



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁINSTITUTO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDEPROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

YURI YOSHIOKA MODESTO

**GEL A BASE DE CARBOPOL CONTENDO PRÓPOLIS PARA
TRATAMENTO DE FERIDAS TÓPICAS**

BELÉM-PA

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

YURI YOSHIOKA MODESTO

**GEL A BASE DE CARBOPOL CONTENDO PRÓPOLIS PARA
TRATAMENTO DE FERIDAS TÓPICAS**

Orientador (a): Dra. Roseane Maria Ribeiro Costa

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará - UFPA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BELÉM-PA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará

Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

Y54g Yoshioka Modesto, Yuri.

GEL A BASE DE CARBOPOL CONTENDO PRÓPOLIS PARA
TRATAMENTO DE FERIDAS TÓPICAS / Yuri

Yoshioka Modesto, . — 2024.

69 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Roseane Maria Ribeiro Costa
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,

Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, Belém, 2024.

1. Própolis. 2. Géis. 3. Carbopol. 4. Feridas. I. Título.

CDD 615.4

FOLHA DE APROVAÇÃO

Yuri Yoshioka Modesto

GEL A BASE DE CARBOPOL CONTENDO PRÓPOLIS PARA TRATAMENTO DE FERIDAS TÓPICAS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará - UFPA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: 11/12/2024

Orientador^a: Profa. Dra. Roseane Maria Ribeiro Costa

Banca Examinadora

Prof^a Dra. Roseane Maria Ribeiro Costa (Orientador)

Instituição: Universidade Federal do Pará /UFPA

Prof^a Dra. Rayanne Rocha Pereira

Instituição: Universidade Federal do Oeste do Pará-UFPA

Prof^a Dra. Russany Silva da Costa

Instituição: Universidade Federal do Pará-UFPA

RESUMO

A própolis é um produto natural derivado das abelhas e da vegetação local que desde antiguidade vem sendo explorada seu potencial terapêutico analgésico, cicatrizante, anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral. Eventualmente o corpo humano ao sofrer uma lesão do tipo ferida fica exposto a patógenos onde há o risco de ser contaminado, e o organismo procura métodos para reestabelecer a integridade e a homeostase por meio do processo de cicatrização tecidual. Este estudo teve por objetivo obter e caracterizar um gel de Carbopol® 940 contendo o extrato de própolis da espécie *Apis mellífera* L para terapia de feridas tópicas. Os géis obtidos foram avaliados quanto ao pH, densidade aparente, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), comportamento térmico por termogravimetria (TG/DTG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), propriedades reológicas, determinação de compostos fenólicos e flavonóides. A atividade antioxidante foi avaliada pelos ensaios do FRAP, ABTS, DPPH, a atividade antibacteriana por microdiluição e viabilidade celular pela técnica do MTT. Além do estudo de estabilidade preliminar e acelerada e ciclo gela-degela. Os ensaios realizados demonstraram resultados promissores, como boa estabilidade após 90 dias em observação, onde o gel demonstrou capacidade de manter suas propriedades como aspectos macroscópicos, pH 7, boa atividade antioxidante, porcentagem de flavonoides (0,25%) e compostos fenólicos (0,5%), ausência de indícios de citotoxicidade além de valores de porcentagem de inibição bacteriana acima de 80%, assim indicando a viabilidade de realizar novos testes que agreguem ao trabalho, como de atividade anti-inflamatória entre outros.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Van de Graaff, Livro anatomia humana.....	13
Figura 2: Principais classes químicas encontradas em própolis..	17
Figura 3: Principais substâncias químicas encontradas em própolis verde brasileira.....	17
Figura 4: Principais classes químicas encontradas em própolis vermelha brasileira.....	18
Figura 5: Obtenção do extrato concentrado.	25
Figura 6: Fluxograma obtenção gel contendo própolis.....	26
Figura 7: Teste de centrifugação nos géis em três rotações diferentes.	36
Figura 8: Aspectos macroscópicos do gel branco gel própolis após 90 dias...	37
Figura 9: Espectro de FTIR dos géis (branco e contendo o extrato de própolis).	39
Figura 10: Curva TG/DTG do gel branco e gel contendo extrato de própolis..	41
Figura 11: DSC curve do gel branco e gel própolis.	43
Figura 12: Espalhabilidade do gel branco e gel própolis	44
Figura 13 Gráfico de espalhabilidade do gel contendo própolis.	45
Figura 14: Propriedades reológicas dos géis (branco e contendo o extrato de própolis). A. Viscosidade em função do tempo. B Viscosidade em função da taxa de cisalhamento.	46
Figura 15: Viabilidade de fibroblastos VERO após 24 h de tratamento. A: gel branco. B. gel contendo o extrato de própolis. CTL: controle sem tratamento. Os resultados foram obtidos usando teste ANOVA seguido do teste de Tukey, * $p < 0.0003$	49
Figura 16: (A) Porcentagem de inibição na avaliação da atividade antibacteriana contra cepas de <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>E. coli</i> após 24 h de tratamento. .	50
Figura 17: (B) Porcentagem de inibição na avaliação da atividade antibacteriana contra cepas de <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>E. coli</i> após 24 h de tratamento. .	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do gel contendo própolis.	25
Tabela 2: pH do gel branco e gel contendo extrato de própolis	35
Tabela 3: Estudo de estabilidade pH do gel contendo própolis e gel branco...	37
Tabela 4: Bandas de absorção na região do infravermelho de ligações moleculares do gel branco e gel contendo própolis.	39
Tabela 5: Perdas de massa e faixas de temperatura relacionadas detectadas no gel branco e gel própolis por análise termogravimétrica.	41
Tabela 6: Temperaturas de pico e variações de entalpia de eventos de troca de calor ocorridos no gel branco e gel própolis	43
Tabela 7: Valores de espalhabilidade para os géis branco e contendo própolis.	45
Tabela 8: Propriedades reológicas do gel branco e gel contendo extrato de própolis.....	47
Tabela 9: Determinação dos compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante do gel branco e gel própolis.	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária

ATR- Reflexão Total Atenuada

COVID-19 –CoronavirusDisease 2019 OU Doença Do Coronavírus

D - Densidade Aparente.

D - Diâmetro Médio Em Milímetro (Mm)

Ei - Espalhabilidade Da Amostra Para Um Determinado Peso Em Milímetro

EUA – Estados Unidos Da América

FTIR - Espectroscopia Na Região Do Infravermelho Transformada De Fourier

GRAS –GenerallyRecognized As Safe

LP – Lesão Por Pressão

M - Massa Da Amostra.

MAPA - Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento

Mm² - Milímetros Quadrado

NPUAP – NationalPressureUlcer Advisory Panel

pH - Potencial Hidrogeniônico

RPM - Rotação Por Minuto

SNVS - Sistema Nacional De Vigilância Sanitária

SUS – Sistema Único De Saúde

V - Volume Ocupado.

AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1	PELE	13
2.2	FERIDAS	14
2.3	PRÓPOLIS	15
2.3.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	16
2.3.2	ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS	18
2.3.3	TRATAMENTO DE FERIDAS COM PRÓPOLIS.....	19
2.4	FORMULAÇÕES SEMI-SÓLIDAS	20
2.5	CARBOPOL® 940	21
3.	OBJETIVO GERAL.....	22
3.1.	OBJETIVO ESPECÍFICO	22
4	MATERIAIS	24
4.1	PRODUTO NATURAL	24
4.2	REAGENTES	24
4.3	MÉTODOS	24
4.3.1	OBTENÇÃO DO EXTRATO CONCENTRADO DE PRÓPOLIS	24
4.3.2	OBTENÇÃO DA FORMULAÇÃO GEL CONTENDO PRÓPOLIS	25
4.3.3	CARACTERIZAÇÃO DO GEL CONTENDO PRÓPOLIS	26
4.3.3.1	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	26
4.3.3.2	AVALIAÇÃO DO pH.....	26
4.3.3.3	DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE	27
4.3.3.4	ESTABILIDADE PRELIMINAR E ACELERADA.....	27
4.3.3.5	CICLO GELA-DEGELA.....	27
4.3.3.6	PERFIL ESPECTROSCÓPICO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	28
4.3.3.7	COMPORTAMENTO TÉRMICO POR TERMOGRAVIMETRIA (TG/DTG) 28	
4.3.3.8	COMPORTAMENTO TÉRMICO POR CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)	28
4.3.3.9	DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE	28

4.3.3.10	PROPRIEDADES REOLÓGICAS	29
4.3.3.11	EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	29
4.3.3.11.1	DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS	29
4.3.3.11.2	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS	30
4.3.3.12	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	30
4.3.3.12.1	CAPTURE DO RADICAL ABTS	30
4.3.3.12.2	CAPTURE DO RADICAL DPPH	31
4.3.3.12.3	REDUÇÃO DO FERRO (FRAP)	31
4.3.4	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE	32
4.3.4.1	CULTURA CELULAR	32
4.3.4.2	AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR	32
4.3.5	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	33
4.3.6	ANÁLISES ESTATÍSTICA.....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	AVALIAÇÃO DO pH	35
5.2	TESTE DE ESTABILIDADE POR CENTRIFUGAÇÃO.....	36
5.3	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR E ACELERADA.....	37
5.4	CICLO GELA-DEGELA	38
5.5	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	39
5.6	COMPORTAMENTO TÉRMICO POR TERMOGRAVIMETRIA (TG/DTG) 40	
5.7	COMPORTAMENTO TÉRMICO POR CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC).....	42
5.8	DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE	44
5.10	DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	47
5.11	AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR.....	49
5.12.	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	50
6	CONCLUSÃO	52
7.	REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

A própolis é um produto natural derivado das abelhas e da vegetação local que desde antiguidade vem sendo explorada seu potencial terapêutico, como encontrado no Papiro de Ebers, 2900 a.C; documento com mais de 700 opções terapêuticas principalmente remédios de origens naturais, e que possui atividades biológicas anestésica, analgésica, cicatrizante, anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral, dentre outras (CRUZ et al. 2021; MOHAMED et al. 2024; GEMER et al. 2023).

O corpo humano eventualmente ao sofrer uma lesão do tipo ferida fica exposto a patógenos onde há o risco de ser contaminado, e o organismo procura métodos para reestabelecer a integridade e a homeostase por meio do processo de cicatrização tecidual (OLIVEIRA & VIANA, 2021). Uma das formas empíricas de tratamento para cicatrização de feridas é a utilização de produtos naturais e acessíveis, como a própolis, com objetivo de evitar a sua contaminação (RAHAL et al. 2003; FARIA et al. 2023).

Existem diversos produtos à base de própolis encontrados no mercado com variadas apresentações e com diversas finalidades, como auxílio da cicatrização tecidual, prevenção de dermatite atópica, sarna, dermatofitose, dermatite alérgica, micose, além de géis dentais para controle de micro-organismos, incluindo os causadores de cáries (PEREIRA et al. 2022).

As formulações farmacêuticas tipo géis possuem vantagem de aplicação direta na área afetada e com rápida absorção (CORRÊA et al. 2005). Essa forma farmacêutica possui potencial para ser utilizada na terapia de feridas, pois mantém o leito da ferida úmido, facilitando as enzimas intrínsecas do corpo como proteases, elastases, collagenases, metaloproteinases, entre outras, a quebrar o tecido necrosado induzindo a regeneração celular e cicatrização, além de oferecer boa biodisponibilidade para medicamentos que precisam de ação localizada rápida (OLIVEIRA et al. 2024).

Entre os agentes gelificantes para obtenção desse tipo de forma farmacêutica, tem-se o Carbopol® 940 que é polímero de origem sintética e comumente empregado no mercado e para fins acadêmicos em forma de gel tópico, capilar, dental e para estudos de elaboração de formulações como hidrogéis (MELO et al. 2018; JAIN et al. 2019).

Diante do exposto, este estudo objetivou-se obter e caracterizar um gel de Carbopol® 940 contendo o extrato de própolis da espécie *Apis mellífera* L para terapia de feridas tópicas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano, ela cumpre funções como a proteção, excreção, termorregulação e percepções sensoriais. É composta por três camadas distintas: a derme, epiderme e hipoderme. A epiderme é constituída por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, a derme, constituída por diversos tipos celulares (fibras colágenas e elásticas mergulhadas em uma matriz extracelular onde também se situam os vasos e nervos), por último encontra-se a hipoderme, onde predomina o tecido adiposo, que une os órgãos subjacentes (WAKITA & HERNANDES, 2019).

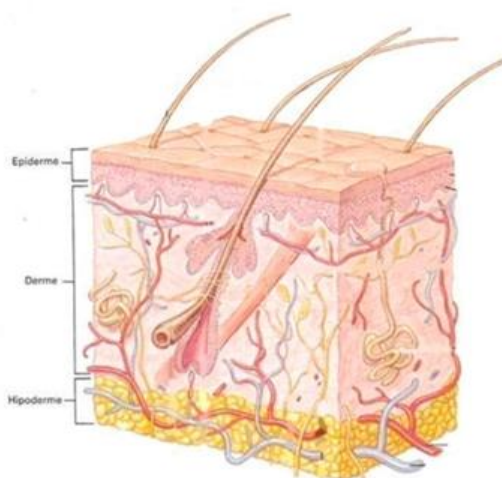


Figura 1: Van de Graaff, Livro anatomia humana (2003)

A epiderme é a camada mais superficial, um epitélio de revestimento que está moldada ao tecido conjuntivo que localizado ao lado da derme. Ela divide-se em várias camadas, como estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso, e o estrato córneo, esse último constitui a principal barreira a microrganismos e agentes químicos (PINTO et al.2020). Essa camada não possui vascularização e é constituída por: epitélio estratificado pavimentoso, onde são encontrados queratinócitos responsáveis por produzir a queratina, melanócitos distribui a melanina ao redor dos queratinócitos, células de Langerhans tem função de apresentação de antígeno ao linfócito T, e

células de Merkel que estão presentes na síntese de catecolaminas, e mediadoras, na sensação do tato (MELONI et al. 2021).

A derme é constituída por tecido conjuntivo, apresenta células residentes (macrófagos, fibroblastos, mastócitos, plasmócitos e células adiposas), migratórias (leucócitos), matriz extracelular (composta por líquido tecidual, glicosaminoglicanas, proteoglicanas, glicoproteínas multiadesivas e fibras. Além de possuírem duas camadas, papilar sendo mais superficial, e reticular, mais profunda. As fibras de colágeno a maior parte dessa camada, cerca de 70%, e sua função é garantir força e rigidez a derme, já as fibras elásticas que são em menor quantidade são responsáveis pela elasticidade do tecido (ISAAC et al. 2019; PINTO, 2020).

Composta por tecido conjuntivo frouxo, a hipoderme, apresenta principalmente células adiposas, essa camada faz a união da derme com demais tecidos e órgãos, tem função de reserva energética, isolante térmico, além de proteger contra danos físicos (MELONI et al. 2021).

2.2 FERIDAS

Feridas ocorrem quando há a ruptura da integridade de um tecido do corpo, que podem ser de causas variadas, abranger desde a camada externa até camadas mais profundas, e chegar até os ossos. Em ambiente hospitalar é possível o surgimento delas em decorrência de danos na pele e/ou tecidos moles, em virtude de pressão intensa e/ou prolongada entre as proeminências ósseas e superfícies duras externas, ocasionados por dispositivo médico ou imobilização prolongada (VASCONCELOS & CALIRI, 2017).

Em resposta a esse tipo de dano, o corpo reage com o processo de cicatrização, que ocorre por etapas são elas: hemostasia, inflamação, proliferação, maturação e remodelação (ISAAC et al. 2010). A hemostasia é definida por vasoconstrição e agregação plaquetária, que origina a coagulação sanguínea, o que evita a perda de sangue e fornece a base temporária para transferência celular (SOUZA; KLAMT; GARCIA, 2010).

Na fase inflamatória ocorre a dilatação dos vasos sanguíneos para que ocorra a circulação de leucócitos na região que ocorreu a lesão, em seguida, os macrófagos

fagocitando bactérias, promovendo um ambiente limpo, e coordenando para secreção citocinas, que estimulam os fibroblastos e queratinócitos a progredir para a próxima fase, proliferação (WAKITA, 2019).

A fase proliferativa acontece em três subfases a angiogênese, que é a formação de novos vasos sanguíneos a partir dos existentes; a reepitelização, e da granulação do tecido, a última fase corresponde a remodelação, a qual pode durar até anos, nessa fase tem a reformulação do colágeno, do colágeno III (imaturo), para o I (maduro), mais forte, assim tem a reorganização de 23 dessas fibras, e a apoptose de células que foram utilizadas nas fases anteriores (COLARES et al. 2019).

2.3 PRÓPOLIS

Própolis é um termo derivado do grego “pro” (em defesa) e “polis” (cidade), o que quer dizer em defesa da cidade ou da colmeia e tem relação com sua função de impedir a entrada de água e proliferação de microrganismos na colmeia, o que inclui fungos e bactérias. Sua composição é basicamente derivada de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, como a enzima β -glicosidase, cera e pólen para elaboração final do produto.

