

INFLUÊNCIA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NA ESTABILIDADE FÍSICA DE FORMULAÇÕES DE USO EXTERNO

LUIZA HELENA ARAÚJO DO CARMO¹
MARCIA DEL LANO ARCHONDO²
IDA CARAMICO-SOARES³

1. Curso de Farmácia da Universidade Católica de Santos, Unisantos, Av. Conselheiro Nébias, 300, Vila Nova, Santos, SP, 11015-002.
2. Curso de Farmácia da Universidade do Grande ABC, UniABC.
3. Laboratório de Farmacotécnica Industrial, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Autor Responsável: L.H.A. Carmo.
E-mail: lhac@unisantos.br

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, notou-se um retorno gradual ao interesse pelo uso de produtos naturais. As agressões e efeitos colaterais decorrentes do seu emprego são bem menores, se comparados àqueles dos produtos sintéticos. Atualmente, pesquisas com o objetivo de identificar, caracterizar e relacionar efeitos farmacológicos e tóxicos dos constituintes dos produtos de origem natural têm sido realizadas, uma vez que o profundo conhecimento da composição e variabilidades que esses podem apresentar, constituem passos fundamentais para o aproveitamento racional destes produtos.

Pesquisas com o intuito de investigar a melhor forma de veiculação dos produtos naturais são ainda insuficientes. O desenvolvimento de formulações farmacêuticas e cosméticas, adequadas ao efeito desejado no local e intensidade pretendida, constitui avanço na pesquisa sobre utilização de produtos naturais. O conhecimento de características como interação com excipientes, manutenção de estabilidade e capacidade de liberação de princípios ativos pode ampliar as potencialidades e eficácia de uso destes produtos no campo farmacêutico.

A própolis é um apíderivado que tem sido utilizado com diversas finalidades. Suas propriedades antiinflamatória, bactericida e cicatrizante são conhecidas e formulações de uso externo contendo própolis têm ampla aplicabilidade na terapêutica e cosmética (DONADIEU, 1980; MARCUCCI, 1995). É quimicamente composta por compostos fenólicos, principalmente flavonóides e ácidos fenólicos (WALKER, 1987).

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e avaliação de parâmetros de estabilidade física de formulações para uso externo contendo extrato de própolis.

MATERIAL E MÉTODOS

A caracterização da matéria-prima realizada com as amostras, em estado bruto, foi desenvolvida, através das análises físicas e químicas. Foi realizada a abordagem fitoquímica para identificação da presença de grupos químicos presentes nas amostras (COSTA, 1977).

A obtenção dos extratos glicólicos foi realizada com as amostras de própolis de diversas procedências, submetidas à técnica adaptada da Farmacopéia Brasileira (1977), por maceração em sete dias, seguida pela redução do volume em rotaevaporador e ressuspensão em propilenoglicol.

Esse extrato foi caracterizado quanto à aspectos como densidade, resíduo seco, teor alcoólico e pH. Nos extratos de própolis, realizou-se a identificação dos flavonóides das amostras através de cromatografia em camada delgada, seguindo-se a metodologia adotada por ARVOU-ET-GRAND & VENNAT et al., (1994). Para quantificação desses, adaptou-se o método espectrofotométrico adotado pela Farmacopéia Alemã (STHAL & SCHIL, 1981; NAGY, 1996). Utilizou-se como substância marcadora a quercetina e comprimento de onda de leitura de 415nm.

A preparação das emulsões foi realizada, segundo o método de inversão de fases em alta temperatura (PRISTA, 1981). As fases foram aquecidas separadamente; aqueceu-se 50% da fase aquosa e 100% da fase oleosa a temperatura de 80-85°C. A fase aquosa foi vertida sobre a oleosa com agitação com a ajuda do agitador tipo mix por 10 minutos até a temperatura atingir 30°C. Foi incorporada o restante da fase aquosa contendo o extrato glicólico. Manteve-se a agitação por mais 10 minutos para perfeita homogeneização. Estas formulações foram denominadas 1 e 2.

