



Desenvolvimento de gel vaginal contendo extrato de própolis vermelha

Development of vaginal gel containing extract of red propolis

Recebido em 11/08/2011

Aceito em 19/03/2012

Lívio César Cunha Nunes^{1*}, Maxwell Arruda da Rocha Lima², Kamila Maria de Holanda Sousa², André Igor Oliveira Prado², José Lamartine Soares-Sobrinho³ & Pedro José Rolim-Neto⁴

¹ Pesquisador orientador. UFPI, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

² Acadêmicos de Farmácia. UFPI, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

³ Pesquisador. UFPI, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

⁴ Pesquisador. UFPE, Departamento de Farmácia, 50740-530, Recife, Pernambuco, Brasil.

RESUMO

As propriedades medicinais da própolis são mundialmente conhecidas, destacando-se as atividades antibacteriana, antifúngica e antiinflamatória. As vaginites inespecíficas podem ser causadas por bactérias e/ou fungos desencadeando um quadro inflamatório. O uso da própolis para esse fim já foi citado na literatura apresentando bons resultados. Todavia, faz-se necessário o desenvolvimento de uma forma farmacêutica no sentido de direcionar e prolongar o contato da própolis com a mucosa vaginal, promovendo uma atividade biológica mais efetiva. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de gel mucoadesivo. Para tal, foi obtido um extrato de própolis, seco a baixa pressão, ressuspenso em propilenoglicol e incorporado em uma base de gel. A compatibilidade foi, então, caracterizada e verificada em cinco polímeros distintos (derivados celulósicos e ácidos poliacrílicos). O pH das formulações obtidas foi ajustado para valores compreendidos entre 4,5 – 5,5, a viscosidade variou bastante (86000-350000cps) nas concentrações usuais do polímero e as densidades relativas variaram entre 0,97 a 1,00. Os resultados levam a conclusão de que os derivados poliacrílicos possuem melhor afinidade com o extrato de própolis destacando-se o Pemulen, podendo se constituir numa formulação promissora para o desenvolvimento de um medicamento a base de própolis

Palavras-chave: Própolis, Tecnologia Farmacêutica, Géis, Vaginites

ABSTRACT

The medicinal properties of propolis are known worldwide, especially the antibacterial, antifungal and anti-inflammatory activities. The nonspecific vaginitis can be caused by bacteria and/or fungi unchaining an inflammatory state. The use of propolis for this aim was already quoted by the literature, presenting good results. However, it's necessary the development of a pharmaceutical way to direct and extend the contact of propolis with the vaginal mucous membrane, promoting a more effective biological activity. This work had as objective the development of a muco-adhesive gel. In order to do that, an extract was obtained from propolis, was dried at a low pressure, re-suspended in propylene glycol and incorporated in a gel base. The compatibility was then, characterized and checked in five different polymers (cellulose derivatives and polyacrylic acids). The pH of the obtained formulations was adjusted for the values ranged between 4.5 and 5.5, the viscosity varied widely (86000-350000cps) in the usual concentrations of the polymer and the relative densities varied between 0.97 and 1.00. The results lead to the conclusion that the polyacrylic derivatives have better affinity with the extract of propolis, standing out the Pemulen, which constitutes in a promising formulation for the development of a propolis-based drug.

Keywords: Propolis, Pharmaceutical Technology, Gels, Vaginitis

INTRODUÇÃO

A própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico coletado pelas abelhas dos ramos, flores, pólen, brotos e exsudados de árvores; além

desses, na colméia, as abelhas adicionam secreções salivares. Não é utilizado apenas como material de construção, mas é a mais importante “arma química” das

* **Contato:** Lívio César Cunha Nunes, UFPI, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil, e-mail: liviocesar@hotmail.com

abelhas contra microorganismos patógenos e tem sido usada como remédio por humanos desde a antiguidade (Bankova, 2005).

Para a produção de própolis, abelhas usam materiais resultantes de vários processos botânicos em diferentes partes das plantas. São substâncias ativamente secretadas pelas plantas, como exsudados em feridas das mesmas: materiais lipofílicos nas folhas, germes, látex, resinas, etc. A composição química depende da especificidade da flora local e das características geográficas e climáticas. Este fato resulta no interesse pela diversidade na composição química da própolis, especialmente pela própolis originária de regiões tropicais (Bankova, 2005).

