cosmética e farmacêutica, pediatria e em casos de intolerância ao álcool. (MELLO, *et. al*. 2010).

As substâncias biologicamente ativas apresentam, em sua maioria, baixa solubilidade em água, e a quantidade de compostos fenólicos nos extratos aquosos é 10 vezes menor do que nos extratos etanólicos (MOURA, *et al.*, 2009). São também facilmente decompostos por oxidação durante a produção e armazenamento. Portanto, para manter a integridade das moléculas, é necessário desenvolver uma formulação capaz de entregá-las aos alvos fisiológicos, mantendo sua bioatividade. Assim, um dos métodos utilizados para melhorar a estabilidade e solubilidade em água dos compostos polifenólicos é a preparação de CI (VLAIA, *et al.*, 2016).

CDs são oligômeros cíclicos de glicose, produzidos comercialmente por reação enzimática do amido (CATCHPOLE, *et al.*, 2018). Elas podem ser compostas de seis a oito unidades de glicose e, portanto, são classificadas como  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD, respectivamente. Em função da sua forma de cone com uma cavidade hidrofóbica e uma superfície externa hidrofílica, elas podem interagir e acomodar substâncias lipofílicas, formando assim complexos de inclusão com moléculas orgânicas e inorgânicas. As beta-ciclodextrinas ( $\beta$ -CD) são mais utilizadas, devido ao seu baixo custo e ao tamanho adequado de sua cavidade (MOREIRA, *et al.*, 2022).

Visando a melhora nas propriedades como estabilidade e solubilidade que o CI de CDs gera, a produção de um CI  $\beta$ -CD:EPMUP é uma alternativa para superar o problema de solubilidade em meio aquoso do EPMUP, por isso como objetivo, este trabalho visa fornecer dados para o desenvolvimento de estudos de pré formulação e compatibilidade de sistemas dispersos em suspensão do EPMUP através de modernas metodologias de análise, com o intuito de revisar a possível introdução no mercado de suspensões aquosas com mínimos teores de álcool ou álcool free.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Própolis

#### 2.1.1 Contexto histórico

A própolis está presente nas civilizações humanas a muito tempo, como método de sobrevivência a espécie humana se adaptou a transformar a natureza ao seu redor e usufruir dos seus recursos. A própolis teve muitos usos ao longo da história, como no Egito antigo, onde os sacerdotes utilizavam-na para embalsamar seus mortos devido à sua propriedade anti-putrefação (CASTALDO & CAPASSO, 2002), sendo também utilizada de forma terapêutica em suas medicinas naturais, por praticamente todas as civilizações antigas com registros, como no texto médico mais antigo "Livro de Produção de Medicamentos para Todas as Partes do Corpo Humano", gravado no papiro de Ebers e escrito há cerca de 1.700 a.C (PEREIRA, *et al.*, 2002).

Essas civilizações também já faziam uso de outros produtos das abelhas melíferas, como o mel. Além do antigo Egito os primeiros relatos da própolis são fixados na Mesopotâmia, como também, era muito utilizada pelos gregos, incas, romanos e assírios, os chineses e tibetanos, possuíam centenas de receitas as quais mel, própolis, larvas de abelhas e, alguns casos, as próprias abelhas eram utilizados em receitas para uso humano e/ou veterinário com o intuito de prevenir ou curar patologias (PARK, *et al*, 2002), o povo grego foi responsável por nomeá-la, no idioma grego, as palavras “*pro*” significa “defesa” e “*polis*” “cidade ou comunidade” originando a palavra “*própolis*” (“em defesa da cidade”), nomenclatura essa utilizada até os dias de hoje para se referir ao material resinoso apícola (CASTALDO & CAPASSO, 2002; PEREIRA, *et al.*, 2002).

**Figura 1** – *Apis mellifera*.



Fonte: IVAR LEIDUS, 2016.

Ainda entre os gregos, Hipócrates adotou-na como cicatrizante de uso interno e externo. Já o historiador romano Plínio se refere a propolis como um “medicamento capaz de reduzir inchaços e aliviar dores” (IOIRISH, 1982). Em 1908 foi publicado o primeiro trabalho científico acerca das suas propriedades farmacológicas e composição químicas (HELFENBERG, 1908) o trabalho foi indexado no *Chemical Abstracts*.

Na África do Sul, na guerra que ocorreu ao final do século XIX, foi amplamente utilizada graças às suas propriedades cicatrizantes (MARCUCCI, 1996) e na Segunda Guerra Mundial foi empregada em inúmeras clínicas da antiga URSS (União das Repúblicas Socialistas Soviéticas), em medicina humana e veterinária, com aplicações inclusive no tratamento da tuberculose, tendo em vista que foram evidenciadas a recuperação do apetite e a regressão dos problemas pulmonares (IOIRISH, 1982; WOISKY, *et al.*, 1994).

Nas últimas décadas do século XX, em todo o mundo, a própolis vem sendo amplamente empregada na medicina popular, em cosméticos e dermocosméticos, (CARVALHO, 2000; HERMANN & BRACAMONTE, 1991; RAMOS, 1995), como também em suplementos alimentares e bebidas, como preventivo de doenças, sob variadas formas farmacêuticas (BANSKOTA, *et al.*, 2001).

No Brasil, seu uso é amplamente difundido, sendo empregado na medicina popular para o tratamento da tuberculose, de distúrbios do TGI, na redução da febre, contra doenças inflamatórias, antimicrobianas entre outras (SALATINO, *et al.*, 2005). Um estudo pioneiro de Ernesto Ulrich Breyer, aumentou o interesse pela própolis, exposto no seu livro intitulado “Abelhas e saúde”, as propriedades terapêuticas do apiterápico e sua utilização como antibiótico natural (LUSTOSA, 2008).

### **2.1.2 Origem botânica e variabilidade brasileira**

Pelo Brasil apresentar uma gigantesca diversidade vegetal, a melhor maneira de investigar a origem botânica da própolis é através da análise da composição química da mesma, comparando-a com a provável fonte vegetal. Para determinação da origem geográfica é importante observar a origem vegetal aliada à fenologia (interferências climáticas) da planta hospedeira, se faz importante no controle de qualidade e até mesmo na padronização das amostras de própolis, para uma efetiva aplicação terapêutica (PARK, *et al.*, 2002).

Já se é conhecido que as substâncias encontradas na própolis são oriundas da resina coletada no entorno da colmeia. O espectro de voo de uma abelha *A. mellifera* em torno da colmeia abrange um raio de cerca de 4-5 km, nessa área as abelhas coletam pólen e néctar para alimentação, como também resina para a própolis. Não são conhecidos de forma precisa quais são os fatores que direcionam a preferência das abelhas coletoras de resina por uma determinada fonte vegetal, mas o que se sabe é que elas são seletivas nesta coleta (SALATINO, *et al.*, 2005; TEIXEIRA, *et al.*, 2005).

**Figura 2** – Colmeia de abelhas melíferas.



**Fonte:** Rimantas, 2010.

Em locais de clima temperado como a Europa e América do Norte vegetais produtores de própolis são poucos, sendo a principal fonte o choupo, *Populus L.*, da Família Salicaceae, podendo-se, ainda, encontrar esta espécie vegetal na Ásia e no norte da África. Entretanto, essa espécie botânica não é natural dos trópicos, como no caso do Brasil, desse modo a própolis brasileira apresenta composição química diferente da própolis europeia e, portanto, atividades biológicas distintas (BANKOVA, *et al.*, 1983; BANKOVA, *et al.*, 1992; MARCUCCI, 1996).

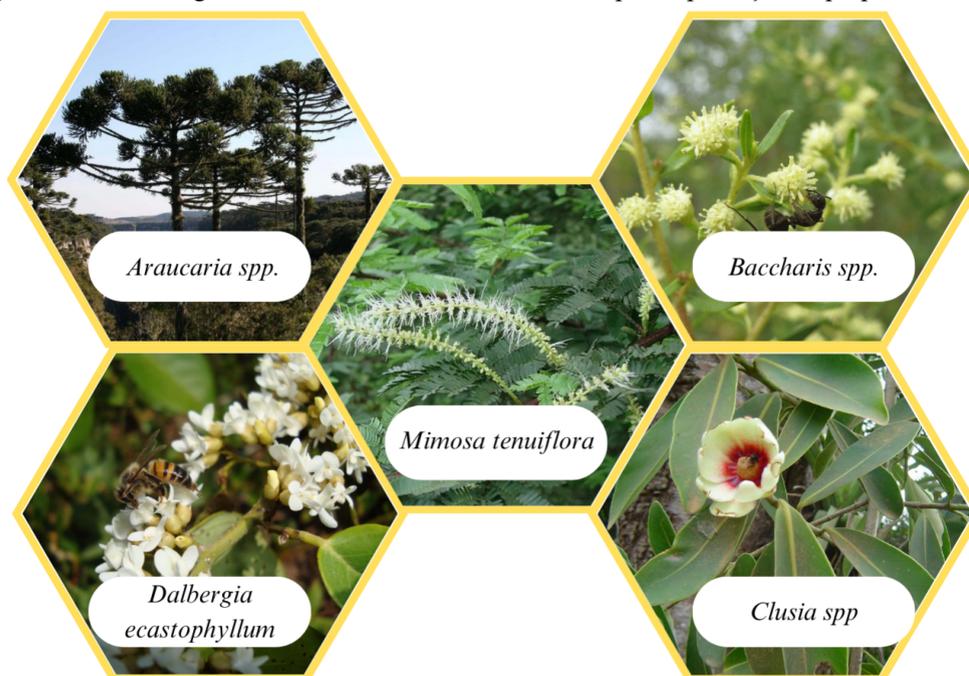
**Figura 3** – *Populus spp.*



**Fonte:** Seraficus, 2012.

Sendo o Brasil uma das maiores biodiversidades do planeta, e apresentando ainda um tamanho territorial colossal, as espécies vegetais para a retirada da resina são diversas. A própolis brasileira apresenta atividade biológica e composição química variável entre as amostras coletadas nas cinco diferentes regiões do país. Tal variação é facilmente explicada pela enorme diversidade biológica brasileira, bem como pela habilidade bioquímica das abelhas em modificar a composição natural e/ou adicionar outros componentes à própolis (SALATINO, *et al.*, 2005). Com base em análises comparativas (químicas e histológicas) com plantas nas quais as abelhas possivelmente estariam coletando resina para fabricação da própolis, verificou-se que amostras de própolis do Brasil possuíam como fontes principais: *Araucaria* spp. (BANKOVA, *et al.*, 1996), *Baccharis* spp. (OLIVEIRA; BASTOS, 1998), *Dalbergiaecastophyllum* (TRUSHEVA, *et al.*, 2006), *Clusia* spp (CASTRO, *et al.*, 2009; ISHIDA, *et al.*, 2011) e *Mimosa tenuiflora* (FERREIRA, *et al.*, 2017).

**Figura 4** – Fontes vegetais onde as abelhas buscam a resina para a produção da própolis brasileira.



**Fonte:** AUTOR, 2024.

Contudo, algumas substâncias presentes na própolis brasileira não foram encontradas em extratos destas plantas, sugerindo a influência de outras espécies vegetais na formação e composição da própolis (BANKOVA, *et al.*, 1989). Ademais, fatores como a ecologia vegetal da região onde a própolis foi coletada (PARK, *et al.*, 1995; PARK, *et al.*, 1997) e até mesmo a variabilidade genética das rainhas (KOO & PARK, 1997), também influenciam na composição química da própolis e seus diferentes aspectos.

**Figura 5** – Diferentes aspectos de algumas própolis brasileiras.



**A.** Própolis verde (BRP) de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*); **B.** Própolis silvestre de jurema preta; **C.** Própolis vermelha (BRV) de jacarandazinho de Maceió-AL. e **D.** Própolis marrom (BRG) de álamo do Paraná.

**Fonte:** MARCUCCI *et al.*, 2020.

Com essa expressão massiva de diferentes aspectos da própolis, Park e colaboradores (2000) classificaram a própolis brasileira em 12 grupos, a partir do perfil químico obtido por meio das técnicas de espectrofotometria de absorção na região UV-visível, cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Porém, um novo tipo de própolis foi descoberto ao longo do litoral nordestino em seus manguezais, foi então catalogada como a própolis do grupo 13, sendo uma própolis da coloração vermelha. Para explicar sua coloração vermelha, observou-se que as abelhas coletavam o exsudato vermelho da superfície de *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub. (Fabaceae), planta conhecida popularmente como “rabo-de-bugio”, sugerindo que essa seja a origem botânica da própolis vermelha, assim como feito nos outros grupos, as análises cromatográficas verificaram que os perfis das amostras de própolis e os exsudatos resinosos vermelhos da *D. ecastophyllum* apresentam grande semelhança no que diz respeito ao teor de flavonoides (DAUGSCH, *et al.*, 2008).