Para obtenção dos géis, aqueceu-se 50% da quantidade total de água da formulação até a temperatura de 70°C para melhor solubilização do carboxilpolimetileno (obtenção da formulação 3) e da hidroxietilcelulose (obtenção da formulação 4). Agitou-se com o agitador tipo mix, até a completa dissolução do pó, até atingir a temperatura de 30°C. Com agitação constante, incorporou-se o extrato glicólico, e o restante dos componentes das formulações. A composição das formulações pode ser visualizada na Tabela 1.

As formulações foram caracterizadas pelos estudos preliminares de estabilidade, realizando-se a análise macroscópica por avaliação visual 48h após a fabricação e após 1 mês de permanência em temperatura ambiente. Foram observados itens como cor, odor, aparência e homogeneidade. Foi realizado estudo de separação de fases, no qual centrifugou-se 5g das formulações durante 30 minutos à 3000 rpm (IDSON, 1988).

Prosseguiram-se os estudos com as formulações que se mostraram mais estáveis, variando-se as concentrações do extrato de própolis com a finalidade de verificar-se como esta afetaria a estabilidade das formulações.

Nos estudos definitivos de estabilidade, utilizaram-se embalagens plásticas de polietileno de parede fosca para as emulsões e géis com capacidade para 30g. As formulações foram armazenadas em 4 temperaturas diferentes: -4°C, 22°C, 35°C e 45°C (IDSON, 1993). O estudo de estabilidade foi conduzido por período de 90 dias, onde as alíquotas foram recolhidas em 5 tempos distintos: t_0 – 48h após a preparação da formulação; t_1 – 15 dias após preparação; t_2 – 30 dias após a preparação; t_3 – 60 dias após a preparação e t_4 – 90 dias após a preparação.

Estudaram-se aspectos relativos à análise organoléptica, onde as amostras foram analisadas, após exposição às condições de estresse, nos tempos pré-estabelecidos. Observou-se a variação de cor, odor, homogeneidade e separação de fases.

A análise do comportamento reológico e viscosidade foi realizada à temperatura ambiente. Utilizou-se viscosímetro rotacional Brookfield para pequenos volumes. Submeteram-se as amostras aos seguintes gradientes de velocidade: 0,5; 1,0; 2,5; 10,0; 20; 50 e 100,0. A viscosidade aparente (naap) foi registrada na velocidade de cisalhamento 2,5 (1/S), ascendente. As emulsões macroscopicamente estáveis foram submetidas à análise microscópica para verificação da homogeneidade, tamanho das partículas, assim como a formação de cristais líquidos, fatores essenciais para caracterização de formulações estáveis e indicativos de instabilidade das mesmas (KLEIN, 1984).

Colocou-se em uma lâmina de vidro pequena quantidade de amostra e observou-se a aparência microscópica das mesmas, registrando-se fotograficamente. Os resultados obtidos foram comparados pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de análise múltipla Student – Newman – Keuls, para determinar-se o nível de significância das variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de própolis bruta estudadas apresentaram aspectos físicos semelhantes. As variações observadas deram-se devido à sua manipulação ou não pelo fornecedor que altera seu aspecto inicial visando melhor

Tabela 1. Composição das formulações estudadas.

Composição % (p/p)				
Componentes	1	2	3	4
Extrato de própolis	10	10	10	10
Álcool cetosteárilico sulfatado	12	-	-	-
Cera crodabase – CR2®	-	12	-	-
Carboxilpolimetileno	-	-	1	-
Propilenoglicol	5	5	5	5
Hidroxietilcelulose	-	-	-	1
Vaselina líquida	5	5	-	-
Trietanolamina	-	-	0,7	-
Conservante	1	1	1	1
Álcool etílico 96°	-	-	10	10
Água destilada	67	67	72,3	73

Em que: 1 – emulsão iônica 3 – gel iônico
2 – emulsão não iônica 4 – gel não iônico

Tabela 2. Caracterização dos extratos glicólicos de própolis, obtidos a partir de amostras de própolis (I a VII) de diferentes procedências