Várias atividades biológicas da própolis têm sido descritas, incluindo atividade antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária, antitumoral, imunomodulatória, antiinflamatória, entre outras. Dentre estas, as atividades antibacteriana e antifúngica são as mais populares e são as mais extensivamente investigadas (Kujumgiev *et al.*, 1999). As atividades antifúngicas e antibacterianas são atribuídas principalmente à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletil do ácido caféico, com um mecanismo de ação baseado provavelmente na inibição da RNA-polimerase bacteriana. (Uzel *et al.*, 2005). Outros componentes como os flavonóides, o ácido caféico, o ácido benzóico e o ácido cinâmico, provavelmente agem na membrana ou parede celular do microorganismo, causando danos funcionais e estruturais (Scazzocchio *et al.*, 2005; Nunes *et al.*, 2008).

A vaginose bacteriana e a candidíase vulvovaginal são as causas mais prevalentes de vaginite sintomática. Setenta e cinco por cento das mulheres experimentarão pelo menos um episódio durante suas vidas e 40 a 50% delas experimentarão infecção periódica. A vaginose bacteriana constitui uma infecção polimicrobiana, primariamente anaeróbica. Sua presença representa alteração do ecossistema vaginal, ocorrendo significativa redução dos lactobacilos e elevação do pH (maior que 4,5), com crescimento exagerado de bactérias que podem ser encontradas em baixa concentração em mulheres normais, como *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* e *Mobiluncus spp.* e Bacteróides (Hay, 2000).

O tratamento das infecções vaginais é realizado pelo uso de antibióticos tópicos ou orais que, mesmo quando eficazes, estão associados com o aparecimento de microorganismos resistentes, de efeitos colaterais e de altas taxas de recorrência (Edwards, 2004). Imhof *et al.* (2005), consideram que, diferente dos antibióticos e antimicóticos químicos clássicos, a própolis não está associada ao aparecimento de resistência microbiana, porque a duração da fase *lag* permanece inalterada até mesmo após aplicação repetida. Esses mesmos autores, em estudos realizados em pacientes com vaginite crônica, observaram que uma solução aquosa de própolis a 5% (na forma de enxaguatório ou ducha vaginal) resultou em melhorias significativas dos esfregaços vaginais e bem estar subjetivo. Além de fornecer efeitos antibióticos e antimicóticos, conduziu a um alívio sintomático inicial devido suas propriedades anestésicas.

O grande problema de medicamentos antibióticos ou quimioterápicos é que, embora efetivos na erradicação dos

anaeróbios, apresentando taxas elevadas de cura clínica e microbiológica, não atuam no sentido de melhorar a microbiota vaginal. Na verdade, o uso destes fármacos pode inclusive reduzir a flora vaginal, uma vez que, além das bactérias patogênicas, podem destruir também os lactobacilos naturais, importantes mecanismos de defesa contra infecções. Sendo assim, não é surpreendente que a taxa de recidivas que se seguem ao tratamento seja elevada, figurando em torno de 30% a 40%. E ainda, que o desenvolvimento de sintomas de candidíase vaginal seja frequente, em decorrência das alterações da ecologia local provocadas pelo próprio antibiótico utilizado (Hay, 2000; Brocklehurst *et al.*, 2002).

Devido sua baixa viscosidade e alta fluidez, as duchas vaginais possuem o inconveniente de não permanecerem aderidas à mucosa por um tempo prolongado, ou seja, não possuem bioadesão. Longer e Robinson, em 1986, citaram pela primeira vez esse termo como a ligação de macromoléculas sintéticas ou naturais a um muco e/ou superfície epitelial. Considerando o muco que reveste a cavidade vaginal, do ponto de vista tecnológico, como um substrato biológico, a sua presença permitirá que o sistema administrado permaneça mais tempo aderido e que esse contato poderá ainda ser auxiliado pela presença de compostos mucoadesivos. Estudos de Nagai e colaboradores, do final da década de 70 e início da década de 80 renovaram o interesse pelo uso de polímeros bioadesivos, no sentido de prolongar o tempo de contato da forma farmacêutica na membrana mucosa (Lee, 2000). Sistemas de liberação de fármacos na mucosa vaginal incluem uma extensa variedade de formas farmacêuticas como semi-sólidos, comprimidos, cápsulas, preparações líquidas, filmes, enxaguatórios, espumas e tampões. Os mais amplamente utilizados são os semi-sólidos: cremes, pomadas e géis (PRISTA *et al.*, 1996; Vermani & Garg, 2000). Os géis, matrizes poliméricas tridimensionais na forma de suspensões coloidais, podem apresentar diversas vantagens sobre os outros sistemas de administração de medicamentos via vaginal como alta biodisponibilidade, segurança, versatilidade e economia (Justin-Temu *et al.*, 2004). Além dessas vantagens, os géis caracterizam-se como os sistemas mucoadesivos mais estudados e a via vaginal é altamente apropriada à bioadesão. Estas características podem proporcionar um aumento do tempo de contato *in situ* do fármaco e promover uma melhor absorção do mesmo (Edsman & Hagerstrom, 2005).

