

**CENTRO UNIVERSITÁRIO CESMAC
PRÓ-REITORIA ADJUNTA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PESQUISA EM SAÚDE**

MARIA CÍCERA DE CERQUEIRA ALBUQUERQUE

**CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DE
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO DE PRÓPOLIS
VERMELHA DE ALAGOAS**

Maceió-Alagoas
2023

REDE DE BIBLIOTECAS CESMAC
SETOR DE TRATAMENTO TÉCNICO

A345c Albuquerque, Maria Cícera de Cerqueira
Caracterização da composição química e de atividades biológicas do
extrato de própolis vermelha de Alagoas / Maria Cícera de Cerqueira
Albuquerque – Maceió: 2023.
45 f.: il.

Dissertação (Mestrado Profissional em Pesquisa em Saúde) – Centro Universitário
CESMAC, Pró-Reitoria Adjunta de Pesquisa e Pós- Graduação, Programa de Pós-
Graduação em Pesquisa e Saúde, Maceió – AL, 2023.

Orientador: José Marcos dos Santos Oliveira.

Co-orientadora: Sônia Maria Soares Ferreira.

1. Própolis. 2. Fenóis. 3. Flavonoides. 4. Antioxidante. I. Oliveira, José
Marcos dos Santos. II. Ferreira, Sônia Maria Soares. III. Título.

CDU: 615.015.11

CESMAC

CENTRO UNIVERSITÁRIO

Rua Edson Machion, 111 - Favela Maré-AL, Bacia CEP 30501-100 - CP 126
Fone: (51) 32 2211-5000 - Telex: (51) 32 2221 0000 - www.cesmac.com.br e-mail: presidencia@cesmac.com.br

PARECER DOS MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA

NOME: MARIA CÍCERA DE CERQUEIRA ALBUQUERQUE

DATA: 10 de março de 2023

LOCAL: Campus IV do Centro Universitário Cesmac

Rua Prof. Ângelo Neto, Nº 51 – Farol – Sala de Aula 32

HORA: 14:00h

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Natanael Barbosa dos Santos – 1º Examinador Interno

Presidente da banca

Profa. Dra. Kristiana Cerqueira Mousinho – 2º Examinador Interno

Profa. Dra. Lais Farias Azevedo de Magalhães Oliveira – 3º Examinadora Externa ao programa

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DE ATIVIDADE BIOLÓGICAS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS"

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Marcos dos Santos Oliveira

CORIENTADORA: Profa. Dra. Sonia Maria Soares Ferreira

CONCEITO EMITIDO: Aprovada



Prof. Dr. Natanael Barbosa dos Santos
1º Examinador interno / Presidente da banca



Profa. Dra. Kristiana Cerqueira Mousinho
2º Examinador interno



Profa. Dra. Lais Farias Azevedo de Magalhães Oliveira
3º Examinador externo ao programa

**CENTRO UNIVERSITÁRIO CESMAC
PRÓ-REITORIA ADJUNTA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PESQUISA EM SAÚDE**

MARIA CÍCERA DE CERQUEIRA ALBUQUERQUE

**CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DE
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO DE PRÓPOLIS
VERMELHA DE ALAGOAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Pesquisa em Saúde do Centro Universitário CESMAC, na modalidade Profissional, como requisito para obtenção do título de Mestra, sob a orientação do Prof. Dr. José Marcos dos Santos Oliveira e coorientação da Profa. Dra. Sônia Maria Soares Ferreira.

Maceió-Alagoas
2023

**CENTRO UNIVERSITÁRIO CESMAC
PRÓ-REITORIA ADJUNTA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PESQUISA EM SAÚDE**

MARIA CÍCERA DE CERQUEIRA ALBUQUERQUE

**CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DE
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO DE PRÓPOLIS
VERMELHA DE ALAGOAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Pesquisa em Saúde do Centro Universitário CESMAC, na modalidade Profissional, como requisito para obtenção do título de Mestra, sob a orientação do Prof. Dr. José Marcos dos Santos Oliveira e coorientação da Profa. Dra. Sônia Maria Soares Ferreira.

Data da defesa: 10 de março de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Natanael Barbosa dos Santos

Presidente da Banca/ Membro Interno

Profa. Dra. Laís Farias Azevedo de Magalhães Oliveira

Examinadora externa

Profa. Dra. Cristiana Cerqueira Mousinho

Examinadora interna

DEDICATÓRIA

A Deus que nos criou e foi criativo nesta tarefa. Seu fôlego de vida em mim foi sustento e me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus queridos familiares por todo amor e suporte dado, por terem tido paciência e estarem comigo em todos os momentos durante essa trajetória.

A minha amiga Dayse Chaves que torceu e ajudou para que essa etapa fosse concluída.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Marcos dos Santos Oliveira e a minha coorientadora Profa. Dra. Sônia Maria Soares Ferreira, por toda confiança depositada e por permitir a conquista desse sonho

A Deus por ter me dado saúde e forças para ter continuado nessa jornada.

A minha filha, Mariana Emanuely Albuquerque Marques por toda ajuda e apoio.

Aos meus queridos colegas de laboratório, e em especial, Ingrid Leite pelos momentos de ajuda.

Por fim, aos queridos componentes da banca avaliadora, que tiraram um tempo para me prestigiar e contribuir com o avanço do meu conhecimento.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Perfil cromatográfico do extrato hexânico de PVA..... 23

Figura 2- Tubos de ensaios com a solução DPPH do extrato hexânico de PVA.....29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Curva de calibração da determinação de flavonoides totais para o extrato hexânico de PVA.....26

Gráfico 2- Curva de calibração da determinação de fenóis para o extrato hexânico de PVA.....27

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Áreas de mangue do Nordeste brasileiro e seus relativos climas . 15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultado dos flavanóides totais para o extrato hexânico de PVA.. 26

Tabela 2- Resultado de fenóis totais para o extrato hexânico de PVA27

Tabela 3- Capacidade antioxidante do extrato hexânico de PVA por DPPH....29

LISTA DE SIGLAS

Á	= ampére
ABS	= absorbância
a.C	= antes de Cristo
AlCl₃	= cloreto de alumínio
°C	= graus centígrados
(CE)₅₀	= concentração eficaz
CSR	= sequestro do radical
DPPH	= 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
HEPVA	= extrato hidroalcolico de própolis vermelha de Alagoas
PVA	= própolis vermelha de Alagoas
MAPA	= Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mgEQ/g	= miliequivalente por grama
mg/ml	= micro grama por miligrama
mL	= mililitro
m/v	= massa por volume
Na₂CO₃	= carbonato de sódio
nm	= nanômetro
µg.mL	= micro grama por mililitro
µL	= micro litro

RESUMO

A própolis vermelha de Alagoas surge como uma alternativa terapêutica em processo inflamatórios, visto que ela é rica em isoflavonoides, benzofenonas, terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos em sua composição. Esse estudo teve por objetivo caracterizar a composição química e atividades biológicas de extrato hexânico de Própolis Vermelha de Alagoas (PVA). Foi realizado um estudo experimental *in vitro* que se subdividiu nas seguintes etapas procedimentais: aquisição e extração da Própolis vermelha de Alagoas, caracterização do perfil cromatográfico, definição do teor de flavonoides, da concentração de fenóis totais e avaliação da capacidade de sequestro do radical livre. Foi possível identificar os marcadores comumente encontrados na PVA: bolusanthol D, formononetina, isoliquiritigenina, biochanina A, pinobankisina, liquiritigenina e pinocembrina. Constatou-se que o extrato hexano de própolis vermelha apresentou teor de flavonoides totais igual a 7,35 %, capacidade de sequestro do radical (CSR) DPPH de 81,34 % na concentração de 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, com IC_{50} para CSR DPPH de 9,22 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. O extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas apresentou concentração de fenóis totais de 11,76 %. Por fim, concluiu-se que os resultados demonstraram que o extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas pode ser considerada como uma potencial fonte de substâncias com atividade antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: Própolis. Fenóis. Flavonoides. Antioxidante