Existem diversos tipos de própolis, dentre eles: amarelada, parda, vermelho-escura, verde-limão, cinza esverdeada e marrom, conforme sua origem e tempo após a colheita do produto (FARIA et al. 2020). No cenário brasileiro existem mais de doze tipo de própolis, entre eles: própolis verde, própolis vermelha, própolis marrom, própolis preta e própolis amarela, as quais são diferenciadas pela cor, pelo odor, consistência, e composição química (BARRETO et al. 2020).

Com base nisso é possível identificar substâncias similares de plantas nativas da região. Como por exemplo, a composição química da própolis verde comparada com a composição da resina da planta *Baccharis dracunculifoli* (SALATINO et al. 2005; FISCHER et al. 2008).

Além disso, apresentam aspecto duro e quebradiço em temperaturas mais baixas (15°C). Porém, em temperaturas mais altas (30°C) formato macio e maleável.

Em temperaturas superiores, acima de 35°C, torna-se uma substância viscosa. Além de ser um material lipofílico (PEREIRA et al. 2016).

A importância da própolis para as abelhas ocorre a medida em que ajuda a desempenhar funções como: selar furos em suas colmeias, alisar as paredes internas e para cobrir as carcaças de pequenos invasores ou abelhas, que morreram dentro da colmeia a fim de evitar sua decomposição, além de proteger a colônia de doenças devido a sua eficácia antisséptica e propriedades antimicrobianas (PEREIRA et al. 2015).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de própolis, o que implica dizer que sua alta produção contribui na renda de várias famílias (FERREIRA & NEGRI et al. 2020). Estima-se que passe por esse mercado 799 milhões de dólares até 2028. A própolis possui o status GRAS (Generally Recognized as Safe), o que significa dizer que ela é segura quanto a sua utilização, além de suas propriedades farmacológicas (CRUZ et al. 2022).

2.3.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A sazonalidade define as diferenças de composição de um produto na medida em que varia a estação do ano no qual é coletado e analisado, relacionando diretamente com as condições climáticas do local, como: índice pluviométrico, umidade relativa, velocidade dos ventos, luminosidade, ritmo circadiano, pressão atmosférica, temperatura, altitude, idade e estresse da planta (herbivoria, ataque de patógenos), entre outros fatores (SOUZA et al. 2010).

Sua composição geralmente é de 50% de resina de plantas e bálsamos, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen, 5% de outras matérias orgânicas e substâncias coletadas (BARRETO et al. 2020). Para estabelecer parâmetros para realização do controle de qualidade da própolis utiliza-se substâncias constituintes dela onde há a possibilidade de mensurar seus teores, nos quais destacam-se: fenóis, flavonoides, terpenóides, ácidos aromáticos, ácidos graxos (Figura 2), aminoácidos, vitaminas A, B1, B2, B6, C e E, bem como os minerais Mn, Cu, Ca, Al, V, Ni, Zn e Cr (MENEZES 2005; LUTOSA et al. 2008; PEREIRA et al. 2015).

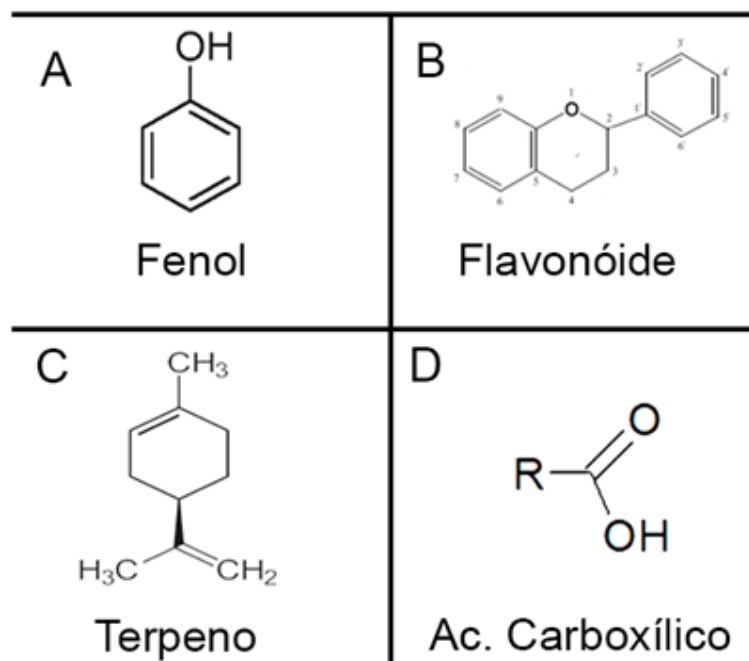


Figura 2: Principais classes químicas encontradas em própolis. Fonte: MENEZES (2005); LUTOSA et al. (2008); PINTO et al. (2011).

Segundo FERREIRA & NEGRI (2018), o ácido cafeoilquínico (Figura 3) presente na própolis verde possui atividade antiviral contra H1N1 vírus influenza, atribuída a sua estrutura química.

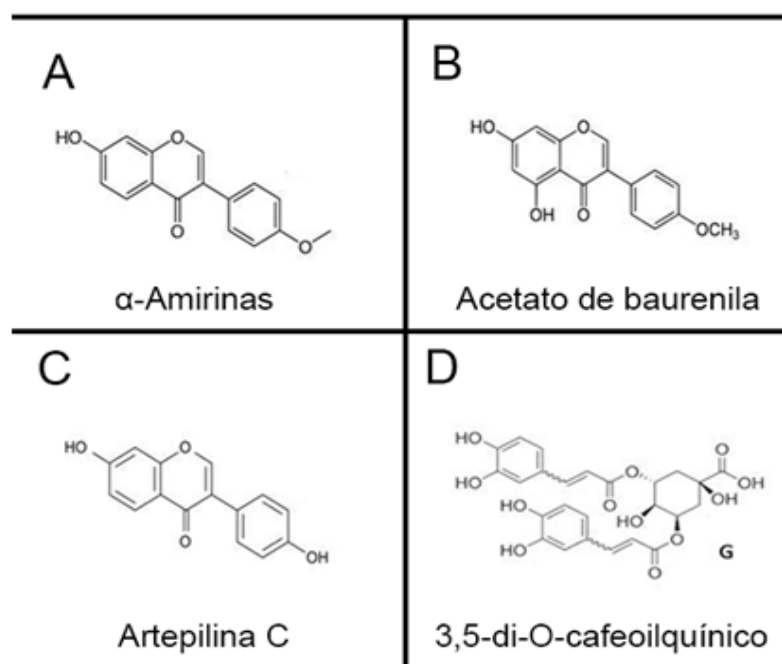


Figura 3: Principais substâncias químicas encontradas em própolis verde brasileira. Fonte: FERREIRA & NEGRI (2018).

A própolis vermelha também possui estruturas químicas ligadas a atividades biológicas, por exemplo a formononetina (Figura 4), um dos principais marcadores desse tipo de própolis vermelha, apresentou atividades anti-inflamatória e antinociceptiva em camundongos, após administração oral, e os isoflavonoides neovestitol e vestitol, (Figura 4) exibiram atividade bacteriana em baixas concentrações contra bactérias *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* e *Actinomyces naeslundii*, além de apresentar atividade anti-inflamatória. Sendo assim estas estruturas sendo um bom parâmetro para comparação com os resultados deste estudo (FERREIRA & NEGRI 2018).

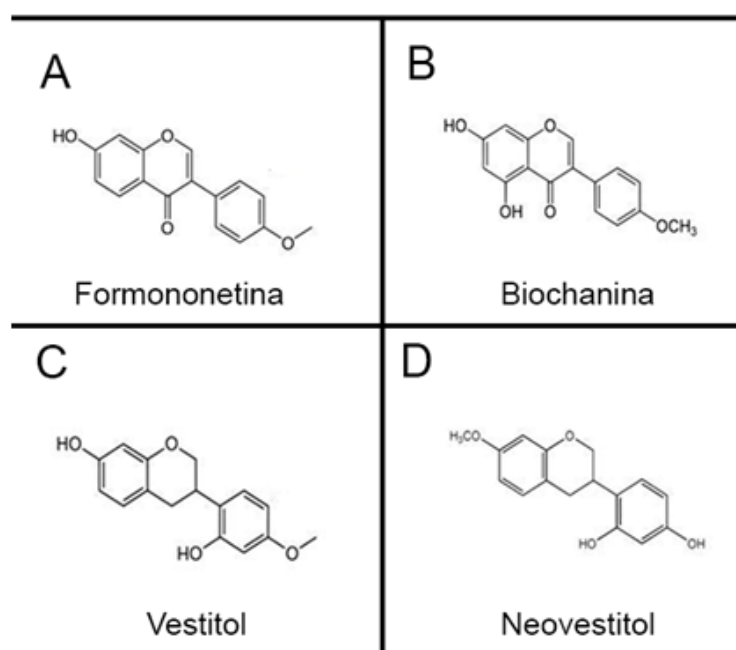


Figura 4: Principais classes químicas encontradas em própolis vermelha brasileira. Fonte: FERREIRA & NEGRI (2018).

2.3.2 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS

Proveniente de árvores e plantas, coletadas e selecionadas por abelhas, a própolis é uma resina natural de grande potencial terapêutico que são utilizadas ao longo da história humana, cujo seu emprego já havia sido descrito pelos, gregos, romanos e egípcios. Os primeiros registros da utilização da própolis pelo homem remontam ao Egito antigo 1700 A.C., na qual ficou conhecida como “cera negra” e utilizada para fins fúnebres. Os gregos, entre eles Hipócrates, utilizavam como cicatrizante interno e externo. Plínio, na Roma antiga, refere-se à própolis como

medicamento capaz de reduzir inchaços e aliviar dores (PEREIRA et al. 2015; HOFFMANN& PAIVA 2021).

A própolis é utilizada de diversas terapias, como: infecções do aparelho respiratório e do trato digestivo; atendimento dermatológico (regeneração de tecidos, eczema, cicatrização de feridas, principalmente causadas por queimaduras, micose, infecções da mucosa e lesões); melhora do sistema imunológico (VIDAL, 2021). Bem como, por possuir mais de 300 componentes diferentes já identificados e propriedades farmacológicas, como atividade anti-inflamatória, antioxidante, bactericida, entre outras (PEREIRA et al. 2015).

Os flavonoides presentes no própolis merecem destaque, pois são atribuídas a eles importantes atividades farmacológicas como: imuno modulação, induz a produção da proteína C1q pelos macrófagos, um componente essencial para a ativação da via clássica do sistema complemento; Auxiliam na imunossupressão, onde podem ser utilizadas como drogas imunossupressoras em associação de outros imunossupressores, como os corticosteroides, na medida em que inibem a enzima NFkB, estimulam a produção de óxido nítrico (NO) ou alteram a expressão de genes de citocinas; atividade antioxidante, na medida em que remove os radicais livres auxilia na cicatrização de feridas; além da ação bactericida e anti-inflamatória (SALATINO et al. 2005; MENEZES, 2005; LUSTOSA et al. 2008; VIDAL, 2021).

2.3.3 TRATAMENTO DE FERIDAS COM PRÓPOLIS

O tratamento ideal de feridas segundo o manual de padronização de curativos da Secretaria Municipal da Saúde de SP consiste em: cicatrização da mesma no menor tempo possível, controle do conteúdo de micro-organismos, manter o leito da ferida limpo, eliminação do exsudato visando a possibilidade de trocas gasosas, redução da dor e odor (BRASIL, 2021).

Existem alguns produtos a base de extrato de própolis no mercado que podem ser utilizados para tratamento de feridas em diferentes formas farmacêuticas, por exemplo: extrato de própolis spray aquoso Napillus utilizado tanto para ingestão oral, quanto para aplicação tópica (NAPILLUS, 2024), também é possível observar o gel própolis Pharma Nectar de uso tópico indicado para feridas, machucados e

escoriações (PHARMANECTAR, 2024), e o gel dental Dental Propólis no qual auxilia no combate às feridas bucais cáries, aftas, gengivite, sensibilidade dos dentes (APISBRASIL, 2024).

Os avanços tecnológicos voltados para o desenvolvimento de novos medicamentos permitem uma melhor tomada de decisão clínica para os profissionais da saúde. O tratamento para feridas consiste em produtos voltados para reparação tecidual e prevenção de complicações, que promovem proteção da pele, controlam o exsudato, reduzem a carga microbiana, promovem o desbridamento de tecidos desvitalizados e apresenta bom custo-benefício (SILVA et al. 2017; FARIA, 2022).

Nesse sentido, existem estudos com foco em inovações farmacêuticas que utilizam a própolis como agente biologicamente ativo incorporado em diversas formulações para tratamento de feridas, por exemplo, Kandaswamy et al. (2010) incorporaram própolis em formulações como o gel de clorexidina 2% para desinfecção de túbulos dentários e Zayed et al. (2024) prepararam um gel curativo de colágeno e quitosana para cicatrização de feridas, respectivamente. Além de Ferreira et al (2024) que formularam um hidrogel de poliacrilamida e metilcelulose contendo própolis também para auxílio no tratamento de feridas.

2.4 FORMULAÇÕES SEMI-SÓLIDAS

As formas farmacêuticas semissólidas são categorizadas como excipientes ou veículos, no sentido de facilitar o transporte do princípio ativo até o local desejado, seu uso é destinado ao externo, sobre a pele ou mucosas, e são classificados em pomadas, cremes, géis e pastas (MAZZARINO & KNORST, 2007; BRASIL, 2012). A formulação farmacêutica tipo gel pode suprir as demandas do tratamento, na medida em que suas características físicas em combinação com adjuvantes adequados e própolis promoveriam, em tese, a cascata da cicatrização (FARIA, 2022).

Formulações tópicas apresentam prós e contras em sua utilização, entre as vantagens podemos observar: o efeito de primeira passagem no fígado é evitado; facilidade para aplicação; obtenção de eficácia com menores doses diárias; especificidade para aplicação (ser aplicado apenas onde for necessário); melhora para adesão terapêutica; e evita riscos significativos associados a interações

medicamentosas ou efeitos secundários (em comparação com a administração oral e intravenosa). Como desvantagens, pode ocorrer a possibilidade de irritações e reações alérgicas na pele, baixa permeabilidade através da pele para alguns medicamentos, bem como, dependendo da integridade da pele e da concentração do fármaco, pode haver efeitos secundários a nível sistêmico (REBELO, 2021).

Géis são constituídos por dispersão de partículas coloidais, existem diversos polímeros utilizados na obtenção de géis naturais e sintéticos e semissintéticos, como o alginato de sódio, os derivados da celulose (metilcelulose, carboximetilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroximetilcelulose, e os carbômeros), sua escolha depende do tipo de aplicação (tópica, oral, oftálmica, etc.) e das características desejadas no gel (como transparência, viscosidade e pH) (BRITO et al. 2020). Por exemplo, para géis tópicos pode-se utilizar carbômeros pois, oferecem alta clareza, controle de viscosidade e boa estabilidade em uma ampla faixa de pH ou gomas naturais, como xantana, por conta da sua alta viscosidade e biocompatibilidade. Ao passo que para géis oftálmicos é indicado utilizar derivados de celulose ou ácido hialurônico, devido à biocompatibilidade (MELO et al. 2018).

Na plataforma de desenvolvimento o medicamento passa pelo processo da garantia da qualidade, ou seja, são necessários estudos investigativos para certificar-se que eles apresentem segurança e eficácia (GUIZZO et al. 2015; ACIOLE, 2019; BARRETO, 2020). Nesse sentido, no arcabouço de desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, faz-se necessário seguir as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão regulatório, que estabelece as diretrizes para garantir que os produtos farmacêuticos, incluindo formulações semissólidas, atendam aos padrões de qualidade, segurança e eficácia para proteger a saúde pública, como identificação e pureza dos ingredientes ativos, testes físico-químicos, estabilidade, controle microbiológico, rotulagem e embalagem (BRASIL, 2008).

2.5 CARBOPOL® 940

O carbômero sintético Carbopol® 940 é composto por polímeros de alto peso molecular, em média 500.000 a 4.000.000 g/mol, e apresenta alta capacidade em absorver água, seja higroscópico (CÔRREA et al. 2005). O Carbopol® 940 é um

polímero reticulado derivado do ácido acrílico, ele é obtido por polimerização e reticulação do ácido acrílico, formando um polímero tridimensional. Enquanto o ácido acrílico é reativo e ácido, o carbômero é um pó estável que quando hidratado e neutralizado, forma géis viscosos e amplamente usados na indústria farmacêutica e cosmética (KUMARI et al. 2020). Atua como agente emulsionante, espessante, estabilizante, suspensor e gelificante, em fórmulas como soluções, suspensões, cremes, géis, pomadas e sistemas de liberação controlada, que se pode administrar por via oftálmica, retal e tópica. Todas essas formulações para o desenvolvimento de produto seguro devem passar por um controle de qualidade (ZHENG et al. 2016).

Para formação do gel é necessário o tempo suficiente (24 h) da etapa de hidratação do carbômero. Pois, possuem moléculas ácidas fortemente enroladas e uma vez dispersas em água, se hidratam e começam o processo de desenovelar. E posteriormente, deve-se neutralizá-lo com uma base, como trietanolamina (SANTOS et al. 2021).