Para fundamentar o fenômeno da mucoadesão, várias teorias têm sido apresentadas. Dentre as teorias desenvolvidas até o momento, as mais referidas são a teoria eletrônica, a de adsorção, a do umedecimento, a de difusão e a de fratura. Contudo, o processo mucoadesivo não pode ser explicado no seu todo por uma das teorias, mas uma combinação de várias poderá ajudar a fundamentar este processo que varia consoante a formulação e as características fisiológicas, como a espessura da camada de muco (Edsman & Hågerström, 2005).

Muitos são os polímeros empregados na obtenção de géis mucoadesivos, em sua maioria de natureza hidrofílica, todavia as características hidrofóbicas próprias da própolis, devido ao seu conteúdo em ceras, limita as possibilidades

de incorporação nesses referidos géis. Os polímeros utilizados agem como agentes suspensores que retardam a sedimentação e a aglomeração das partículas ao atuarem como uma barreira energética que minimiza a atração entre as partículas e sua agregação entre si, aumentando, assim, a viscosidade e melhorando a estabilidade das suspensões (Correa et al, 2005).

O presente estudo objetivou a obtenção de extrato de própolis vermelha, oriunda do litoral do Pernambuco, e sua incorporação na forma farmacêutica gel, produzido a partir de polímeros com propriedades mucoadesivas, com o intuito de obter uma formulação de uso vaginal com possíveis características mucoadesivas.

Material e métodos

Própolis

A amostra foi coletada numa área de restinga próximo à cidade de Itapissuma-PE (coletada no apiário da empresa Mel Brasil Ltda, distrito de Atapuz – PE, S: 7° 33' 38" W: 35° 0'9"), em outubro de 2006, acondicionada em recipiente plástico opaco, hermeticamente fechado, e conservada sob refrigeração entre (-10 e -5°C).

Preparação do extrato

Foi preparado extrato etanólico de própolis (EEP) a 20% (m/v), por maceração durante 48h, em solução hidroalcoólica a 80%. Essa preparação foi submetida à sonicação à temperatura ambiente durante 15min no início e após o tempo de maceração. Após esse tempo, o extrato foi filtrado e acondicionado em frasco de vidro âmbar, foi então resfriado e filtrado a vácuo em papel de filtro por duas vezes para a retirada do excesso de ceras. Posteriormente foi concentrado em rotavapor à concentração de 63,85 mg/mL.

Preparação dos Géis

Foram preparados 8 lotes de bancada variando a concentração e/ou a natureza da base do gel, mantendo-se a concentração do extrato de própolis em 20 mg/g de gel. As bases utilizadas foram Pemulen TR-1 e TR-2, Natrosol, Cekol 2000 e CMC, todos com características mucoadesivas, citados na literatura (Neves, 2006; Figueiras, 2007), conforme Tabela 01.

A avaliação e subsequentes testes toxicológicos têm demonstrado uma baixa toxicidade e irritação potencial para esses polímeros. Como resultado dos testes intensivos e as propriedades oferecidas pelos polímeros, eles ganharam grande aceitação em uma variedade de produtos farmacêuticos, cosméticos e detergentes (Lubrizol, 2003). As bases foram preparadas e o extrato suspenso em propilenoglicol foi incorporado sob agitação constante com ajuste de pH ao final da manipulação.

Caracterização do Gel

Macro e Microscopia

Os aspectos organolépticos consistem em avaliar as características da formulação detectadas pelos órgãos do sentido como aspecto, cor e odor. O aspecto é detectado visualmente verificando se a formulação apresenta preci-

Tabela 1. Composição dos pilotos

COMPOSIÇÃO	P 01	P 02	P 03	P 04	P 05	P 06	P 07	P 08
Carboximetilcelulose Na ⁺	-	-	-	-	-	3%	-	-
Hidroxietilcelulose	-	2%	3%	-	-	-	-	-
Cekol 2000	-	-	-	4%	4%	-	-	-
Cremonophor	-	-	-	-	1%	-	-	-
Pemulen TR 1	0,5%	-	-	-	-	-	-	-
Pemulen TR 2	-	-	-	-	-	-	1%	1%
Silsense	1%	-	-	-	-	-	1%	1%
Novemer	3%	-	-	-	-	-	3%	3%
Óleo mineral	-	-	-	-	-	-	20%	-
Azeite de oliva	-	-	-	-	-	-	-	20%
Metilparabeno	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Propilparabeno	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01%
	%	%	%	%	%	%	%	
Propilenoglicol	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%
Ácido láctico	qsp							

pitado, turvação e/ou separação de fases. O odor é verificado pelo órgão do sentido olfato e a análise da cor é verificada por modo visual ou instrumental.