ABSTRACT

Red propolis from Alagoas appears as a therapeutic alternative in inflammatory processes, since it is rich in isoflavonoids, benzophenones, terpenes, flavonoids and phenolic acids in its composition. This study aimed to characterize the chemical composition and biological activities of hexane extract of Propolis Vermelha de Alagoas (PVA). An in vitro experimental study was carried out, which was subdivided into the following procedural steps: acquisition and extraction of red propolis from Alagoas, characterization of the chromatographic profile, definition of flavonoid content, total phenol concentration and evaluation of free radical scavenging capacity. It was possible to identify the markers commonly found in PVA: bolusanthol D, formononetin, isoliquiritigenin, biochanin A, pinobankisin, liquiritigenin and pinocembrin. It was found that the hexane extract of red propolis had a total flavonoid content of 7.35%, radical scavenging capacity (CSR) DPPH of 81.34% at a concentration of 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, with IC₅₀ for CSR DPPH of 9.22 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. The hexanic extract of red propolis from Alagoas showed a total phenol concentration of 11.76%. Finally, it is concluded that the results demonstrated that the hexanic extract of red propolis from Alagoas can be considered as a potential source of substances with antioxidant activity.

KEYWORDS: Propolis. Phenols. Flavonoids. Antioxidant.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 PRÓPOLIS	12
2.1.1 HISTÓRICO DA PRÓPOLIS.....	13
2.1.2 PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS	13
2.1.3 CONSTITUINTES BIOATIVOS DA PVA	15
2.1.4 QUALIDADES BIOATIVAS DA PVA	16
2.1.5 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIOXIDANTE DA PVA	17
3 OBJETIVOS	20
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
4 MATERIAL E MÉTODO	21
4.1 AQUISIÇÃO DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA	21
4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA.	21
4.2.1 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA.....	21
4.2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVANÓIDES TOTAIS DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA	22
4.2.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA	23
4.3 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA	23
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	24
5.1 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA	24
5.2 TEOR DE FLAVANÓIDES TOTAIS DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA.....	26
5.3 TEOR DE FENÓIS TOTAIS DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA.....	27
5.4 CAPACIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH DO EXTRATO HEXÂNICO DE PVA.....	29
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
7 APLICABILIDADE E CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO PARA A SOCIEDADE	33
REFERÊNCIAS	34
APÊNDICE	41

1 INTRODUÇÃO

A própolis consiste em uma resina produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir da coleta e processamento de materiais de origem vegetal, ou seja, exudatos, pólen, néctar, flores e folhas. A origem botânica da própolis vermelha de Alagoas é a *Dalbergia ecastaphyllum*, localmente chamada de rabo de bugio, sendo encontrada nas regiões de mangue do estado de Alagoas (MENEZES et al.,2022;FORT; MORAES; PARK,2008).

A composição química da própolis varia em função da região onde a colmeia está inserida, tendo em vista que as abelhas coletam os insumos para a elaboração da própolis a partir de uma origem botânica principal, bem como mediante outras espécies vegetais nativas (MEJÍA, 2021). A própolis é constituída por flavonoides, isoflavonas, ácidos fenólicos, terpenos, benzofenonas entre outros compostos, os quais definem as características sensoriais do aroma balsâmico: cor amarela, parda, verde, marrom ou vermelha. Quanto ao teor de flavonoides totais, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) classifica os tipos de própolis brasileiras em: baixo teor de flavanoides (até 1,0% m/m), médio teor de flavanoides (de 1,0 a 2,0% m/m) e alto teor de flavanoides (acima de 2,0% m/m), sendo o teor mínimo aceitável de flavanoides de 0,5% (m/m) para comercialização nacional e internacional (ASSIMOS, 2014).

Além desses marcadores, a Própolis Vermelha de Alagoas (PVA) possui também ácidos fenólicos, monoterpênos (óleos essenciais), sesquiterpênos, diterpênos, triterpênos e benzofenonas em sua composição química, os quais são responsáveis pelas atividades biológicas, haja vista que os compostos fenólicos, inclusive os flavonóides, têm sido considerados os principais constituintes biologicamente ativos desta resina, associados aos derivados do ácido cinâmico, ésteres e alguns terpenos (CABRAL et al., 2009).

Em relação à sua constituição, a própolis reúne um complexo de substâncias resinosas, processada pelas abelhas, extraída de diversas fontes de resinas vegetais. Geralmente, ela é coletada na colmeia sendo composta de 50% de resinas e bálsamo vegetal, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais e aromáticos e 10% de outras substâncias. As resinas contemplam os terpenos, flavonóides e substâncias

gordurosas e sua produção está relacionada ao crescimento vegetativo das plantas, induzido pela giberelina (CRUZ et al., 2022).

Durante a produção da própolis, as abelhas mesclam estas substâncias balsâmicas com pólen, néctar, ceras, ácidos graxos poli-insaturados e enzimas digestivas, dentre elas a enzima β -glicosidase é responsável pela hidrólise de flavonoides glicosilados a agliconas. Quando há uma grande florada as abelhas usam o pouco tempo e esforço na coleta de resinas, extraíndo o néctar e produzindo mel. Além disso, o gasto energético das abelhas que produzem própolis é muito elevado, portanto, devem ser alimentadas ou dispor de muito néctar para produzir satisfatoriamente (CABRAL et al., 2009).

Sabe-se que a Própolis vermelha de Alagoas (PVA) é rica em isoflavonoides, benzofenonas, terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos em sua composição. Em função dos seus constituintes químicos, a própolis possui atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, cicatrizante, anestésica, potencial gastroprotetor, antioxidante e até mesmo antitumoral (FRANCHIN et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2019; NASCIMENTO; VERAS, 2020).

Sendo assim, as atividades supracitadas justificam seu uso em aplicações em saúde, sendo apresentado em diversas formas como produtos nutracêuticos e na indústria de cosméticos (CUNHA et al., 2022).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição química e atividades biológicas de extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PRÓPOLIS

2.1.1 HISTÓRICO DA PRÓPOLIS

No decorrer da história da humanidade, o homem aprendeu a utilizar os produtos naturais na medicina, seja através das ervas, seja por meio das tradicionais preparações galênicas (extratos). Nesse contexto, a própolis ganha destaque por ter sido um dos produtos naturais utilizados em larga escala durante séculos, sendo

descrito pelos assírios, gregos, romanos, incas e egípcios. Os primeiros registros do uso da própolis remontam ao Egito antigo (1700 a.C.) na qual a “cera negra” era utilizada como bálsamo para os mortos (BURDOCK, 1998).

Já os gregos, entre eles Hipócrates, empregaram-na como cicatrizante interno e externo. Plínio, historiador romano, referia-se à própolis como medicamento com potencial de diminuir inchaços e mitigar dores. Também há relatos de que na antiguidade os incas faziam uso da própolis como agente antipirético (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002). O termo própolis já era conhecido no século XVI na França, cujo primeiro trabalho científico acerca das propriedades medicinais é datado em 1908 e sua primeira patente foi realizada em 1968, utilizando a própolis Romena para a produção de loções para banho, ambos indexados no *Chemical Abstracts* (TORETI et al., 2013).

No Brasil, os índios faziam uso da própolis elaborada por diferentes espécies de abelhas nativas meliponas (geoprópolis) na fabricação das suas armas e como oferenda em sepultamentos (Barth et al. 2009).