Conforme contexto apresentado, este trabalho seguiu na execução de obter uma forma farmacêutica semi-sólida, gel a base de Carbopol® 940, contendo própolis da espécie *Apis Mellifera* L, a qual foi realizada o controle de qualidade a fim de apresentar um produto obtido com segurança e eficácia.

3. OBJETIVO GERAL

Obter e caracterizar gel a base de Carbopol® 940 contendo própolis para tratamento de feridas tópicas.

3.1. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Obter a formulação gel contendo própolis;
- Caracterizar as propriedades organolépticas do gel de própolis;
- Analisar os parâmetros físicos e químicos da formulação;
- Realizar o estudo de estabilidade da formulação;
- Avaliar as propriedades reológicas da formulação;

- Determinar o teor de polifenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante da formulação;
- Avaliar a viabilidade celular *in vitro*;
- Avaliar atividade antibacteriana da formulação.

4 MATERIAIS

4.1 PRODUTO NATURAL

As amostras de própolis foram fornecidas pela Embrapa Amazônia Oriental (Belém, Brasil). A própolis marrom de *Apis mellífera* L. foi coletada no sítio Melmel, localizado em Capitão Poço - PA, latitude de 43°40'0" e longitude de 47°40'1" em 20 de janeiro de 2022, em dois tipos diferentes de colmeias do mesmo produto, em vegetação com diferentes espécies vegetais. No momento da coleta, o dia estava nublado e úmido, e durou um período de 12 horas. As amostras foram divididas em pequenas porções, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração. A própolis grossa foi triturada em um britador (Scientific equipment S.A., São Paulo, Brasil) para reduzir o tamanho das partículas.

4.2 REAGENTES

Carbopol® 940; Propilenoglicol (3%); Metilparabeno (0,1%); Propilparabeno; EDTA; Trietanolamina. Cloreto de alumínio; acetato de sódio e cloreto férrico, adquiridos na Synth (São Paulo, Brasil). Folin-Ciocalteu, ácido gálico, quercetina, persulfato de potássio, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolina-6) ácido sulfônico (ABTS), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromon-2-carboxílico (Trolox), brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

4.3 MÉTODOS

4.3.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO CONCENTRADO DE PRÓPOLIS

Na obtenção do extrato concentrado, utilizou-se 100 g de própolis pulverizada, submetida ao processo de maceração em solução de álcool etílico: droga/solvente (1:10, m/v) em frasco âmbar, fechado ao abrigo da luz à temperatura ambiente (25 °C) por 7 dias. Ao término do processo, a tintura obtida foi submetida a filtração a vácuo. Em seguida, transferida para um evaporador rotativo a temperatura de 40 °C, para evaporação completa do etanol. O extrato concentrado de própolis obtido foi

acondicionado em frasco âmbar (Figura 5) e mantido sob refrigeração (BRASIL, 2001).



Figura 5: Obtenção do extrato concentrado.

4.3.2 OBTENÇÃO DA FORMULAÇÃO GEL CONTENDO PRÓPOLIS

A formulação foi obtida utilizando carbopol 940 (1%); extrato de própolis (10%); propilenoglicol (3%); EDTA (0,1%), propilparabeno (0,1%), Metilparabeno (0,1%) e trietanolamina, como descrito na Tabela 1.

Tabela 1: Composição gel contendo própolis.

COMPONENTES	QUANTIDADES
Carbopol® 940 (1%)	2g
Propilenoglicol (3%)	6g
Metilparabeno (0,1%)	0,2g
Propilparabeno (0,05%)	0,1g
EDTA (0,1%)	0,2g
Trietanolamina	5 mL
Extrato de própolis	20 mL
Água	q.s.p 200 g

O gel foi preparado por dispersão dos constituintes em água destilada e permaneceu em repouso por 24 horas, para hidratação do carbômero. Após esse período, adicionou-se a trietanolamina em quantidade suficiente para atingir pH 7,0, para fins de neutralizar o pH ácido do sistema, e por último foi adicionado o extrato de própolis (Figura 6).

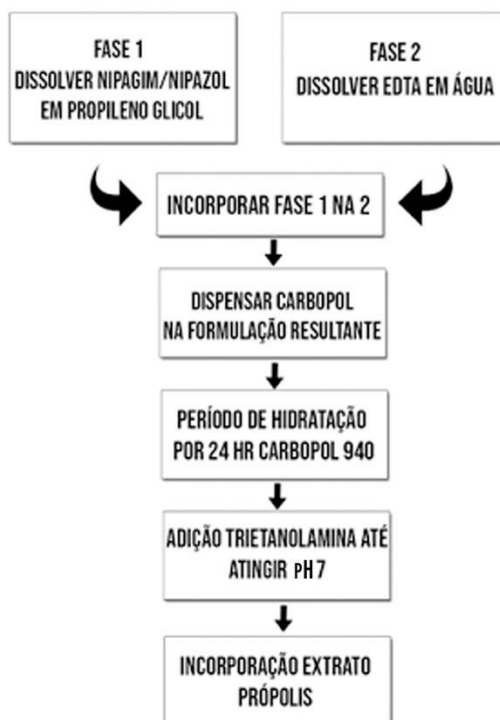


Figura 6: Fluxograma obtenção gel contendo própolis

4.3.3 CARACTERIZAÇÃO DO GEL CONTENDO PRÓPOLIS

4.3.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

As características organoléticas do gel obtido foram avaliadas visualmente, quanto ao aspecto, cor e odor (BRASIL, 2004).

4.3.3.2 AVALIAÇÃO DO pH

O pH foi verificado após o término do preparo da formulação do gel. A determinação do pH foi realizada em potenciômetro (HANNA INSTRUMENTS, HI 9321) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. O resultado

corresponde à média de três determinações em contato direto com a amostra (BRASIL, 2004; BRASIL, 2010).

4.3.3.3 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE

Na determinação da densidade aparente, utilizou-se 10 g de gel em proveta, pesadas cheias e vazias em balança analítica e foi calculado a diferença. A análise foi realizada em triplicata. A densidade aparente foi calculada conforme (Equação 1) (BRASIL, 2004):

(1)

$$D = \frac{m}{v}$$

D = Densidade aparente

m = Massa da amostra

v = Volume ocupado

4.3.3.4 ESTABILIDADE PRELIMINAR E ACELERADA

Os géis foram armazenados em condições distintas de temperatura alternadas em intervalos regulares de tempo. A periodicidade de avaliação das amostras variou de 24 h horas a 90 dias. As condições de armazenagem utilizadas foram: temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), estufa ($40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e geladeira ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), os quais foram avaliadas as características macroscópicas e o pH (ANVISA, 2004).

4.3.3.5 CICLO GELA-DEGELA

Os géis foram submetidos ao ciclo gela-degela por 12 dias seguidos, alternadamente em 6 ciclos (geladeira e estufa). As temperaturas avaliadas foram Geladeira: $T = 5 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e estufa: $T = 40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. No decorrer dos ciclos, os géis foram analisados quanto as características organolépticas e aos valores de pH (ANVISA, 2004).

4.3.3.6 PERFIL ESPECTROSCÓPICO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho dos géis foi realizada em espectrômetro na região do infravermelho com transformador de Fourier (Shimadzu®, Kyoto, Japão) com acessório acoplado de Reflexão Total Atenuada (ATR). Os parâmetros foram: região espectral de 4000 a 600 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans. O programa Origin Pro v8.0 foi usado para traçar graficamente os espectros extraídos (ALVEZ et al. 2011).

4.3.3.7 COMPORTAMENTO TÉRMICO POR TERMOGRAVIMETRIA (TG/DTG)

A curva TG/DTG dos géis foi obtida em analisador térmico TGA-50 (Shimadzu®, Kioto, Japão) usando cadinho de alumínio com 4,925 mg do gel branco e 4,028 mg do gel própolis, sob atmosfera de nitrogênio (N_2) e fluxo de 50 mL/min. O experimento foi conduzido na faixa e temperatura de 25 a 400 °C e razão de aquecimento de 10 °C/min. Os dados obtidos foram analisados no software TA-50W (Shimadzu®) (ALVEZ et al. 2011).

4.3.3.8 COMPORTAMENTO TÉRMICO POR CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

A curva DSC dos géis (branco e contendo o extrato) foi realizada em equipamento DSC-60 plus (Shimadzu®, Kioto, Japão). No ensaio 2,900 mg do gel branco e 2,300 mg do gel própolis foram depositadas em um cadinho de alumínio. As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio (50 mL/ min) e razão de aquecimento de 10 °C / min e temperatura de 350 °C (ALVEZ et al. 2011).

4.3.3.9 DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE

A determinação da espalhabilidade foi realizada conforme a técnica proposta por Knorst (1991). A amostra (1 g, 3 g, 5 g) foi depositada no centro de uma placa de Petri, após isso uma placa de vidro de massa conhecida foi posicionada sobre a amostra. Após três minutos, foi realizada a leitura dos diâmetros abrangidos pela

amostra em posição horizontal, com auxílio do papel milimetrado. Este procedimento foi repetido em intervalos de três minutos, o procedimento foi realizado em triplicata. A espalhabilidade das amostras foi determinada em função do peso adicionado (Equação 2).

$$E_i = d^2 \cdot \pi / 4$$

Onde:

E_i: Espalhabilidade da amostra para um determinado peso em milímetro quadrado (mm²);

d: Diâmetro médio em milímetro (mm)

4.3.3.10 PROPRIEDADES REOLÓGICAS

A viscosidade dos géis (branco e contendo o extrato) foi determinada usando reômetro RST+RHEOMETER (Brookfield, MA, EUA), a 100 rpm a uma temperatura fixa (36.17 °C), para um tempo de funcionamento igual a 120 s (QUSHAWY et al., 2022).

4.3.3.11 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos foram extraídos do gel (100 mg) com adição de 2 mL de uma solução de etanol/água (50:50 v/v), em tubo de ensaio. A solução foi homogeneizada em vórtex por 1 min, colocada em banho de ultrassom (CD 4820, Cleaner Kondentech, São Paulo, Brasil) por 20 min e centrifugada (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha) por 15 min a 7500 rpm. O sobrenadante foi filtrado em membranas com diâmetro de poro de 0,45 µm (Millipore, Bedford, MA, EUA) (ROBERT et al. 2010)

4.3.3.11.1 DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

A determinação de polifenóis totais foi realizada em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu®, Kioto, Japão) a um comprimento de onda de 760 nm. Foi construída uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações de 5 a 75 mg/mL. Em balão volumétrico de 10 mL, foram adicionadas as diferentes concentrações do padrão, 500

μL do reagente de Folin-Ciocalteu, 6 mL de água destilada, aguardou 1 minuto. Em seguida, adicionou-se 2 mL de solução de carbonato de sódio à 20 % (m/v), a solução foi agitada por 30 segundos e completado o volume com água destilada. As soluções permanecerem em repouso por 2 horas e, em seguida, realizou-se as leituras a 760 nm. Para a determinação do teor fenóis no gel de própolis, o mesmo procedimento acima foi repetido com acréscimo de 100 μL da amostra. Os resultados foram expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico por grama (mg Eq GAE/g^{-1}) (FUNARI & FERRO, 2006).

4.3.3.11.2 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

A determinação de flavonoides totais foi realizada em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu®, Kioto, Japão) a um comprimento de onda de 425 nm. Foi construída uma curva padrão de quercetina nas concentrações de 5 a 30 mg/mL. Em balão volumétrico de 10 mL, adicionou-se as diferentes concentrações do padrão e acrescentou-se 1 mL de solução de cloreto de alumínio à 2,5 % (m/V). As soluções permaneceram em repouso por 30 min, em seguida, realizou-se as leituras. A determinação do teor de flavonóides no gel de própolis foi feita adicionando 800 μL da amostra em balão volumétrico de 10 mL, seguido de 1 mL de solução de cloreto de alumínio à 2,5 % (m/V) e completou-se volume com metanol. Os resultados foram expressos em miligrama de quercetina por grama ($\text{mg Eq QUER. g}^{-1}$) (FUNARI & FERRO, 2006).

4.3.3.12 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.3.3.12.1 CAPTURA DO RADICAL ABTS

A atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS foi realizada em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu®, Kioto, Japão) a um comprimento de onda de 734 nm. Preparou-se o radical ABTS a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS (7 mM) com 88 μL da solução de persulfato de potássio (140 mM) e mantido em temperatura ambiente no escuro por 16 horas. Após o tempo necessário diluiu-se 1 mL da mistura em álcool etílico até obter a absorbância no referido comprimento de onda. Em ambiente protegido da luz, transferiu-se uma alíquota de 30 μL da diluição

do gel para tubos de ensaio e misturou-se 3,0 mL da solução do radical ABTS. Em seguida, homogeneizou-se em vórtex e após 6 min da mistura realizou-se as leituras a 734 nm. Utilizou-se o álcool etílico como branco para calibrar o espectrofotômetro. A atividade antioxidante foi calculada baseando-se em uma curva padrão de trolox (100 μ M-2.000 μ M). A concentração final foi expressa em μ M Trolox (TE)/g (RE et al. 1999).

4.3.3.12.2 CAPTURA DO RADICAL DPPH

A atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH foi realizada em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu®, Kioto, Japão) a um comprimento de onda de 515 nm. Em ambiente ausente de luz, foi transferida uma alíquota de 150 μ L da diluição do gel para tubos de ensaio e adicionados 5.850 μ L do radical DPPH e homogeneizou-se em vórtex. Após 30 min realizou-se a leitura em espectrofotômetro. A atividade antioxidante foi calculada baseando-se em uma curva padrão de Trolox (50 μ M-2000 μ M). A concentração final foi expressa em μ M Trolox (TE)/g (MARCA et al. 2018).

4.3.3.12.3 REDUÇÃO DO FERRO (FRAP)

A atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) foi realizada em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu®, Kioto, Japão) a um comprimento de onda de 595 nm. O reagente FRAP foi obtido a partir da mistura de 100 mL de tampão acetato 0,3 M; 10 mL de uma solução de TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina) 10 mM e 10 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, usado imediatamente após o preparo. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 μ L da solução de liberação dos compostos fenólicos para tubos de ensaio, acrescentou-se 270 μ L do gel diluído em água destilada, 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizou-se em vórtex e manteve-se em banho-maria a 37 °C por 30 min. Após, as leituras foram realizadas, a 595 nm. O reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. A atividade antioxidante foi calculada baseando-se em uma curva padrão de Trolox (160 μ M-1.600 μ M). A concentração final foi expressa em μ M Trolox (TE)/g (BENZIE & STRAIN, 1996; RUFINO et al. 2006).

4.3.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE

4.3.4.1 CULTURA CELULAR

A linhagem de células Vero do fibroblasto do epitélio renal de macaco verde africano foi obtida do Laboratório de Biologia Estrutural e parasitologia (UFPA). Elas foram mantidas a 37 °C em uma atmosfera umidificada com 5% de CO₂. O meio de cultura utilizado foi Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) e complementado com 10% de SBF (Soro bovino fetal). As culturas tiveram seus meios trocados até a formação de uma monocamada de células. As células foram lavadas com tampão fosfato-salino (PBS), tripsinizadas, centrifugadas por 10 min à 1,200 rpm, então contadas na câmara de Neubauer. As células na concentração de 1x10⁴ cels/ ml de DMEM por poço foram distribuídas em placas de 96 poços e incubadas por 24h a 37 °C em 5% de CO₂ e 95% de ar para estabilização (FOTAKIS & TIMBRELL, 2006).

4.3.4.2 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR

O teste de viabilidade celular foi realizado pelo ensaio do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), onde 1x10⁴ de células/mL Vero foram cultivados em placas de 96 poços e submetidos ao tratamento com géis (branco e contendo o extrato) nas concentrações de 2,5, 10, 20, 50, 100, 250 e 500 µg/mL por 24 h em estufa a 37 °C contendo 5% de CO₂. Após esse período, foi retirado o sobrenadante dos poços e adicionado 0,5 mg/mL MTT diluído em tampão fosfato salino (PBS) em cada poço, para seguir o processo de incubação a 37°C em estufa contendo 5% de CO₂ por 3 horas. Após incubação com MTT, o sobrenadante foi retirado e adicionado 200 µL de dimetil sulfóxido (DMSO) em cada poço para solubilização dos cristais de formazan em incubação em placa agitadora por 10 minutos. Posteriormente, a solução final foi transferida para placas de 96 poços e lida em espectrofotômetro (BIO-RAD Model 450 Microplate Reader) a um comprimento de onda de 570 nm. Para controle da reação, foi utilizado células mortas com solução de formol 15% (FOTAKIS & TIMBRELL, 2006).

4.3.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana foi avaliada em cepas bacterianas de referência ATCC (American Type Culture Collection): *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Gram-positivo) ATCC 25923, *Escherichia coli* (*E. coli*) (Gram-negativo) ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) (Gram-negativo) ATCC 27853. As cepas de ATCC foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Dermato-Imunologia (LDI/UFPA), onde foram mantidas em tubo inclinado com ágar nutriente em temperatura ambiente até o momento dos experimentos.