Fez-se a análise macroscópica comparando as formulações entre si e, com auxílio de microscópio óptico comum com aumento de 20x, fez-se a análise microscópica dos géis. Colocou-se em uma lâmina de vidro uma pequena quantidade de amostra, cobriu-se com uma lamínula e observou-se a aparência microscópica, registrando-se fotograficamente.

Determinação de pH

Para determinação de pH utilizou-se potenciômetro marca Micronal, modelo B 474, com eletrodo de vidro combinado com solução interna de cloreto de potássio (KCl) saturada com cloreto de prata (AgCl). O equipamento foi previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. Foi realizada uma análise de pH direta, sem diluição da amostra, em triplicata.

Determinação da densidade relativa

Para determinação da densidade relativa foi utilizado picnômetro de alumínio, específico para semi-sólidos, devidamente calibrado em água destilada e os dados coletados em triplicata. O picnômetro foi tarado e seu volume preenchido com água destilada, sendo pesado em balança analítica posteriormente com esse volume de água. Depois de seco, o picnômetro foi em seguida preenchido por completo com o gel de própolis e novamente pesado para cálculo da densidade. A densidade foi calculada a partir da equação 01.

Equação 1. Cálculo da densidade relativa:

$$d_{\text{gel, água}} = \frac{m_{\text{gel}}}{m_{\text{água}}}$$

Onde: m_{gel} é a massa do gel que ocupa o volume V do picnômetro; $m_{\text{água}}$ é a massa de água pura que ocupa o mesmo volume V.

Determinação da viscosidade

Para a análise de viscosidade foi utilizado viscosímetro da marca Brookfield, modelo DVI+ vicometer, utilizando spindle nº 6 e 7, velocidade de rotação variando de 10 em

10 até 100rpm, segundo recomendações de Van Wazer *et al.* (1972). O ensaio de viscosidade foi determinado em triplicata e o resultado da viscosidade foi expresso em unidade de cP (centi Poise).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Garg *et al.* (2003) apontaram como um dos principais problemas dos sistemas convencionais de liberação de fármacos no ambiente vaginal a rápida remoção do fármaco do local de aplicação. Os géis são sistemas semi-sólidos caracterizados por possuírem pequenas quantidades de líquidos dispersos em grandes quantidades de sólidos, mesmo apresentando características mais de um sólido que de um líquido, podem apresentar várias vantagens sobre outros sistemas de administração de medicamentos vaginal, como a maior biodisponibilidade, segurança, versatilidade e menor desperdício (Justin-temu *et al.*, 2004).

A via vaginal parece ser altamente adequada aos sistemas de liberação de fármacos mucoadesivos para tratamentos locais ou, em alguns casos, até mesmo sistêmico, sendo os géis uma das formulações mucoadesivas mais comumente estudadas e utilizadas (Edsman & Hagerstrom, 2005). O mecanismo mais aceitável atualmente para explicar a adesão às mucosas em geral é a teoria da interpenetração ou difusão. Normalmente, este processo ocorre em duas fases: a fase de contato e a fase de consolidação. Na primeira fase é necessário que ocorra um contato próximo entre o polímero mucoadesivo e a camada de muco. Como consequência, ocorre a transferência de água da camada de muco para o polímero, resultando no intumescimento (*swelling*) deste último. Deste modo, as cadeias do polímero adquirem maior mobilidade para poderem interpenetrar com as cadeias glicoprotéicas do muco (Neves, 2006). O estabelecimento subsequente de ligações químicas entre o polímero e o muco contribui para a consolidação do fenômeno mucoadesivo (Ugwoke *et al.*, 2005).

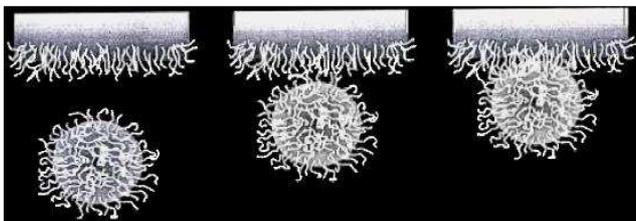


Figura 1. Teoria da interpenetração ou difusão para o mecanismo de ligação bioadesiva (Figueiras, 2007).

Outro fato digno de nota é que géis vaginais contendo agentes antimicrobianos demonstraram serem tão efetivos quanto tratamentos orais de vaginose bacteriana (Sweet, 1995). Assim sendo a escolha de géis como veículos de fármacos, em particular, para uso vaginal, reúne critérios importantes como segurança, eficácia e economia.