Na antiga União Soviética, a própolis recebeu especial destaque em medicina humana e veterinária, com aplicações inclusive no tratamento da tuberculose, sendo observada a remissão dos problemas pulmonares e recuperação do apetite (WOISKY; GIESBRECHT; SALATINO, 1994).

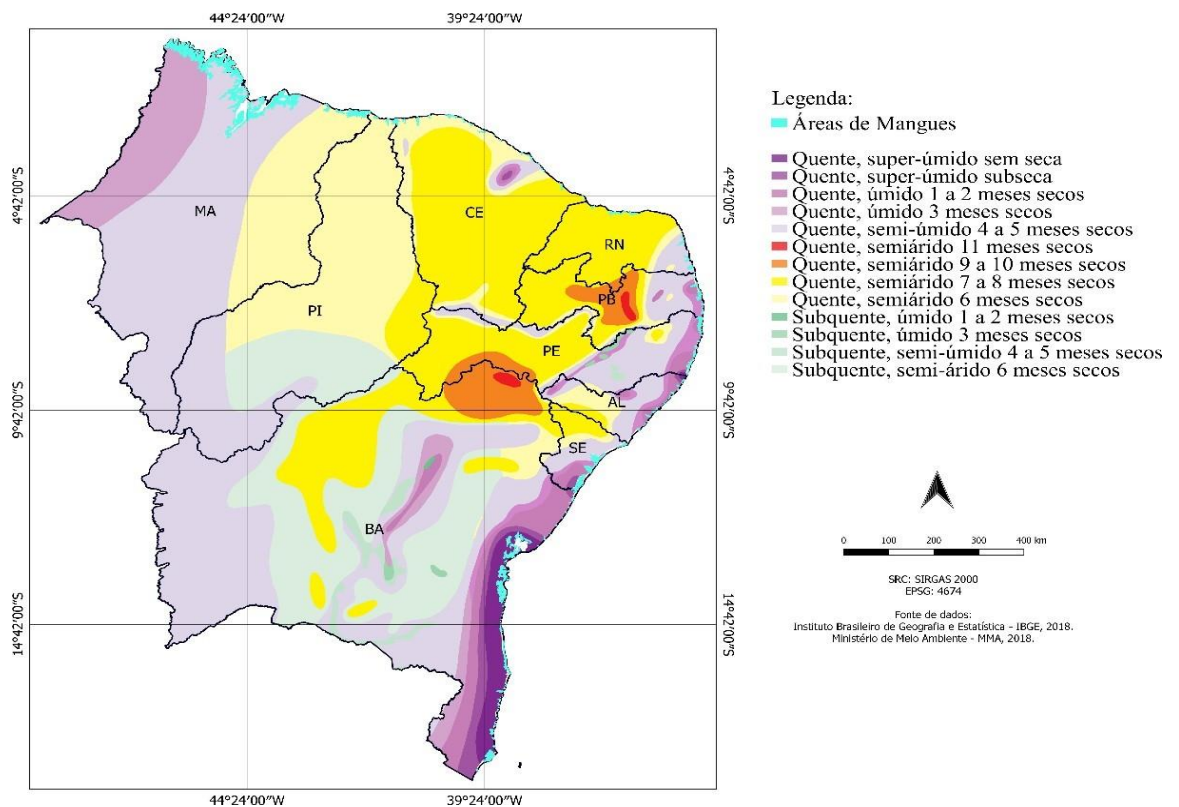
2.1.2 PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS

A própolis é constituída de resina (50%), cera (30%), óleos essenciais (10%), pólen (5%) e outros compostos (5%). São descritos na literatura mais de 200 compostos diferentes, tais como ácidos fenólicos e seus ésteres, flavonoides, terpenos, vitaminas (B1, B2, B6, C e E) e minerais (alumínio, antimônio, cálcio, céσιο, cobre, ferro, lítio, manganês, mercúrio, níquel, prata, vanádio e zinco) (LIMA et al., 2022).

A complexidade e a composição química da própolis podem ser justificadas por diversos fatores, entre eles a ecologia da flora de cada região, a sazonalidade, clima de produção e colheita. Adicionado a isso, as amostras tropicais de própolis, especificamente as brasileiras, têm exibido diferenças significativas nas suas composições químicas em relação à própolis da zona temperada (MATSUI et al., 2004).

A própolis vermelha brasileira geralmente é encontrada em colmeias próximas a manguezais do litoral do nordeste brasileiro (GATTO; CLAUZET, LUSTOSA, 2019). A própolis vermelha de Alagoas é um produto encontrado em Alagoas e em outras regiões, onde as condições de clima e vegetação encontradas nos manguezais alagoanos são favoráveis à sua produção. A PVA se distingue em função do seu alto teor de compostos fenólicos, principalmente, os isoflavonoides. A origem botânica dessa própolis em tons de vermelho é uma leguminosa denominada rabo-de-bugio (*Dalbergia ecastophyllum*), que se desenvolve em abundância na área de manguezais (CCANA-CCAPATINTA et al., 2020).

No quadro 1 verifica-se a área de manguê do Nordeste brasileiro e seus climas predominantes, ressaltando os locais com potencial para produção da própolis vermelha, bem como as variações climáticas. Verificam-se também diferenças expressivas no que tange à umidade predominante do ar e os níveis de precipitação de chuva nessas áreas, o que demonstra ser uma explicação plausível para a variedade na composição da própolis vermelha produzida nessas diferentes áreas.



Quadro 1. Áreas de mangue do Nordeste brasileiro e seus relativos climas
Fonte: Lima, 2020,

Cabe destacar que a coloração da própolis varia de acordo com sua procedência, podendo ser encontrada em tons como amarelo-esverdeado, marrom-avermelhado ao negro, conforme sua origem botânica. Além disso, a própolis possui um aroma forte e peculiar em virtude da volatilidade de seus ácidos fenólicos, que pode ser modificado de uma amostra para outra (LIMA et al., 2019).

Comparando os componentes bioativos e o potencial antioxidante de própolis marrom, verde e vermelha, foram evidenciados valores superiores de compostos fenólicos para amostra de própolis vermelha em relação às demais, os quais explicam as propriedades funcionais da própolis. Essa variação foi justificada pelo fato de que a composição química da própolis pode variar significativamente a depender da vegetação que cresce em torno das colmeias, o que influencia na atividade biológica (PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011).

2.1.3 CONSTITUINTES BIOATIVOS DA PVA

A própolis no formato de extratos etanólicos é geralmente empregada em virtude do aumento do seu conteúdo em ácidos fenólicos e flavonoides. Ademais, a variedade das composições e atividades biológicas dos extratos da própolis possui uma relação direta como o método de extração e com sua respectiva origem geográfica (OSÉS et al., 2020).

Nesse contexto, determinadas moléculas constituintes, a exemplo da formononetina, biochanina A, isoliquiritigenina, liquiritigenina, medicarpina, e vestitol foram relatadas em pesquisas de caracterização dessa própolis vermelha, as quais evidenciam as diferenças entre ela e os demais tipos de própolis brasileira (ARAÚJO et al. 2011).

Segundo Nunes et al. (2009) parte dessas moléculas são encontradas apenas na própolis vermelha do nordeste do Brasil, o que a torna um alvo para pesquisas científicas. Sendo assim, a comunidade científica acredita que o extrato de própolis vermelha ou seus ativos isolados possam ser utilizados no desenvolvimento de medicamentos, nutracêuticos e materiais para utilização em saúde.

Andrade et al. (2017), ao avaliar os componentes bioativos e o potencial antioxidante da própolis marrom, verde e vermelha do Nordeste do Brasil, constataram valores superiores de compostos fenólicos para amostra de própolis vermelha em relação as outras. Ademais, esses compostos são responsáveis pelas propriedades funcionais da própolis, cuja variação justifica-se em virtude de que sua composição química pode variar conforme a vegetação que cresce no entorno das colmeias, o que pode influenciar na atividade biológica.