**Tabela 1** - Classificação das própolis brasileiras de acordo com a cor do extrato etanólico e a região de origem.

<b>Grupos</b>	<b>Cor do extrato etanólico</b>	<b>Origem da própolis</b>
1	Amarelo	Região Sul
2	Castanho claro	Região Sul
3	Castanho escuro	Região Sul
4	Castanho claro	Região Sul
5	Marrom esverdeado	Região Sul
6	Marrom avermelhado	Região Nordeste
7	Marrom esverdeado	Região Nordeste
8	Castanho escuro	Região Nordeste
9	Amarelo	Região Nordeste
10	Amarelo escuro	Região Nordeste
11	Amarelo	Região Nordeste
12	Verde ou Marrom esverdeado	Região Sudeste
13	Vermelho	Região Nordeste

Fonte: Adaptado de PARK *et al.*, 2000.

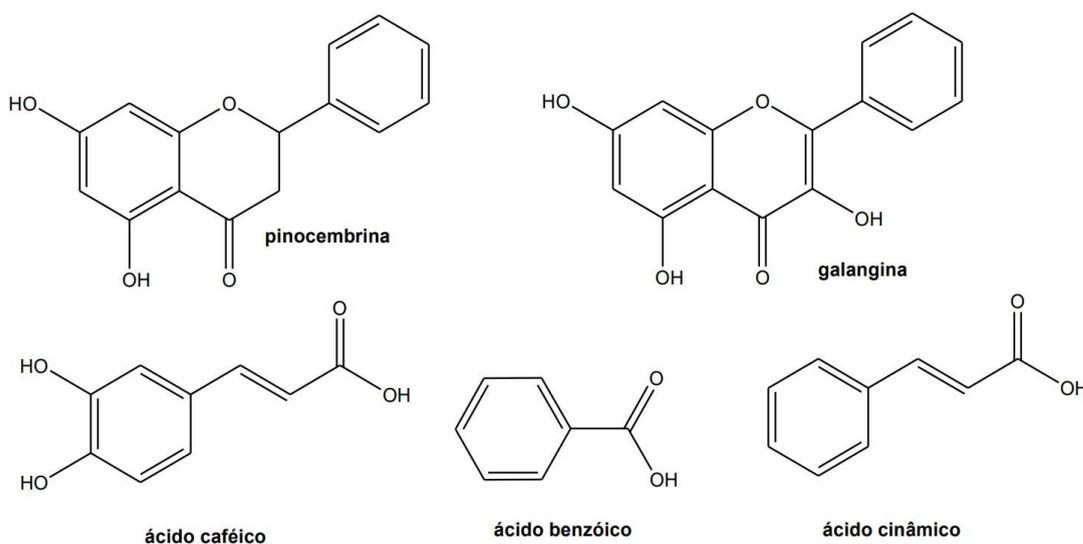
### 2.1.3 Composição química

Como já abordado nesse trabalho a composição química da própolis é muito diversificada e complexa, pois a mesma possui para sua formação uma natureza multifatorial de produtos e eventos como por exemplo os fatores climáticos, geográficos e botânicos, tornando a caracterização detalhada um dos grandes desafios para os pesquisadores deste segmento (BANKOVA, *et al.*, 1992; MARCUCCI, 1996).

Na composição química da própolis existem multiplas classes de interesse, como os flavonóides (galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol), ácidos aromáticos, ésteres, aldeídos, cetonas, terpenóides, fenilpropanóides, esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e outros compostos (HU, *et al.*, 2005; HAYACIBARA, *et al.*, 2005; OZKUL, *et al.*, 2004; MATSUDA, *et al.*, 2002; ROCHA, *et al.*, 2003).

Também estão presentes na sua constituição elementos inorgânicos como o cobre, manganês, ferro, cálcio, alumínio, vanádio e silício (MARCUCCI, 1996). De todos esses grupos de compostos, certamente o que vem chamando mais atenção dos pesquisadores é o dos flavonóides (LIMA, 2006). A eles, bem como aos ácidos fenólicos, são atribuídas as propriedades antiinflamatório, antibacteriana, antiviral e antioxidante (VOLPI & BERGONZINI, 2006). Pelo menos 200 compostos foram identificados em diferentes amostras de própolis, com mais de 100 em cada uma (MARCUCCI, *et al.*, 2001).

**Figura 6** – Principais compostos químicos encontrados na própolis marrom.



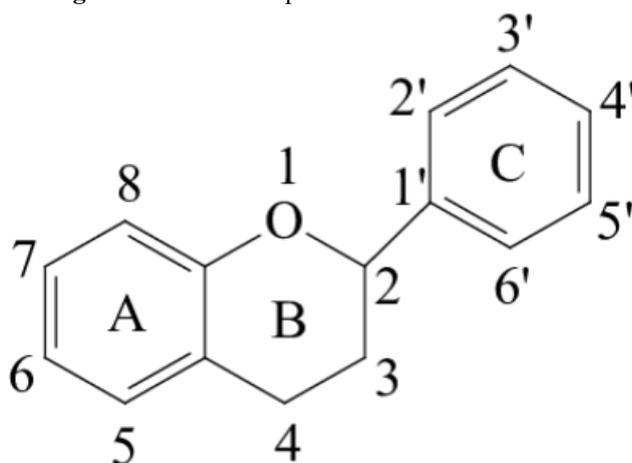
**Fonte:** OLIVEIRA & MOMESSO, 2018.

Os flavonoides são considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários das plantas, e encontrados amplamente em frutas, folhas, chás e vinhos. São pigmentos naturais importantes e nas plantas tem como função principal proteger estes organismos contra agentes oxidantes (LOPES, *et al.* 2010). Sendo moléculas biologicamente ativas e constituintes de uma classe importante de polifenóis presentes com uma certa abundância entre os metabólitos secundários de plantas (MATSUDA, 2006).

Representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal. Assim, a estrutura química básica destes compostos, conhecida como flavilium, consiste de 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos (anéis A e B), os benzenos, interligados a uma estrutura heterocíclica central, o pirano (anel C), onde o primeiro benzeno é condensado com o sexto carbono do pirano, que na posição 2 carrega um grupo fenila (DORNAS, *et al.* 2010).

Onde os seus carbonos podem sofrer variações químicas, como hidroxilação, hidrogenação, metilação e sulfonação, proporcionando a formação de mais de quatro mil compostos flavonóides, que são agrupados em classes (MARKHAM, 1982; ZUANAZZI & MONTANHA, 2003; GEORGIEV, *et al.* 2014; BRETT & GHICA, 2003; SEABRA, *et al.*, 2006). Estão diariamente presentes na dieta humana e considerados por especialistas da área da saúde importantes protetores naturais do organismo contra vários efeitos adversos (RIBEIRO, *et al.*, 2006).

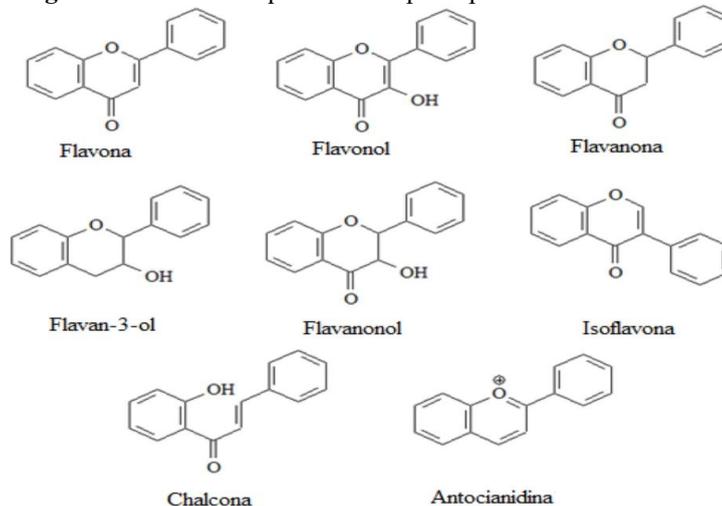
**Figura 7** – Estrutura química básica dos flavonoides.



Fonte: ACKER *et al.*, 1996.

Cerca de 4.000 substâncias diferentes já foram listadas como flavonoides. A presença e a concentração destes compostos é utilizada como índice de qualificação de amostras de própolis, sendo as classes de flavonoides do tipo flavonas, flavonóis, diidroflavonóis, flavanonas, chalconas e diidrochalconas as mais predominantes nesse produto natural (MARCUCCI, 1996; NAGAY & GRANCAI, 1996; MENEZES, 2005; LU *et al.*, 2004).

**Figura 8** – Estruturas químicas das principais classes de flavonoides.



Fonte: BALASUNDRAM *et al.*, 2006; COUTINHO *et al.*, 2009; MACHADO *et al.*, 2008.

Múltiplas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas. Dentre elas vale ressaltar: funções de defesa, como proteção dos vegetais contra a incidência de raios UV-visível e proteção contra insetos e microorganismos (fungos, vírus e bactérias); além de atrair polinizadores, conferir atividade antioxidante, auxiliar no controle dos hormônios vegetais e inibição de enzimas (ZUANAZZI, 1999).

#### **2.1.4 Principais atividades farmacológicas**

A própolis apresenta inúmeras atividades farmacológicas, são por exemplo: propriedades antitumoral, anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, dentre outras (AGRAWAL, 2011;). A amplitude dessas atividades farmacológicas da própolis é maior em regiões tropicais do planeta e menor nas regiões temperadas, refletindo a diversidade vegetal destas regiões: nas regiões tropicais a diversidade vegetal é muito superior à diversidade observada nas regiões temperadas (BANKOVA, 2005).

Muitos pesquisadores relataram que o potencial biológico da própolis se deve a um sinergismo que ocorre entre os muitos constituintes. Observou-se esse sinergismo que ocorre no estudo de várias frações de um extrato etanólico de própolis (EEP). Estes resultados indicam que o seu potencial antibacteriano não é devido à presença de uma substância em particular, mas, resultante de uma ação complexa de vários compostos (KROL et al., 1993).

Os principais compostos químicos isolados da própolis até o momento podem ser organizados em alguns grupos principais como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxo, aminoácidos, esteróides, cetonas, charconas e di-hidrocharconas, flavonóides (flavonas, flavonóis e flavononas), Terpenóides, Proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais (MARCUCCI, 1995; PARK, *et al.* 1996; BURDOCK 1998; BANKOVA, *et al.* 2000; SAHINLER & KAFTANOGLU, 2005).

**Tabela 2** – Flavonóides ligados a sua atividade farmacológica.

Flavonoide	Atividade Farmacológica	Referência
Acacetina	Antiviral	CRITCHFIELD; BUTERA; FOLKS, 1996
Amentoflavona	Antiviral	SHUANG-CHENG et al., 2001
Buteina	Anti-inflamatória	CHAN et al., 1998
Quercetina	Antitumoral	FORMICA; REGELSON, 1995
	Anti-inflamatória	FERRANDIZ; ALCARAZ, 1991
	Antimicrobiana	BEIL; BIRKHOLZ;
	Antioxidante	SEWING, 1995
Rutina	Anti-inflamatória	YOO et al., 2014
	Antimicrobiana	PIMENTEL et al., 2013
	Antioxidante	VISKUPICOVA et al., 2010
	Antitumoral	ALONSO CASTRO; DOMÍNGUEZ; GARCÍA CARRANCA et al., 2013

Fonte: Adaptada de SIMÕES. 2007.

#### 2.1.4.1 Atividade antimicrobiana

A própolis tem sido estudada como um possível agente terapêutico contra diferentes tipos de vírus, incluindo o vírus da herpes, o vírus da gripe e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (PAULINO, *et al.*, 2018), o mecanismo de ação de flavonoides sobre a capacidade da interação do vírus desde a ligação até a sua entrada na célula hospedeira, ocorre por meio da ligação com glicoproteínas do envelope viral e receptores celulares modificando sua estrutura química e bloqueando o sitio de ligação do vírus.

Carvalho e colaboradores (2013) demonstraram em ensaios *in vitro* a atividade virucida de um flavonoide sobre o parvovírus canino. Para avaliação do efeito antiviral, a redução do título viral foi de 93% para concentração de 3 µg/ml de quercetina incubada com vírus. No mesmo estudo, foi observada também a redução do título viral na dose dependente na concentração de 1,5 µg/ml em testes de determinação de atividade sobre a células (CARVALHO, *et al.*, 2013).

