

## **ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FORMULAÇÃO TÓPICA CONTENDO PRÓPOLIS<sup>1</sup>**

### *STABILITY STUDY OF A TOPIC FORMULATION WITH PROPOLIS*

**Camila Bugnotto<sup>2</sup>, Gláucia Soares<sup>3</sup>, Luciane Varini Laporta<sup>4</sup>,  
Marta Palma Alves<sup>4</sup>, Cleber Alberto Schmidt<sup>4</sup>  
e Jane Beatriz Limberger<sup>5</sup>**

#### **RESUMO**

O presente estudo buscou avaliar a estabilidade acelerada de uma formulação semissólida inscrita no Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira após a incorporação do extrato hidroalcoólico de própolis 3% (p/p). A formulação foi submetida às condições de temperatura ambiente (20-25 °C); geladeira (3-8 °C) e estufa (40 ± 2 °C), sendo avaliada quanto à aparência, cor, odor, pH, viscosidade e espalhabilidade no período de 24 horas, 30 e 90 dias após a sua produção. Testes adicionais de ciclo gelo-degelo de 21 dias e de estufa e centrifuga combinados também foram efetuados. A formulação de gel cremoso estudada apresentou-se muito estável frente às condições de estresse as quais foi submetida, não demonstrando nenhum sinal de alteração nas suas características físico-químicas.

**Palavras-chave:** gel cremoso, estabilidade, avaliação.

#### ***ABSTRACT***

*This study sought to evaluate the accelerated stability of a semi-solid formulation inscribed on the National Formulary of the Brazilian Pharmacopoeia after the incorporation of the propolis hydroalcoholic extract at 3% (p/p). The formulation was submitted to conditions of environment temperature (20-25°C); refrigerator (3-8°C) and oven (40 ± 2°C), evaluated for appearance, color, odor, pH, viscosity*

---

<sup>1</sup> Trabalho Final de Graduação – TFG.

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Farmácia – UNIFRA.

<sup>3</sup> Coorientadora – Farmácia de Manipulação Nova Derme, Santa Maria - RS.

<sup>4</sup> Coorientadora – UNIFRA.

<sup>5</sup> Orientadora – UNIFRA.

*and spreadability in the period of 24 hours, 30 and 90 days after its production. Additional tests of 21-day freeze-thaw cycle and of combined oven and centrifuge were also performed. The creamy gel formulation revealed to be very stable under the stress conditions to which it was submitted, not showing any alteration on its physical and chemical characteristics.*

**Keywords:** *creamy gel, stability, evaluation.*

## INTRODUÇÃO

Própolis, palavra de origem grega “*pro*”, que significa “em defesa de” e *polis*, “a cidade”; ou seja, “em defesa da cidade”, ou, no caso, a colméia, é o nome da resina balsâmica, com composição complexa, de densidade viscosa, odor agradável, sabor amargo e que apresenta variação na coloração, desde o pardo escuro ao vermelho (FRANCO; BUENO, 1999).

De modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% óleos essenciais, 5% grãos de pólen, além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E (PARK et al., 2002). É considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais, sendo que Burdock (1998) já identificou e caracterizou mais de 300 constituintes em diferentes amostras de própolis.

Os efeitos terapêuticos são atribuídos aos diversos compostos fenólicos que compõem a própolis. Destes, os flavonóides podem ser considerados como um dos principais componentes, encontrando-se, ainda, diversos ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas (MARCUCCI et al., 1996).

Por suas propriedades, a própolis é amplamente utilizada na dermatologia para cicatrização, regeneração de tecidos, tratamento de queimaduras, neurodermites, eczemas, úlceras externas e pruridos. Tem ação cicatrizante comprovada em escaras de decúbito, sendo empregada em grande escala na medicina popular e em cosméticos (FRANCO; BUENO, 1999). Destaca-se pelas propriedades terapêuticas, apresentando atividade anti-inflamatória, hipotensiva, anestésica e anticariogênica (PARK et al., 2002). As propriedades antimicrobianas da própolis são amplamente relatadas (PINTO et al., 2001; BANSKOTA et al., 2001; VARGAS et al., 2004).