Nesse contexto, o exsudato extraído pelas abelhas (*Apis mellifera*) é utilizado na preparação da Própolis Vermelha de Alagoas, haja vista ser uma espécie bastante eficiente na polinização de plantas e na produção de mel, própolis, cera e geleia real (PEREIRA; SILVA, 2022).

2.1.4 QUALIDADES BIOATIVAS DA PVA

A própolis tem sido alvo de diversos cientistas em busca de produtos farmacológicos devido suas características inatas, tais como: antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antioxidante, antitumoral, imunomodulatória, dentre outras qualidades bioativas para a saúde, sendo que esse potencial biológico é resultante da combinação de diversos constituintes químicos (CABRAL et al., 2009).

Dentre as propriedades biológicas da própolis vermelha, as funções antibacteriana e antifúngica são os principais focos no meio científico. Isso se deve à combinação de flavonoides e isoflavonoides em sua composição, em especial pela presença da flavanona naringenina, que atuam em sinergismo contra fungos e bactérias por meio de diferentes mecanismos de ação (PORTILHO et al., 2013). Entretanto, há pesquisas que evidenciam um mecanismo secundário, a partir do qual flavonoides, o ácido caféico, ácido benzóico e ácido cinâmico atuam na membrana ou parede celular do microrganismo patológico, desencadeando danos funcionais e estruturais (SOARES, 2002).

O potencial anti-inflamatório proporcionado pela própolis costuma associar-se à presença de flavonoides, principalmente, a galangina. Esta exibe atividade inibitória contra a ciclo-oxigenase e a lipo-oxigenase, além de promover a inibição da síntese de prostaglandinas, as quais são responsáveis por ativar as glândulas do timo,

visando auxiliar o sistema imunológico na produção da imunidade celular (MACHADO; DE FREITAS; PERES, 2016).

A atividade antioxidante e citotóxica da Própolis Vermelha de Alagoas foi demonstrada por pesquisadores que observaram uma concentração eficaz $(CE)_{50}$ de $270 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), e atividade semelhante a enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase e a catalase. Examinaram também a atividade antitumoral frente a células de carcinomas humanos, apresentando uma concentração de no máximo $86 \mu\text{g. mL}^{-1}$ com 24 horas de exposição para combater 50% das células tumorais (JUANES et al., 2019).

Analisando o isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante da Própolis Vermelha de Alagoas por diferentes métodos de obtenção do extrato verificaram que a própolis vermelha agrega elevado teor de compostos fenólicos totais e de flavonoides. Ademais, o composto isolado da fração hexânica possui elevada atividade sequestrante para o radical livre DPPH, sendo estatisticamente semelhante aos controles positivos para α -tocoferol e β -hidroxiácido (BISPO JÚNIOR et al., 2012).

2.1.5 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIOXIDANTE DA PVA

A atividade anti-inflamatória da própolis vem sendo mencionada em diversos estudos, haja vista que ela pode ser empregada na forma de opoterápico, com o objetivo de mitigar processos inflamatórios. Ademais, seu uso também pode ser verificado no tratamento de afecções dermatológicas, cicatrização e queimaduras (CORNARA et al., 2017).

Nesse contexto, considera-se resposta inflamatória o conjunto de processos orgânicos induzidos por um dano celular ou tecidual. Tal processo é mediado por moléculas produzidas tanto pelas células lesadas quanto pelas células do sistema imune (macrófagos, neutrófilos, basófilos, dentre outros) que se comunicam na área lesionada (GUZELMERIC et al., 2021).

A exemplo disso, moléculas pró-inflamatórias como a histamina, bradicinina e prostaglandinas participam ativamente da resposta inflamatória. Caso haja ativação sustentada do sistema imune ou a sua exacerbação, a saúde do organismo pode ser

comprometida, estando vinculada ao aparecimento de doenças, como a artrite, câncer e Alzheimer (FRANCISCHI et al., 1996).

A própolis reúne mais de 200 substâncias, dentre elas destacam-se os ácidos fenólicos e seus ésteres, álcoois, cetonas e aldeídos fenólicos, bem como traços de vitaminas (complexo B, E e C) e microelementos (alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, dentre outros). Além dessas substâncias, podem ser verificados, ainda, outros metabólitos secundários vegetais na própolis (DUAILIBE; GONÇALVES; AHID, 2007).

Esses metabólitos secundários são moléculas produzidas pelas plantas com a finalidade de responder a estímulos ambientais diversos, tais como ataque de patógenos ou de herbívoros. O principal grupo que representa esses metabólitos são os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides. Contudo, outro composto relevante no processo anti-inflamatório é a artepilina C, por se tratar de um ácido cinâmico com propriedades antimicrobianas, antitumorais e anti-inflamatórias (LOTIF, 2022).

Nessa perspectiva, estudo prévio demonstra que a mensuração da atividade anti-inflamatória da própolis pode ocorrer mediante a inibição da atividade da enzima hialuronidase, visto que essa é uma das principais responsáveis pelas reações químicas que conduzem a formação de mediadores pró-inflamatórios, tendo em vista que a despolimerização do ácido hialurônico desencadeia desgaste cartilaginoso e ósseo, sendo o ponto de partida para o desenvolvimento de processos inflamatórios (AMORIM et al., 2020).

Os antioxidantes são compostos que em baixas concentrações podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas (Halliwell e Gutteridge, 2015). Sendocapazes de inibir a oxidação desde moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos, por meio de dois mecanismos principais: um que age em sua etapa inicial envolvendo a inibição da formação de radicais livres e outro que envolve a estabilização de radicais interrompendo ou retardando a propagação da reação em cadeia (NAMIKI, 1990; SIMIC; JOVANOVIC, 1994).

De acordo com Cömert e Gökmen, 2018, os antioxidantes são agrupados em vitaminas (ácido ascórbico, tocoferóis), carotenóides (taninos condensados, xantofilas e carotenos), flavonóides (flavonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas), ácidos fenólicos (ácido hidroxibenzóico e ácido hidroxicinâmico), álcoois fenólicos, estilbenos, lignanas, taninos, compostos de enxofre e compostos neo-formados (melanoidinas).

Verifica-se uma predominância no uso de extratos etanólicos para soluções de própolis, em razão de sua comprovada eficácia como método para extração de flavanóides e compostos fenólicos com teores significativos. Desse modo, verifica-se uma relação direta de variedade de composição e atividade biológica da própolis em função de seu local de origem geográfica e do método de extração (OSÉS et al., 2020).

Diante do conhecimento sobre a importância do método de extração de própolis, procurou-se analisar o extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas para análise de quantificação de seus componentes com atividade biológicas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição química e atividades biológicas de extrato hexânico da Própolis Vermelha de Alagoas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar o perfil cromatográfico da PVA.

Conhecer o teor de fenóis totais da amostra.

Avaliar o teor de flavonoides totais.

Determinar a capacidade de sequestro do radical livre DPPH.

4 MATERIAL E MÉTODO

Caracterização das etapas de aquisição do extrato da PVA, determinação do teor de flavonoides e fenóis totais, capacidade de sequestro de radical DPPH de extrato hexânico da PVA.

4.1. Aquisição do extrato hexânico de PVA

Para a utilização da Própolis Vermelha de Alagoas no presente estudo foi necessário um cadastro de acesso ao patrimônio genético, segundo a lei nº 13.123/2015, o qual já foi executado pela equipe na data de 29 de junho de 2020, sob o número AD15AA4 (BRASIL, 2015).