Análise *	Extrato						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
pH	4,81 (0,01)	4,78 (0,01)	4,79 (0,01)	4,91 (0,03)	4,82 (0,02)	4,43 (0,02)	4,66 (0,00)
Resíduo seco (%)	98,6 (0,01)	99,2 (0,01)	98,9 (0,02)	99,3 (0,01)	98,9 (0,01)	99,1 (0,01)	99,2 (0,01)
Densidade	1,06 (0,02)	1,06 (0,01)	1,06 (0,01)	1,09 (0,01)	1,07 (0,01)	1,06 (0,01)	1,07 (0,01)
Teor alcóolico	2,00 (0,01)	2,00 (0,01)	2,00 (0,01)	10,0 (0,01)	10,0 (0,01)	5,0 (0,01)	5,0 (0,01)
Teor de flavonóides (% quercetina)	3,84 (0,01)	4,31 (0,02)	3,37 (0,01)	3,56 (0,02)	1,09 (0,02)	0,78 (0,01)	4,87 (0,01)

* Valor médio de três determinações e desvio padrão.

transporte e armazenamento das amostras. A coloração variou muito pouco tendo predominância a cor marrom em todas as amostras. A análise fitoquímica das amostras confirmou a presença de grupos químicos relatados na literatura como sendo aqueles mais freqüentemente presentes na própolis.

Os flavonóides, tidos como um dos grupos principais responsáveis pela ação farmacológica da resina, estavam presentes em todas as amostras estudadas. Entretanto, o teor dos princípios ativos, doseados espectrofotometricamente (flavonóides totais), apresentou grande variabilidade, conforme pode ser visualizado na Tabela 2, situando-se entre 0,78 µg/g (amostra VI) a 4,87 µg/g (amostra VII). A identificação destes compostos nos confirmou que a variação pode ser mais quantitativa que qualitativa, pois houve homogeneidade nas substâncias identificadas. Em todas as amostras analisadas por cromatografia em camada delgada foram identificados flavonas e flavonóis, tipos de flavonóides relatados como os de maior concentração na própolis (GONZÁLES & ORZAES, 1997).

As formulações propostas foram divididas em dois tipos distintos. As emulsões possuíam na sua composição como agente emulsivo álcool cetosteárilico sulfatado (Formulação 1) e cera crodabase CR-2 (Formulação 2) (PRISTA, 1981), além de umectantes (propilenoglicol) e emolientes (vaselina). Os géis possuíam na sua formulação além do agente geleificante (hidroxietilcelulose e carboxipolimetileno) também componentes umectantes (propilenoglicol) e emolientes (vaselina).

Os estudos preliminares de estabilidade forneceram dados sobre as formulações mais viáveis para continuação dos estudos. As formulações que apresentaram melhores resultados foram a 1 e 3 – emulsão e gel iônico, nas quais se procedeu a incorporação de quantidades totais de 5, 10 e 15% de extrato glicólico de própolis. As preparações foram então identificadas como E5%, E10%, E15%, G5%, G10% e G15% e analisadas em seus aspectos de estabilidade física.

Alguns aspectos organolépticos da análise mostraram-se influenciados pelo aumento da concentração dos extratos nas emulsões e géis. A cor e odor foram incrementados com o aumento da concentração do extrato, de coloração naturalmente amarela escura e odor característico.

Nos géis, a alteração da coloração das amostras foi profundamente afetada pelas condições de estresse. Provavelmente a maior quantidade de água presente na formulação pode ter facilitado a ocorrência de fenômenos oxidativos, sendo este, portanto importante fator a ser avaliado para planejamento do armazenamento e conservação de géis contendo extrato de própolis. Os outros aspectos sensoriais analisados não mostraram alterações importantes.

Após o período de estresse térmico, não houve separação de fases nas emulsões em todos os valores de concentração de extrato presentes. Mesmo após serem submetidas às condições extremas de aceleração da gravidade (centrifugação) estas características não foram alteradas. Nos géis apenas naqueles com concentração de 15% do extrato de própolis submetidos a 45°C observou-se liquefação característica da quebra de estrutura dos mesmos.

A análise do comportamento reológico das formulações nos forneceu dados importantes a respeito da caracterização física dos sistemas desenvolvidos (Figura 1). As emulsões apresentaram maior tixotropia do que os géis. Pode-se observar que, quando a emulsão a 5% do extrato foi submetida a 45°C por 90 dias, ocorreu a maior variação da área entre a curva ascendente e a descendente, significando redução na tixotropia do sistema.