Extratos etanólicos, hidroalcoólicos e aquosos da própolis são utilizados e estudados em diferentes situações como agentes antitripanosomais (MARCUCCI et al., 2001), como cardioprotetores, em ferimentos orais e da pele (MAGRO-FILHO; CARVALHO, 1994; KOO et al., 2000), no tratamento local de doenças

reumáticas (SIRO et al., 1996), como agente anti-inflamatório (SOSA et al., 1997), antiparasitário, como hepatoprotetor (BANSKOTA et al., 2001) e antimicrobiano (MARCUCCI et al., 2001; VARGAS et al., 2004).

Relatos da aplicação veterinária da própolis para o tratamento da mastite bovina (PINTO et al., 2001), como cicatrizante (RAHAL et al., 2003), como anti-helmíntico (PRINCIPAL et al., 2002) e no tratamento de afecções auditivas caninas e felinas (LOZINA et al., 2005) também são encontrados na literatura.

Os fármacos raramente são administrados nas formas de substâncias químicas puras, sendo normalmente veiculados em formulações ou especialidades farmacêuticas (YORK, 2005). Da mesma forma, a própolis necessita ser veiculada em uma formulação farmacêutica adequada, para que possa ser administrada com facilidade e segurança, otimizando sua resposta terapêutica. Por outro lado, o desenvolvimento e a formulação apropriada de uma forma farmacêutica requerem a consideração das características físicas, químicas e biológicas de todos os princípios ativos e de todas as matérias-primas empregadas na elaboração do produto, assim como a anatomia fisiológica do local de administração e absorção (ANSEL et al., 1999).

Paralelamente à eficácia e segurança de um medicamento, considera-se a sua capacidade em manter, ao longo do prazo de validade, a dosagem terapêutica inalterada, sem que ocorra um aumento significativo da toxicidade e formação de possíveis produtos de degradação. Dessa forma, para a obtenção de medicamentos que mantenham suas propriedades originais dentro do prazo de validade estabelecido, são realizados previamente testes e ensaios na forma farmacêutica com o objetivo de obter informações sobre a estabilidade do princípio ativo na formulação, de modo a definir seu período máximo de armazenamento (ANVISA, 2004).

Nesse contexto, buscou-se avaliar a capacidade de incorporação e a estabilidade física de uma base dermatológica inscrita no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira frente à incorporação de uma solução alcoólica de própolis a 3% (p/p) para uso dermatológico.

## **METODOLOGIA**

### **ESCOLHA DA BASE PARA DESENVOLVIMENTO DOS ESTUDOS**

Selecionou-se uma base denominada gel cremoso, inscrita no Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2005), a qual apresenta característica evanescente e não oleosa. É composta por poliacrilamida, C13-14 isoparafina

e álcool laurílico etoxilado 7 OE (cepigel) 4% (p/v); solução conservante de parabenos 3,3% (v/v); 0,6% (v/v) de solução conservante de imidazolidinil ureia a 50% e água destilada q.s.p. 100 %. Foi preparada por dispersão simples do composto de poliacrilamida, adicionando-se após os demais componentes, sob agitação e sem aquecimento.

## INCORPORAÇÃO DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NA BASE

A própolis, na forma de extrato hidroalcoólico a 60% (p/v), foi obtida de apiários comerciais da região de Santa Maria, sendo incorporada imediatamente após a produção da formulação através de agitação constante e suave, de modo a obter concentração final de 3% (p/p).

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO DA FORMULAÇÃO

As amostras para teste de estabilidade foram acondicionadas em recipientes plásticos opacos de parede dupla com tampa, na quantidade de 60 gramas cada e identificadas.