A própolis *in natura* foi coletada na cidade de Marechal Deodoro (44,555' S, 35° 52,080' O) em novembro de 2020 e permaneceu a temperatura de – 8°C até ser extraída. A devida extração ocorreu a temperatura ambiente, protegida da luz e foi executada por maceração de 200g de própolis com o uso solução etanol-água na proporção 4:1 por 48 horas. Após o dado período, o macerado foi retirado, a solução etanol-água renovada e a maceração repetida. Assim, o macerado foi para o evaporador rotatório à temperatura de 45°C, e dessa forma foi obtido o extrato hidroalcoólico de própolis vermelha de Alagoas (HEPVA).

O extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas foi obtido por particionamento líquido-líquido onde 2 g do extrato hidroalcoólico foi suspenso em etanol:água (1:1) em 50 ml, adicionado em funil de separação e lavado com 200 mL de hexano por três vezes. O extrato hexânico separado foi concentrado em rotaevaporador.

4.2 Caracterização físico-química do extrato hexânico da PVA

4.2.1 Perfil cromatográfico do extrato hexânico da PVA

A própolis apresenta uma composição química complexa associada a sua origem e por isso, o emprego de métodos de comprovações químicas são importantes para comprovação de componentes característicos de suas origens. A cromatografia está relacionada com a velocidade com que as substâncias se movimentam em

determinados solventes, possibilitando sua identificação (de Moarais, et al, 2021). A própolis vermelha de Alagoas se destaca pela presença dos flavanóides: pinobanksina, isoliquiritigenina, biochanina A, pinocembrina, liquiritigenina e fomononetina (Marcucci et al,2021).

O perfil cromatográfico do extrato hexânico da PVA permitiu fazer a identificação e quantificação dos flavanóides através de análise em cromatografia líquida de ultraeficiência com detecção de arranjo de diodo (UPLC-DAD) Shimadzu equipado com desgaseificador modelo DGU-20A3R, duas bombas modelo Nexera XR® LC-20AD, auto injetor modelo Nexera XR SIL-20A, forno modelo Prominence® CTO-20A, detector de arranjo de diodos modelo Prominence SPD-M20A, detector de fluorescência modelo Prominence RF-20A e módulo controlador modelo CBM- 20A.

O sistema contemplou uma fase estacionária C18 Kinetex® (4,6 mm x 150 mm x 5 µm e tamanho de partícula de 100 Å) Phenomenex e com uma fase móvel de sistema gradiente de concentração de solventes (solvente A, água ultrapura; solvente B acetonitrila), partindo de 30% de A e chegando em 100% de B após 53 minutos. O tempo de análise foi de 60 minutos, o volume de injeção de 2 µL e a temperatura de 30 °C (± 2 °C).

Os padrões analíticos de marcadores da própolis vermelha de Alagoas foram pesados e solubilizados em metanol para obtenção de soluções estoque a 200 µg/mL⁻¹. As soluções de trabalho para realização das curvas de calibração foram de 7,5 µg/mL; 5,0 µg/mL⁻¹; 2,5 µg/mL⁻¹; 1,0 µg/mL⁻¹; 0,5 µg/mL⁻¹ e 0,15 µg/mL⁻¹. Os padrões analíticos utilizados foram: apigenina, daidzeína, biochanina A, isoliquiritigenina, liquiritigenina, quercetina, catequina, isoliquiritigenina, genisteína, naringenina, luteolina, ácido *p*-cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico, kaempferol, formononetina apigenina, ácido clorogênico, ácido rosmarínico, ácido gálico, e epicatequina. A identificação e quantificação dessas substâncias no HEPVA foram determinadas pelas curvas de calibração dos padrões.

4.2.2 Determinação do teor de flavonoides totais do extrato hexânico de PVA

A determinação da concentração de flavonoides totais do extrato hexânico de PVA, seguindo o método de Woisky & Salatino (1998) com a utilização do reagente cloreto de alumínio (AlCl₃). Para isso, foram preparadas soluções de AlCl₃ a 5% (m/v),

quercetina $1,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e extrato hexânico de PVA $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$, ambas em metanol. O volume total das reações foi de 5 mL e nelas foram colocados 100 μL de cloreto de alumínio, alíquota do padrão de quercetina ou extrato hexânico de PVA e metanol.

Para o extrato hexânico de PVA, as concentrações testadas foram de 75 $\mu\text{g.mL}$, 100 $\mu\text{g.mL}$, 150 $\mu\text{g.mL}$, 175 $\mu\text{g.mL}$ e 200 $\mu\text{g.mL}$. Após repouso por 30 minutos, sob temperatura ambiente e também protegida da luz, realizou-se a leitura dos resultados no espectrofotômetro ajustando em 425 nm de comprimento de onda, no qual o branco do equipamento foi o metanol. A partir da curva de calibração da quercetina o teor de flavonoides totais foi estimado.

4.2.3 Determinação do teor de fenóis totais do extrato hexânico de PVA

Para a definição do teor de fenóis totais, foram preparadas soluções estoques de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 5 % (m/v), ácido gálico a 1 mg/mL e extrato hexânico de PVA, a 10 mg/mL. O volume total dessas reações foi de 5 mL e as mesmas foram compostas por 250 μL do reagente Folin-Ciocalteu (FC), alíquota de extrato hexânico de PVA, conforme as respectivas concentrações finais de extrato, 1 mL de Na_2CO_3 a 5% e água ultrapura. Para o extrato hexânico de PVA, foram utilizadas as concentrações 10 $\mu\text{g.mL}$, 20 $\mu\text{g.mL}$, 30 $\mu\text{g.mL}$, 40 $\mu\text{g.mL}$, 50 $\mu\text{g.mL}$, 60 $\mu\text{g.mL}$ e 75 $\mu\text{g.mL}$.

A reação ocorreu por 2 horas, a temperatura ambiente e protegida da luz. Após período de reação, foi realizada a leitura dos resultados em espectrofotômetro ajustado para 760 nm. O branco do equipamento representou a água ultrapura. Desse modo, a partir da curva de calibração do ácido gálico ($2,0 - 10,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$) foi estipulado o teor dos fenóis totais.

4.3 Determinação da capacidade de sequestro do radical dpph do extrato hexânico de PVA

A atividade antioxidante do extrato hexânico de PVA foi avaliada pelo método de sequestro do radical livre DPPH (PIRES et al., 2017). Em um primeiro momento pesou-se 3,9 mg de DPPH que foram solubilizados em 100 mL de etanol. Pesou-se 10 mg do extrato bruto de própolis que foi diluído em 10 mL de álcool etílico obtendo-se uma solução de concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Para a determinação da

capacidade do sequestro do radical livre DPPH foram preparadas solução do seguinte final a ser obtida e completou-se o volume do balão de 5 mL com etanol.