Antes do ensaio antibacteriano, as cepas bacterianas foram semeadas em placas de Petri contendo meio ágar Mueller-Hinton. Eles foram então incubados a 37 °C (CO₂ incubadora HF 212UV UltraSafe, Madri, Espanha) em estufa por 24 h para crescimento e posterior preparação do inóculo. O inóculo foi obtido de acordo com o padrão M7-A9 vol. 32 no. 2 (CLSI, 2012). O inóculo foi preparado removendo-se de três a quatro colônias da bactéria, que foram transferidas para um tubo contendo 5 mL de soro fisiológico, e foram feitos ajustes para atingir a concentração desejada de 1×10^8 UFC·mL⁻¹ em um leitor de microplacas compatível com a escala de McFarland de 0,5 apresentando uma densidade óptica entre 0,08 e 0,13 no comprimento de onda de 625 nm. Em seguida, foi realizada uma diluição de 1:20 para obter a concentração final de inóculo de 1×10^6 UFC·mL⁻¹ em caldo Mueller-Hinton (MH). Os géis (branco contendo o extrato) foram preparados sem adição dos componentes parabenos para este teste pois os mesmos possuem efeitos antibacterianos, e foram avaliados nas concentrações entre 3,125 a 200 mg/mL. O fármaco antibacteriano usado como padrão foi penicilina + estreptomicina (10.000 unidades/10 mg) nas concentrações de 5 µg/mL a 0,078 µg/mL), o controle de crescimento consistiu em caldo Mueller-Hinton + as cepas bacterianas e o controle de esterilidade foi apenas caldo Mueller-Hinton. Em uma placa de microdiluição de 96 poços, foram adicionados 100 µL do inóculo + 100 µL de cada concentração dos géis. O controle de crescimento recebeu 100 µL de inóculo + 100 µL de caldo Mueller-Hinton, o controle de esterilidade recebeu 200 µL de caldo Mueller-Hinton e o controle padrão recebeu 100 µL de inóculo + 100 µL de penicilina + estreptomicina, obtendo um volume final de 200 µL em todos os poços. A placa foi incubada em estufa a 37 °C por 24 h (CO32, HF 212UV UltraSafe, Madri, Espanha). Os experimentos foram realizados em triplicata. Após 24 h, 20 µL de TCC

a 0,5% foram adicionados a cada poço e as placas foram incubadas novamente por mais 2 h (CLSI, M7-A9, 2012). Após um período de 2 h, observou-se o aparecimento de uma coloração vermelha, indicando que ocorreu crescimento microbiano, enquanto uma diminuição na coloração vermelha ou sua ausência indicou ação inibitória contra as cepas testadas (OLIVEIRA et al 2005). Em seguida, a densidade óptica foi lida em um leitor de microplacas (Bio-Rad Model 450 Microplate Reader, São Paulo, Brasil) a 625 nm. A viabilidade das cepas foi calculada a partir da porcentagem de inibição do crescimento bacteriano em diferentes concentrações do extrato e hidrogéis para cada microrganismo de acordo com a Equação 3 (PIETRO et al 1999) com adaptação.

(3)

$$\text{Inibição do crescimento(\%)} = \left[1 - \left(\frac{D.O \text{ final} - D.O \text{ inicial}}{D.O \text{ CC}} \right) \right] \times 100$$

Onde:

- DO inicial: é a média das densidades ópticas obtidas em cada concentração + o inóculo antes de 24 h;
- DO final: é a média das densidades ópticas obtidas em cada concentração + inóculo após 26 h;
- OD CC: é a média das densidades ópticas do controle positivo e representa o parâmetro de crescimento 100 para cada isolado

4.3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados e expressos em média $\pm$ desvio padrão, utilizando o Excel office 365. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados obtidos na avaliação da citotoxicidade foram analisados utilizando o GraphPad 5.0. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, considerando significantes resultados com $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de controle de qualidade do extrato de própolis, que foi incorporado na formulação semissólida obtida nesse estudo, foram realizados por

Ferreira et al. (2024). No referido trabalho encontram-se os estudos de caracterização como: Ressonância Magnética Nuclear (RMN); Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS); perfil espectroscópico na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR); determinação dos teores de polifenóis e flavonóides totais; comportamento térmico por termogravimetria (TG/DTG) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC); determinação da atividade antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP) além do estudo de citotoxicidade em linhagem de células do fibroblasto e macrófago. A partir do controle de qualidade realizado no extrato de própolis iniciou-se este estudo.

5.1 AVALIAÇÃO DO pH

O potencial de hidrogeniônico é um parâmetro que está relacionado com a estabilidade de formulações fitoterápicas, cosmética e alimentícia (FARMACOPÉIA BRASILEIRA 2019). Por ser uma formulação semissólida que apresenta em sua composição um maior conteúdo de água, haja vista que há possibilidade de crescimento bacteriano, no qual variações no pH podem influenciar tanto no número como na atividade enzimática dos microrganismos (OLIVEIRA et al. 2010). O pH do gel branco e gel própolis foram avaliados e os valores não apresentaram variações (Tabela 2).

Tabela 2: pH do gel branco e gel contendo extrato de própolis

Amostra	pH
Gel branco	7,0 ± 0,0
Gel própolis	7,0 ± 0,0

O pH da pele humana varia em torno de 4,6 a 5,8, e possui função de defesa contra micro-organismos presentes na microbiota mais externa do corpo humano (SANTOS et al. 2020). Ao sofrer lesão e atingir a microcirculação o pH da pele sofre variação e torna-se próximo a um pH alcalino (7,0 a 9,0), o que está associado a proliferação de bactérias e dificuldade de cicatrização. Conforme ocorre o processo de cicatrização fisiológico o pH se restabelece para faixa ácida (SERGIO, 2021). De acordo com a Tabela 2, o pH das formulações se mantiveram neutros, este cenário

indica que há possibilidade de iniciar um tratamento de via tópica em feridas que apresentam pH alcalino até a restauração da pele para levemente ácido.

Kapare et al. (2023), ao desenvolverem um hidrogel base de PVA (álcool polivinílico) contendo própolis indiana apresentou pH 5,4. No estudo *in vivo*, foi induzido feridas em ratos machos *Wistar* em que se aplicou o hidrogel, os autores observaram a manutenção das propriedades cicatrizantes no leito da ferida. Outro estudo semelhante realizado por Kim & Lee (2018), prepararam um hidrogel de Carbopol® 934 contendo própolis com pH 7,0, os autores observaram ao aplicarem em modelo de cicatrização de feridas em ratos resultados positivos para formação avançada de tecido de granulação e reepitelização da ferida. Dessa forma, sugere-se que formulações desenvolvidas dentro da faixa de pH 5,4 a 7,0 apresentam indicativo terapêuticos para cicatrização da ferida.

5.2 TESTE DE ESTABILIDADE POR CENTRIFUGAÇÃO

Após o ensaio de centrifugação as amostras permaneceram estáveis e sem qualquer tipo de alteração, não foram observadas, formação de bolhas de ar, cor ou odor (Figura 7).



Figura 7: Teste de centrifugação nos géis em três rotações diferentes.

Esse teste produz um estresse mecânico na amostra que simula o aumento da força gravitacional, antecipando possíveis fenômenos de instabilidade como precipitação, separação de fases e formação de sedimento compacto (ANVISA, 2007). Ao realizar este ensaio, verifica-se uma boa estabilidade e a não necessidade de alterar os componentes da formulação (ISAAC et al. 2008; ROSÁRIO et al. 2021).

5.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR E ACELERADA

O pH e as características organolépticas se mantiveram constantes durante o período do estudo de estabilidade nos períodos 24h horas, 7, 15, 30, 60 e 90 dias, sob as condições de temperatura ambiente, geladeira e estufa. O pH manteve-se em 7,0. As formulações apresentaram-se de fase única, homogênea e firme; coloração âmbar claro; sem odor) (Figura 8).

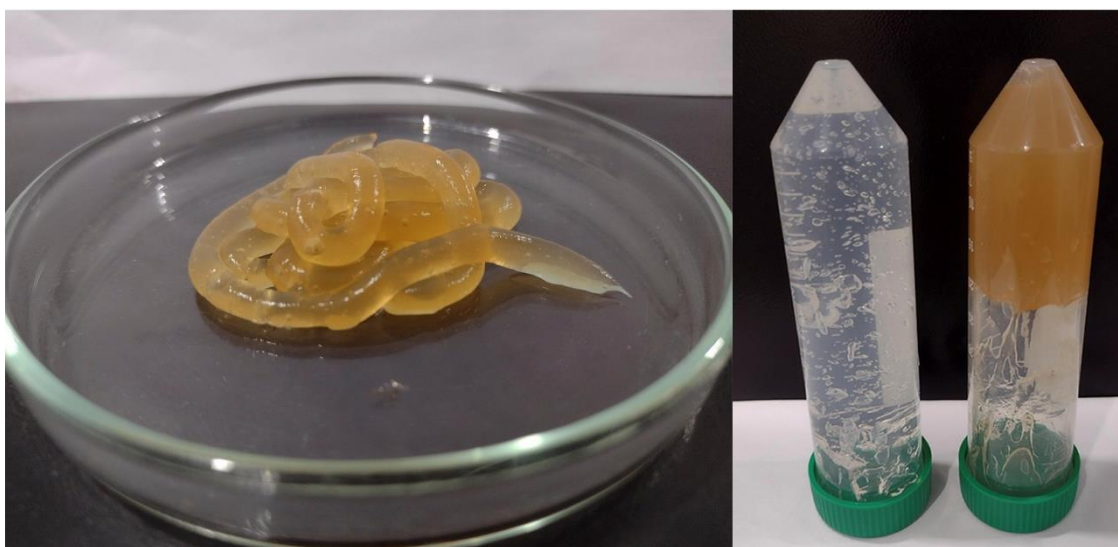


Figura 8: Aspectos macroscópicos do gel branco gel própolis após 90 dias.

O teste de estabilidade preliminar faz-se necessário em fase inicial do desenvolvimento de um produto, geralmente, possui período de 15 dias e tem o objetivo de verificar se haverá degradação das substâncias presentes na formulação. Assim, averiguou-se que nas temperaturas controladas conforme feito o estudo, os impactos deste estresse físico não houve qualquer tipo alteração nas formulações. A Tabela 3 mostra os valores do pH obtidos no início e no final do teste de estabilidade.

Tabela 3: Estudo de estabilidade pH do gel contendo própolis e gel branco

Amostra	pH inicial	pH final
Gel branco	7,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0
Gel própolis	7,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0

Em sequência ao estudo de estabilidade preliminar, foi realizado nas mesmas condições, o estudo de estabilidade acelerada, no período de 90 dias, prevendo a possibilidade de as formulações apresentarem instabilidade, bem como prever a compatibilidade com o seu material de acondicionamento no decorrer do período avaliado (ANVISA 2004; SOUZA et al. 2017). Ainda assim, as formulações investigadas tiveram sua estabilidade mantida além dos 15 dias. Observou-se que nas formulações armazenadas em diferentes condições durante 90 dias não houve alteração do pH, ausência de degradação e de mudança de fases, provavelmente em decorrência dos parabenos presentes na formulação. A boa estabilidade sugere segurança da formulação estudada com os valores de pH dentro da faixa compatível para tratamento de feridas (SOUZA et al. 2016; KIM & LEE, 2018).

5.4 CICLO GELA-DEGELA

No ensaio de gela-degela dos géis branco e com o extrato de própolis avaliados em 6 ciclos alternados, verificou-se que os parâmetros de pH e características organolépticas também se mantiveram constantes (pH $7,0 \pm 0,0$), fase homogêneo e firme, coloração âmbar claro e transparente e sem odor.

O ciclo gelo-degelo é um procedimento utilizado para avaliar a estabilidade em parâmetros como organolépticos, físico-químico e microbiológicos, a fim de mimetizar características da zona climática onde os produtos serão produzidos e ou comercializados, bem como as condições de transporte as quais serão submetidos de forma antecipar processos de instabilidade, como o de separação de fases, alteração de pH, problemas de suspensão (ANVISA, 2004; ISAAC et al. 2008; LIMA et al. 2017).

Embora o gel contendo própolis apresentou-se estável nesse teste em características organolépticas e pH, vale ressaltar que nem todos os géis a base de Carbopol® 940 desenvolvidos a partir de estudos em laboratório contendo produtos naturais possuem boa estabilidade. Souza et al. (2016) e Favero et al. (2020) desenvolveram formulações a base de carbopol® 940 contendo extratos de *Salvia* (*Salvia officinalis*) e *Uvarana* (*Cordyline spectabilis*) e analisaram durante o período de 12 a 15 dias respectivamente, onde foi observado mudança de fase, pH e aparência nas formulações obtidas

5.5 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os espectros do FTIR obtidos do gel branco e gel contendo própolis estão apresentados na Figura 9. O FTIR é uma técnica que auxilia na identificação de grupos funcionais presentes nos compostos analisados (JADVANIA et al. 2013). Observa-se assim, semelhança entre os picos de ambas as formulações (Figura 9) em razão do polímero utilizado, bem como a sobreposição do extrato. Ferreira et al. (2024) relatou em seu trabalho que o FTIR do extrato de própolis apresentou picos entre 688 cm⁻¹ e 3398 cm⁻¹ que não é visível nos FTIR dos géis.

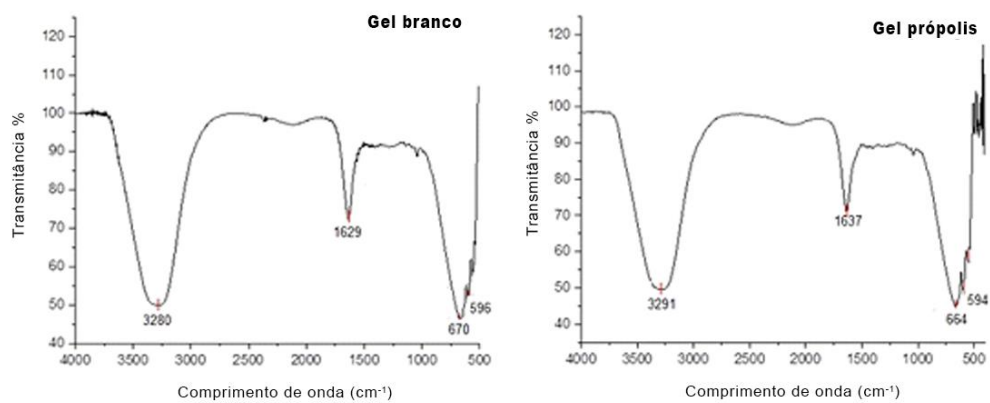


Figura 9: Espectro de FTIR dos géis (branco e contendo o extrato de própolis).

As bandas referentes aos estiramentos 3291 cm⁻¹ e 3322 cm⁻¹ sugerem a presença do grupo funcional C-H e OH, as bandas referentes aos picos 1647 cm⁻¹ e 1630 cm⁻¹ sugerem a presença do estiramento C=C, e as bandas referente aos picos 669 cm⁻¹ e 676 cm⁻¹ a presença do grupo funcional C-H decorrente de anéis aromáticos relacionados a compostos fenólicos (Tabela 4) (SOUZA, 2007; SILVA, 2018; OLIVEIRA, 2022).

Tabela 4: Bandas de absorção na região do infravermelho de ligações moleculares do gel branco e gel contendo própolis.

TIPO DE LIGAÇÃO	GEL BRANCO	GEL PRÓPOLIS
C-H e O-H	3322	3291
C=C	1629	1637
C-H	676	669

Segundo Oliveira (2022), as bandas de própolis são encontradas na faixa de 3000–2800, 2400–2300, 1800–1700, 1500–1400, 1200–1100 e 750–700 cm^{-1} , porém não é tão evidente nos gráficos em razão da proporção dos excipientes para o gel serem maior que a do extrato. Vale ressaltar que a própolis possui uma composição química complexa e seu conteúdo varia de acordo com a região e o clima de onde é obtida. A composição química da própolis é dividida em dois grupos: bálsamo (40-70%) e conteúdo de não-bálsamo (20-35%), que consiste em diversos compostos fenólicos, o que pode variar a posição dos picos encontrados de acordo com a região.

Rouhani (2019) e Filho et al. (2021), ao analisarem formulações contendo própolis, encontraram grupos funcionais C-H e O-H entre os picos 600 cm^{-1} 800 cm^{-1} , estando dentro da faixa encontrada para o gel com própolis e gel branco (669 cm^{-1} e 676 cm^{-1}). A presença desses grupos funcionais C-H e O-H também sugerem ser decorrente de anéis aromáticos relacionados a compostos fenólicos do extrato de própolis (SOUZA, 2007). Bem como, dos conservantes empregados, metilparabeno e propilparabeno, que possuem fenol em sua composição (LOPES, 2004).

As bandas referentes aos estiramentos 3291 cm^{-1} e 3322 cm^{-1} sugerem a presença do grupo funcional também de C-H e OH, porém decorrente de alongamento assimétricos e simétricos de metil (CH_3) e metileno (CH_2) (SILVA, 2018), e para o gel branco um indicativo da rede de componentes do carbono no carbopol® 940. No gel contendo própolis as bandas referentes aos picos 1637 cm^{-1} e 1629 cm^{-1} indicam a presença do estiramento C=C, sugerindo a presença terpenos e anéis aromáticos (OLIVEIRA et al. 2016; SILVA, 2018), já no gel branco o grupo funcional correspondente a esta faixa é provavelmente estiramento assimétrico das ligações (C-O) de grupos carboxilatos (COO^-) derivados da neutralização e ionização de grupos carboxílicos com a base (trietanolamina), durante o processo da formulação de carbopol® 940 (KANIS et al 2000; SINGH et al 2017).