Nas emulsões contendo 10% e 15% de extrato de própolis, as características iniciais mantiveram-se aparentemente sem alterações mesmo após o estresse térmico. Nos géis o comportamento reológico foi aparentemente semelhante nas formulações de 5 e 10% de extrato incorporado, não havendo área de histerese evidente. Apenas os géis contendo concentração de 15% do ativo apresentaram tixotropia, com área de histerese, no tempo inicial.

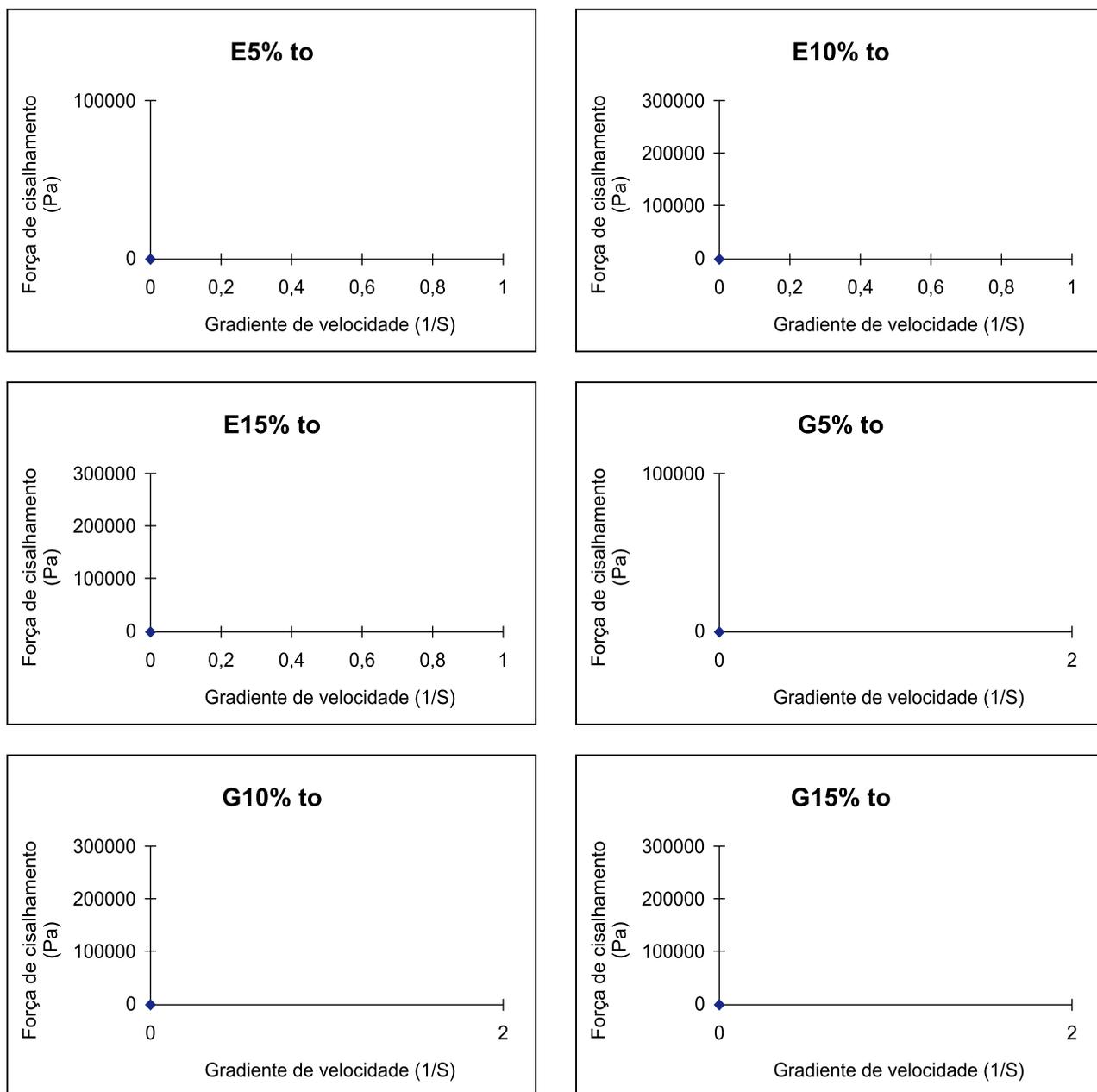


Figura 1. Comportamento reológico das formulações elaboradas 48h (t_0) após fabricação.