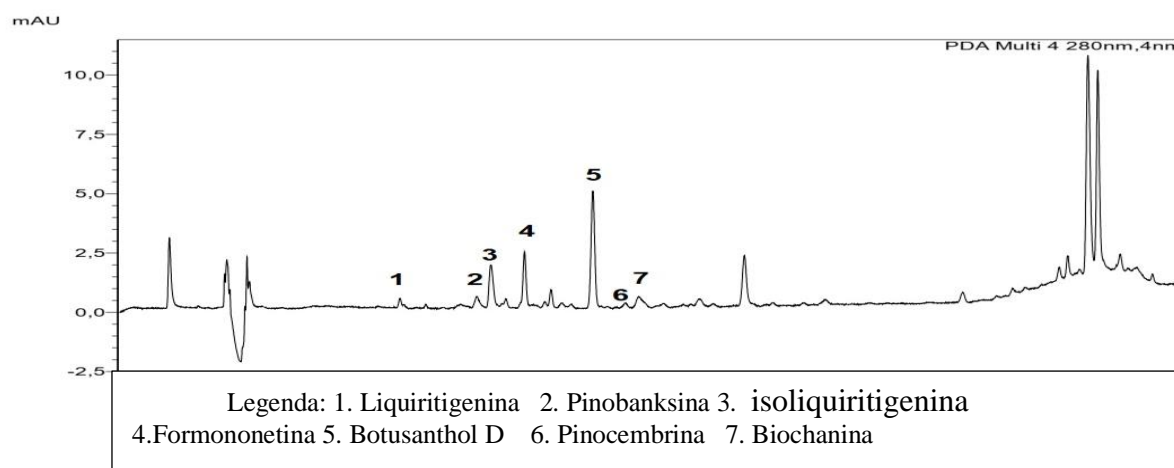
As soluções preparadas ficaram em reação por 30 minutos, protegidas da luz. Em seguida foi realizada a leitura da absorbância no espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 520 nm. O aparelho utilizado foi o Spectrophotometer SP2000UV (BEL Photonics).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Perfil cromatográfico do extrato hexânico de PVA

No presente estudo foi possível identificar sete marcadores comumente presentes no extrato hexânico de PVA : liquiritigenina (1), pinobanksina (2), isoliquiritigenina (3), formononetina (4), bousanhol D (5), pinocembrina (6) e biochanina A (7), conforme apresentado da figura 1.

Figura 1: Perfil cromatográfico do extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas.



Fonte: Autora, 2023.

De acordo com os estudos de Ruffato et al 2018, a caracterização da própolis vermelha, e sua diferenciação de outros tipos de própolis brasileira está relacionada com a presença de doze moléculas constituintes como elemicina, isoelemicina, metil isoeugenol, metil eugenol, formononetina, biochanina A, isoliquiritigenina,

liquiritigenina, medicarpina, homopterocarpan, quercetina e vestitol. Nos resultados deste estudo houve a corroboração no encontro de quatro moléculas marcadoras da própolis vermelha: formononetina, biochanina A, isoliquiritigenina e liquiritigenina.

Oldoni (2007) ao avaliar a capacidade antioxidante de isoflavonas da própolis vermelha e a bioatividade de *Dalbergia odorífera* T. Chen., observou a importância dessa família das leguminosas (as quais produzem isoflavonóides como metabólitos secundários em resposta às condições de estresse sofridas pela planta, como fonte de resina para a própolis, além de sugerir um grande potencial biológico para a própolis vermelha brasileira. Os compostos daidzeína, biochanina A (LÓPEZ et al., 2014), pinocembrina e quercetina (MENDONÇA et al., 2015) são biomarcadores da própolis vermelha brasileira. Além desses compostos, outros estudos trazem ainda como biomarcadores da própolis vermelha o vestitol e neovestitol, C-glicosídeo, liquiritigenina, isoliquiritigenina, formononetina e medicarpina (FROZZA et al., 2013; LÓPEZ et al., 2014). Andrade et al. (2017), avaliando os componentes bioativos da própolis vermelha encontraram quantidades significativas de constituintes fenólicos, e associaram a presença de alguns desses compostos polifenólicos a atividades antibacterianas, antitumorais, antiinflamatórias, antioxidantes e ainda outras propriedades terapêuticas benéficas à saúde humana. Segundo Oršolic e colaboradores (2004), tais características bioativas podem ser atribuídas aos constituintes como os flavonoides.

De Moraes et al, 2021, realizou um trabalho de pesquisa com o propósito de avaliar a otimização das atividades antioxidante da própolis vermelha. Em seus achados, semelhantemente ao nosso estudo também verificou a presença de pinocembrina, isoliquiritigenina, formononetina e Biochanina A. Os autores salientaram a presença da pinocembrina como um importante marcador da própolis vermelha.

Capatinta et al 2020, encontrou em sua pesquisa nove picos cromatográficos principais em amostra de própolis vermelha sendo correspondentes a liquiritigenina, isoliquiritigenina, formononetina, vestitol, neovestitol, medicarpina, 7-O- neovestitol, guttiferona E e oblongifolina. Destes sete corroboraram com os achados deste estudo: liquiritigenina, isoliquiritigenina, formononetina, vestitol, neovestitol e medicarpina.

Méjia et al, 2021, também corroboram com alguns achados deste estudo. Em seu trabalho de pesquisa encontraram na própolis vermelha três moléculas principais:

vestitol, medicarpina e neovestitol, das quais verificou presença também nos ramos da *Dalbergia ecastaphyllum*.

Embora o neovestitol seja um dos principais componentes bioativos da própolis vermelha de Alagoas, com atividades antioxidantes bem demonstradas (Silva et al, 2017), neste estudo não foi verificada a presença de neovestitol na solução hexânica de PVA.

A biochanina A é uma isoflavona O-metilada. É um composto orgânico natural da classe dos fitoquímicos, conhecido como flavanóides. A biochanina A pode ser encontrada no trevo vermelho na soja, nos brotos da alfafa, no amendoim, no grão de bico e em outras leguminosas. A biochanina A possui ação anti-inflamatória, anticancerígena, neuro-protetiva, antioxidante, antimicrobiana e com propriedades hepatoprotetivas (Sarfraz, et al,2020).

5.2 Teor de flavonoides totais do extrato hexânico de PVA

No presente estudo, o conteúdo de flavonoides encontrados no extrato hexânico de própolis vermelha foi de 7,35 %, portanto um alto teor de flavonoides na menor concentração avaliada (Tabela 1). Segundo a Instrução Normativa Nº 03 de 19 de janeiro de 2001 do MAPA, atualmente vigente e que dispõe sobre os critérios de qualidade de amostras de própolis no Brasil, uma própolis pode ser classificada como de baixo teor de flavonoides (1,0 %), médio teor de flavonoides (de 1 a 2,0 %) e alto teor de flavonoides (acima de 2 %). Dessa forma, a amostra de própolis analisada é caracterizada como de alto teor de flavonoides, conforme apresentado na Tabela 1.

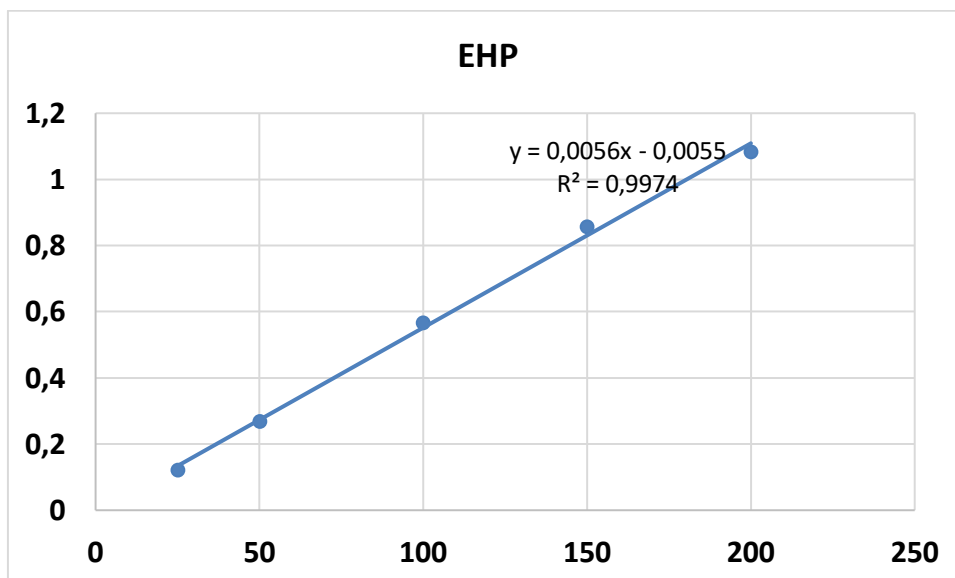
Tabela 1: Resultado dos flavonoides totais para o extrato hexânico de PVA

Hexânico µg.Ml	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média	DP	%CV	Quercetina	Flavonoides	Flavonoides Totais
75	0,09	0,12	0,13	0,12	0,02	17,94	1,43	5,72 %	7,35 %
100	0,26	0,27	0,27	0,26	0,00	1,34	3,59	7,18 %	
150	0,55	0,57	0,57	0,56	0,01	2,14	7,95	7,95 %	
175	0,83	0,87	0,86	0,85	0,02	2,76	12,19	8,12 %	
200	1,08	1,08	1,08	1,08	0,00	0,26	15,53	7,76 %	

Fonte: Autora, 2023.