5.6 COMPORTAMENTO TÉRMICO POR TERMOGRAVIMETRIA (TG/DTG)

A curva termogravimétrica do gel branco e gel contendo própolis estão na Figura 10. Neste ensaio avaliou-se o comportamento da formulação frente a condições pré-estabelecidas de atmosfera de nitrogênio na medida em que é

analisado a massa sobre a temperatura (CHELU et al. 2023). O gel branco mostrou dois eventos, o primeiro com perda de massa de 12,25% entre 150°C – 300°C e outro evento com perda de massa de 54,15% no intervalo de 360,22°C – 413,88°C (Figura 8). O gel própolis elucidou mais dois eventos de perda de massa, primeiro ocorreu entre 203,66°C – 246,24°C com perda de massa de 17,22%, o segundo evento de aconteceu entre 325,00°C – 400°C com perda de massa 29,07% indicando sensibilidade na mesma faixa de temperatura do gel branco, porém com menor intensidade, o que indica uma boa incorporação do extrato na formulação (Figura 8).

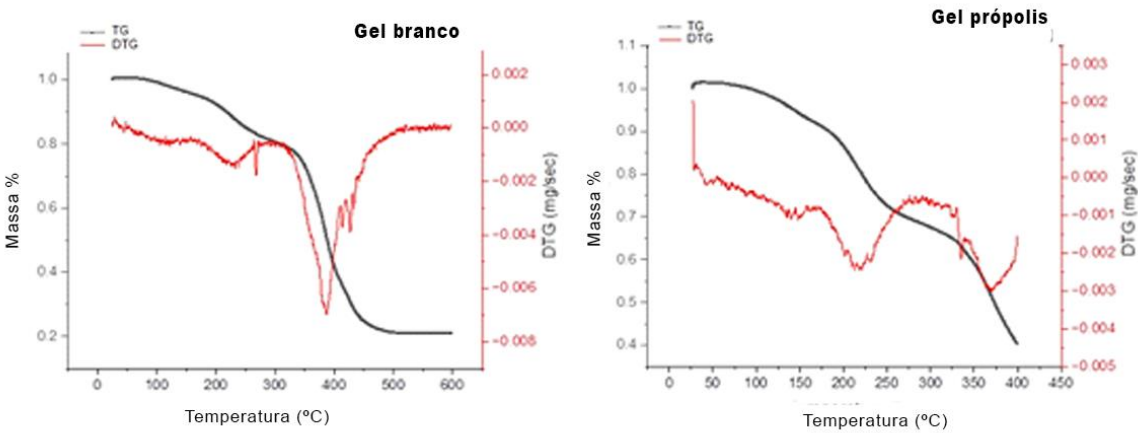


Figura 10: Curva TG/DTG do gel branco e gel contendo extrato de própolis.

A Tabela 5 descreve todos os resultados da termogravimetria (TG/DTG), assim, verificou-se que o ambos os géis apresentaram um pico discreto de DTG próximo de 150°C podendo inferir que esta perda se refere a massa de compostos como álcool e água adsorvidos no gel (FERREIRA et al. 2024).

Tabela 5: Perdas de massa e faixas de temperatura relacionadas detectadas no gel branco e gel própolis por análise termogravimétrica.

Amostra	Evento 1		Evento 2		Evento 3	
	Temperatura (°C)	Perda de massa (%)	Temperatura (°C)	Perda de massa (%)	Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
Gel branco	100°C - 150°C	12%	150°C - 300°C	12,25%	360,22°C - 413,88°C	54,15%
Gel própolis	100°C - 150°C	10%	203,66°C- 246,24°C	17,22%	325,00°C - 400°C	29,07%

Ferreira et al (2024) obteve uma formulação de hidrogel de poli(acrilamida/metilcelulose) contendo própolis e observou em seus resultados de termogravimetria (TG/DTG), os valores para extrato de própolis picos de DTG nas faixas entre 124.57 °C – 146.59 °C e 268.52°C – 341.47°C, os quais, em comparação ao presente estudo estão dentro dos resultados obtidos do gel contendo própolis. Assim, pode-se inferir que o primeiro evento 203,66°C - 246,24°C (17,22%) está relacionada a ruptura da cadeia principal do ácido poli(acrílico) e a decomposição de compostos fenólicos menos estáveis; o segundo evento de perda de massa aconteceu entre 325°C – 400°C (29,07%) está associado à degradação de resinas e compostos fenólicos mais estáveis (como flavonoides e ácidos fenólicos) e a decomposição dos grupos funcionais carboxílicos (-COOH) derivados do carbopol® 940 (BARUD et al 2013).

Singh & Dhiman (2019) constataram picos semelhantes em seu trabalho sobre curativos de hidrogel carregados com antibióticos para melhor tratamento de feridas, ao analisar um gel branco a base de carbopol®940 pelo método de comportamento térmico por termogravimetria (TG/DTG) relacionado o primeiro evento a ruptura da cadeia principal do ácido poli(acrílico), e outro e o segundo a decomposição dos grupos funcionais carboxílicos (-COOH) na formulação.

5.7 COMPORTAMENTO TÉRMICO POR CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

A Figura 11 apresenta as curvas DSC do gel branco e gel própolis. A curva DSC do gel branco evidencia dois eventos endotérmicos, o primeiro evento ocorrido entre 28,10°C–110,08°C, com temperatura de pico em 86,61°C e $\Delta H = -60,95$ J/g, sugerindo perda de água e álcool não ligados a cadeia carbônica. O segundo com $\Delta H = -137,71$ J/g, ocorreu entre 166,05 °C– 243,61°C e temperatura de pico em 215,12°C, que indica possivelmente alterações físicas na estrutura polimérica da formulação, como rompimento de interações intermoleculares fracas indicando degradação do polímero (Figura 9) (SINGH & DHIMAN, 2016).

Na curva DSC do gel própolis tem-se dois eventos endotérmicos um evento exotérmico. O primeiro evento endotérmico com $\Delta H = -47,85$ J/g ocorreu entre 30,34°C – 122,05°C com temperatura de pico em 30,30 °C, que indica perda de água e álcool não ligados a cadeia carbônica, também uma possível degradação de

compostos fenólicos, terpenos por conta de sua volatilização. O segundo evento endotérmico ocorrido em 180,12 °C – 246,91°C, com $\Delta H = -52,72$ J/g e temperatura de pico em 216,03°C sugere alterações na estrutura física do Carbopol®940, como degradação do polímero ou reorganização de cadeias poliméricas (JANA et al. 2014). No evento exotérmico a temperatura de pico foi em 163.59 °C, ocorrido entre 143.70 °C– 182.77 °C com $\Delta H = 12.03$ J/g (Figura 9), sugerindo a decomposição de compostos orgânicos complexos, como flavonoides e resinas, além da degradação do polímero de carbopol® 940.

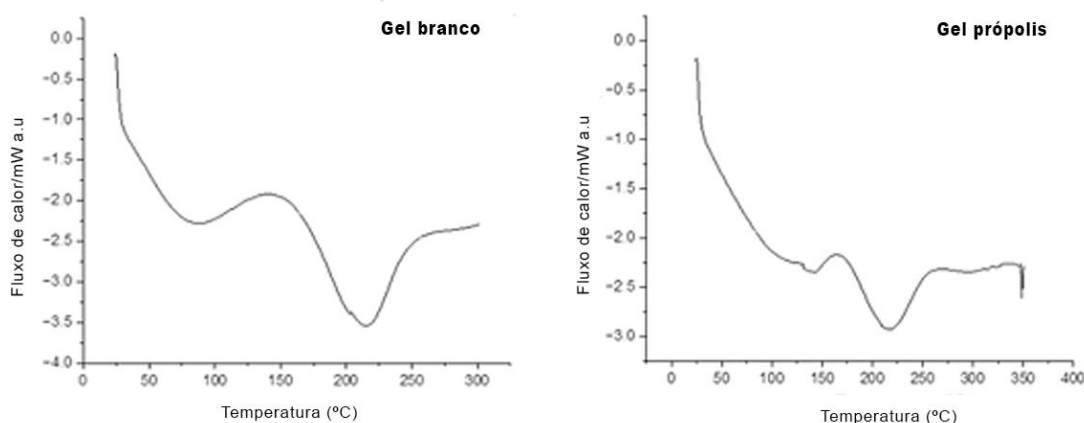


Figura 11: Curva DSC do gel branco e gel própolis.

A diferença de entalpia do gel branco para com o gel própolis indica que o gel própolis precisou de menos energia para chegar em picos semelhantes ao gel branco, indicando que houve uma boa incorporação do extrato de própolis na formulação (Tabela 6) (ALVEZ et al. 2018).

Tabela 6: Temperaturas de pico e variações de entalpia de eventos de troca de calor ocorridos no gel branco e gel própolis

Amostra	Evento 1		Evento 2		Evento 3 (Exotérmico)	
	Temperatura de pico (°C)	ΔH (J/g)	Temperatura de pico (°C)	ΔH (J/g)	Temperatura de pico (°C)	ΔH (J/g)
Gel branco	86,61°C	- 60,95	215,12°C	-137,71	-	-
Gel própolis	30,30 °C	- 47,85	216,03 °C	-52,72	163.59 °C	12.03

* ΔH = variação de entalpia

5.8 DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE

A espalhabilidade é definida como a expansão da área de uma formulação semi-sólida sobre uma superfície lisa, em função de um certo tempo. Esse ensaio permite avaliar modificações que podem ocorrer no desenvolvimento do produto, estando sob efeito de forças mecânicas que podem agir sobre ele, o que implica dizer que este teste irá auxiliar na análise do comportamento do produto sobre a pele (SOUZA et al., 2020). Os resultados obtidos no teste de espalhabilidade foram expressos em mm² (Figura 12).

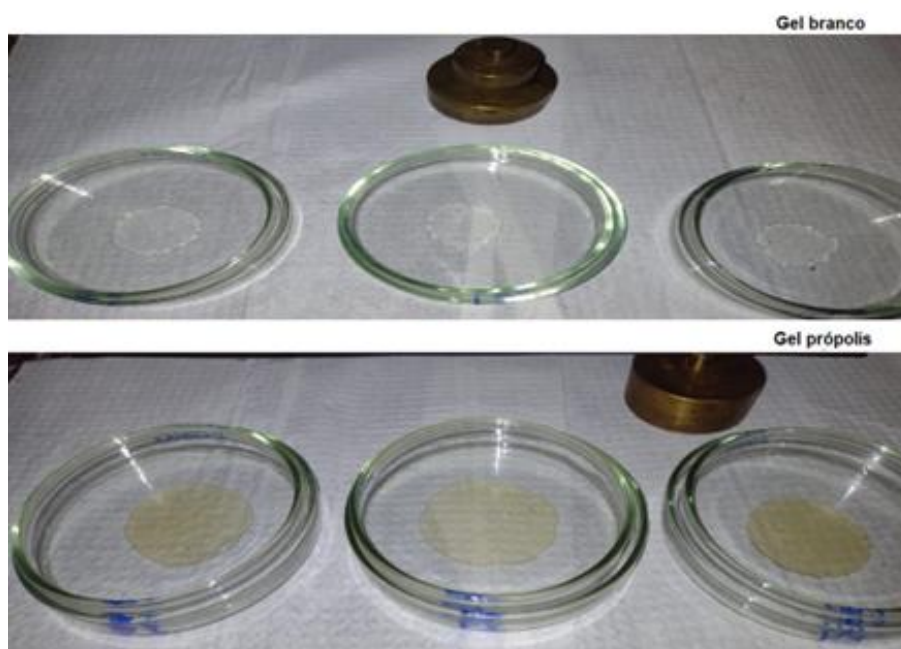


Figura 12: Espalhabilidade do gel branco e gel própolis

Realizou-se o ensaio de espalhabilidade no intuito de avaliar modificações na formulação semissólida desenvolvida sob efeitos de forças mecânicas que podem agir sobre ela (SOUZA et al. 2020), o que implica dizer que este teste irá auxiliar na análise do comportamento do gel própolis quando aplicado sobre a pele.

A representação gráfica da espalhabilidade do gel própolis em função da massa aplicada (Figura 13) revelou maior aumento de área da espalhabilidade: de 594,22 mm² ± 140,04 (1 g), 1164,15 mm² ± 120,07 (3 g), e 1520,53 mm² ± 109,41 (5 g). Para

o gel branco os valores foram $552,03 \text{ mm}^2 \pm 120,04$ (1 g), $1224,09 \text{ mm}^2 \pm 160,07$ (3 g), e $1540,55 \text{ mm}^2 \pm 107,40$ (5 g) (Tabela 7).

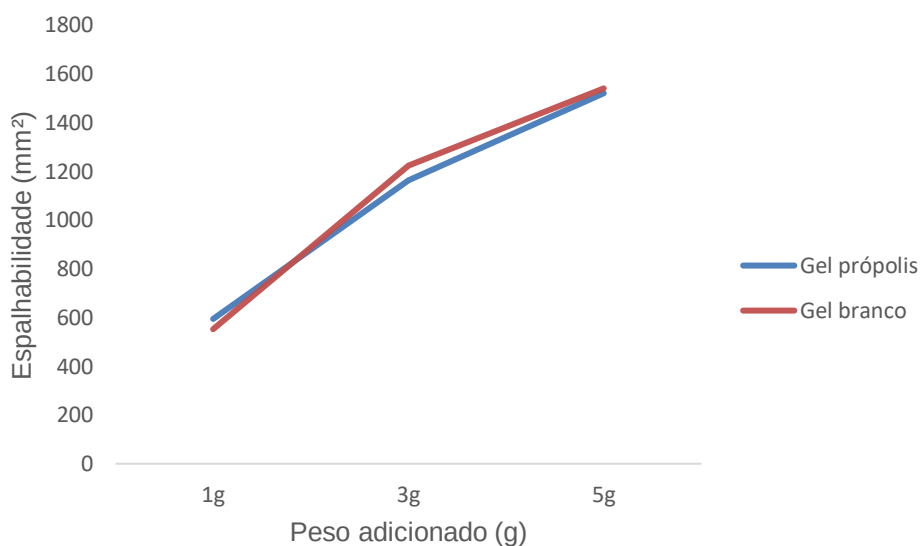


Figura 13: Gráfico de espalhabilidade do gel contendo própolis.

O gel branco e gel contendo própolis apresentou um comportamento não newtoniano, ou seja, sua viscosidade é alterada pelo aumento da força exercida sobre ele e pseudoplástico sua viscosidade diminui conforme o fluido se deforma. Bugnott et al. (2024) ao estudarem uma formulação de gel cremoso a base de poliacrilamida e álcool laurílico etoxilado (cepigel) 4% (p/v) contendo própolis constatou resultado semelhante em seu estudo de espalhabilidade indicando ser um fluido não newtoniano e pseudoplástico também.

Tabela 7: Valores de espalhabilidade para os géis branco e contendo própolis.

	1 grama	3 gramas	5 gramas
Gel branco	552,03 mm ² ± 120,04	1224,09 mm ² ± 160,07	1540,55 mm ² ± 107,40
Gel própolis	594,22 mm ² ± 140,04	1164,15mm ² ± 120,07	1520,53 mm ² ± 109,41

5.9 PROPRIEDADES REOLÓGICAS

O estudo reológico de uma formulação permite compreender suas propriedades de fluxo ou resistência a deformação, que podem ser classificadas como o fluidos newtonianos ou não-newtonianos. Um fluido não newtoniano ocorre quando

sua viscosidade é alterada pelo aumento da força exercida sobre ele, dentre os tipos de fluidos não newtonianos o ideal para formulações do tipo gel é o pseudoplástico, pois, geralmente são formulações que exigem alta viscosidade em repouso, para evitar derramamentos, mas fluem facilmente quando uma força é aplicada como ao ser espalhado ou agitado, o que implica dizer que sua viscosidade diminui conforme o fluido se deforma.

Essas características facilitam a aplicação do produto, na medida que a diminuição da viscosidade aparente ocorre de forma proporcional ao aumento da tensão de cisalhamento exercida (SCHRAMM, 2006), essenciais para o design e controle de processos industriais, formulação de produtos e otimização de propriedades mecânicas de materiais (TADROS, 2010; ORTEGA & DOBLES, 2018).

As propriedades reológicas dos géis foram avaliadas conforme parâmetro da viscosidade em função do tempo e viscosidade em função da taxa de cisalhamento. As amostras gel própolis e gel branco demonstraram comportamentos não newtonianos, ou seja, relação entre viscosidade e taxa de cisalhamento não é linear, indicando que as variáveis são inversamente proporcionais, e pseudoplástico a viscosidade diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento, ou vice-versa (Figura 14) (RIBEIRO et al. 2021).