Após a exposição ao estresse térmico, durante 90 dias, houve desaparecimento da tixotropia inicial observada. Estas características tixotrópicas poderiam indicar maior potencial das formulações em liberarem os princípios ativos, pois a área de histeresse indica que as formulações levarão maior tempo para reorganizar sua estrutura inicial após serem submetidas a determinada força. Este fator poderia vir a facilitar a liberação dos princípios ativos da formulação (NAÉ, 1993).

A variação da viscosidade aparente apresentou comportamento distinto nas emulsões e nos géis (Figura 2). Nas emulsões houve aumento da viscosidade quando estas

foram submetidas às temperaturas elevadas, o que sugere que estas poderiam ter perdido água, de forma a se mostrarem alteradas suas características iniciais. Entretanto, em temperatura próxima da ambiente (22°C) houve pequena variação da viscosidade aparente destas.

Nos géis, à temperatura próxima à ambiente (22°C) houve pouca alteração nos valores de viscosidade; entretanto com o aumento da temperatura as formulações apresentaram pequena queda de viscosidade, o que pode ser explicado pela quebra da estrutura do gel e sua pequena liquefação, fenômenos observados macroscopicamente. A variação da viscosidade dos géis observada em altas

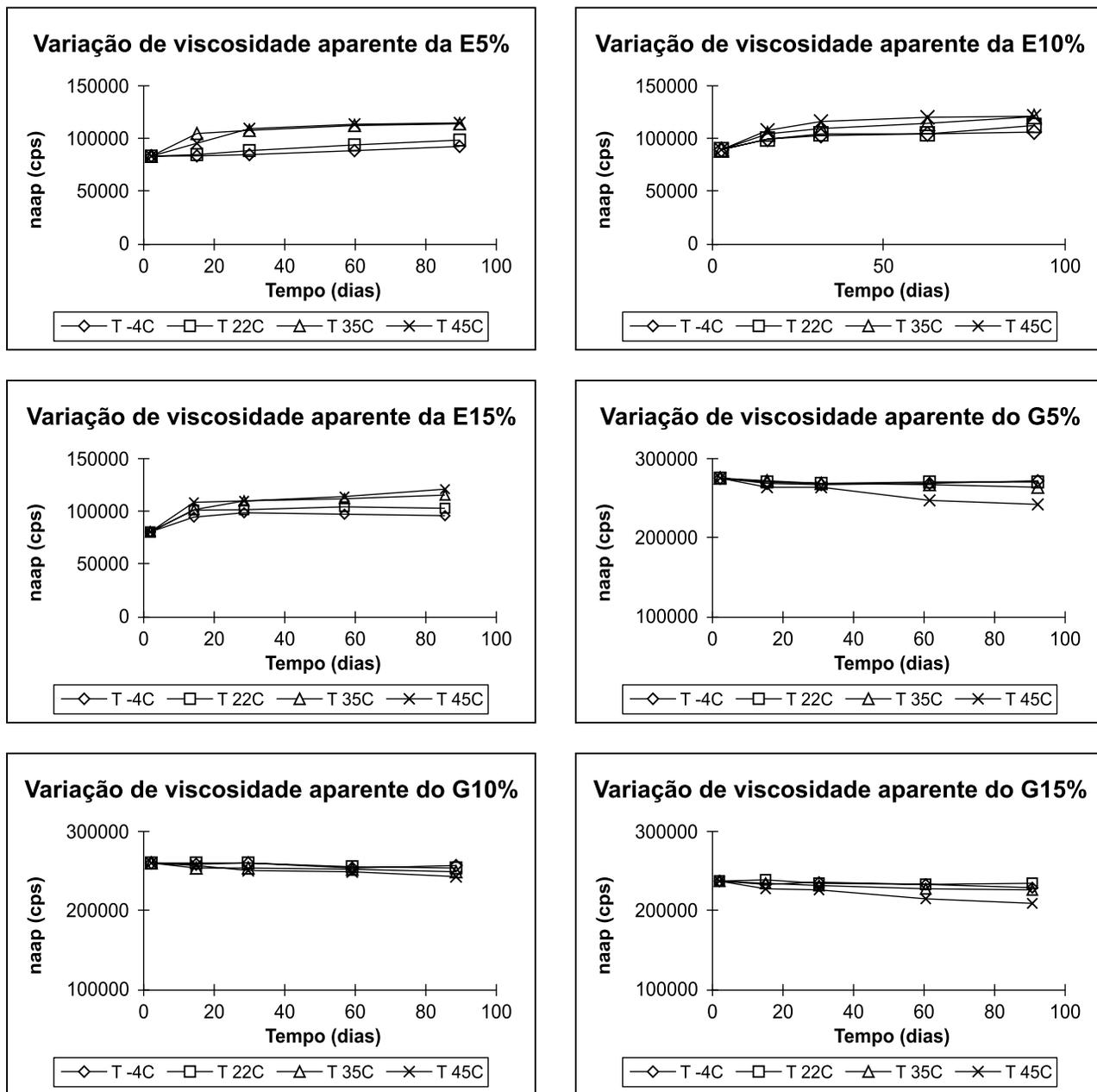


Figura 2. Variação da viscosidade das formulações elaboradas em função do tempo e de permanência nas diferentes temperaturas.

temperaturas foi acompanhada de alterações gerais no aspecto da formulação, as quais limitariam sua utilização. Pode-se sugerir a conservação do produto em temperaturas controladas (15-25°C).

As emulsões mostraram-se homogêneas, quando submetidas a avaliação microscópica e a concentração do extrato, não mostrou influência significativa neste aspecto. Pode-se observar a presença de estruturas uniformes nas três concentrações de extrato de própolis, característica que não se alterou após a permanência nas condições de estresse. A formação de cristais líquidos também foi

evidenciada com as mesmas características da homogeneidade.

CONCLUSÕES

As amostras de própolis de diferentes procedências apresentaram diferente composição (qualitativa e quantitativa) e a padronização baseada em grupos químicos característicos ou princípios ativos específicos podem ajudar na avaliação e estabelecimento de padrões de qualidade.