De acordo com o resultado de linearidade da curva de calibração (gráfico 1), foi possível estabelecer concordância com os resultados obtidos.

Gráfico 1: Curva de calibração da determinação de flavonoides totais para o extrato hexânico de própolis.



Fonte: Autora, 2023.

Os resultados encontrados neste estudo corroboraram com os achados de 7,34% de flavanóides totais em própolis vermelha no trabalho de Lima, 2020, que realizou análises multivariadas da capacidade antioxidante da própolis vermelha.

Santos Júnior et al, 2019 realizou pesquisa para determinar as características químico-biológicas da própolis vermelha de Belmonte-Bahia obtendo um resultado de flavanoides de 4,85 mgEQ/g, apresentando desta forma um resultado inferior ao encontrado nesta pesquisa de 5,37%. Contudo, os referidos estudos tiveram resultados bem inferiores aos encontrados por Daughsh et al, 2007, que analisaram própolis vermelha da região nordeste brasileira encontrando 15,73 mgEQ/g.

5.3 Teor de fenóis totais do extrato hexânico de PVA

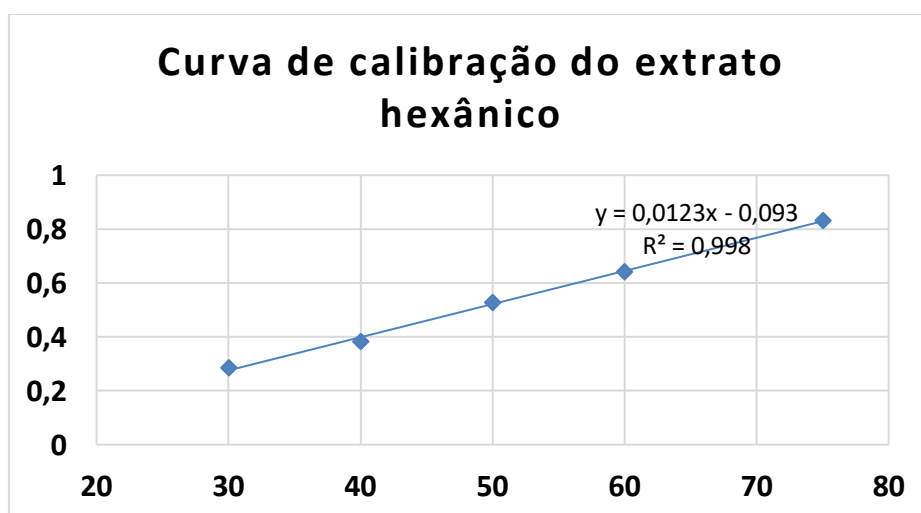
A partir do extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas em diferentes concentrações, foi encontrado a porcentagem de 11,76 % de média para a quantidade de fenóis totais. Valor próximo ao encontrado por Bonveti et al, 2012, que analisou amostra de própolis brasileira e encontrou valores de 10,1% para fenóis e 3% para flavonóides totais.

Tabela 2: Resultado de fenóis totais para o extrato hexânico de PVA

Hexano [ug/mL]	ABS1	ABS2	ABS3	Média	DP	DPR %	Ácido Gálico(1)	Ácido Gálico(2)	Ácido Gálico(3)	Ácido Gálico (média)	Ácido Gálico (DP)	Fenóis Totais %	Média Fenóis totais
10	0,12	0,09	0,10	0,10	0,01	16,54	1,08	0,63	0,80	0,84	0,22	8.42	11,76
20	0,19	0,19	0,22	0,20	0,01	8,24	1,95	1,86	2,26	2,02	0,21	10.13	
30	0,29	0,27	0,28	0,28	0,01	4,08	3,18	2,89	3,08	3,05	0,14	10,17	
40	0,39	0,38	0,37	0,38	0,00	1,48	4,36	4,26	4,22	4,28	0,07	0,71	
50	0,50	0,53	0,54	0,52	0,02	4,23	5,77	6,17	6,31	6,08	0,28	12,17	
60	0,59	0,67	0,66	0,64	0,04	6,89	6,88	7,88	7,81	7,53	0,55	12,55	
75	0,83	0,84	0,81	0,83	0,01	1,86	9,90	10,11	9,72	9,91	0,19	13,22	

Fonte: Autora, 2023.

De acordo com o resultado de linearidade da curva de calibração (gráfico 2), foi possível estabelecer concordância com os resultados obtidos.

Gráfico 2: Curva de calibração da determinação de fenóis para o extrato de PVA

Fonte: Autora, 2023.

Verificamos discordâncias com os achados de Oliveira, 2016, com valor referente ao teor de fenóis totais em soluções etanólicas e em óleos essenciais com própolis vermelha no valor de 63,1 mg g⁻¹.

Ruffato et al, 2018 demonstrou em extrato etanólico de própolis vermelha valores de 7,33 mgEQ/g. A variação do teor de fenóis da PVA em função da sua localização

geográfica e da época de sua colheita. Oliveira et al, 2012 encontrou variações no valor total de fenóis em PVA, entre 3,36 % e 4,81%, enquanto Silva et al, 2006 encontrou valores de fenóis totais em amostras de PVA entre 2,93% a 8,13%.

Observa-se valores bastantes superiores de fenóis totais nos achados de Melo, Matsuda e Almeida-Muradian, 2012, com valores médios de 29,52% em própolis oriundas da região nordeste do Brasil.. Tais achados foram semelhantes aos de Basílio, 2018, que encontrou 30,2% de fenóis totais em extrato alcoólico de própolis vermelha de Alagoas.

Com base em Righi et al. (2013) os flavonoides apresentam elevado poder antioxidante, assim como outras propriedades biológicas. Já Mello e Hubinger (2012), apontam que são os fenóis que contribuem para a atividade antioxidante. Desse modo, percebe-se que a grande variedade de constituintes da própolis vermelha é a chave para suas atividades biológicas, inclusive relacionados a propriedade antioxidante.

É importante observar a relação existente entre as variações sazonais e a quantidade de compostos fenólicos encontrada na própolis, visto que em épocas chuvosas o número de espécies botânicas em estado vegetativo é superior quando comparado ao período seco (Basílio, 2018).

5.4 Capacidade de sequestro do radical livre dpph do extrato hexânico de PVA

O método utilizado para observar a capacidade antioxidante do extrato de própolis vermelha de Alagoas foi o método do DPPH, amplamente empregado neste tipo de amostra por ser realizado em meio orgânico, o que diminui os problemas relativos à solubilidade e por ter boa sensibilidade e fácil execução, visto que o radical é disponível comercialmente (OLIVEIRA, 2016).