## TESTES DE ESTABILIDADE ACELERADA

As amostras foram submetidas a estudos de estabilidade acelerada de acordo com os procedimentos descritos no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004). Ainda foram submetidas às condições de temperatura ambiente (20-25 °C); geladeira (3-8 °C) e estufa (40 ± 2 °C), avaliaram-se a aparência, cor, odor, pH, viscosidade e espalhabilidade no período de 24 horas, 30 e 90 dias, após a produção da formulação. Em cada condição testada, utilizaram-se 3 amostras da formulação, com 60 gramas cada.

### **Aparência, cor e odor**

Realizou-se de maneira subjetiva, por comparação entre todas as amostras da preparação submetidas às diferentes condições. Definiu-se como referência a amostra mantida sob refrigeração. Para a avaliação da aparência, observaram-se níveis de alteração que foram classificados em (I) normal, sem alteração; (II) levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e (III) separado, precipitado ou turvo. A graduação dos níveis de alteração de cor e odor observada na formulação foi classificada de

acordo com os seguintes critérios: (I) normal sem alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada e (IV) intensamente modificada (ANVISA, 2004).

## **pH**

Determinou-se o pH por meio de técnica potenciométrica, com o equipamento SCHOTT FieldLab pH previamente calibrado na faixa de pH de 4,0 e 7,0. As análises foram realizadas em triplicata.

## **Determinação da espalhabilidade**

Empregou-se metodologia descrita por Knorst (1991), que utiliza placas de vidro sobre uma escala de papel milimetrado para determinar a superfície que a amostra abrange através da medição dos diâmetros perpendiculares, com posterior cálculo do diâmetro médio. A espalhabilidade ( $E_i$ ), a  $24 \pm 2$  °C, foi calculada a partir da equação 1:

$$E_i = [(d^2) \cdot \pi] / 4 \quad (1)$$

Considerando-se como  $E_i$  ( $\text{mm}^2$ ) a espalhabilidade da amostra para peso  $i$  e  $d$  o diâmetro médio (mm) alcançado pela amostra após a sobreposição de cada placa. Os valores da espalhabilidade em função dos pesos adicionados foram determinados em triplicata, calculando-se a média.

## **Viscosidade**

Realizou-se a leitura das viscosidades aparentes, em triplicata, segundo metodologia internacional ASTM D2196-05 (ANSI, 2005), empregado viscosímetro rotativo de Brookfield de 8 velocidades. Selecionou-se velocidade de 0,3 rpm e spindle número 4. Previamente às leituras, todas as formulações foram acondicionadas à temperatura de  $24 \pm 2$  °C, sendo o ensaio realizado em ambiente com a mesma faixa de temperatura.

## **Ciclo gelo-degelo**

Amostras foram colocadas em estufa a 40° C por um período de 7 dias, após foram transferidas para geladeira, onde permaneceram por 7 dias e, então, retornaram

à estufa pelo mesmo período. Ao final desse ciclo, as amostras foram submetidas à ação de centrifuga a 3000 rpm durante 45 minutos e avaliadas de acordo com os seguintes critérios: (1) sem separação de fases; (2) leve separação de fases; (3) notável separação de fases; (4) produto com 50% de separação e (5) produto com mais de 50% de separação (OTHMER, 1979; BHARGAVA, 1997).

### **Estufa e centrífuga combinados**

As amostras foram colocadas em estufa a 40 °C e após 24 e 168 horas alíquotas foram submetidas a ação da centrífuga durante 1 hora a 3000 rpm, sendo então avaliadas macroscopicamente de acordo com os critérios: (1) sem separação de fases; (2) leve separação de fases; (3) produto com 50% de separação; e (4) produto com mais de 50% de separação (ANVISA, 2004).

### **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A avaliação estatística dos dados realizou-se por meio de análise de variância (ANOVA) e análise descritiva das variáveis calculando-se a média, desvio padrão.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **GEL CREMOSO**

A formulação apresentou aspecto brilhoso e com leve coloração amarelada devido à incorporação da própolis. Sua consistência ficou adequada, apresentando característica não oleosa, portanto, evanescente e com odor de própolis.