As emulsões e os géis de caráter iônico contendo extrato glicólico de própolis mostraram-se mais estáveis que os não iônicos, nas condições do estudo. Os produtos devem ser mantidos preferencialmente protegidos de temperaturas elevadas para manutenção de suas características físicas. A concentração inicial dos extratos não mostrou influência direta na estabilidade das formulações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARVOUET-GRAND, A., VENNAT, B., POURRAT, A., LEGRET, P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **J. Pharm. Belg.**, Brussels, v.49, n.6, p.462-468, 1994.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 2.ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1977. 3v.

DONADIEU, Y. **La Propolis**. Paris: Maloine S. A. Éditeur, 1980. 45p.

DOWD, L. E. Spectrophotometric determination of quercetin. **Anal. Chem.**, Washington D. C., v.31, n.7, p.1184-1187, 1959.

FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 3.ed., São Paulo: Andrei, 1977. 1295p.

GONZÁLES, E, ORZAES, M. T. Estudio del propoleo: Origen e importancia de los compuestos fenolicos en su composicion. **Alimentaria**, Madrid, v.283, p.103-107, 1997.

IDSON, B. Stability testing of emulsions. **Drug Cosmet. Ind.**, New York, v.143, n.12, p.35-38, 1988.

IDSON, B. Stability testing of emulsions part 2. **Drug Cosmet. Ind.**, New York, v.152, n.2, p.38-43, 1993

KLEIN, K. Improving emulsions stability. **Cosmet. Toiletries**, Oak Park, v.99, n.5, p.121-126, 1984.

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

NAÉ, H. N. Introduction to rheology. In: LABA, D., **Rheological properties of cosmetics and toiletries**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 9-33.

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

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 3.ed., 1981. 3 v.

RIEGER, M.M. Stability testing of macroemulsions. **Cosmet. Toiletries**, Oak Park, v.106, n.5, p.59-69, 1991.

STHAL, E., SCHIL, W. **Pharmazeutische Biologie 4: Drogenanalyse II. Inhaltsstoffe und Isolierung**, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1981. p.126-127.

WALKER, P., CRANE, E. Constituents of propolis. **Apidologie**, Paris, v.18, p.327-327-334, 1987.