Determinação de pH e da densidade relativa

O pH final dos géis foram ajustados em torno de 4,5 a 5,5 para torná-los compatíveis com o pH da cavidade vaginal. O pH vaginal é um parâmetro muito importante

envolvido na eficácia de um sistema de liberação de fármacos em nível de mucosa vaginal, apresentando uma significativa associação (Ramsey, 2002). O valor do pH influencia, ainda, a carga elétrica na superfície do muco e do polímero (se este possuir grupos ionizáveis), logo pode afetar a interação entre o polímero e o muco (Ahuja *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2000; Ugwoke *et al.*, 2005). Sendo assim o ajuste do pH é válido no sentido de garantir uma boa mucoadesão.

Tabela 2. Caracterização físico-química dos géis desenvolvidos

Ensaio	P 01	P 02	P 03	P 04	P 05	P 06	P 07	P 08
pH	4,68	5,32	4,76	5,12	5,22	4,86	5,35	5,42
Densidade	0,9866 ± 0,0062	1,0038 ± 0,0801	0,9079 ± 1,0418	0,9618 ± 0,0041	0,9930 ± 0,0595	0,9865 ± 0,3700	0,9839 ± 0,0435	0,9735 ± 0,6238
Viscosidade (cps a50rpm)	352000	286220	272610	212540	182300	96810	108810	132240

Macro e Microscopia

Os aspectos macroscópicos dos géis foram analisados visualmente, depois de 48 horas em repouso a temperatura ambiente como mostra a figura 02. Pode-se notar que as formulações contendo os derivados celulósicos (1-5) apresentavam mais brilho e viscosidade, todavia nota-se, a olho nu, a presença de muitas partículas, sobretudo com a carboximetilcelulose (CMC e Cekol 2000). As bases de natrosol e CMC foram escolhidas devido sua fácil disponibilidade no mercado e pelo fato de serem as bases mais utilizadas nos produtos de uso vaginal atualmente presentes no mercado. Já as formulações feitas com polímeros de ácido acrílico apresentam-se mais homogêneas, com aspecto cremoso.

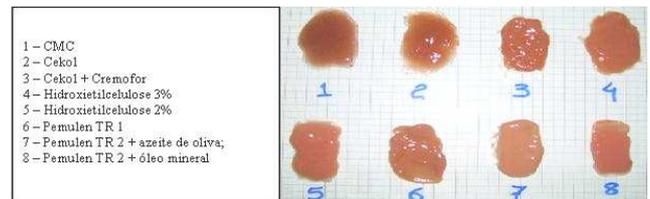


Figura 2. Aspectos macroscópicos dos géis desenvolvidos.

Pemulen é um polímero primário emulsificante de óleo em água o qual pode emulsificar mais de 30% de óleo p/p. É um formador de emulsão e não um estabilizador como a maioria dos outros carbopóis. Assim as propriedades oleosas da própolis foram mais compatíveis com o pemulen mesmo na formulação com TR1 sem óleo. Devido à sua natureza química, esses polímeros de alto peso molecular prontamente incham em água, proporcionando uma grande superfície adesiva para o máximo de contato com a mucina (a glicoproteína predominante na camada mucosa). Geralmente, são polímeros do ácido poliacrílico desenvolvido para interagir com a mucina, resultando em aderência do polímero na mucina, embora o mecanismo exato ainda não esteja totalmente compreendido (Kerr, 1990).

Embora os estudos dos mecanismos envolvidos na mucoadesão e o desenvolvimento de novos sistemas e polímeros mucoadesivos tenham evoluído nos últimos

vinte anos, a mucoadesão ainda não é totalmente compreendida. As técnicas empregadas na quantificação e qualificação ainda são tratadas de forma isolada. Uma ampla revisão sobre o assunto pode ser encontrada em Andrews *et al.* (2008) e Carvalho *et al.* (2009).

Do ponto de vista microscópico, a análise confirmou o que foi percebido na análise macroscópica para os derivados celulósicos (na forma de CMC de alta ou baixa viscosidade). Esses polímeros aniônicos, solúveis em água são obtidos através da introdução de grupos carboximetílicos ao longo da cadeia de celulose. O aspecto “grosso” das dispersões formadas pode ser derivado também da força e velocidade de agitação durante sua preparação. Resolveu-se adicionar um co-solvente (Cremofor) para melhor dispersar o extrato. O Cremofor é largamente utilizado como solubilizante de extratos vegetais. Os resultados melhoraram bastante a homogeneidade e diminuiu o tamanho das partículas dispersas, todavia a aparência não era boa e o risco de coalescência ainda era alto. Partiu-se então para outro polímero. (Ver figura 3).