### **TESTES DE ESTABILIDADE ACELERADA**

#### **Aparência, cor e odor**

As amostras foram avaliadas de maneira subjetiva. O gel cremoso mantido nas 3 condições apresentou apenas uma leve alteração na cor, adquirindo tonalidade mais escura após 30 dias de estudo (Tabela 1), porém essa alteração foi observada para todas as amostras em todas as condições (Figura 1), o que demonstra que a

modificação não é proveniente de instabilidade, mas da interação da própolis com a formulação no decorrer do estudo. Sua aparência permaneceu inalterada durante todo o período do ensaio, não se observou separação de fases ou componentes, nem formação de grumos ou precipitados (Figura 1). Da mesma forma, ao final do ensaio, não se observou modificação no odor (rancificação), sendo que as amostras mantiveram o odor característico de própolis. Esses dados demonstram que a formulação apresentou boa capacidade de interação com a solução alcoólica de própolis, o que foi comprovado pela manutenção das características físico-químicas das amostras nas 3 condições avaliadas.

**Tabela 1** - Cor do gel cremoso mantido nas condições de temperatura ambiente (TA), geladeira (GE) e estufa (ES).

Condição	Tempo (dias)	Amostra		
		1	2	3
Temperatura ambiente (TA)	1	I	I	I
	30	II	II	II
	90	II	II	II
Geladeira (GE)	1	I	I	I
	30	II	II	II
	90	II	II	II
Estufa (ES)	1	I	I	I
	30	II	II	II
	90	II	II	II

(I) normal, sem alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada; (IV) intensamente modificada.



**Figura 1** – Amostras do gel cremoso contendo própolis (3%) mantidas em temperatura ambiente (a), estufa (b) e geladeira (c), ao final de 90 dias do estudo de estabilidade.

## pH

A variação de pH de uma formulação pode modificar as características físico-químicas do fármaco veiculado, influenciando atributos como sua estabi-

lidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade, comprometendo a segurança e eficácia terapêutica da formulação. O valor de pH médio inter e intracondições (TA, GE, ES), apresentado na tabela 2, demonstrou variação não significativa ( $P > 0,01$ ) quando analisados por ANOVA, demonstrando que a formulação possui excelente estabilidade físico-química.

**Tabela 2** – Variação de pH das amostras mantidas a temperatura ambiente (TA), geladeira (GE) e estufa (ES).

Formulação	Tempo (dias)	pH (média $\pm$ desvio padrão)*		
		TA	GE	ES
Gel cremoso	1	4,04 $\pm$ 0,04	3,88 $\pm$ 0,03	3,90 $\pm$ 0,07
	30	4,00 $\pm$ 0,01	4,04 $\pm$ 0,01	4,17 $\pm$ 0,12
	90	3,79 $\pm$ 0,07	3,58 $\pm$ 0,02	3,63 $\pm$ 0,07

(\*) média de 3 amostras por condição (n=3).

### Determinação da espalhabilidade

Juntamente com a viscosidade, a determinação da espalhabilidade serve para avaliar alterações nas características reológicas da formulação durante o estudo. No caso de semissólidos de uso tópico, a quantificação desse parâmetro é importante para acompanhar modificações na capacidade que a formulação tem de se espalhar ou abranger determinada área, o que pode facilitar ou dificultar sua aplicação. Em avaliação sensorial tátil antes do estudo de estabilidade, a formulação mostrou-se adequada e, como pode ser observado na tabela 3, as amostras do gel cremoso apresentaram um leve aumento na sua espalhabilidade, porém não significativo ( $P > 0,05$ ), permanecendo com a mesma característica sensorial ao final dos testes.

**Tabela 3** – Espalhabilidade máxima obtida para o gel cremoso mantido em temperatura ambiente (TA), em geladeira (GE) e em estufa (ES).