Na literatura a atividade antibacteriana da própolis marrom é vista em várias bactérias gram-positivas, como *Bacillus brevis*, e *B. cereus var. mycoides*, *B. megatherium*, *B. polymyxa*, *B. premilus*, *B.sphaericus*, *Cellulomonas fimi*, *Nocardia globerula*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*, como também em bactérias gram-negativas como *Aerobacter aerogenes*, *Alcaligenes spp.*, *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marscescens*. (OLIVEIRA & MOMESSO, 2018; SILVA et al., 2012).

Já a atividade antifúngica é bem descrita em uma revisão feita por Sawicka e colaboradores (2020), a própolis tem mostrado atividade contra diversas espécies de fungos, incluindo *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium solani* e *Trichophyton rubrum*. A própolis tem sido empregada no tratamento de infecções fúngicas, como a candidíase oral e vaginal (SAWICKA *et al.*, 2020; AL-WAILI, 2012; SOUZA *et al.*, 2020).

#### **2.1.4.2 Atividade antitumoral**

A própolis apresenta substâncias que tem sido caracterizadas como inibidores de células cancerosas, por apresentarem propriedades farmacológicas conhecidas como antioxidantes, possivelmente controlando assim a proliferação celular e desempenhando o bloqueio da oncogênese por mecanismos que modulam enzimas da via metabólica carcinogênica (AMADO, *et al.*, 2011; HUNG, *et al.*, 2009). Por isso essa atividade antitumoral passou a ser alvo de estudos com intuito de esclarecer sua interação nos mecanismo de inibição do crescimento celular por meio da apoptose em linhagens de células carcinogênicas (JADVAR, *et al.*, 2009).

Brito e colaboradores (2015) verificaram a capacidade que a quercetina possui ao inibir a proliferação de linhagem celular de carcinoma hepatocelular, revelando que a quercetina consegue inibir a função do transportador de glicose (GLUT-1). Em um estudo realizado por Pereira e colaboradores (2015), foi investigado a indução de morte celular por apoptose em linhagens de célula de câncer de pulmão (H4600), no qual revelou a redução do crescimento tumoral e indução de morte celular mediante o tratamento com flavonoide morina, na concentração de 800 µg/ml. Avaliados pelos ensaios testes de MTT, por microscopia de fluorescência e citometria de fluxo (PEREIRA, *et al.*, 2015).

#### **2.1.4.3 Atividade antioxidante**

Além dos polifenóis, a própolis possui uma série de outras substâncias com a capacidade de inibir esses radicais livres em excesso do corpo humano (MARQUELE *et al.*, 2005). Vários grupos de pesquisadores relataram essa propriedade da própolis e muitos deles conseguiram isolar vários compostos que seriam capazes de agir ofertando essa ação antioxidante (BANSKOTA, *et al.*, 2000; BASNET, *et al.*, 1997; CLAUS, *et al.*, 2000; MORENO, *et al.*, 2000; OYAIZU, *et al.*, 1999; SUN, *et al.*, 2000). Todos esses pesquisadores concordam em atribuir esse atributo farmacológico aos flavonoides, sobretudo ao CAPE (éster fenólico do ácido cafeico).

No entanto, Russo e colaboradores (2002) descobriram que os extratos de própolis onde o CAPE foi removido continuaram a demonstrar atividade antioxidante (PEREIRA, *et al.*, 2015). Flavonoides apresentam atividade antioxidante pelo fato de serem quelantes de metais, varredores de radicais livres, inclusive o radical hidroxila ou radical peróxido, além de neutralizarem espécies oxidantes como o ânion superóxido(O<sup>2-</sup>) e atuarem em sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E.

Atualmente, estuda-se a respeito da estrutura dos flavonoides e a ação antioxidante. Essa atividade antioxidante também está ligada a inibição de enzimas ciclo, lipoxigenase, NADPHoxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, e estimulação de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxidodismutase (TRUEBA; SÁNCHEZ, 2001).

#### **2.1.4.4 Atividade anti-inflamatória**

A principal propriedade medicinal descrita historicamente da própolis é a atividade anti-inflamatória. De acordo com os estudos realizados, essa capacidade se dá majoritariamente pela presença de flavonoides, sendo a galangina o mais citado deles (PINTO *et al.*, 2011), a atividade anti-inflamatória dessa classe de substâncias vem sendo investigada devido ao poder que alguns compostos fenólicos possuem em inibir as vias de ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase, as quais desempenham um papel importante como mediadores inflamatórios (SIMÕES, *et al.*, 1988; FERRANDIZ; ALCARAZ, 1991).

Segundo Moroney e colaboradores (1988), as enzimas COX e 5-lipoxigenase estão envolvidos na liberação de ácido araquidônico, o qual está envolvido na formação de leucotrienos que é um ponto de partida para uma resposta inflamatória geral. Os compostos fenólicos santina e 6-hidróxi-canferol-3,6-dimetil-éter, derivados do kenferol e isolados de *Tanacetum parthenium Sch. Bip.* foram capazes de inibir a COX e 5- lipoxigenase (MORONEY, *et al.*, 1988).

Efeitos anti-inflamatórios in vivo e in vitro aparecem na literatura para os compostos diosmina e hesperidina, de forma que a atividade anti-inflamatória tem sido atribuída à inibição da síntese de prostaglandinas PGE2 e PGE2a e à atividade antioxidante (GARG *et al.*, 2001). Outros compostos que apresentaram uma eficaz ação anti-inflamatória foram as antocianinas por meio da inibição de liberação e de síntese de substâncias endógenas, que promovem inflamação como a histamina. Por este efeito as antocianinas apresentam forte ação antialérgica (AMELLAL, *et al.*, 1985).

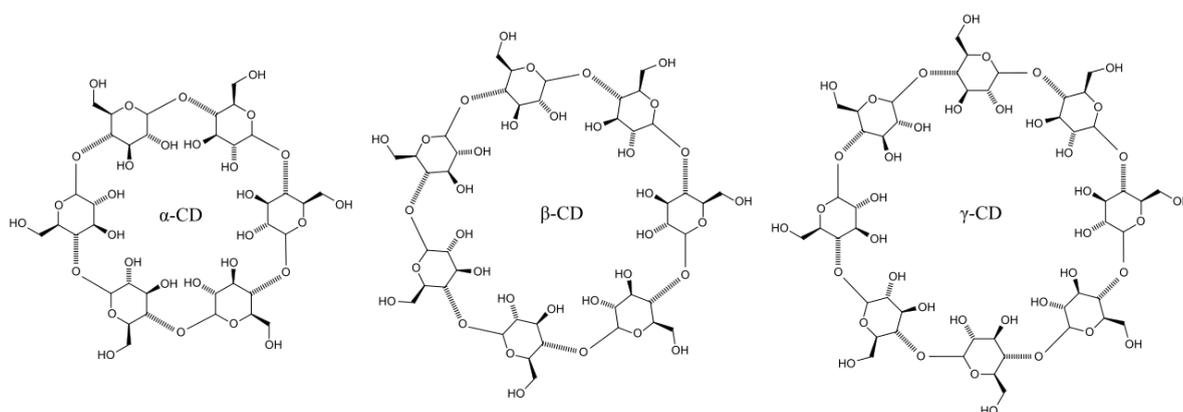
## 2.2 Ciclodextrina

No século XIX, o cientista francês Villiers, observou que a digestão do amido através de um bacilo, gerou uma substância que veio a ser denominada de Celulosina, muitos autores acreditam que essa estrutura era composta por uma mistura de várias Ciclodextrinas (CDs), que na época não teve uma melhor definição (BARRETO & CUNHA-FILHO, 2008).

De forma geral, as CDs são excipientes formados por oligossacarídeos cíclicos, compostas por unidades de D-glicopironose, ligadas por ligação glicosídica  $\alpha$ -1,4. Essas por sua vez possuem propriedades extrema relevância no meio farmacológico, pois, auxilia na solubilidade de fármacos, melhora na biodisponibilidade, contribui para uma estabilidade fisicoquímica, na atividade de complexo de inclusão e melhora nas propriedades organolépticas de drogas (BHARGAV, 2021).

As CDs são moléculas de carboidratos cíclicos, que tem uma vasta funcionalidade, principalmente na indústria farmacêutica, por ser um excipiente com função de gerar compostos de inclusão, tendo a capacidade de solubilizar o fármaco em meio aquoso, além de melhorar a biodisponibilidade e propriedades organolépticas e entre outras características (BARRETO & CUNHA-FILHO, 2008).

**Figura 9** – Estruturas químicas das ciclodextrinas.



**Fonte:** Stanisław Skowron, 2006.

As CDs foram descritas por Schardinger em 1903, que detalhou o processo de fabricação e o isolamento, sua produção é baseada pela digestão enzimática através da CGTase, elas hidrolisam os polissacarídeos, pois os mesmos servem como precursores de oligossacarídeos cíclicos. Além de separá-las e donominá-las de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  ciclodextrinas, considerando-as como naturais. Foi apenas no século XX, que seu processo de fabricação laboratorial e características físico-químicas foram melhoradas e alavancaram suas aplicabilidades na indústria farmacêuticas (VENTURINI *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2021).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Caracterizar complexos de inclusão de EPMUP com  $\beta$ -CD, fornecendo dados para o desenvolvimento de estudos de pré formulação e compatibilidade de sistemas dispersos em suspensão do EPMUP, com o intuito de revisar a possível introdução no mercado de suspensões aquosas com mínimos teores de álcool ou álcool free.

#### **3.2 Específicos**

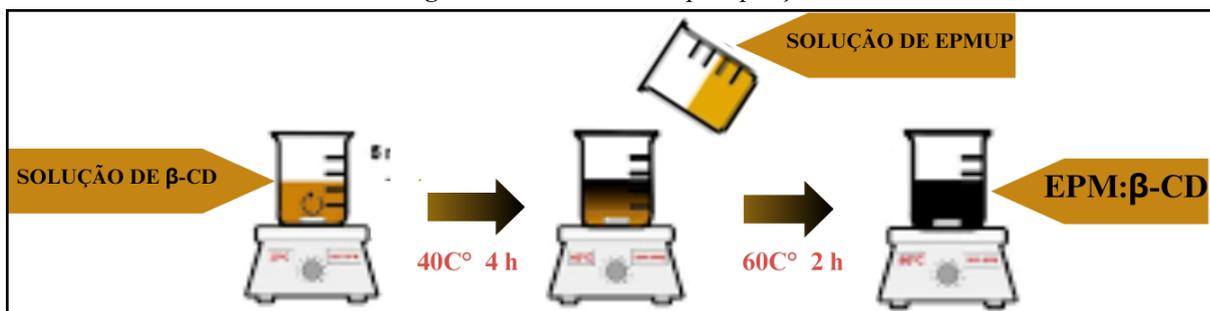
- Obter CI do EPMUP com  $\beta$ -CD em diferentes concentrações de extrato;
- Avaliar a formação dos CI usando técnicas como MEV e TG;
- Determinar o teor de flavonóides totais dos CI em comparação com as MF e da própria EPMUP;
- Quantificar a atividade antioxidante pela capacidade de inibição de radicais livres DPPH;
- Avaliar o grau de dissolução *in vitro* em diferentes meios dos CI obtidos com melhores resultados nas análises anteriores, e compara-los com a MF

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Obtenção dos Complexos de inclusão (CI)

Os CI de  $\beta$ -CD com EPMUP (EPM: $\beta$ -CD) (1:1, 1:2 e 2:1 m/m) foram obtidos pelo método de coprecipitação de Ferreira (2021). Soluções de  $\beta$ -CD e água (500 mg/10 ml), (1000 mg/10 ml) e (500 mg/10 ml) foram preparadas respectivamente e aquecidas a 40°C durante 4 horas sob agitação gerando a completa dissolução da  $\beta$ -CD. Soluções de EPMUP e metanol (500mg/10ml), (500mg/10ml) e (1g/10ml) foram preparadas respectivamente e então foram dispersas nas soluções aquosas de  $\beta$ -CD ainda sob agitação em 60°C durante 2 horas até ser observada a total evaporação do metanol através do retorno ao volume inicial da solução de  $\beta$ -CD, para assim se obter os complexos de inclusão de EPM: $\beta$ -CD. foram congelados a - 26 °C por 48 h e liofilizados em um liofilizador Heto Holten A/S (operando a uma temperatura da placa do condensador de - 111 °C, pressão da câmara de 30 Pa e temperatura da prateleira de 25 °C).