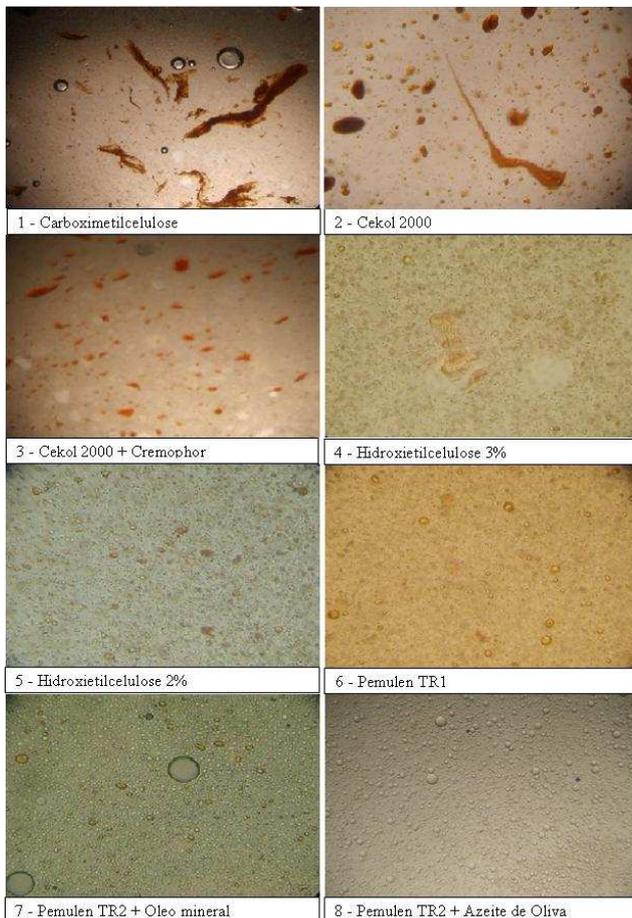


Figura 3. Aspectos microscópicos dos géis (aumento de 20x): **1** - presença de grumos (aglomerados do polímero) **2** - presença de dispersões grosseiras; **3** - Heterogeneidade e tamanho da partículas diminuído; **4** e **5** a 2 e 3% - mais homogêneo e estável que os demais, porém apresentando heterogeneidade representada pelos visíveis grumos do polímero; **6,7,8** - apresenta uma emulsão aceitável, bastante homogênea

A hidroxiethylcelulose (Natrosol), também um derivado celulósico, mostrou-se mais homogênea com partículas dispersas bem menores que na carboximetilcelulose. Esse fato leva a crer numa maior estabilidade para essas formulações em detrimento das anteriores. Os testes foram realizados com Natrosol a 3% apresentando alta viscosidade, partiu-se para uma concentração menor 2% o que melhorou a viscosidade e permaneceu a boa homogeneidade. A dificuldade encontrada foi que o processo é feito a quente e a dispersão do polímero é bastante demorada.

Com os derivados do ácido poliacrílico (Pemulen TR1 e TR2) foram alcançados os melhores resultados tanto do ponto de vista do aspecto macroscópico quanto microscópico. Após sete dias armazenadas a temperatura ambiente as formulações contendo os derivados celulósicos apresentaram-se mais viscosas, menos brilho e com coloração levemente mais escurecida. Acredita-se que a perda de água pode ser responsável por essas modificações. No caso das formulações com derivados do ácido poliacrílico a viscosidade não foi afetada. O caráter lubrificante do gel é diminuído pela perda de água, portanto é importante o uso de agentes umectantes (como o propilenoglicol nas citadas formulações) para impedir a perda de água, sendo um importante fator de aceitabilidade e uso (Braunstein, 2005).

O Pemulen TR2 suporta maiores quantidades de óleo, mantendo-se estável, do que o Pemulen TR1, dessa forma ele foi escolhido quando foram utilizados os óleos como veículos (mineral e óleo de oliva). O óleo mineral é largamente utilizado em formulações farmacêuticas inclusive semi-sólidas não apresentando toxicidade ou irritação dérmica. O óleo de oliva é indicado como lubrificante vaginal, sobretudo para mulheres após a menopausa, sendo também atóxico e sem apresentar irritabilidade dérmica. Outro fato que motiva o seu uso é a presença de atividades imunoestimulante e antimicrobiana. Estudos em animais, dependendo do protocolo, espécie e tipo de medição, geralmente apóiam a ideia de que o azeite de oliva é capaz de modular funções de células do sistema imune, existem indícios de que os efeitos do azeite de oliva na função imunológica em estudos em animais são devido ao ácido oléico, em vez de oligoelementos ou antioxidantes (Yaqoob, 1998).