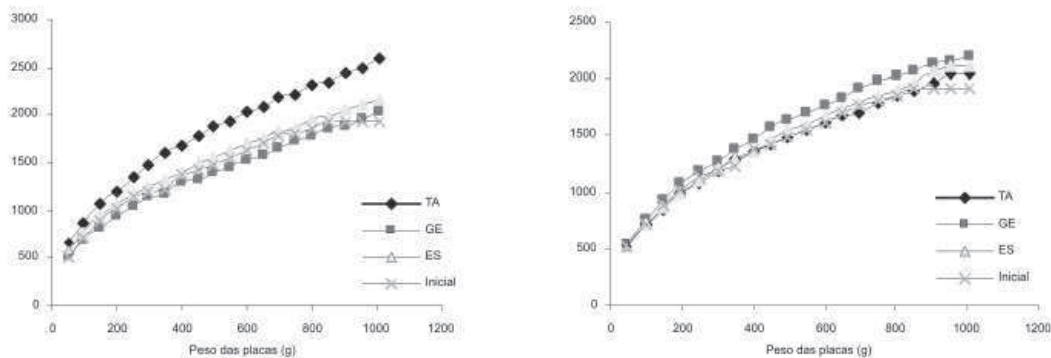
Condição	Espalhabilidade – Ei (mm <sup>2</sup> )		
	Inicial	7º dia*	90º dia*
TA		2586,4 ( $\pm$ 302,24)	2046,9 ( $\pm$ 246,74)
GE	1923,5	2043,4 ( $\pm$ 140,04)	2205,9 ( $\pm$ 109,41)
ES		2151,2 ( $\pm$ 126,07)	2116,9 ( $\pm$ 311,24)

(\*) média de 3 amostras por condição (n=3).

Pode ser observado na figura 2, respectivamente, o comportamento da espalhabilidade média (Ei) das amostras gel cremoso, no 7º dia do estudo de estabilidade e ao final dos 90 dias do teste nas 3 condições avaliadas. Percebe-se um leve aumento no índice de Ei ao final do período de 90 dias. O resultado é concordante



com os demais resultados dos testes de estufa e centrífuga combinados, ciclo gelo-degelo e aparência, o que demonstra uma boa capacidade de absorção de soluções, inclusive hidroalcoólicas, que esta formulação apresentou.



**Figura 2** – Espalhabilidade média das amostras I, II e III do gel cremoso no 7º (A) e 90º (B) dias do estudo de estabilidade.

## Viscosidade

A viscosidade aparente das amostras foi determinada no início e no final dos 90 dias. A leitura pontual da viscosidade aparente serviu como parâmetro adicional para avaliar alterações físicas nas formulações sob estudo.

Após os 90 dias do teste, ao contrário do que se esperava em função da possibilidade da evaporação da fase líquida da formulação, o gel cremoso apresentou leve diminuição da viscosidade aparente nas 3 condições as quais foi submetido (Tabela 4). Esses dados são concordantes com os índices de espalhabilidade máxima observados, demonstrando a boa estabilidade física que a formulação possui.

**Tabela 4** – Avaliação comparativa dos índices médios, iniciais e finais de espalhabilidade máxima e viscosidade do gel cremoso em temperatura ambiente (TA), em geladeira (GE) e em estufa (ES).

Condição	Tempo (dias)	Viscosidade (mPa.s)	Espalhabilidade mm <sup>2</sup>
	Inicial	123480	1923,5
TA <sup>a</sup>	90 dias	114870	2046,9
GE <sup>a</sup>	90 dias	121380	2205,9
ES <sup>a</sup>	90 dias	113820	2116,9

(<sup>a</sup>) média da leitura de 3 amostras para cada condição.

## Ciclo gelo-degelo

O gel cremoso, após ciclo gelo-degelo, foi classificado em grau I, pois não se observou qualquer tipo de separação ou alteração da cor e odor no período de estudo.