Figura 10 – Método de coprecipitação.



Fonte: AUTOR, 2024.

Misturas físicas (MF) EPM: $\beta$ -CD (1:1, 1:2 e 2:1 m/m) foram obtidas para estudos comparativos. Então foi adicionado 500 mg de EPMUP a quantidade correspondente de  $\beta$ -CD (500 mg/500 mg), (500 mg/1000 mg) e (1000mg/500mg) e posteriormente misturados. A amostra 2:1 foi levada para secar na estufa durante 4 horas a 60 °C, por apresentar mais EPMUP essa amostra demonstrou uma secagem mais lenta, as demais secaram em um dessecador a temperatura ambiente de 25 °C. Por fim, ao secar, foi realizada a tamisação para padronização do tamanho dos grânulos, seguida de trituração com gal e pistilo, obtendo o pó.

## 4.2 Termogravimetria (TG)

A aplicação da termogravimetria na indústria farmacêutica é descrita em termos de caracterização, determinação de pureza e umidade, identificação de pseudopolimorfismo, avaliação da estabilidade de medicamentos e fármacos e estudo da dinâmica de degradação de fármacos (PEREIRA, 2013; OLIVEIRA et al., 2011).

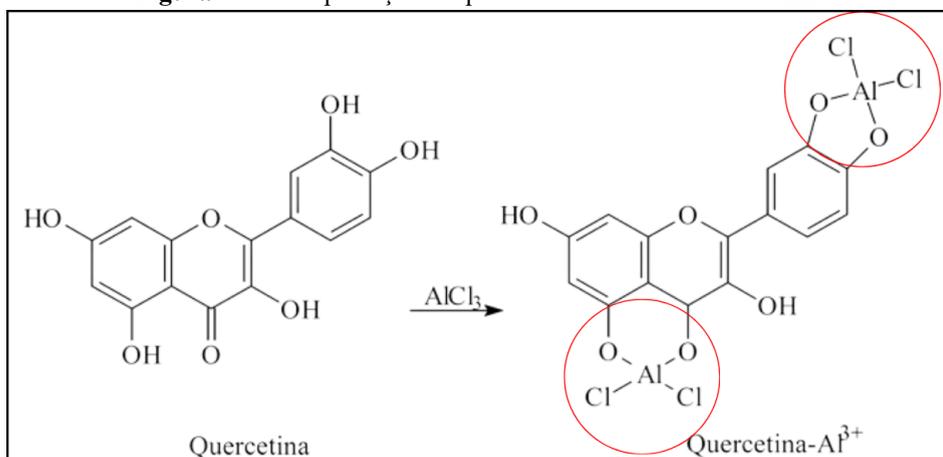
Para analisar e determinar as propriedades térmicas dos CI, das MF e do EPMA foi utilizado um analisador termogravimétrico modelo TGA-60, da marca Shimadzu. Em um cadinho de alumínio foi adicionada uma massa de aproximadamente 5 mg, submetida a uma temperatura de 25 a 600 °C em uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, sob atmosfera de nitrogênio com uma taxa de fluxo de 50 mL min<sup>-1</sup>.

Nas curvas termogravimétricas, os degraus relacionados ao eixo das ordenadas representam as variações de massa que a amostra sofreu durante a análise e possibilitam a coleta de dados que podem ser utilizados para fins quantitativos (ALVES, 2007).

## 4.3 Determinação de flavonóides totais

O teor total de flavonóides foi determinado utilizando o método de Do Nascimento 2018, mediante o monitoramento por UV-Vis da formação do complexo flavonóide-AlCl<sub>3</sub> reação das amostras com o cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) 5% em metanol. A partir das mesmas soluções estoque utilizadas para o ensaio de DPPH, foram transferidas alíquotas para se chegar às diluições de 50, 100 e 150, µg/mL, em balões contendo 100 µg/L de solução de cloreto de alumínio a 5%, completando-se o balão com metanol até o traço de aferição. A reação ocorreu durante 30 minutos, em ambiente protegido da luz.

Figura 11 – Complexação da quercetina com cloreto de alumínio



Fonte: Mabry, et al. 1970.

A leitura das absorvâncias das misturas reacionais foi então realizada em espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda de 425 nm, inserindo-se finalmente os dados na equação da curva de calibração de quercetina ( $Y = 0,0716X - 0,0018$ ;  $R^2 = 0,9994$ ) a qual foi elaborada com base em sete concentrações do padrão analítico.

#### 4.4 Atividade antioxidante

A técnica de atividade antioxidante pelo método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) é amplamente utilizada para avaliar a capacidade de compostos em neutralizar radicais livres. Quando o DPPH, estável de cor púrpura, entra em contato com um agente antioxidante, ocorre a transferência de elétrons, resultando na redução do radical e na mudança de cor para amarelo. Essa reação é baseada no princípio da captura de radicais livres, em que o agente antioxidante doa elétrons para o radical DPPH, inibindo a sua atividade oxidativa. A intensidade da mudança de cor está relacionada à capacidade antioxidante do composto em teste (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; MOLYNEUX, 2004).

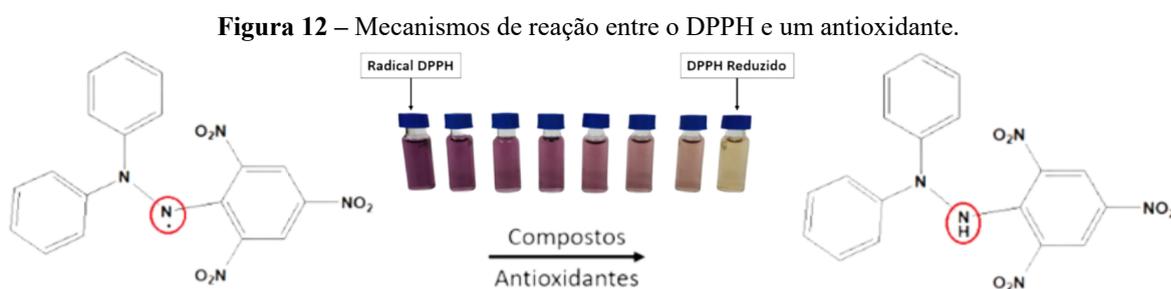
A análise da ação antioxidante das amostras foi realizada através do ensaio químico da capacidade de sequestro de radicais DPPH, segundo o método descrito por Nascimento e colaboradores, 2018. Primeiramente, a preparação da solução estoque de DPPH foi obtida mediante a pesagem de 4 mg de DPPH, em uma balança analítica Shimadzu modelo AX200, as 4 mg foram despejadas em um balão volumétrico de 100 ml e dissolvido em etanol absoluto através de 180 segundos de sonicação, obtendo-se uma solução de DPPH a 0,1 mM. Em seguida, prepararam-se as soluções estoque em etanol na concentração de 1mg/mL, do extrato bruto de PMA, bem como das amostras liofilizadas.

As reações para determinação da atividade antioxidante prosseguiram com a transferência de alíquotas das soluções-estoque das amostras para balões volumétricos de 5 ml. Em cada balão foram adicionados 2 ml da solução de DPPH, preenchendo com etanol absoluto até ao traço de aferição, ou seja, obtiveram-se, respectivamente, as concentrações de 20, 30, 40 e 50 µg/ml. A reação foi iniciada e os balões volumétricos foram armazenados ao abrigo da luz durante 30 minutos. Ao término da reação, os decaimentos do DPPH foram analisados em espectrofotômetro UV-Vis (modelo Shimadzu, UVmini-1240), no modo “fotometria”, com comprimento de onda ( $\lambda$ ) programado para 518 nm. As absorvâncias observadas foram inseridas na equação abaixo, com o objetivo de avaliar a atividade antioxidante em termos percentuais.

$$\% \text{ atividade antioxidante} = [100 - (A \text{ amostra} - A \text{ branco}) \times 100] / A \text{ controle}$$

#### 4.5 Ensaio de dissolução *in vitro*

O teste de dissolução é um teste físico *in vitro* que utiliza aparelhagem específica e condições experimentais controladas como pH do meio, temperatura e rotação, para avaliar a quantidade de fármaco liberada no meio de dissolução. Originalmente destinado para formas farmacêuticas sólidas de uso oral e liberação instantânea, mas na atualidade pode ser usado com uma variedade de formas de farmacêuticas sólidas e semi-sólidas, bem como sistemas de liberação controlada (OLIVEIRA, 2019; BROWN *et. al.*, 2011; BRASIL, 2010).



Fonte: Adaptado de Oliveira, 2021.

Para o estudo de dissolução, foi utilizado um dissolutor automático modelo 708-DS Dissolution Apparatus - Agilent. O pó dos CI e MF foram pesados com equivalente quantidade de 12,5 mg do extrato de própolis marrom e transferido em cápsulas de tamanho 00. Durante as primeiras 2 h foram adicionados em 4 cubas 250mL de meio HCl 0,1 M e após 2 h da etapa ácida, a etapa de tampão fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) que consistiu na adição de 250 mL de fosfato 0,2 M tampão em pH 6,8 para um volume total de 500 mL cada. A temperatura do meio foi mantida a  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , utilizando-se pás (aparato II) como dispositivo de agitação a 100 rpm.

Foram realizadas coletas de 5,0 mL do meio de dissolução em diferentes tempos (30 min., 45 min., 60 min., 120 min., 180 min. e 240 min.), a solução coletada foi filtrada em papel de filtro analítico e submetidas à espectroscopia UV-Vis com comprimento de onda de 281 nm. O padrão analítico do próprio extrato foi utilizado para obter a curva de calibração e representar a quantidade total de flavonóides liberados pelos sistemas.

O ensaio de dissolução *in vitro* é essencial na avaliação da biodisponibilidade de medicamentos, pois a dissolução é um passo crítico para que o fármaco seja absorvido pelo organismo. Além disso, esse ensaio também é utilizado para comparar diferentes formulações de medicamentos, realizar estudos de estabilidade e bioequivalência, e auxiliar no desenvolvimento de formas farmacêuticas mais eficazes (SOUZA *et al.*, 2019).

#### **4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Em relação ao estudo da morfologia das amostras, a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma importante ferramenta de análise microestrutural, permitindo a visualização de amostras com alta resolução. A MEV utiliza um feixe de elétrons focalizado para varrer a superfície da amostra. A técnica de MEV possui várias aplicações, tais como análise de superfícies de materiais, estudos de fraturas, análise de microestrutura de metais, observação de células biológicas e análise de partículas em ciências ambientais (SILVA *et al.*, 2018; COSTA, 2016).

A análise foi realizada no MEV da marca TESCAN. Em um porta amostra circular de aço foram inseridas tiras finas de carbono com o intuito de se depositar as amostras a serem analisadas. A metalização das amostras foi feita em um metalizador com alvo de platina por 3 minutos, seguido de aplicação de alvo de ouro por 5 minutos (Corrente de 10 mA em ambas). O MEV foi operado a 5 kV com ampliação de foco na faixa de 457 a 1800 vezes.

#### **4.7 Difração de Raio-X (DRX)**

A amostras utilizadas para a realização do DRX foram obtidas no projeto “Pesquisa e Desenvolvimento de novos produtos sustentáveis e eco-amigável da Própolis Marrom de União dos Palmares” O CI  $\beta$ -CD:EPMUP (1:1) foi obtidos pelo método de coprecipitação de Ferreira (2021) e a MF  $\beta$ -CD:EPMUP (1:1) foi obtida pela simples mistura física entre o extrato e a  $\beta$ -CD. As análises de difração de raios X foram realizadas através de um difratômetro DRX 3000 Shimadzu (Kyoto, Japão) com uma fonte de cobre a 42 - 25°C. Aproximadamente 0,2g da amostra foram inseridos no porta-amostra e analisados sob as seguintes condições: 30 kV, 30 mA CuK $\alpha$  ( $\lambda= 0,15406$  nm). As amostras foram analisadas em intervalos de 0,02° (2 $\theta$ ), na faixa de 3 a 90°. Em seguida, foi aplicada a lei de Bragg, que relaciona este espalhamento das ondas (HOLLER *et al.*, 2009).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Complexos de inclusão

A obtenção dos complexos de inclusão EPMA: $\beta$ -CD CI 1:1(A), CI 1:2 (B) e CI 2:1(C) através do método de coprecipitação e liofilização e das misturas físicas EPMA: $\beta$ -CD MF 1:1(D), MF 1:2 (E) e MF 2:1 (F). A Figura 13 mostra os complexos de inclusão formados CI 1:1(A), CI 1:2 (B) e CI 2:1(C), como também das misturas físicas MF 1:1(D), MF 1:2 (E) e MF 2:1 (F) em forma de pó. As características físicas das amostras se apresentaram, com coloração variando de um amarelo escuro até um marrom claro, sendo as colorações mais próximas do EPMUP as das misturas físicas. Com texturas predominantemente uniformes e opacas, ao toque apresentam também odor suavemente semelhante ao EPMUP.