O Figure 4, demonstra o perfil da viscosidade dos géis que apresentaram melhores resultados na análise macro e microscópicas.

O reograma (Figura 5) apresenta a variação da viscosidade com o aumento progressivo e regressivo da velocidade de rotação do *spindle*, podendo ser observado que os géis estudados apresentaram comportamento pseudoplástico.

Com os dados coletados é possível determinar a relação de estado reológico entre a rotação (taxa de cisalhamento) e o torque (tensão de cisalhamento), indicando o comportamento reológico típico dos géis (pseudoplástico ou dilatante). Além deste parâmetro, também podem ser extraídos dos ciclos de cisalhamento duas outras importantes variáveis experimentais: o nível máximo de torque (esforço) durante o cisalhamento e a área de histerese. O primeiro está relacionado à força necessária

para o espalhamento do gel, enquanto a área de histerese, que é inversamente proporcional a eficiência de mistura, indica o nível de desaglomeração ou falta de homogeneidade (Ferrari, 1998).

As curvas apresentadas no reograma (Figura 5) e os valores do índice de fluxo indicaram que todas as formulações apresentaram comportamento não-Newtoniano pseudoplástico, pois quanto maior a taxa de cisalhamento imposta, menor foi a viscosidade dinâmica aparente, com áreas de histerese variáveis (Ferrari, 1998). A amostra 5 apresentou grande área de histerese o que evidenciava um caráter tixotrópico da formulação. As demais, apesar de apresentarem pequenas áreas de histerese, estas foram insuficientes para classificá-las ou não como sistemas tixotrópicos, fazendo-se necessária a realização de mais testes.

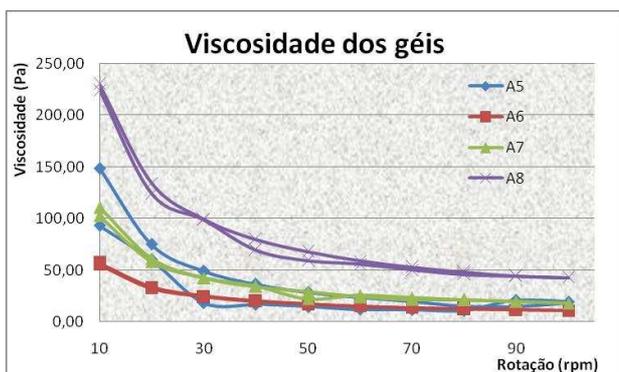


Figure 4. Perfis das viscosidades: **A5** – Hidroxietilcelulose 2%; **A6** – Pemulen TR1; **A7**- Pemulen TR2 + Azeite de oliva; **A8** – Pemulen TR2 + óleo mineral

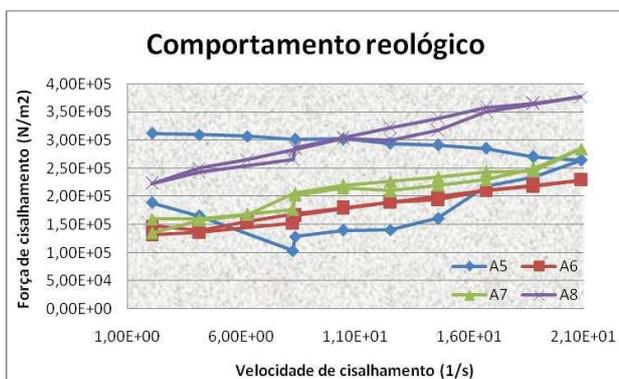


Figura 5. Comportamento reológico dos géis desenvolvidos: **A5** – Hidroxietilcelulose 2%; **A6** – Pemulen TR1; **A7**- Pemulen TR2 + Azeite de oliva; **A8** – Pemulen TR2 + óleo mineral

CONCLUSÃO

Conforme os resultados obtidos nesse estudo, confirmou-se que o tipo de polímero utilizado, assim como sua concentração na fórmula tem grande influência nas características organolépticas e reológicas de uma formulação adicionada de extrato de própolis. A natureza apolar da própolis, devido ao seu conteúdo de ceras, dificulta sua dispersão nos polímeros hidrofílicos utilizados, contudo polímeros com características emulsi-

onantes como o pemulen podem constituir em adjuvantes de escolha para esse tipo de formulação mucoadesiva. Com base nisso, evidencia-se a necessidade de estudos de otimização da formulação contendo própolis e pemulen, bem como de estudos de estabilidade conforme a legislação pertinente.