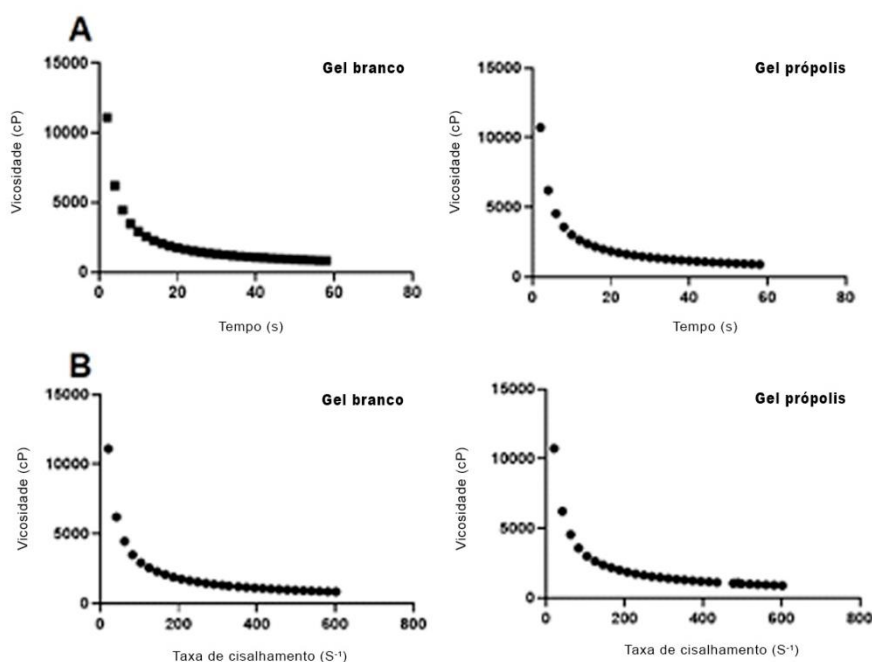


Figura 14: Propriedades reológicas dos géis (branco e contendo o extrato de própolis). A. Viscosidade em função do tempo. B Viscosidade em função da taxa de cisalhamento.

Ao observar a Tabela 8 percebe-se que o gel com própolis apresentou valores próximos ao gel branco, indicando que o extrato foi incorporado e não alterou significativamente a reologia esperada do gel, corroborando o resultado do ensaio de espalhabilidade ao qual apresentou comportamento não newtoniano e pseudoplástico.

Tabela 8: Propriedades reológicas do gel branco e gel contendo extrato de própolis

Amostras	Viscosidade (η)	Taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$)	Tempo (s)
Gel branco	11103	20,68	4
	831	601,81	60
Gel própolis	10703	20,40	4
	885	601,85	60

5.10 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Compostos fenólicos são uma classe ampla de compostos químicos que contêm pelo menos um anel fenólico, ou seja, um anel benzênico ligado ao grupo hidroxila, conhecidos por suas propriedades antioxidantes protegendo as células do dano causado pelos radicais livres e promovendo benefícios ao corpo, como redução do risco de doenças cardiovasculares, anti-inflamatórios e propriedades anticancerígenas. Vale ressaltar que os flavonoides são uma subclasse dos compostos fenólicos, os quais estão intimamente relacionados a atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e cardioprotetoras (VEBER et al. 2015; OLIVEIRA et al. 2013).

Os compostos fenólicos da formulação foram quantificados por espectrofotometria. Os valores de polifenóis totais e flavonoides totais encontrados estão na Tabela 9. De acordo com legislação em vigor no Brasil, a porcentagem mínima de flavonoides no extrato alcoólico de própolis é de 0,25% e segundo o Ministério da Agricultura, o valor mínimo para compostos fenólicos em extratos de própolis comerciais é de no mínimo 0,5% (BRASIL, 2001).

Os valores encontrados se convertidos para porcentagem teremos aproximadamente 3,1% de polifenóis totais e 2,2% de flavonoides na formulação (Tabela 9) dentro dos limites estabelecidos na legislação vigente.

Tabela 9: Determinação dos compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante do gel branco e gel própolis.

Amostras	Compostos fenólicos		Atividade antioxidante		
	Polifenóis totais	Flavonóides	ABTS (μ M	DPPH (μ M	FRAP (μ M
	(mg GAE/100 g)	totais mg QUERT/100 g)	Trolox)	Trolox)	Trolox)
Gel branco	_____	_____	575,41 $\pm$ 56,56	135,14 $\pm$ 10,84	238,02 $\pm$ 14,10
Gel própolis	31,21 $\pm$ 2,405	21,94 $\pm$ 1,194	752,95 $\pm$ 146,97	225,95 $\pm$ 1,18	265,71 $\pm$ 9,40

A atividade antioxidante dos géis foi realizada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP no qual os géis (branco e com extrato) apresentaram boa atividade antioxidante em todos os métodos (Tabela 9), ao passo que o gel própolis mostrou valor superior em relação ao gel branco, indicando que o extrato de própolis manteve sua atividade antioxidante e a sua viabilidade para o uso do gel a base de Carbopol®940 como veículo de liberação.

Vale ressaltar que a atividade antioxidante é importante no combate ao estresse oxidativo no leito da ferida, ou seja, quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante do organismo para neutralizá-las. O estresse oxidativo prolongado pode resultar em danos crônicos às células e tecidos ao redor da ferida, retardando a cicatrização e contribuindo para a formação de feridas crônicas na medida em que danificam segmentos importantes do organismo como danos ao DNA provocando mutações, prejudicam a barreira lipídica da membrana plasmática e danos a proteínas interferindo em processos celulares vitais e na sinalização celular (BONOTTO et al. 2020).

Oliveira (2023) e Texeira (2023) também relataram em seus estudos com o extrato própolis de suas regiões, elevada atividade antioxidante mesmo em baixas concentrações, demonstrando assim capacidade de reduzir DPPH e ABTS. Estudos

como de Tasneem (2021) e Wantanwa (2018) ao estudarem formulações incorporando produtos naturais como extrato da casca de *Albizia lebbbeck* e extrato do caroço do côco, respectivamente, constataram que formulações semi-sólidas a base de Carbopol®940 são uma boa opção para a incorporação de produtos naturais na medida em que conseguem manter sua atividade antioxidante na formulação. Ferreira et al (2024), ao incorporar extrato de própolis em um hidrogel a base de poliácridamida e metilcelulose constatou-se uma forte atividade antioxidante proveniente da própolis, sugerindo ser eficiente para tratamento de feridas.

5.11 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR

Ensaio de citotoxicidade em cultivos celulares, como MTT, são comumente utilizados para estudos de toxicidade a nível celular *in vitro*, no qual células saudáveis são expostas a substâncias potencialmente tóxicas (GRACIOLI et al. 2013). Este ensaio é importante pois, além de avaliar a resposta das células em diferentes tratamentos, como drogas, agentes químicos, entre outros, permite estudar a proliferação celular ao longo do tempo, ou seja, os fibroblastos possuem um papel importante na produção de matriz extracelular, incluindo colágeno, que é essencial para a formação de uma cicatriz (SOBRINHO, 2012). A avaliação da viabilidade celular dos géis foi realizada em células do fibroblasto. A Figura 15 mostra os resultados encontrados.

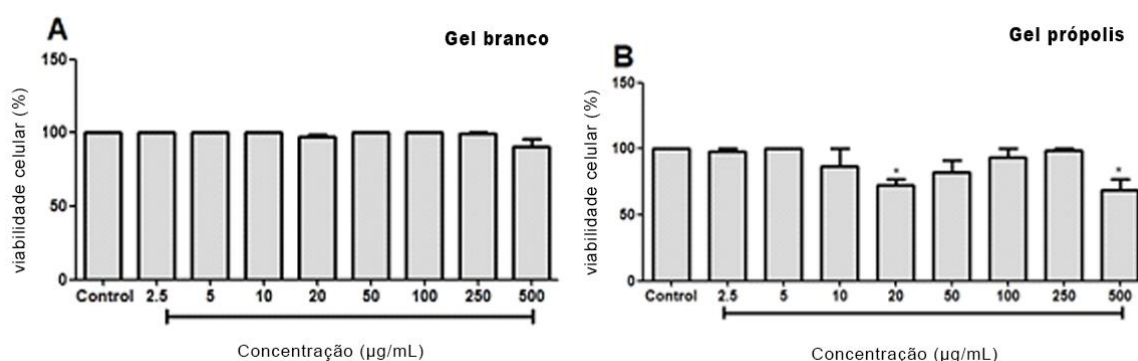


Figura 15: Viabilidade de fibroblastos VERO após 24 h de tratamento. A: gel branco. B: gel contendo o extrato de própolis. CTL: controle sem tratamento. Os resultados foram obtidos usando teste ANOVA seguido do teste de Tukey, * $p < 0.0003$.

O teste de viabilidade celular das células da linhagem vero tratadas com o gel branco pelo período de 24h demonstrou que não houve diferença significativa entre o grupo controle e os grupos tratados com as diferentes concentrações, o que indica que a formulação não causou morte celular em fibroblastos ($CC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$) após período de 24h. O gel própolis também não apresentou diferença estatística significativa entre o grupo controle e os grupos tratados nas diferentes concentrações do gel. No entanto, apenas as concentrações (20 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$), mostraram redução da viabilidade celular, porém não reduziu 50% as células viáveis. Estudos como os de Nisa (2022) e Asadi (2023) também incorporaram a própolis em formulações semissólidas do tipo gel e realizaram o ensaio de citotoxicidade pela técnica do MTT, no qual tiveram resultados positivos indicando segurança para as ambas as formulações não induzindo morte celular ($CC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$).

5.12. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana *in vitro* do gel branco e gel contendo extrato de própolis foi avaliada em diferentes concentrações (entre 3,135 mg/mL e 200 mg/mL) contra cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. Após 24 h de tratamento, observou-se que ambos os géis inibiram o crescimento bacteriano em determinadas concentrações. O gel branco inibiu em mais de 90% o crescimento bacteriano das cepas de *P. aeruginosa* (100 mg/mL) e *S. aureus* (25 a 200 mg/mL) (Figura 16).

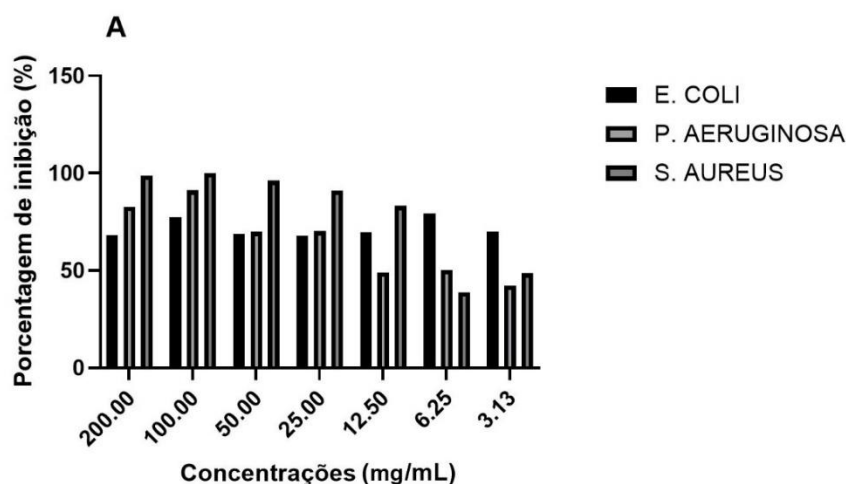


Figura 16 (A) Porcentagem de inibição na avaliação da atividade antibacteriana contra cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* após 24 h de tratamento.

Vale que ressalta que as duas maiores concentrações do gel branco inibiram em 100% o crescimento bacteriano das cepas *S. aureus*. No entanto, em relação a *E. coli* nenhuma das concentrações foi capaz de inibir o crescimento em 90%.

Em relação ao gel contendo o extrato de própolis determinadas concentrações demonstraram potencial para a inibição de crescimento bacteriano maior que 80% contra cepas *S. aureus* (50 e 100 mg/mL) e *P. aeruginosa* (100 mg/mL). Em *E. coli* nenhum das concentrações foi capaz de inibir o crescimento bacteriano em 80% (Figura 17).

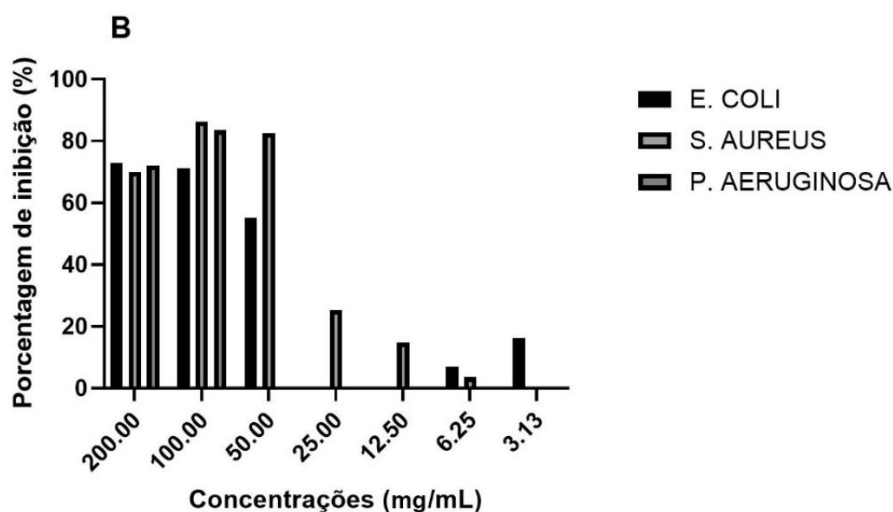


Figura 17: (B) Porcentagem de inibição na avaliação da atividade antibacteriana contra cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* após 24 h de tratamento.

A própolis possui propriedades antibacterianas amplamente reconhecidas, atribuídas a sua composição (flavonoides, terpenos, óleos essenciais, etc.). Estes componentes têm demonstrado eficácia contra uma variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, associado a ações como danos nas membranas celulares, inibição enzimática e efeitos sobre a formação de biofilmes (GOMES et al. 2016). Bactérias patogênicas, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, podem invadir a ferida, dificultando o processo de cicatrização por meio da possibilidade de formação de biofilmes bacterianos, tornando-as mais resistentes a antimicrobianos e dificultando o tratamento (MEDEIROS & DANTAS, 2016). O controle da carga bacteriana é essencial para uma cicatrização eficiente e segura, uma vez que auxiliam no controle da inflamação, prevenção de infecções e a promoção de um ambiente propício para cicatrização

auxiliando na proliferação celular, como fibroblastos e queratinócitos (MENDONÇA & COUTINHO, 2009).

O gel contendo própolis apresentou uma porcentagem de inibição menor em comparação ao gel branco, este fato curioso pode estar associado a composição química da formulação. Embora a formulação para esse ensaio tenha sido retirados os parabenos (metilparabeno e propilparabeno), os componentes como o propileno glicol, EDTA, trietanolamina afetaram o crescimento bacteriano impedindo a sua proliferação (LEAL & CARVALHO 2014).

O propileno possui propriedades bacteriostáticas e, em concentrações acima de 20% pode ser bactericida devido a sua ação de desidratar os microrganismos ao reduzir a atividade de água sobre o meio criando um ambiente hostil para proliferação e consequentemente interferindo na integridade das membranas celulares bacterianas (FERREIRA et al. 2006). O EDTA atua como um quelante, ligando-se a íons metálicos (cálcio e magnésio) essenciais ao metabolismo bacteriano, enfraquecendo as membranas bacterianas e prejudicando processos como a formação de biofilme (GELINSKI et al 2010). O carbopol®940 também pode apresentar um efeito bacteriostático na medida em que quando hidratado, forma uma rede tridimensional de gel que retém água, reduzindo a água livre disponível para o crescimento bacteriano (COSTA et al. 2017).

Gonçalves et al. (2023) realizaram o estudo de novas formulações à base de hidrogel de nano celulose bacteriana contendo própolis e azul de metileno, indicando que a formulação possui potencial para tratamentos ou prevenções de ferimentos e infecções. Ferreira et al. (2024) demonstraram que sua formulação desenvolvida de hidrogel contendo própolis possui atividade antibacteriana contra as cepas *S. aureus* (Gram-positiva) e *P. aeruginosas* (Gram-negativa).

Diante disso pode-se inferir que o gel contendo própolis possui potencial para atividade antibacteriana, porém a formulação necessita de um ajuste na concentração do extrato de própolis para atingir a atividade antibacteriana ideal.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, a possibilidade de incorporar o extrato de própolis em uma formulação semissólida tipo gel para aplicação tópica é

viável, uma vez que esta apresentou-se confiável pelo controle de qualidade realizado, a partir de testes como o de estabilidade feito após o desenvolvimento da formulação, por exemplo. A formulação apresentou consistência e pH adequado para aplicação tópica, as propriedades reológicas demonstraram resultados satisfatórios na medida em que apresentaram comportamentos não newtonianos e pseudoplástico que confere uma boa característica para formulações semissólidas.

A atividade antioxidante dos géis foi realizada pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP, além de teores de polifenóis totais e flavonoides, onde também demonstraram resultados positivos em comparação a outros estudos, no que se refere a manutenção de propriedades antioxidante da própolis dentro da formulação obtida.

O ensaio de citotoxicidade mostrou-se seguro até a concentração de 250 µg/mL, ambos os géis, branco e contendo própolis, no período de 24 h demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos tratados com as diferentes concentrações, o que indica que as substâncias testadas não induzem a morte celular em fibroblastos tratados com o gel branco e gel contendo própolis.