**Figura 13** – Apresentação visual das amostras CI 1:1(A), CI 1:2 (B) e CI 2:1(C), MF 1:1(D), MF 1:2 (E) e MF 2:1 (F)  
Fonte: AUTOR, 2024

### 5.2 Termogravimetria (TG )

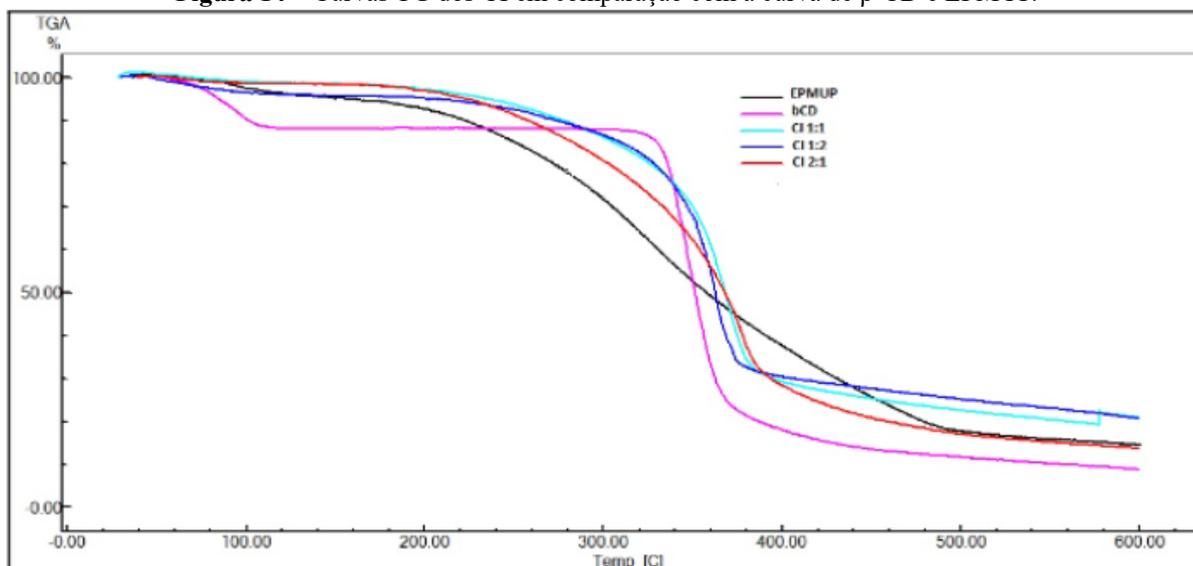


As Figuras 14 e 15 mostram a curva TG do CI e MF respectivamente, quando em comparação a  $\beta$ -CD e EPMUP. A  $\beta$ -CD tem uma curva TG que apresenta dois eventos. O primeiro envolve perda de água (11,7%) da temperatura de 77°C até 105,4°C. O segundo é a decomposição térmica (78%) ocorre após 335°C até 372°C. O EPMUP também é dividido em dois eventos. O primeiro apresenta uma perda de peso (4,4%) da temperatura de 81°C até 124°C que pode ser atribuída à evaporação de compostos voláteis. No segundo evento a perda de massa (74,89%) ocorre no faixa de temperatura 257–423°C essa perda é atribuída à decomposição da mistura de compostos orgânicos presentes no extrato de própolis.

O perfil térmico das MFs está mais próximo do comportamento térmico da  $\beta$ -CD pura. As duas MFs que demonstram maior proporção de  $\beta$ -CD (MF1 e MF2) apresentaram também dois eventos, enquanto a MF3 que contém menos  $\beta$ -CD apresentou apenas um. Na MF 1:1 o primeiro evento (5,22%) decorreu entre 124,1 até 170,8°C e está associado a perda de compostos voláteis, e a segunda perda de massa (50,6%) ocorreu de 346,8°C até 366,6°C. Por outro lado na MF 1:2 o primeiro evento (3,77%) decorreu entre 91,4 até 109,1°C está associado a perda de água e compostos voláteis, e a segunda perda de massa (61,75%) ocorreu de 351,3°C até 371,27°C, é notável a semelhança entre o perfil térmico da MF2 e  $\beta$ -CD sendo a MF com maior proporção de  $\beta$ -CD, o que indica que parte da  $\beta$ -CD ficou livre na MF 1:2. Enquanto que na MF 2:1 que apresenta apenas uma parte, a perda de massa (54%) decorreu entre 319,6 até 370,2°C, demonstrando maior estabilidade térmica.

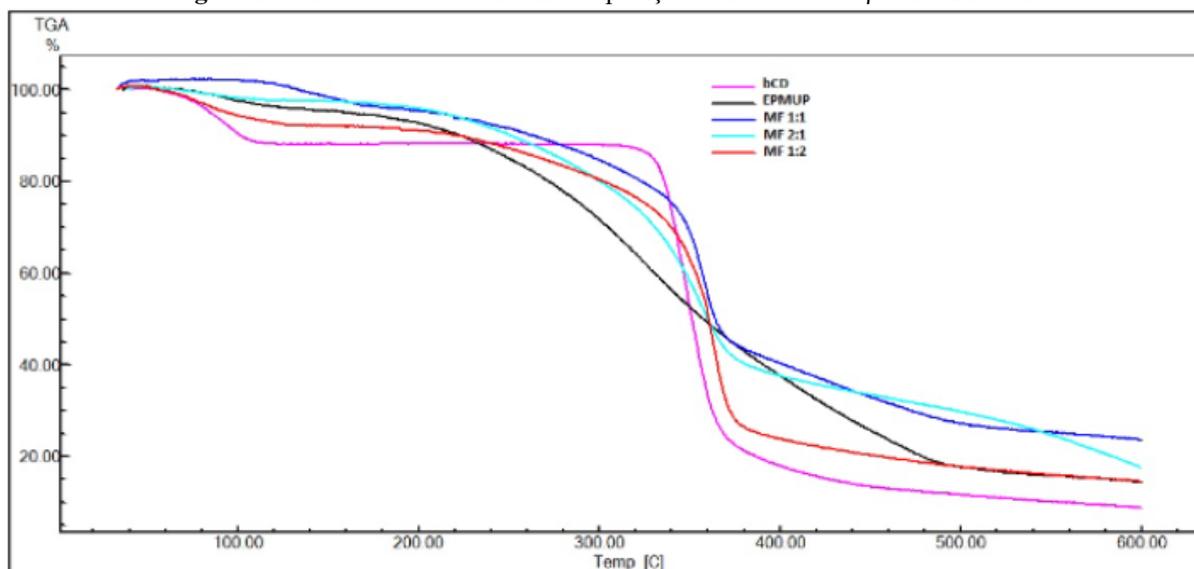
O perfil térmico dos CI estão mais lineares e sem demonstrar tanto as características marcantes dos compostos puros, e sim uma mistura deles. No CI 1:1 o evento (63,4%) decorreu entre 353,44 até 379,65°C. No CI 1:2 o evento (47,81%) decorreu entre 350°C a 370°C. Já no CI 2:1 a perda de massa (65%) decorreu entre 349°C a 383°C. Demonstrando assim que os CI apresentaram maior estabilidade térmica.

**Figura 14** – Curvas TG dos CI em comparação com a curva de  $\beta$ -CD e EPMUP.



Fonte: AUTOR, 2024.

**Figura 15** – Curvas TG das MF em comparação com a curva de  $\beta$ -CD e EPMUP.



Fonte: AUTOR, 2024.

**Tabela 3** – Dados das curvas TG do CI e MF.

Amostra	Estágio	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Varição de massas (%)
$\beta$ -CD	I	77	105,4	11,7
	II	335	372	78,5
EPMUP	I	80,99	124,21	4,411
	II	257,04	423,03	74,89
LIOF1	I	353,44	379,65	63,419
LIOF2	I	350,87	370,17	47,814
LIOF3	I	349,13	383,67	65,006
MF1	I	127,14	170,83	5,225
	II	346,81	366,65	50,609
MF2	I	91,43	109,11	3,779
	II	351,33	371,27	61,755
MF3	I	319,61	370,2	54,038

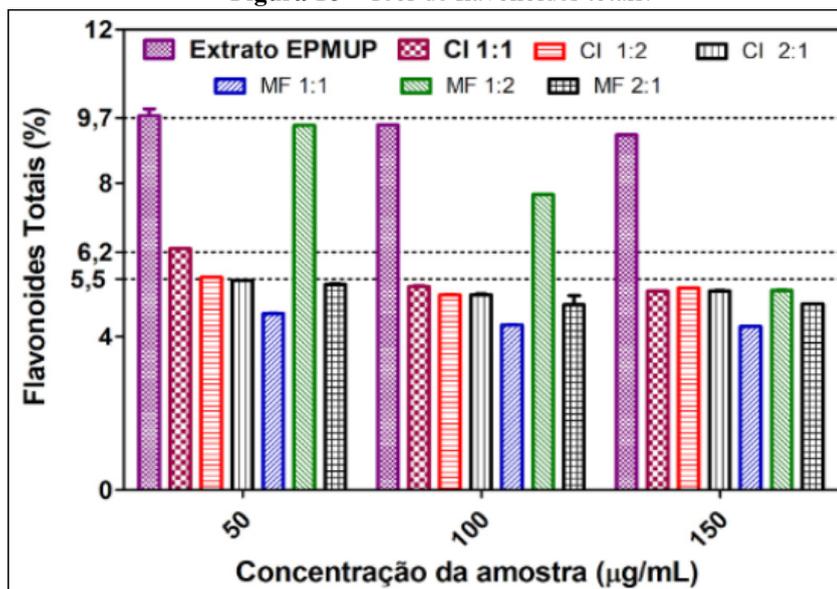
Fonte: AUTOR, 2024.

### 5.3 Determinação de flavonóides totais

Como a composição química da própolis é dependente de vários fatores, dentre eles a localização geográfica, a relação entre os grupos fenólicos totais e flavonoides totais está intimamente relacionada à flora e à região da coleta (BANKOVA, 2005). Andrade e colaboradores 2017, apontam a própolis marrom de Alagoas com menores teores de flavonóides quando comparada com a própolis verde e vermelha também de Alagoas, nesse cenário o EPMUP se mostrou de grande qualidade, já que o mesmo obteve 9,7% (m/m) para flavonoides totais, estando dentro dos padrões estabelecidos pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que são: extratos etanólicos de própolis devem conter, no mínimo 0,25% (m/m) de flavonóides (BRASIL, 2001).

Os resultados para os CI e MFs também foram positivos, já que a 50 µg/ml o CI 1:1 obteve 6,2% e os outros dois CI obtiveram em torno de 5,5% de flavonóides totais, as MFs apresentaram em média valores um pouco abaixo de 5,5% do teor. Os CI obterem uma concentração abaixo da concentração do EPMUP pode ser explicada pelo aprisionamento parcial dos flavonoides dentro do complexo, por ser um equilíbrio dinâmico os flavonóides estão entrando e saindo da cavidade da β-CD, e no momento da leitura eles estavam ainda semi-aprisionados.

Figura 16 – Teor de flavonoides totais.



Fonte: AUTOR, 2024.