## Estufa e centrífuga combinados

Para o gel cremoso não se observou qualquer tipo de alteração após o período de centrifugação, conforme verifica-se na figura 3, sendo classificado em grau I.



**Figura 3** – Amostra do gel cremoso após período em estufa à 40 °C e centrifugação a 3000 rpm durante 60 minutos.

## CONCLUSÃO

A formulação de gel cremoso incorporado de própolis a 3% (p/p) apresentou excelente estabilidade frente a todas condições de estresse testadas. Praticamente não apresentou sinais de alteração físico-química da formulação. Sua capacidade de incorporação e aceitação do extrato hidroalcoólico de própolis foi excelente, mantendo praticamente inalteradas as características de aparência, cor, odor, pH, viscosidade e espalhabilidade.

Este trabalho pode ser considerado como inicial, pois os dados gerados contribuíram para criar novas perspectivas e direcionar futuros estudos na tentativa de se obter uma formulação de gel cremoso com própolis otimizada.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1. ed. Brasília: ANVISA, 2004.

ANSEL, H. C.; ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 1999.

ANSI – AMERICAN NATIONAL STANDARDS INSTITUTE. ASTM D2196-05 - **Standard Test Methods for Rheological Properties of Non-Newtonian Materials by Rotational (Brookfield type) Viscometer**. New York: ANSI, 2005.

BHARGAVA, H. N. The present status of formulation of cosmetic emulsions. **Drug Development in Industrial Pharmacy**, v. 13, n. 13, p. 2363-2387, 1997

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Review article – recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 7, p. 561-571, 2001.

BRASIL. Resolução 222, de 29 de julho de 2005. Dispõem sobre o Formulário Nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1. ed., 15 ago. 2005.

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

FRANCO, L. S.; BUENO, F. H. J. Otimização de processo extrativo de própolis. **Pharmacia Brasileira**, n. 17, p. 48-51, 1999.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato Deachyrocline Satureioides (Lom) DC. Compositae (Marcela)**. 1991, 228f. Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 1991. 228 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Farmácia. Porto Alegre, 1991.

KOO, H. et al. *In Vitro* antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Archives of Oral Biology**, v. 45, n. 2, p. 141–148, 2000.

LOZINA, L. et al. Acción del propóleos sobre una levadura (*Malassezia pachydermatis*) aislada a partir de otitis externa canina. **Revista de Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 32–35, 2005.

MAGRO-FILHO, O.; CARVALHO, A. C. Topical effect of propolis in the repair of sulcoplasties by the modified Kazanjian technique. Cytological and clinical evaluation. **The Journal of Nihon University School of Dentistry**, v. 36, n. 2, p. 102-111, 1994.

MARCUCCI, M. C. et al. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 529-36, 1996.

MARCUCCI, M. C. et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 2, p. 105-112, 2001.

OTHMER, K. **Emulsions**: encyclopedia of chemical technology. 3. ed. New York: Marcel Dekker, v. 8, p. 926-929, 1979.

PARK, K. Y. et al. Própolis produzida no Sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1-10, 2002.

PINTO, M. S. et al. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 6, p. 278-283, 2001.

PRINCIPAL, J. et al. Eficacia del propóleo en el control de las helmintiasis de ovinos naturalmente infestados. **Revista Científica**, v. 12, p. 604-607, 2002.

RAHAL, S. C. et al. Utilização de própolis ou mel no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n. 1, p. 61-67, 2003.

SIRO, B. et al. Local treatment of rheumatic diseases with propolis compounds. **Orvosi Hetilap**, v. 137, n. 25, p. 1365-1370, 1996.

SOSA, S. et al. Preliminary investigation on the anti-inflammatory and anti-microbial activities of propolis. **Pharmaceutical and Pharmacological Letters**, v. 7, n. 4, p. 168-171, 1997.

VARGAS, A. C. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.

YORK, P. Delineamento de formas farmacêuticas. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.