O ensaio antibacteriano indicou precisar de um ajuste na concentração de própolis na formulação pois, não atingiu a expectativa de inibição máxima do crescimento bacteriano para o gel, porém indicou uma boa incorporação do extrato e sinergia com a formulação. Estes indicativos sugerem que o presente trabalho ao reajustar a concentração de própolis na formulação e atingir um valor de porcentagem de inibição superior a 90% está apto para o avanço dos estudos para testes *in vivo*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. R. A história das técnicas médicas a partir de ilustrações em papiros do Egito antigo. **Khronos**, n. 10, p. 79-88, 2020.

ALVES J.C., FERNANDES, K.F., CRIZEL-CARDOZO, M.M., KRUMREICH F.D., BORGES C.D., ZAMBIAZI R.C. Microencapsulação de própolis em matriz proteica utilizando spray drying para aplicação em sistemas alimentícios. **BIOPROCESSOS ALIMENTARES TECHNOL** 11, 1422–1436. 2018.

ALVES, F. F., BRANDÃO, M. P., DORNELAS, A. B., AZEVEDO, L. V., SILVA, T., BORGES, A. L. T. F., NASCIMENTO, T. G. Desenvolvimento de biomembranas poliméricas enriquecidas com extrato de própolis vermelha de alagoas. **71ª Reunião Anual da SBPC – UFMS - Campo Grande – MS**. V. 4.03.99. 2019.

ALVES, T.V.G.; OLIVEIRA, E.J.M.; AOUADA, FA; OLIVEIRA, C.A.B.; OLIVEIRA, M.E.C.; DUARTE JÚNIOR, A.P.; FERREIRA DA COSTA, C.E.; SILVA JÚNIOR, J.O.C.; RIBEIRO COSTA, R.M. Caracterização de análises térmicas de hidrogéis de PAAm-Co-MC. **J. therm. anal.** calorim. 106, 717–724. 2011

ASADI, N., SADEGHZADEH, H., RAHMANI DEL BAKHSHAYESH, A., NEZAMI ASL, A., DADASHPOUR, M., KARIMI HAJISHOREH, N. Preparação e caracterização de membrana de casca de ovo reforçada com própolis/ hidrogel compósito GelMA para aplicações biomédicas. **BMC Biotechnology**, vol. 23, no. 1, 2023, p. 21.

BARUD H.S, JÚNIOR A.M.A, SASKA S, MESTIERI L.B, CAMPOS J.A.D.B, FREITAS R.M, FERREIRA N.U, NASCIMENTO A.P, MIGUEL F.G, VAZ M.M.O.L.L, BARIZON E.A, OLIVEIRA F.M, GASPAR A.M.M, RIBEIRO S.J.L, BERRETTA A.A. Antimicrobial Brazilian Propolis (EPP-AF) Containing Biocellulose Membranes as Promising Biomaterial for Skin Wound Healing, **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013, 703024, 10 pages, 2013.

BONOTTO, N. C. DE A., MASTELLA, M. H., DA CRUZ, I. B. M., PELLEENZ, N. L. C., RIBEIRO, E. E., AZZOLIN, V. F., & BARBISAN, F. EFEITO IN VITRO DO BARBATIMÃO EM MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO DE

FIBROBLASTOS HUMANOS SENSÍVEIS. RBCEH : **revista brasileira de ciências do envelhecimento humano**, 2020-12, Vol.17. 2020.

BORGHETTI, G. S., KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira De Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 532-537, 2006.

BRASIL. **Agência nacional de vigilância sanitária**. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, Brasília. 2004.

BRASIL. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária** (ANVISA). V. 1, 2004.

BRASIL. Manual de Padronização de Curativos. **Secretaria Municipal da Saúde de SP**. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 jan. 2001. Anexo VI - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2001.

BRASIL. NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES Nº 03/2017 - Práticas seguras para prevenção de Lesão por Pressão em serviços de saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2017.

BRASIL. Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. **Ministério da Agricultura**. Brasília, 2001.

BRITO L.M, AGUIAR V.O, SILVA P.S.R.C, AMANTES B.P, RODRIGUES E.J.R, MERAT P.P, TAVARES M.I.B . Produção de álcool em gel 70% com diferentes precursores poliméricos. **Brazilian Journal of Development**; Volume: 6. 2020.

CHALAL, S. , HADDADINE, N. , BOUSLAH, N. , SOUILAH, S. , BENABOURA, A. , BARILLE, R. E HAROUN, A. Caracterização da preparação e comportamento térmico

do carbopol-TiO₂ Nanocompósitos. **Jornal Aberto de Materiais Orgânicos Poliméricos**, 4, 55-64.(2014) DOI: [10.4236/ojopm.2014.43008](https://doi.org/10.4236/ojopm.2014.43008).

CHELU M, POPA M, OZON EA, PANDELE C. J, ANASTASESCU M, SURDU VA, CALDERON M. J, MUSUC A.M. Hidrogéis à base de Aloe vera de alto conteúdo: Propriedades físico-químicas e farmacêuticas. **Polímeros**. 2023;

CLIVATTI, G. M., CAVICHIOLO, F. A., TELES, F. B., & NASR, A. FERIDAS SUPERFICIAIS: FATORES TÉCNICOS ASSOCIADOS A COMPLICAÇÕES LOCAIS. **Revista Médica Da UFPR**, 2(1), 8–16, 2015.

CLSI. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico; **Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais: Wayne**, PA, EUA,; Volume 32. 2012.

COLARES, C. M. P., DA COSTA LUCIANO, C., NEVES, H. C. C., TIPPLE, A. F. V., & JÚNIOR, H. G. Cicatrização e tratamento de feridas: a interface do conhecimento à prática do enfermeiro. **Enfermagem em Foco**, v. 10, n. 3, 2019.

CORRÊA, N. M., CAMARGO JÚNIOR, F. B., IGNÁCIO, R. F., & LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, p. 73-78, 2005.

CORRÊA, N. M., CAMARGO JÚNIOR, F. B., IGNÁCIO, R. F., & LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira De Ciências Farmacêuticas**, 41(1), 73–78, 2005.

CRUZ F.B., MARTINS D.H.N, FERREIRA J.F., MAGALHÃES P.O., SILVEIRA D., BAZZO Y.M.F. Fatores de heterogeneidade do potencial antioxidante da própolis da abelha *Apis mellifera*: uma revisão. **Revista Infarma Ciências Farmacêuticas**.V.34 .E1. P 58-85. 2022.

CRUZ, F. B., DE FREITAS FERREIRA, J., SILVEIRA, D., & FONSECA-BAZZO, Y. M. Avaliação da atividade anti-inflamatória de própolis de abelha *Apis mellifera*: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e250101421817-e250101421817, 2021.

EXTRATO DE PRÓPOLIS SPRAY AQUOSO NAPILLUS. **Napillus Brasil**, Minas gerais, 2023. Disponível em: www.napillus.com.br/extrato-de-propolis-spray-aquoso. Acesso em: 20 nov. 2024.

FARIA, T. F., FARIA, R. F., KAMADA, I., & DE SÁ BARRETO, L. C. L. Uso tópico da própolis verde para a cicatrização de feridas: revisão sistemática da literatura. **Estima–Brazilian Journal Of Enterostomal Therapy**, V. 20, 2022.

FARIA, T. F.; FARAJ FARIA, R.; KAMADA, I.; LIRA DE SÁ BARRETO, L. C. Topical use of green propolis for wound healing: a systematic review of the literature. **Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, V. 20, 2022.

FARIA, T. F.; FARAJ, F. R.; KAMADA, I.; BARRETO, L. S. L. C. TOPICAL USE OF GREEN PROPOLIS FOR WOUND HEALING: A SYSTEMATIC REVIEW OF THE LITERATURE. **Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, v. 20, 2022.

FAVERO, Y., SILVA, L. T. S., ALMEIDA, D. S., PEREIRA, O., & SOUSA, M. J. Desenvolvimento e estabilidade de um anti-gel de envelhecimento com extrato hidroalcoólico de *Salvia* SP. **Millenium**, 2(13), 39-47. (2020).

FERREIRA, J. & NEGRI, G. Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha. **ACTA Apicola Brasilica**. v. 06, n.1 p.06 - 15, 2018.

FERREIRA, J. M.; NEGRI, G. Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha. **ACTA ApicolaBrasilica**. V. 06, N.1 P.06-15. 2018.

FERREIRA, L. M. D. M. C., MODESTO, Y. Y., SOUZA, P. D. Q. D., NASCIMENTO, F. C. D. A., PEREIRA, R. R., CONVERTI, A., LYNCH, D. G., BRASIL, D. D. S. B., DA SILVA, E. O., SILVA-JÚNIOR, J. O. C., & RIBEIRO-COSTA, R. M. Characterization, Biocompatibility and Antioxidant Activity of Hydrogels Containing Propolis Extract as an Alternative Treatment in Wound Healing. **Pharmaceuticals**. 2024; 17(5):575.

FILHO J.S, HWANG E.J, KWON L.S, AHN Y.G, MOON B.K, KIM J, KIM D.H, KIM S.G, LEE S.Y. Atividade Antibacteriana de Nanocompósitos de Óxido de Zinco Embebidos em Própolis para Aplicação em Implantes. **Materiais**, v. 14, n. 5, p. 1193, 2021.

FISCHER G.; HÜBNER S.O.; VARGAS G.D.; VIDOR T. Imunomodulação pela própolis [artigo de revisão]. **Arquivo Instituto de Biologia de São Paulo**. V.75, N.2, P.247-253. 2008.

FOTAKIS, G.; TIMBRELL, J.A. Ensaios de citotoxicidade in vitro: Comparação de LDH, vermelho neutro, MTT e ensaio de proteína em linhagens celulares de hepatoma após exposição ao cloreto de cádmio. **Toxicol. Lett**. 2006.

FREITAS, L.; VIANA, H. C. . Influence of Diabetes mellitus type II on Osseointegration . **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. e236101018866, 2021.

GEL DE PRÓPOLIS 50G. **PharmaNectar Brasil**, Belo Horizonte, 2023. Disponível em: www.pharmanectarloja.com.br/gel-de-propolis-50g.

GEL DENTAL DE PRÓPOLIS VERDE 80G. **ApisBrasil Brasil**, São Paulo, 2023. Disponível em: www.loja.apisbrasil.com.br.

GONÇALVES, I.S.; LIMA, L.R.; BERRETTA, A.A.; AMORIM, N.A.; PRATAVIEIRA, S.; CORRÊA, T.Q.; NOGUEIRA, F.A.R.; BARUD, H.S.

Antimicrobial formulation of a bacterial nanocellulose/propolis-containing photosensitizer for biomedical applications. **Polymers** **2023**, 15, 987

GÓRECKA K.A, RAMOS P, KŁÓSEK M, BOBELA E, CZUBA ZP, BALWIERZ R, OLCZYK P. Propolis as a Cariostatic Agent in Lozenges and Impact of Storage Conditions on the Stability of Propolis. **Pharmaceutics**. 2023; 15(6):1768.

GRACIOLI, E. C., WINTER, P., ZIULKOSKI, A. L., SPILKI, F., DULLIUS, J., EINLOFT, S., PERINI, S., BODANESE, L. C., JAHNO, V. D., & LIGABUE, R. A. Dispositivos poliméricos cardiovasculares: comportamento termomecânico e viabilidade celular. **Matéria (rio De Janeiro)**, 18(2), 1313–1322. (2013).

GUIZZO, P. L. Controle de Qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 2, 2015.

HOFFMANN L. H., PAIVA M. J. M. O uso da própolis como agente cicatrizante e hepatoprotetor. **Revista Pubsáude**. N.6; A 189. 2021.

IKEDA, S., & FINZER, J. Secagem da maltodextrina e seus impactos na densidade aparente do produto. **IV Encontro de Desenvolvimento de Processos Agroindustriais (EDEPA). Universidade de Uberaba, Departamento de Engenharia Química**. 2020.

ISAAC VLB, CEFALI LC, CHIARI, BG, OLIVEIRA CCLG, SALGADO HRN, CORRÊA MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. ciênc. farm. básicaapl**. 2008; 29(1): 81-96.

ISAAC, C., DE LADEIRA, P. R. S., DO RÊGO, F. M. P., ALDUNATE, J. C. B., & FERREIRA, M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3-4, p. 125-131, 2010.

ISAAC, C., LADEIRA, P. R. S. DE, RÊGO, F. M. P. DO, ALDUNATE, J. C. B., & FERREIRA, M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista De Medicina**, 89(3-4), 125-131, 2010.

JAIN, H. K.; SWAMI, P. N.; GUJAR, K. N. FORMULATION AND EVALUATION OF AN ANTIMICROBIAL MUCOADHESIVE DENTAL GEL OF AZADIRACHTA INDICA AND GLYCYRRHIZA GLABRA. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 176–184, 2019.

JANA, S., MANNA, S., NAYAK, A. K., SEN, K. K., & BASU, S. K. Carbopol gel containing chitosan-egg albumin nanoparticles for transdermal aceclofenac delivery. **Colloids and Surfaces, B, Biointerfaces**, 114, 36–44.

JAVIDNIA, K.; PARISH, H.; KARIMI, S.; HEMMATEENEJAD, B. Discrimination of edible oil and fats by combination of multivariate pattern recognition and FTIR spectroscopy: A comparative study between different modeling methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v.104, p.175– 181, 2013.

KANDASWAMY, D., N. VENKATESHBABU, D. GOGULNATH E A. J. KINDO. Desinfecção dos Túbulos Dentinários com Gel de Clorexidina 2%, Própolis, Suco de Morinda Citrifolia, Iodopovidona 2% e Hidróxido de Cálcio. **Revista internacional de endodontia** 43, nº 5. 419–23. 2010

KANIS L.A. VIEL F.C. CRESPO J.S. BERTOLINO J.R. PIRES A.T.N, SOLDI V. Study of poly(ethylene oxide)/Carbopol blends through thermal analysis and infrared spectroscopy. **Polymer**, Volume 41, Issue 9, Pages 3303-3309, 2000.

KAPARE H. S, GIRAM P. S, RAUT S. S, GAIKWAD H. K, PAIVA S. A. C. Desenvolvimento de Formulação e Avaliação de Hidrogel de Própolis Indiana para Cicatrização de Feridas. **Géis**, v. 9, n. 5, p. 375, 2023.

KIM J, LEE C. M. Hidrogel transdérmico composto de ácido poliacrílico contendo própolis para cicatrização de feridas em modelo de rato. **Macromol.** 26, 1219-1224 (2018).

KRONGRAWA W. PONG N., NUSHJIRA M., PARANEE L., CHUTIMA W. "Formulation and Evaluation of Gels Containing Coconut Kernel Extract for Topical Application." **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 13, no. 5, 2018, pp. 415–424.

KUMARI B, KHANSILI A. PHAUGAT P. KUMAR. Comprehensive review of the role of acrylic acid derivative polymers in floating drug delivery system. **Polymers in Medicine**. vol. 49, n 2, p. 71–79. 2019.

LAFAYETTE NEVES GELINSKI, J. M.; DALLA ROSA, J. C.; DE FÁTIMA APARECIDA PARAVISI, E.; BARATTO, C. M. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. **Evidência**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 131–144, 2010.

LIMA F. G. S.; MELO JÚNIOR J. M. A.; COSTA F. N.; CAMPOS A. R. Desenvolvimento e eficácia anti-inflamatória não clínica de uma formulação anti-acne. **Scientia Plena** VOL. 13, NUM. 02. 2017.

LIMA, D. R. F., SOUSA, L. B., MARCIANO, P. M. S. C., JOFRE, J. B. F., & SIMIONI, A. R. Avaliação das propriedades e potencialidades da própolis verde e sua fonte botânica *Baccharis dracunculifolia*. **Revista Tecnologia e Tendências**, v. 10, n. 2, p. 93-110, 2019.

LOPES, W.A., FASCIO, M. Esquema para Interpretação de Espectros de Substâncias Orgânicas na Região do Infravermelho. **Química Nova**, Vol. 27, No. 4, 670-673, 2004.

LOPES, W.A., FASCIO, M. Esquema para Interpretação de Espectros de Substâncias Orgânicas na Região do Infravermelho. **Química Nova**, Vol. 27, No. 4, 670-673, 2004.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V. 18, N. 3, P. 447-454, 2008.

MAIA, A. L., LINS, E. M., AGUIAR, J. L. A., PINTO, F. C. M., ROCHA, F. A., BATISTA, L. L., & FERNANDES, W. R. D. M. A. Curativo com filme e gel de biopolímero de celulose bacteriana no tratamento de feridas isquêmicas após revascularização de membros inferiores. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, v. 46, 2019.

MARCA-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Uso de um método de radicais livres para avaliar a atividade antioxidante. **LWT-Food Sci. Technol.** 1995, 28, 25–30.

MARCUCCI, M. C., SALATINO, A., OLIVEIRA, L. F. A. M., GONÇALVES, C. P. Metodologias acessíveis para a quantificação de flavonoides e fenóis totais em própolis. **Revista Virtual de Química**. V. 13. N. 1. 2021.