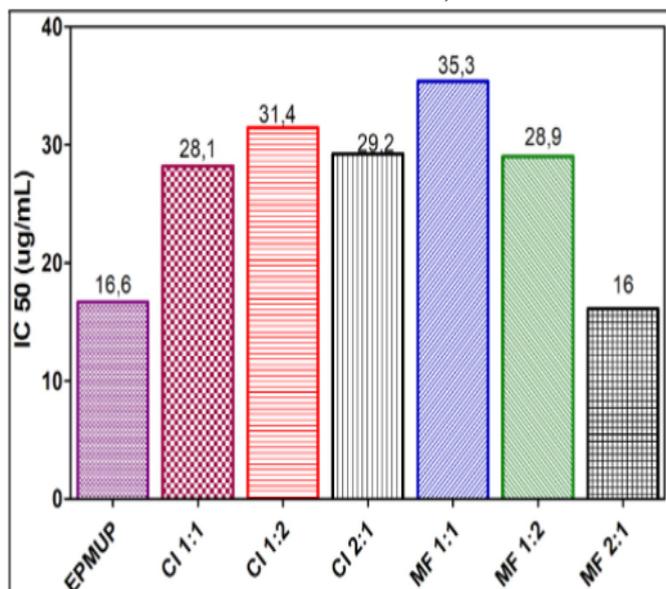
#### 5.4 Atividade antioxidante

Quanto à determinação da atividade antioxidante, durante a reação o DPPH sofre redução para difenil-picrilhidrazina, essa redução é possível devido a ação de uma espécie antioxidante. Quando feita a leitura na região do UV é notado o desaparecimento da absorção, sendo assim, durante a análise monitora-se o decréscimo da absorbância de várias soluções com concentrações diferentes e conhecidas. Com esta diminuição que ocorre é possível calcular o consumo do radical livre DPPH, que é representado em porcentagem, a mesma corresponde à quantidade de DPPH que é consumida pelo antioxidante (SOUSA et al, 2007).

Sendo assim, para medir a ação antioxidante das amostras foi realizada uma curva das absorbâncias após inserção do EPMUP, dos CI e das MFs em diferentes concentrações, a atividade de eliminação de radicais livres foram avaliados quanto à sua capacidade de extinguir o radical DPPH. Os resultados foram dados na concentração necessária das amostras que proporcionam a inibição de 50% (IC50) de DPPH.

As concentrações de (IC50) estão presentes na Figura 5, onde o EPMUP obteve um IC50 de 16,6 µg/mL sendo um resultado comparável com a MF 2:1 que obteve o IC50 mais baixo que foi 16 µg/mL, esse resultado pode indicar que houve muito EPMUP livre na MF 2:1 não estando presente na forma de CI, sendo demonstrados quantidades de IC50 baixas, indicando uma alta atividade antioxidante. Foi observado que o EPMUP demonstrou boa atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH.

**Figura 17** – Atividade antioxidante do EPMUP, CI e MF em IC50 do DPPH



Fonte: AUTOR, 2024.

### 5.5 Ensaio de dissolução *in vitro*

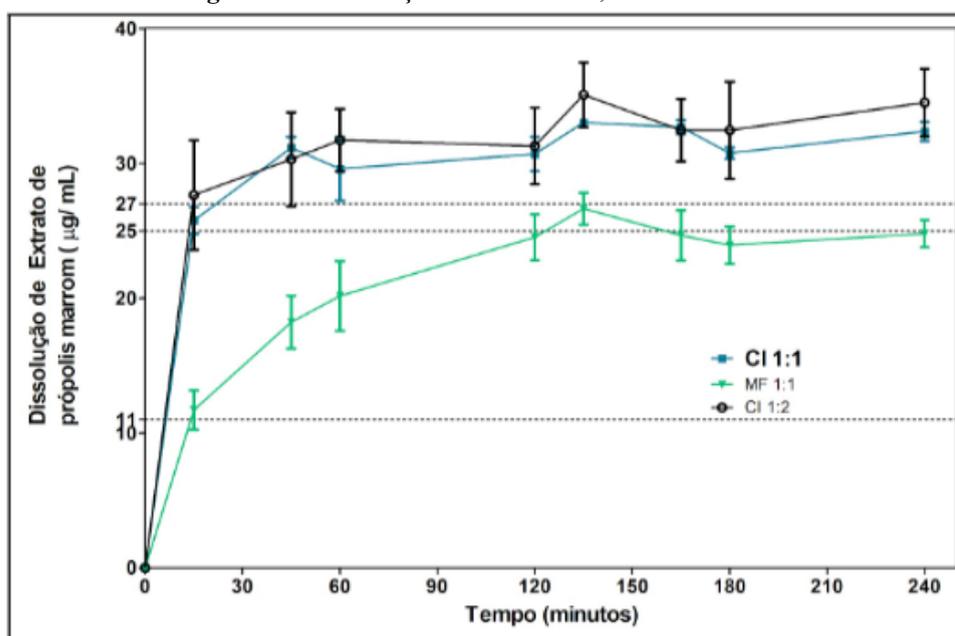
Os ensaios foram conduzidos em perfil de dissolução *in vitro* visando avaliar a cinética de liberação de flavonoides presentes no EPMUP, sendo os mesmos encapsulados na  $\beta$ -CD. Os resultados adquiridos estão apresentados na figura 18. Segundo Nascimento e colaboradores, 2022, os estudos de dissolução são aplicáveis para a simular as condições inerentes ao trato gastrointestinal, replicando as circunstâncias que ocorrem durante a etapa de solubilização, permeação e absorção de compostos bioativos, sejam eles de natureza farmacêutica ou alimentar.

Através dos ensaios de dissolução realizados, foi possível observar grandes diferenças entre os CI e a MF. Primeiramente, é observado que nos primeiros 30 minutos é notavelmente maior a liberação de CI 1:1 e CI 1:2 no meio ácido quando comparado com a MF, e a concentração se mantém razoavelmente estável para ambos os CI até 120 minutos. Em contrapartida, mesmo que com concentração inferior aos CI a MF mantém um aumento constante na liberação, chegando a uma concentração mais próxima dos CI no tempo 120 minutos.

Ao tempo limite de 120 minutos se é adicionada a solução tampão, e se observa novamente um aumento constante na liberação até um pico de liberação por volta de 130 minutos nos CI 1:1 e CI 1:2 como também na MF sendo que a mesma retorna novamente a uma concentração semelhante à antes do tampão ser adicionado no tempo de 180 minutos, enquanto que os CI ainda persistem (principalmente o CI 1:2) em uma concentração acima de 32 µg/ml até o tempo limite de 240 minutos.

Esse resultado indica que a alteração do pH do meio promoveu uma melhoria na dissolução, resultando em uma liberação discretamente maior dos componentes quando em meio alcalino. Quando comparado apenas os CI, mesmo que ambos estejam muito próximos tendo curva parecidas, o CI 1:2 se mostrou mais eficiente na liberação.

Figura 18 – Dissolução in vitro CI 1:1, CI 1:2 e MF 1:1



Fonte: AUTOR, 2024.

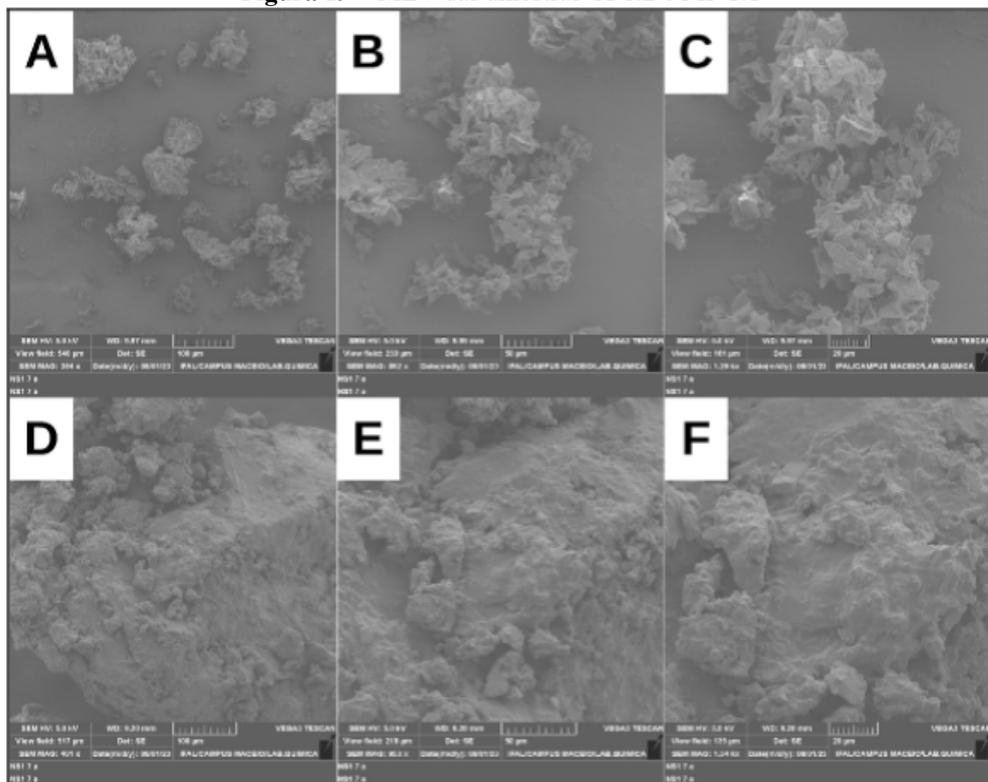
## 5.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para o MEV foram escolhidos o CI 1:2 que demonstrou ser o CI com melhores resultados na dissolução e como comparação a MF 1:1 que também foi usada na dissolução, as morfologias superficiais em diferentes aumentos dos CI 1:2 100 µm (A), 50µm (B) e 20µm (C) e MF 1:1 100µm (D), 50µm (E) e 20µm (F) estão presentes na Figura 19. A cavidade hidrofóbica do B-CD tem a capacidade de acomodar vários tipos de moléculas hóspedes para formar CI com morfologia diferente (Zhang, *et. al.* 2015). Sendo essa capacidade de acomodar a responsável por mudanças na estrutura da B-CD, segundo Kringel. e colaboradores (2017), quando pura a β-CD tem um tamanho de partícula e formato irregular.

O CI demonstrou alterações no tamanho e forma das partículas, demonstrando uma possível mudança na estrutura, o que indicaria a formação de um complexo, essa diferença na estrutura não é observada na MF. No CI o arranjo das moléculas se revelou ter um aspecto mais angular e reto indicando um maior entrelaçamento entre o EPMUP e a  $\beta$ -CD, enquanto na MF se mostrou com um aspecto mais sobreposto e arredondado como uma camada recobrendo a  $\beta$ -CD.

Resultado semelhante foi encontrado Wen e colaboradores (2016) avaliaram a morfologia da CI de  $\beta$ -CD e óleo essencial de canela, foi relatado que a  $\beta$ -CD apareceu como partículas de diferentes tamanhos e em blocos regulares, enquanto a amostra relativa ao CI foi apresentada na forma de um cristal multicamadas. Galvão e colaboradores (2015), avaliou também a morfologia de um CI entre  $\beta$ -CD e óleo essencial de laranja; eles observaram mudanças na forma e no tamanho das partículas quando comparado a  $\beta$ -CD pura. Kringell et al. (2017), avaliou a morfologia de um CI entre CDs e óleo essencial de eucalipto, identificando mudanças na forma e no tamanho das partículas quando comparado às substâncias puras.

Figura 19 – MEV das amostras CI 1:2 e MF 1:1



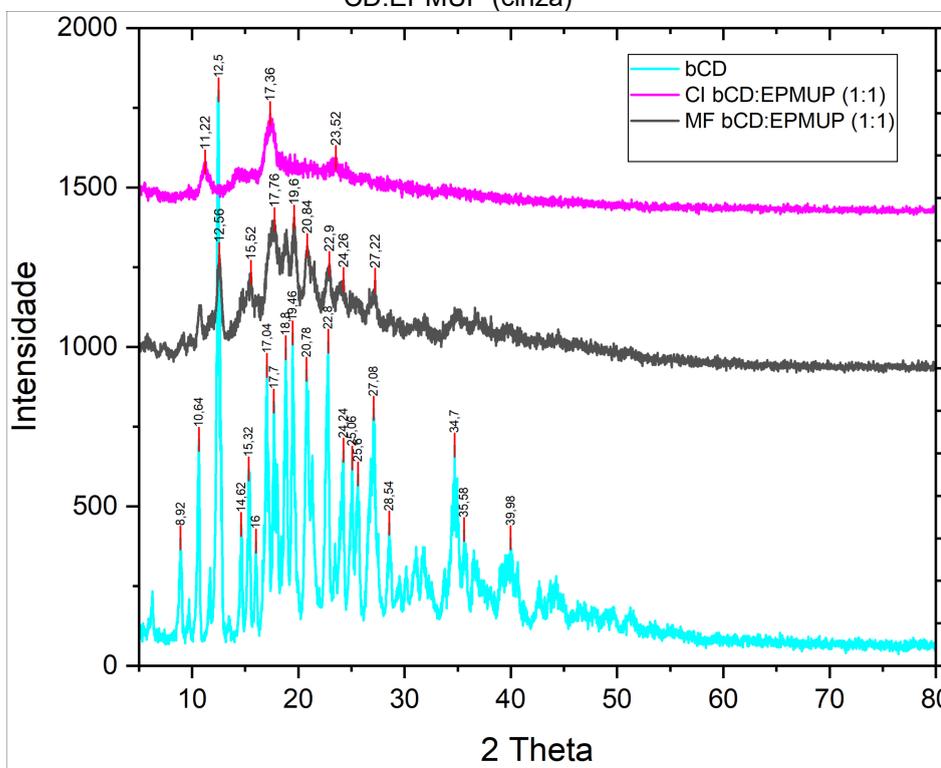
Fonte: AUTOR, 2024.