REFERÊNCIAS

- Ahuja A, Khar RK, Ali J. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.23, n.5, p.489-515, 1997.
- Andrews GP, Laverty TP, Jones DS. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008.
- Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J. Ethnopharmacology*. v. 100, p. 114-117, 2005.
- Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat Med*. v.2, p.29-32, 2005.
- Braunstein S, Van de Wijgert J. Preferences and practices related to vaginal lubrication: implications for microbicide acceptability and clinical testings. *J. Womens Health (Larchmt.)* 14, 424-433, 2005.
- Brocklehurst P, Hannah M, Mcdonald H. Interventions for treating bacterial vaginosis in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, 2002; (4):CD000262
- Correa NM, Camargo Júnior FB, Ignácio RF, Leonardi GR.. Avaliação do Comportamento Reológico de Diferentes Géis Hidrofílicos, *Rev. Bras. de Ciências Farmacêuticas*, vol. 41, n. 1, jan./mar, 2005.
- Carvalho FC, Bruschi MLB, Evangelista, RC, Gremião MPD. Sistemas mucoadesivos para liberação de fármacos. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, 2009. In press.
- Edsman K & Hagerstrom H. Pharmaceutical applications of mucoadhesion for the non-oral routes. *J. Pharm. Pharmacol.* 57, 3-22, 2005.
- Edwards L. The diagnosis and treatment of infectious vaginitis. *Dermatol Ther* 17: 102-110, 2004.
- Ferrari M. Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba. 1998. 147p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- Figueiras A, Carvalho R, Veiga F. Sistemas mucoadesivos de liberação de fármacos na cavidade oral: mecanismos de mucoadesão e polímeros mucoadesivos. *Rev. Lusófona de Ciência e Tecnologias em Saúde*; (4) 2: 216-233, 2007.
- Hay P. Recurrent bacterial vaginosis. *Curr Infect Dis Rep*; 2:506- 12, 2000.
- Imhof M, Lipovac M, Kurz Ch, Barta J, Verhoeven HC, Huber JC. Propolis solution for the treatment of chronic vaginitis. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*; 89, 127-132, 2005.

Justin-temu M, Damian F, Kinget R, Van den mooter G. Intravaginal gels as drug delivery systems. *J. Womens Health (Larchmt.)* 13, 834–844, 2004.

Kerr LJ, Kellaway IW, Rowlands C, Parr GD. The Influence of Poly(Acrylic) Acids on the Rheology of Protein Gels. *Proc Int Symp Control Rel Bioact Mat.* 17, 122, 1990.

Kujungiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol* 64: 235-240, 1999.

Lee JW, Park JH, Robinson, JR. Bioadhesive- based dosage forms: The next generation. *J. Pharm. Sci.*, v.89, p.850-866, 2000.

Longer MA & Robinson J. Fundamental aspects of bioadhesion. *In: Pharmaceutical International*, 1986, 7, p. 114-117.

Lubrizol: Pharmaceutical ingredients and products. Disponível em: <http://www.lubrizol.com/Pharmaceutical/products/PemulenPolymerProductoverview.html> (Consultado em 16/06/2009).

Neves J & Bahia, M. F. Gels as vaginal drug delivery systems. *Inter. Jour. Pharm.* 318:1-14, 2006.

Nunes LCC, Roca MFL, Randau KP, Soares Sobrinho JL, Cito AMGL, Rolim PJ. Avaliação das propriedades físico-químicas e aspectos legais de extratos de própolis comercializados no mercado brasileiro. *Rev. Bras. Farm.* 89:59-63, 2008.

Prista LN, Alves AC, Morgado R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 4.ed., 3 v, 1996.

Scazzocchio F, D'auria FD, Alessandrini D, Pantanella F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research* 4: 327-333, 2005.

Sweet RL, Gibbs R. Infectious Diseases of the Female Genital Tract, 3^a edition. Williams and Wilkins, 1995.

Ugwoke MI, Agu RU, Verbeke N, Kinget R. Nasal mucoadhesive drug delivery: Background, applications, trends and future perspectives. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57:1640-1665, 2005.

Uzel A, Sorkun K, Öncag Ö, Çogulo D, Gençay Ö, Salih, B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological Research* 160: 189-195, 2005.

Van Wazer JR, Lyons JW, Kim KY, Colwell RE. Viscosity and Flow Measurement Journal - A Laboratory Handbook of Rheology. New York: Interscience Publishers, 215-230, 1972.

Vermani K & Garg S. The scope and potential of vaginal drug delivery. *Pharm. Sci. Technol. Today.* 3: 359–364, 2000.

Yakoob, P. Effect of olive oil on immune function in middle-aged men. *Am.J.Clin.Nutr.*(67):129 -135,1998.