MEDEIROS A. C., & DANTAS A. M Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of surgical and clinical research**, v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016.

MEIRELES, V. C., & BALDISSERA, V. D. A. Qualidade da atenção aos idosos: risco de lesão por pressão como condição marcadora. **Revista Rene**, v. 20, 2019.

MELO C.A.S; DOMINGUES R.J.S; LIMA A.B. Elaboração de géis e estabilidade de medicamentos. **Livro editora UEPA**. 2018.

MELONI, M., BALZARETTI, S., COLLARD, N., DESAINT, S. E LAPERDRIX, C. . Reproduzindo a comunidade da microbiota do couro cabeludo: co-colonização de uma epiderme humana reconstruída em 3D com *C. acnes* e *M. restricta*. **Int J Cosmet Sci**, 43: 235-245, 2021.

MENDONÇA, R. J. DE .; COUTINHO-NETTO, J.. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257–262, jul. 2009.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico [online]**. V. 72, N. 3 P. 405-411. 2005.

MORAES, J. T., BORGES E.L., LISBOA C.R., CORDEIRO D. C. O., ROSA E. G., ROCHA N. A. Conceito e classificação de lesão por pressão: atualização do nationalpressureulceradvisorypanel. **Revista de enfermagem do centrooestemineiro**. V. 6, I. 2, 2016.

MOSSMANN, T., "Rapidcolorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays", **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, pp. 55 - 63, dez. 1983.

NEOSALDINA. **Takeda Brasil**, São Paulo, 2023. Disponível em: <https://www.takedabrasil.com.br>. Acesso em: 15 nov. 2024

NISA A., MONA S., AND YUSRIL Y. Fabrication and Characterization of HA-Oyster Shell Basedon Biopolymer - Propolis as an Agent of Dental Enamel Remineralization Materialti. **Materials research express**, 2022 - 11, Vol.9 (11), p.115401

OLIVEIRA, I.F.; TENSÃO, J.J. A capacidade redutora férrica do plasma (FRAP) como medida do "poder antioxidante": O ensaio FRAP. **Anal. Bioquímica**. 1996, 239, 70–76.

OLIVEIRA, K. A. DE M., OLIVEIRA, G. V. DE, BATALINI, C., ROSALEM, J. A., & RIBEIRO, L. S. Atividade Antimicrobiana e Quantificação de Flavonoides e Fenóis Totais Em Diferentes Extratos de Própolis. **Semina. Ciências biológicas e da saúde** **33**, no. 2 (2013).

OLIVEIRA, K. A. de M.; OLIVEIRA, G. V. de; BATALINI, C.; ROSALEM, J. A.; RIBEIRO, L. S. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 211–222, 2013.

OLIVEIRA, L.M.D.M.C.; MODESTO, Y.Y.; SOUZA, P.D.Q.D.; CARVALHO, F.C.D.A.; OLIVEIRA, R.R.; OLIVEIRA, A.; LYNCH, D.G.; BRASIL, D.D.S.B.; DA SILVA, E.O.; SILVA-JÚNIOR, J.O.C.; COSTA. R.M.R. Caracterização, Biocompatibilidade e Atividade Antioxidante de Hidrogéis Contendo Extrato de

própolis como tratamento alternativo na cicatrização de feridas. **Produtos farmacêuticos**. 2024.

OLIVEIRA, M.C.T.; OLIVEIRA, G.M.; OLIVEIRA, A.; REHDER, V.L.G.; Delarmelina, C. Atividade anti-candida de plantas medicinais brasileiras. **J. Etnofarmacol**. 2005.

OLIVEIRA, M.M.; OLIVEIRA, J.N.G.D.S.; NASCIMENTO, A.M.D.; PEREIRA, L.A.; SOUZA, L.R.D.; PEREIRA, M.M.D.A.; SANTOS, V.R.; OLIVEIRA, J.B.; ALMEIDA, T.C.S.D.; RODRIGUES, C.F. Investigação Anti-Inflamatória, Antimicrobiana, Antioxidante e Fotoprotetora do Extrato de Própolis Vermelha como Formulação de Protetor Solar em Polawax Cream. **International Journal of Molecular Sciences** 24, no. 6: 5112. 2023.

OLIVEIRA, R. N., MANCINI, M. C., OLIVEIRA, F. C. S. D., PASSOS, T. M., QUILTY, B., THIRÉ, R. M. D. S. M., & MCGUINNESS, G. B. Análise por FTIR e quantificação de fenóis e flavonóides de cinco produtos naturais disponíveis comercialmente utilizados no tratamento de feridas. **Matéria (Rio de Janeiro)**, V. 21(3), P. 767-779. 2016.

OLIVEIRA, R. N., MANCINI, M. C., OLIVEIRA, F. C. S. D., PASSOS, T. M., QUILTY, B., THIRÉ, R. M. D. S. M., & MCGUINNESS, G. B. Análise por FTIR e quantificação de fenóis e flavonóides de cinco produtos naturais disponíveis comercialmente utilizados no tratamento de feridas. **Matéria (Rio de Janeiro)**, V. 21(3), P. 767-779. 2016.

OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, E.; ADIGÜZEL, M. C. Hidrogéis e organogéis à base de nanoemulsão contendo própolis e dexpanthenol: preparação, caracterização e avaliação comparativa da estabilidade, propriedades antimicrobianas e citotóxicas. **Géis**, v. 8, n. 9, p. 578, 2022.

ORTEGA O. G. & DOBLES V.E. GELES HIDRATANTES A BASE DE CARBOMER O DE SILICONAS: Un Estudio comparativo propiedades farmacotécnicas. **Ciencia& Salud** (San José, Costa Rica) V.2, no. 5. 2018.

PEREIRA C.S., MATTE W.D., VENÂNCIO P.H.B. Aplicação de extrato de própolis na agricultura. **Revista Ciência Agroambiental**. V. 14. N.1. P. 143-146. 2016.

PEREIRA, A.; OLIVEIRA, E.A.; RIBEIRO, A.; OLIVEIRA, V.R.; OLIVEIRA, J.; MAOMÉ, Y. Metamorfose de Produtos Semissólidos Tópicos – Entendendo o Papel das Propriedades Reológicas na Permeação de Drogas sob a Condição "em Uso". **Farmacêutica**. 2023; 15(6):1707.

PEREIRA, D. S.; FREITAS, C. I. A.; FREITAS, M. O.; MARACAJPA, P.; SILVA, J. B. A.; SILVA, R. A.; SILVEIRA, D. C. Histórico e principais usos da própolis apícola. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**. V. 11, N. 2, P. 01-21. 2015.

PEREIRA, T. A. C. .; REIS, M. S. .; REIS, L. C. de M. .; CARNEIRO, S. C. P. .; SILVA, F. L. da . Effect of propolis extract on the skin healing process: a literature review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. e44911528284, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i5.28284.

PESSOA, A. F. M., AMARAL, B. K. D., BLANCK, M. D. C. B. B., SILVA, S. S. DE, PEDROSA, A. A., MARTINS, C. S., & OTOCH, J. P. Vitamina E e Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLSs): Parceiras Na Cicatrização Da Ferida Diabética." **Revista Enfermagem Atual in Derme** V.95, no. 33. 2021.

PINTO L.M.A; PRADO N.R.T; CARVALHO R.B. PROPRIEDADES, USOS E APLICAÇÕES DA PRÓPOLIS. **Revista eletrônica de farmácia**. Vol. VIII (3), 76 - 100, 2011.

PINTO, E. G., CAVALCANTE, F. S. A., LIMA, R. A. A fitoterapia no tratamento de pele: um estudo bibliográfico. **Revista biodiversidade**. V.19, N.3, P. 188-197. 2020.

PRIETO, P.; PINHEIRO, M.; AGUILAR, M. QUANTIFICAÇÃO espectrofotométrica da capacidade antioxidante através da formação de um

complexo fosfomolibdênio: aplicação específica para a determinação de vitamina E 1. *Bioquímica Analítica. Anal. Bioquímica.* **1999**, 269, 337–341.

QUSHAWY M, MORTAGI Y, ALSHAMAN R, MOKHTAR HI, HISHAM FA, ALATTAR A, LIANG D, ENAN ET, ELTRAWY AH, ALAMRANI ZH, ALSHMRANI SA, ZAITONE SA. Formulação e Caracterização de Nanoemulsões O/A de Óleo de Semente de Cânhamo para Proteção contra Esteato-hepatite: Análise de Ácidos Graxos Livres Hepáticos e Marcadores de Oxidação. **Produtos farmacêuticos (Basileia)**, 2022.

RAHAL, S., BRACARENSE, A., TANAKA, C., GRILLO, T., & LEITE, C. Utilização de própolis ou mel no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. **Archives of Veterinary Science.** 2003.

RAMALHO AO; ROSA TS; SANTOS VLGC; NOGUEIRA PC. Acute skin failure e lesão por pressão no paciente com Covid-19: um relato de caso. **Revista ESTIMA, Braz. J. Enterostomal Ther.** V. 19. 2021.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENETE, A.; OLIVEIRA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS. Ensaio de C. Trolox. Atividade antioxidante aplicando um ensaio de descoloração de cátions radicais ABTS aprimorado. Livre. **Radic. Biol. Med.** 1999, 26, 1231–1237.

RIBEIRO, R.; RIBEIRO, J.; OLIVEIRA, A.C.; OLIVEIRA, C.F.; OLIVEIRA, J.D.S.S.; OLIVEIRA, A.; BRUSCHI, M.L.; Emulgéis contendo própolis e curcumina: efeito do tipo de óleo vegetal, poli(ácido acrílico) e agente bioativo na estabilidade físico-química, propriedades mecânicas e reológicas. **Géis** 2021, 7, 120.

ROSÁRIO, M. S., GAUTO, M. I. R., SILVA, A. C. L. N., SALES, J. S., SANTOS, P. F., SANTOS, E. P., COSTA, M. C. P. Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (Orbignyaphalerata Martius). **Brazilian Journal of Development.** V. 7, N. 3, P. 29552-29570. 2021.

ROSÁRIO, M. S., GAUTO, M. I. R., SILVA, A. C. L. N., SALES, J. S., SANTOS, P. F., SANTOS, E. P., COSTA, M. C. P. Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata* Martius). **Brazilian Journal of Development**. V. 7, N. 3, P. 29552-29570. 2021.

ROUHANI, M. A detailed computational investigation on the structural and spectroscopic properties of propolis benzofuran B. **Heliyon**, v. 5, n. 10, 2019.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. V. 2, N. 1, P. 33-38, 2005.

SANTOS SOUSA, J. D. P., FEITOSA, R. S., LIRA, B. S. D. M. M., DE MEDEIROS, M. D. G. F., & CARVALHO, A. L. M. Óleos vegetais como promotores de permeação cutânea em formulações tópicas e transdérmicas de anti-inflamatórios: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e541101220308-e541101220308, 2021.

SANTOS, F. D. R. P., SANTOS, M. G. B., LUCENA, V. B., VIANA, M. B., & DE CASTRO, A. D. A. P. Uso do óleo de coco babaçu (*Attalea speciosa*) como emoliente em formulação fitocosmética com ação hidratante. **Revista Cereus**, V. 12, N. 4, P. 2-13, 2020.

SCHRAMM, G. Reologia e reometria – fundamentos teóricos e práticos. **São Paulo: Editora Artliber Ltda**, 2006.

SILVA C., PRASNIEWSKI, A., CALEGARI M.A., LIMA V. A., OLDONI T. L. C. Determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos etanólicos de própolis utilizando espectroscopia ATR-FT-IR e quimiometria. **Métodos Analíticos** 11, 2013–2021 (2018).

SILVA D.R.A., BEZERRA S.M.G., COSTA J.P., LUZ M.H.B.A., LOPES V.C.A., NOGUEIRA L.T. Pressure ulcer dressings in critical patients: a cost analysis. **Revista Escola de Enfermagem da USP**. V. 51. 2017.

SILVA, M. M. P., AGUIAR, M. I. F. D. Utilização de nanopartículas no tratamento de feridas: revisão sistemática. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**. V.51 N.03272. 2017

SILVA, P. N., DE ALMEIDA, O. A. E., & ROCHA, I. C. Terapia tópica no tratamento de feridas crônicas. **Enfermería Global**, v. 13, n. 1, p. 33-58, 2014.

SINGH B, SHARMA S. DHIMAN A. Acacia gum polysaccharide based hydrogel wound dressings: Synthesis, characterization, drug delivery and biomedical Properties. **Carbohydrate Polymers**, Volume 165, Pages 294-303, 2017.

SINGH, B., & DHIMAN, A. Design of Acacia Gum–Carbopol–Cross-Linked–Polyvinyl imidazole Hydrogel Wound Dressings for Antibiotic/Anesthetic Drug Delivery. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 55(34), 9176–9188. 2016

SOUSA LIMA, F. G.; ALBUQUERQUE DE MELO JÚNIOR, J. de M.; NOGUEIRA DA COSTA, F.; ROLIM CAMPOS, A. Desenvolvimento e eficácia anti-inflamatória não-clínica de uma formulação anti-acne. **Scientia Plena, [S.l.]**, v. 13, n. 2, 2017.

SOUSA, C. M. D. M., SILVA, H. R., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L. S. D., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., & CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUZA E. A; INOUE H. T.; GOMES S. M. A.; FUNAR S. R. C. I; ORSI R. O. Physicochemical properties of propolis in function of seasonality and production method. **Archivos de Zootecnia**, ISSN: 1885-4494, Vol: 59, Issue: 228, Page: 571-576, 2010.

SOUZA M.A.B, KLAMT J.G, GARCIA L.V. Effects of Acute Normovolemic Hemodilution on Blood Coagulation: Comparison between Tests of an In Vivo and an In Vitro Model. **Brazilian Journal of Anesthesiology**. Volume 60, Issue 4, pages 363-375, 2010.

Souza Sobrinho C.P , Gragnani A, Santos IDAO, Oliveira AF, Lipay MVN, Ferreira L.M. AZT on telomerase activity and cell proliferation in HS 839.T melanoma cells. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 27, n. 12, p. 855–860, dez. 2012.

SOUZA C. C., PINTO G. I., KERPPERS I. I., PAULA D. Desenvolvimento e caracterização de Formulação Tópica de Extrato de Uvarana para Tratamento de Feridas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 4, p. 191-200, 2016.

SOUZA L. D. M., SANTOS G. D. S. D., RABELO A. S., & BATISTA C. M. Desenvolvimento de desodorante rollon de ácido kójico como alternativa para clareamento de axilas. **Interfaces Científicas Saúde e Ambiente**. V. 8, N. 3, P. 127-141, 2021. 2021.

TADROS, THARWAT F. **Reologia de Dispersões: Princípios e Aplicações. 1ª ed.**, Newark: John Wiley& Sons, Incorporated, 2010.

TASNEEM R., KHAN H.M.S., ZAKA H.S., KHAN P. Desenvolvimento e avaliação cosmeceútica de emulgel tópico contendo extrato da casca de Albizia lebbeck. **J Cosmet Dermatol**. 2022; 21: 1588-1595.

TEIXEIRA T.D, MACHADO B..AS, BARRETO G.D.A., DOS ANJOS J.P, LEAL I.L, NASCIMENTO R.Q, HODEL K.V.S, UMSZA-GUEZ M.A.. Extração de Compostos Antioxidantes da Própolis Verde Brasileira Usando Ultrassom Assistido Associado a Métodos de Extração de Baixa e Alta Pressão. **Moléculas** 28, nº 5: 2338. 2023.

VASCONCELOS J.D.M.B., & CALIRI M.H.L. Ações de enfermagem antes e após um protocolo de prevenção de lesões por pressão em terapia intensiva. **Escola Anna Nery**, V. 21, 2017.

VEBER J., L.A. PETRINI, L.B. ANDRADE, AND J. SIVIERO. Determinação Dos Compostos Fenólicos e Da Capacidade Antioxidante de Extratos Aquosos e Etanólicos de Jambolão (*Syzygiumcumini*L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, vol. 17, no. 2, , pp. 267. 2015.

VIDAL F. Potencial da produção de própolis no Nordeste. **Caderno setorial ETENE - Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste**. N. 186, A. 6, 2021.

WAKITA J.L., HERNANDES L. Benefícios da própolis na cicatrização da pele. **Arquivos do MUDI**. , V. 23, N 3, P. 371-386. 2019.

WAKITA J. & HERNANDES, L. BENEFÍCIOS DA PRÓPOLIS NA CICATRIZAÇÃO DA PELE. **Arquivos do Mudi**. 2019.

ZAYED H. S., SALEH S., OMAR A. E., SALEH A. K., SALAMA A., & TOLBA, E. Development of collagen–chitosan dressing gel functionalized with propolis–zinc oxide nanoarchitectonics to accelerate wound healing. **Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas** **261**, nº. Pt 2. 129665. 2024.

ZHENG Y., OUYANG W.Q., WEI Y.P., SYED S. F., HAO C.S., WANG B.Z., & SHANG Y.H. Efeitos da proporção de Carbopol ® 934 em gel de nanoemulsão para entrega de drogas tópicas e transdérmicas: um estudo de permeação cutânea. **Revista Internacional de Nanomedicina**, vol.11 , pp. 5971–5987. 2016.