## 5.7 Difractometria de Raio-X

A difratometria de pós vem sendo cada vez mais utilizada para evidenciar a formação de produtos, sendo usada basicamente como um método de comparação: o difratograma de complexo de inclusão formado é comparado com os difratogramas da ciclodextrina, do substrato e da mistura física, e, caso seja observado um novo padrão, pode-se concluir que houve a formação de um complexo de inclusão verdadeiro (DANG, SONG, et al.,2011).

O difratograma da  $\beta$ -CD livre apresenta uma série de picos de difração de grande intensidade, evidenciando um caráter cristalino, sendo essas reflexões características, na análise dos principais picos encontrados na literatura destacam-se:  $^{\circ}2\theta$  (CoK $\alpha$ ): 9,0; 10,7; 12,5; 15,4; 17,9; 18,8; 19,5; 20,7; 22,7; 24,3 e 27,1; (WANG et al., 2011;ZHANG et al., 2015; YANG et al., 2016; JIANG et al., 2019;ZORNIO, 2013). Na Figura 2 é possível observar as diferenças e semelhanças entre os difratogramas dos alvos do estudo o CI  $\beta$ -CD:EPMUP 1:1 e da MF  $\beta$ -CD:EPMUP.

**Figura 20** – Difratograma da  $\beta$ -CD livre (azul), do CI  $\beta$ -CD:EPMUP 1:1 (rosa) e da MF  $\beta$ -CD:EPMUP (cinza)



Fonte: Autor, 2024.

Ao observar o padrão difratométrico do complexo  $\beta$ -CD:EPMUP 1:1, o mesmo apresenta consideráveis diferenças quando comparado ao padrão difratométrico de  $\beta$ -CD livre, indicando a complexação e a interação entre EPMUP e  $\beta$ -CD, dada uma reordenação na estrutura cristalina, pelo desaparecimento da imensa maioria de picos como em 8,9, 12,5 e 19,5  $^{\circ}2\theta$  (CoK $\alpha$ ), esse achado corrobora com os resultados encontrados por Yang e Song (2005) e outros autores, a presença dos deslocamentos de picos indica que o padrão difratométrico da  $\beta$ -CD livre foi alterado quando a molécula de EPMUP foi incorporada na cavidade da molécula hospedeira.

Em comparação, ao observar o padrão difratométrico da MF  $\beta$ -CD:EPMUP 1:1 é nítida a permanência de picos característicos da  $\beta$ -CD livre como em 12,5  $^{\circ}2\theta$  (CoK $\alpha$ ), na literatura os estudos que apresentam o difratograma de misturas físicas entre  $\beta$ -CD e outras substâncias, demonstram que os picos cristalinos de  $\beta$ -CD foram todos detectados no difratograma dessas misturas, indicando que não houve diferença na forma cristalina da  $\beta$ -CD (ZHANG et al., 2015; ABARCA et al., 2016).

## 6 CONCLUSÃO

Portanto com os resultados obtidos no TG, MEV e DRX foi comprovada a formação do CI EPMUP: $\beta$ -CD, através das alteração das curvas TG dos CI quando comparado as substâncias puras, ao desaparecimento de picos cristalinos característicos da  $\beta$ -CD no DRX dos CI e ainda dos aspectos visuais encontrados no MEV, a formação do CI gera um aumento na solubilidade em meio aquoso dos compostos orgânicos de interesse presentes no EPMUP.

O EPMUP demonstrou um teor de flavonoides 9,7% (m/m), indo contra os achados anteriores sobre a própolis marrom do nordeste onde Park e colaboradores (2002) descreveram como sem a presença de flavonóides, os CI também demonstraram um semelhante com o EPMUP obtendo 6,2% para o CI 1:1 e 5,5% para o outros dois CI em 50  $\mu$ g/ml, esses resultados abrem um leque para que novos estudos sejam realizado para comprovar esses teores, e ainda investigar as possíveis fontes vegetais presentes no raio de atuação das abelhas desta região específica.

Através dos resultados obtidos pela dissolução que foram de um pico de dissolução de 32  $\mu$ g/ml para o CI 1:2 sendo o total possível 50 $\mu$ g/ml, onde se foi dissolvido cerca de 64% de todo o CI colocado na cápsula, agregado a confirmação da formação dos CI temos que os problemas relacionados ao uso de etanol como o sabor residual forte que atrapalhava a adesão ao consumo, as limitações de aplicação na indústria cosmética e farmacêutica pela necessidade de encaixe do etanol na composição dos produtos, a contra-indicação de um produto alcoólico na pediatria e a impossibilidade de uso em casos de intolerância ao álcool foram sanados com o futuro uso de uma suspensão aquosa.

Outro resultado promissor foi o IC50 para o DPPH, onde a EPMUP obteve um IC50 para o DPPH de 16,6  $\mu$ g/mL, e os CI 1:1, 1:2 e 2:1 obtiveram respectivamente 28,1  $\mu$ g/mL, 31,4  $\mu$ g/mL e 29,2  $\mu$ g/mL, sendo demonstrados quantidades de IC50 baixas, indicando uma alta atividade antioxidante. Foi observado que o EPMUP demonstrou boa atividade antioxidante frente aos radicais livres do DPPH.

Sendo nesse cenário, uma ótima opção para o desenvolvimento de formulações para novos produtos eco-amigáveis a partir da própolis, já que os mesmos não necessitariam de solventes orgânicos para a sua produção, aumentando ainda mais a difusão entre vários nichos de públicos consumidores.

## 7 REFERÊNCIAS

- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante.** Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. p.187. 2005.
- ALVES, R. **Estudo termoanalítico e compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose.** 90p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2007.
- AL-WAILI, N. S. Topical application of natural honey, beeswax and olive oil mixture for atopic dermatitis or psoriasis: partially controlled, single-blinded study. **Complementary therapies in medicine**, v. 20, n. 1-2, p. 1-6, 2012.
- ANDRADE, J. K. S., MARINA, D., SANTOS DE OLIVEIRA, C., NUNES, M. L., & NARENDRA, N. **Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidante activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region.** Food Research International, v.101, p.129–138, 2017.
- AGRAWAL, A. D. Pharmacological activities of flavonoids: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciencies and Nanotechnology**, v. 4, p. 1394-1398, 2011. AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.
- AMADO, N. G. et al. **Flavonoids: potential wnt/beta-catenin signaling modulators in cancer.** Life Sci. v. 89, n. 15-16, p. 545-554, 2011.
- AMELLAL, M. et al. **Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids and biflavonoids.** Planta Med., v. 51, n. 1, p. 16-20, 1985
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.
- Bhargav, A. (2021). **Beta-Cyclodextrin As An Excipient In Drug Formulation.** Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development, 9(4), 122-127
- Barreto, L., & Cunha Filho, M. (2008). **Ciclodextrina: importante excipiente farmacêutico funcional.** Latin American Journal of Pharmacy, 27
- BANKOVA V. S.; CASTRO S. L., MARCUCCI M. C. Propolis recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v.31, p.3 -15, 2000.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 114-117, 2005.
- BANKOVA, V. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Z. Naturforsch*, v. 55, n. 11-12, p. 785-789, 2000.

BANKOVA, V. *et al.* Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 376-387, 2014.

BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; STOEV, G.; POPOV, J. Determination of fenolic from propolis by capillary gas chromatography. **J. Chromatogr.**, v.607, p.150-153, 1992.

BANKOVA, V.; POPOV, S. MAREKOV, N. L. A study on flavonoids of propolis. **J. Nat. Prod.**, v.46, p.471-474, 1983.

BANKOVA, V.; POPOV, S. MAREKOV, N. L. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. **Phytochemistry**, v.28, p.871-873, 1989.

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I. K.; *et al.* Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 239-246, 2000.

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological and research of propolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 561-571, 2001.

BASNET, P.; MATSUNO, M.; NEIDLEIN, R. Potent free radical scavenging activity of propol isolated from Brazilian propolis. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.52c, p.828-833, 1997.

BEZERRA, J. J. L., Silva, C. L. da, Borges, A. L. T. F., Nascimento, T. G. do, & Prata, A. P. do N. **Análise da composição fitoquímica e doseamento de flavonoides totais dos extratos hidroalcoólicos de *Cyperus iria* L. e *Cyperus articulatus* L.** *Diversitas Journal*, 3(2), 228–238. 2018.

BRAND-WILLIAMS, W. *et al.* Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRETT, A. M. O., GHICA, M. E. Electrochemical oxidation of quercetin. **Electroanalysis**, 15, 1745-1750. 2003.

BREYER, E. U. **Abelhas e saúde**. 2ª ed. Porto União: Uniporto Gráfica e Editora Ltda; 1982.

BRUM, L. P. **Atividade antiviral dos compostos fenólicos (ácidos ferúlico e transcinâmico) e dos flavonoides (quercetina e kaempferol) sobre os herpesvirus bovino, herpesvírus bovino 5 e vírus da cinomose canina**. Tese de doutorado (Doutorado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2006.

BURDOCK, G. A. **Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis)**. *Food and Chemical Toxicology*, v. 36, n.4 p. 347- 363, apr. 1998.

CARVALHO, R.B.; *Ciência Hoje* 2000, 27, 55.

CARVALHO, O. V. et al. **Potencial antiviral da quercetina sobre o parvovírus canino.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. v.65, n.2, p. 353-358, Belo Horizonte, 2013.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F.. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, 73(1), S1–S6. 2002.

CASTRO, M. L. **Bioassay guided purification of the antimicrobial fraction of a Brazilian propolis from Bahia state.** BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 9, n. 25, p. 1-6, 2009.

CLAUS, R.; KINSCHERF, R.; GEHRKE, C. Antiapoptotic effects of propolis extract and propol on human macrophages exposed to minimally modified low density lipoprotein. **Arzneimittelforschung**, v.50, p.373- 379, 2000.

COSTA, F. R. T. **Microscopia eletrônica de varredura: potencialidades e aplicações.** Monografia (bacharelado em química industrial). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, Maranhão. 2016.

COUTINHO, M. A. S. *et al.* Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

DAUGSCH, A. *et al.* Brazilian red propolis - Chemical composition and botanical origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 4, p. 435–441, 2008.

Dornas W.C., Oliveira T.T.D., Rodrigues R.G.D.; Santos A.F.D., Nagem T.J. **Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo.** Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2009;28(3):241-9

FENG *et al.* Isolation and structure identification of flavonoids. **Flavonoids, from biosynthesis to human health.** Justino, G.C., Ed.; IntechOpen; pp. 17–43. London, UK. 2017.

FERREIRA, J. M.; FERNANDES-SILVA, C. C.; SALATINO, A.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. **New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin.** Journal of the Science of Food and Agriculture, V. 97, p. 3552-3558, 2017..

FERREIRA, C.S. et al. **Solubility, sorption isotherms and thermodynamic parameters of  $\beta$ -cyclodextrin complexes with poplar propolis components: Practical implicances,** LWT, Volume 167, 2022, 113811, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113811>.

FERRANDIZ, M. L: ALCARAZ, M. J. **Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids.** Agents Actions, v. 32, n. 3-4, p. 283-288, 1991.

Galvao JG, Silva VF, Ferreira SG, Franc̃a FRM, Santos DA, Freitas LS, Alves PB, Araujo AAS, Cavalcanti SCH, Nunes, RS. 2015.  **$\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes containing Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oil: an alternative to control Aedes aegypti larvae.** Thermochem Acta 608:14–9.

GARG, A. et al. **Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin.** Phytotherapy Research. v. 15, n. 8. p. 655–669, 2001.

GEORGIEV V., ANANGA A., TSOLOVA V. **Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals**. *Nutrients*. 2014;6(1):391-415. doi: 10.3390/nu6010391.  
GHISALBERTI, E.L. Própolis: a review. **Bee World**, v.60, p.59-84. 1979.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, v.96, n.2/3, p.67-202, 2002.

HAYACIBARA, M. F. *et al.* In vitro and vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. **J Ethnopharmacol** 101: 110-115. 2005.

HELFENBERG, K.D.; **Chem. Ztg.** 31, 987. 1908.

HERMANN, G. H.; BRACAMONTE, J. A.; **Aerosol & Cosmet**, 75, 8. 1991.

HU, F. *et al.* Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. **J Ethnopharmacol** 100: 276-283. 2005.

HUNG, J. Y. *et al.* **Didymin, a dietary flavonoid glycoside from citrus fruits, induces fas-mediated apoptotic pathway in human non-small-cell lung cancer cells in vitro and in vivo**. *Lung Cancer*. v. 68, n. 3, p. 366-374, 2009.

IOIRISH, N.; **As Abelhas: Farmacêuticas com Asas**, Editora Mir: Moscou, p. 228. 1982.

ISHIDA, V. F. C.; NEGRI, G.; SALATINO, A.; BANDEIRA, M. F. C. L. A new type of **Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and effects against cariogenic bacteria**. *Food Chemistry*. v. 125, n. 3, p. 966-972, 2011.

JADVAR, H.; ALAVI, A.; GAMBHIR, S. S. **18FFDG uptake in lung, breast, and colon cancers: molecular biology correlates and disease characterization**. *J. Nucl. Med.*, v. 50, n. 11, p. 1820-7, 2009. KNEKT, P. *et al.* Quercetin intake and the incidence of cerebrovascular disease. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v. 54, n. 5, pp. 415-417, 2000.

KALOGEROPULOS *et al.* Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. **Food Chemistry**. V.116, I. 2, 15, P. 452-461. 2009.

KOO, M. H.; PARK, Y. K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Biosci. Biotech. Biochem.**, v.61, p.367-369, 1997.

LIMA MG 2006. **A produção de própolis no Brasil**. São João da Boa Vista: São Sebastião Editora e Gráfica.

Liu, Y., Lin, T., Cheng, C., Wang, Q., Lin, S., Liu, C., & Han, X. (2021). **Research progress on synthesis and application of cyclodextrin polymers**. *Molecules*, 26(4), 1090.

Liu, Z., Ye, L., Xi, J., Wang, J., & Feng, Z. G. (2021). **Cyclodextrin polymers: Structure, synthesis, and use as drug carriers**. *Progress in Polymer Science*, 118, 101408.

LUSTOSA, S. R. *et al.* Própolis: atualização sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, jul./set. 2008.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n.1/2, p. 33-39, 2008.

MACHADO BAS, Silva RPD, Barreto GDA, et al. **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. 2016; 11(1):1-26

MARCUCCI, M. C. *et al.* Espectroscopia UV-vis e reação com o radical DPPH para a detecção de flavonoides e determinação do potencial antioxidante de extratos de própolis. **Rev. Eletrôn. Ciên. Exatas.** v. 1, n. 1, p. 1–9, 2020.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, n. 2, p. 83-99, 1995.

MARCUCCI, M. C. *et al.* Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology.** 74, 105-112. 2001.

MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, 19, 529-535. 1996.

MARKHAM, K. R. Chemical methods used in flavonoid structure elucidation. In: *o* Techniques of flavonoid identification. London, **New York: Academic Press**, cap.5, p.62-70. (Biological techniques series). 1982.

MARQUELE, F. D. *et al.* Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.39, n.3/4, p.455-462, 2005.

MATSUDA, A. H. **Caracterização e Controle de Qualidade de própolis proveniente de diversas regiões do Brasil.** Dissertação (mestrado em bromatologia). Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2006.

MATSUDA, A. H.; MACHADO, L. B; MASTRO, N. L. Thermal analysis applied to irradiated propolis. **Radiat Phys Chem** 63: 353-355. 2002.

Mello BCBS, Petrus JCC, Hubinger MD. **Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration.** *J Food Process Eng.* 2010;**96**:533–539. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.08.040.

MENEZES, H. Própolis: Uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arq. Inst. Biol.** 72: 405-411. 2005.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Journal of Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MORONEY, M. A. et al. **Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids.** *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 40, n. 11, p. 787-792, 1988.

MORENO, M. I. N.; ISLA, M. I.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. A. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.109- 114, 2000.

MOREIRA, R. S. DA S. et al.. Preparation and evaluation of red propolis and nystatin cyclodextrin inclusion complexes against oral microbiome opportunistic microorganisms. **Food Science and Technology**, v. 42, p. e118022, 2022.

Moura SAL, Negri G, Salatino A, Lima LDC, Dourado LPA, Mendes JB. **Aqueous extract Brazilian propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges.** *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009;**18**:1–9. doi: 10.1625/jcam.6.1.

NAGAY, M.; GRANCAI, D. Colorimetric determination of flavanones in propolis. **Pharmazie**, Eschborn, v.51, n.2, p.100-101, 1996.

NASCIMENTO, T.G., do Nascimento, N.M., Ribeiro, A.S. et al. **Preparation and characterization of chitosanates loaded with Brazilian red propolis extract.** *J Therm Anal Calorim* 147, 7837–7848 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10973-021-11060-2>

NASCIMENTO, J. L. et al. **Production and Characterization of a  $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complex with *Platonia insignis* Seed Extract as a Proposal for a Gastroprotective System.** *Appl. Sci.* 2023, 13, 58. [https://doi.org/ 10.3390/app13010058](https://doi.org/10.3390/app13010058).

NASCIMENTO, T. G. et al. **Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of some commercial extract of propolis,** *Journal of Apicultural Research*, 2018, DOI: 10.1080/00218839.2017.1412563.

NASCIMENTO, T.G., Redondo, G.D.P., de Araújo Abreu, C.T. et al. **Modified release microcapsules loaded with red propolis extract obtained by spray-dryer technique.** *J Therm Anal Calorim* 138, 3559–3569 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08287-5>

NASCIMENTO, T. G. et al. **Caseinates loaded with Brazilian red propolis extract: preparation, protein-favonoids interaction, antioxidant and antibacterial activities.** *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (2022) 147:1329–1343 <https://doi.org/10.1007/s10973-020-10448-w>

OLIVEIRA, C. A. *et al.* Development and characterization of microencapsulated flavonoids for application in functional foods. **Food Chemistry**, v. 312, p. 126098, 2020.

OLIVEIRA, C. A. C. *et al.* The use of propolis against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). In: MÉNDEZ-VILAS, A. (ed.). *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education.* **Formatex Research Center**, p. 645-652. 2020.

OLIVEIRA, C. L. **Teste de Dissolução: conceitos, aplicações e relevância no desenvolvimento e controle de qualidade de medicamentos.** Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização-Vigilância Laboratorial em Saúde Pública) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, CEFOR/SUS-SP, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2019.

OLIVEIRA, J.; MOMESSO, L. S. **Própolis: fontes, composição química e ações.** Curso de Farmácia, Faculdades Integradas de Ourinhos. Ourinhos, São Paulo. p.9.2018.

OYAIZU, M.; OGIHARA, H.; FUJIMOTO, Y. Antioxidative activity of extracts from propolis. **Journal of Japan Oil Chemists' Society**, v.48, p.135-138, 1999.

OZKUL, Y.; SILICI, S.; ERÖGLU, E. The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture. **Phytomedicine** 12: 742-747. 2004.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINE, A. R. P.; AGUIAR, C. L. . Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural** 2: 997-1003. 2002.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; MOURA, F. F.; **Honeybee Sci.** 21, 85. 2000.

PARK, Y. K.; KOO, M. H., SATO, H. H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arq. Biol. Tecnol.**, v.38, p.1253- 1259, 1995.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; IKEGAKI, M.; CONTADO, J. L. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. **Arq. Biol. Tecnol.**, v.40, p.97-106, 1997.

PARK, Y. P., IKEGAKI, M., ABREU, J. A. S.; ALCICI, N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18 (3), p. 1998b.

PAULINO, N. *et al.* Cytotoxicity and apoptotic effects of polyphenolic compounds from Brazilian propolis on human leukemic cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 214, p. 293-303, 2018.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; NETO, F. R. A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, D. S. *et al.* Histórico e principais usos da própolis apícola. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, V. 11, n. 2, p. 01-21, abr – jun. 2015.

PEREIRA, T. M. M. **Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC-fotovisual) de hormônios bioidênticos (estriol e estradiol).** Dissertação (mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2013.

Pietta PG, Gardana C, Pietta AM. **Analytical methods for quality control of propolis. Fitoterapia.** 2002;**73**:7–20. doi: 10.1016/S0367-326X(02)00186-7.

PINTO, L. M. A. DO PRADO, N. R. T. DE CARVALHO, L. B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia** Vol. VIII (3), 76 - 100, 2011.

RAMOS, M. F. S. **Reação de polimerização em cadeia**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 1995.

RIBEIRO J.N., OLIVEIRA T.T.D., NAGEM T.J., FERREIRA JÚNIOR D.B., PINTO A.D.S. **Avaliação dos parâmetros sanguíneos de hepatotoxicidade em coelhos normais submetidos a tratamentos com antocianina e antocianina + naringenina**. RBAC. 2006;38(1): 23-27.

ROCHA, L. *et al.* Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. **Rev Bras Farmacogn** 13: 71-74. 2003.

SAHINLER, N. & KAFTANOGLU, O. Natural product propolis: chemical composition. **Natural Product Research**, v.19, n.2, p.183-188, 2005.

SALATINO, A. *et al.* Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazilian propolis from São Paulo State. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 60, n. 3-4, p. 278-283, 2005.

SALATINO, A. *et al.* Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. **Evidencebased Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.1, p.33-38, 2005.

SAWICKA, D. *et al.* Polyphenolic compounds of propolis: the role of bees and plants. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5999, 2020.

SEABRA, R. M., *et al.* Antioxidant compounds extracted from several plant materials. In: Fingerman M, Nagabhushanam R. **Biomaterials from aquatic and terrestrial organisms**. Enfield (NH) USA: Science, 115-174. 2006.

Simões C, Araújo DB, Araújo RPC. **Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos**. Rev Bras Farmacogn 2008; 18(1):84-89.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. v. 30, n. 2, p. 351 – 355, jan. 2007.

SOUZA, J. *et al.* Avaliação da dissolução in vitro de formas farmacêuticas sólidas: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 100, n. 2, p. 222-231, 2019.

SUN, F.; H AYAMI, S.; HARUNA, S. In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamins C and E and the level of lipid hydroperoxides in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1462-1465, 2000.

TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MEIRA, R. M.; MESSAGE, D.; SALATINO, A. Plant Origin of Green Propolis: Bee Behavior, Plant Anatomy and Chemistry. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.1, p.85- 92, 2005.

TRUSHEVA, B.; POPOVA, M.; BANKOVA, V.; SIMOVA, S.; MARCUCCI, M. M.; MIORIN, P. L.; PASIN, F. R.; TSVETKOVA, I. *et al.* Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249-254,

2006

TRUEBA, G. P.; SÁNCHEZ, G. M. Los **flavonoides como antioxidantes naturales**. Acta Farm. Bonaerense. v. 20, n. 4, p. 297-306, 2001

Venturini, C. D. G., Nicolini, J., Machado, C., & Machado, V. G. (2008). **Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas**. Química Nova, 31, 360-368

VLAIA, L. L., Vlaia, V., Olariu, I. V., Mut, A. M., Gafitanu, C. A., Dehelean, C., ... & Coneac, G. H. (2016). **Preparation and Characterization of Inclusions Complexes between Propolis Ethanolic Extracts and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin**. Rev. Chim.(Bucharest), 67, 378.

VOLPI N, Bergonzini G 2006. Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 42: 354-361.

Wen P, Zhu D, Feng K, Liu F, Lou W, Li M, Zong M, Wu, H. 2016. **Fabrication of electrospun polylactic acid nanofilm incorporating cinnamon essential oil/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex for antimicrobial packaging**. Food Chem 196:996–1004.

WOISKY, R. G.; GIESBRECHT, A. M; SALATINO, A. Actividade Antibacteriana de uma Formulação preparada a partir de Própolis de Apis mellífera L. **Actas del IV Congreso Iberoamericano de Apicultura**. I Foro ExpoComercial Internacional de Apicultura. Rio Cuarto. Córdoba. Argentina. p. 213-216, 1994.

Zhang, L., Zhang, Q., Wang, X., Zhang, W., Lin, C., Chen, F., Yang, X., Pan, W., 2015. **Drug-in-cyclodextrin-in-liposomes: A novel drug delivery system for flurbiprofen**. Int. J. Pharm. 492, 40–45.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.*, orgs. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRG; Florianópolis: UFSC. cap.23, p.489-516. 1999.

ZUANAZZI, J. A. Z., MONTANHA, J. A. . Flavonóides. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, p. 576-614. 2003.