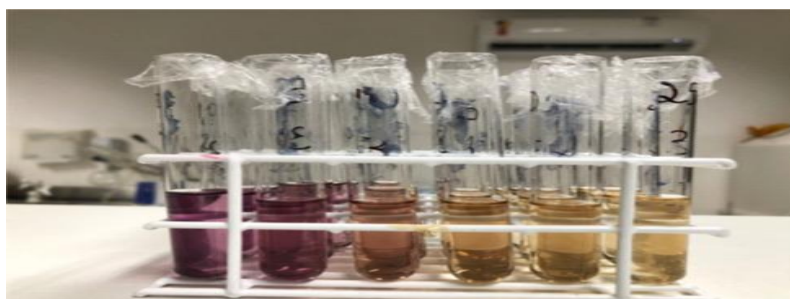
O presente estudo apontou que o extrato de própolis hexânico apresentou capacidade de sequestro do radical DPPH de 81,34% na concentração de 25 µg. mL⁻¹ (Tabela 3).

Considerando a atividade antioxidante da Própolis Vermelha Alagoana através dos resultados do nosso trabalho em relação à determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH pudemos verificar semelhança com o resultado de Cabral, et al 2009 que analisou a composição fenólica e atividade antioxidante da PVA e obteve valores de sequestro de radicais livres de 74,7% corroborando com valores

elevados, como verificados nos achados deste estudo, onde foram encontrados valores de 81,34%

Foi verificado que quanto mais intensa a cor roxa, maior a absorbância por conta da maior concentração de DPPH disponível na solução. Quanto maior a concentração do extrato de própolis vermelha adicionada à solução, menor a absorbância por conta do sequestro do radical livre DPPH. Sendo assim, quanto menor a absorbância obtida nesse resultado, maior o potencial antioxidante da solução analisada (Figura 2). Os resultados de CSR podem ser observados na Tabela 3.

Figura 2: Tubos de ensaio com as soluções de DPPH do extrato hexânico da PVA



Fonte: Autora, 2023.

Tabela 3: Capacidade antioxidante do extrato hexânico de PVA por DPPH.

DPPH[ug/mL]	ABS1	ABS2	ABS3	CSR% 1	CSR% 2	CSR% 3	CSR média%	DP
1	0,565	0,55	0,555	2,08	4,68	3,81	3,52	0,60
5	0,389	0,383	0,38	32,58	33,62	34,14	33,45	0,36
10	0,219	0,222	0,235	62,05	61,53	59,27	60,95	1,17
15	0,165	0,165	0,141	71,40	71,40	75,56	72,79	2,12
20	0,129	0,128	0,131	77,64	77,82	77,30	77,59	0,26
25	0,108	0,103	0,112	81,28	82,15	80,59	81,34	0,78

Fonte: Autora, 2023.

Portanto, a caracterização química realizada demonstrou que o extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas apresenta alto teor de flavonoides e alto teor de compostos fenólicos totais, de acordo com a Instrução Normativa nº 03 do MAPA. Além disso, o supracitado extrato apresentou capacidade de sequestro de radical livre DPPH, o que viabiliza a utilização dessa matéria prima natural no desenvolvimento de formulações para a prática clínica visando ofertar atividade

antioxidante e anti-inflamatória através do extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo se limitou à caracterização do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas como estratégia de posterior uso no desenvolvimento de formulação de cicatrizante à base de própolis. No entanto, entende-se que é necessário a condução de ensaios clínicos mais robustos para encontrar evidências suficientes e estabelecer protocolos de intervenção terapêutica reconhecidos internacionalmente para utilização de formulações à base de extratos de própolis vermelha como estratégia para prevenção e tratamento de doenças.

7 APLICABILIDADE E CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO PARA A SOCIEDADE

A caracterização do extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas, ou seja, da matéria prima, é o primeiro passo para o desenvolvimento, avaliação e uso de biomateriais cicatrizantes e anti-inflamatórios contendo esse importante biomaterial em sua composição.

REFERÊNCIAS

AMORIM, Jussilene A. et al. Ação anti-inflamatória da própolis. **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)(Editora Pasteur, PR, Brasil)**, p. 208, 2020. Disponível em: <https://editorapasteur.com.br/wp-content/uploads/2021/07/VOL-2-BIOETICA-E-SAUDE-PUBLICA-eI9qkc.pdf#page=217>. Acesso em: 21 out. 2022.

ANDRADE, J. K. S. et al. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129-138, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996917305380>. Acesso em: 25 ago. 2022.

ARAÚJO, E. D. de et al. Influência da coloração de frações cromatográficas na atividade antimicrobiana de própolis vermelha. **Scientia plena**, v. 7, n. 10, p. 1-6, 2011. Disponível em: <https://scientiaplena.org.br/sp/article/view/517>. Acesso em: 13 fev. 2022.

ASSIMOS, Ariane Araujo. **Avaliação da concentração e dos tipos de flavonoides na própolis, utilizando métodos quimiométricos de classificação e calibração**. 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SFSA-9LKH22>. Acesso em: 25 out. 2022.

BASÍLIO, J. A. D. Desenvolvimento e avaliação in vitro da atividade cicatrizante de membranas poliméricas incorporadas com própolis vermelha. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2018. Disponível em <https://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/3603>. Acesso em 10 de abril de 2023.

BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P. Palynological analysis of Brazilian red propolis samples. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 48, n. 3, p. 181-188, 2009

BISPO JUNIOR, W. et al. Atividade antimicrobiana de frações da própolis vermelha de Alagoas, Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 1, p. 3-10, 2012. Disponível em: <https://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/4589>. Acesso em: 14 jan. 2022.

BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2015. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2015-2018/2015/lei/l13123.htm. Acesso em: 12 jan. 2022.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical toxicology**, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691597001452>. Acesso em: 24 jan. 2022.

CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/Vq7VYxwtFSPDJRLs7y7TtXH/?lang=pt>. Acesso em: 27 fev. 2022.

CCANA-CCAPATINTA, G. V. et al. Dalbergia ecastaphyllum (L.) Taub. and Symphonia globulifera Lf: The botanical sources of isoflavonoids and benzophenones in Brazilian red propolis. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2060, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/9/2060>. Acesso em: 13 fev. 2022.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76–93, 2018.

CORNARA, Laura et al. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. **Frontiers in pharmacology**, p. 412, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2017.00412/full?fbclid=IwAR0sAjiEM6zk6Y5lryozFZIGsGoHF-gv5u15U8U3hft2RyewOA9NSsUeAQo>. Acesso em: 14 dez. 2022.

CRUZ, F. B. da. et al. Fatores de heterogeneidade do potencial antioxidante da própolis da abelha apis mellifera: uma revisão. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 34, n. 1, p. 58-85, 2022. Disponível em: <https://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=2994>. Acesso em: 06 ago. 2022.

CUNHA, Gustavo Aparecido da et al. Própolis: um agente antioxidante neutralizador de radicais livres e redutor do estresse oxidativo. 2022. Disponível em: <http://bdtd.unifal-mg.edu.br:8080/handle/tede/1967>. Acesso em: 27 nov. 2022.

DAUGSCH, A. et al. A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas características químicas e biológicas. **Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações**. (Tese de Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.2007. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UNICAMP30_918320059cbf7de9487c8f8e1917b6d3. Acesso em 10 de abril de 2023

DE MELO, A. A. M., MATSUDA, A. H.e DE ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Identidade e qualidade da própolis proveniente de quatro regiões do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 2012.71(3), 540-548. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32462>. Acesso em 10 de abril de 2023.

DE MORAIS, D. V. et al. Active Antioxidant Phenolics from Brazilian Red Propolis: An Optimization Study for Their Recovery and Identification by LC-ESI-QTOF—MS/MS. **Antioxidants**. 16;10(2).2021. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33669251/>. Acesso em 29/03/2023.

DUALIBE, Silvana Alves de Carvalho; GONÇALVES, Azizedite Guedes; AHID, Fernando Jorge Mendes. Effect of a propolis extract on Streptococcus mutans counts in vivo. **Journal of Applied Oral Science**, v. 15, p. 420-423, 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/jaos/a/CKznhPMrz86bTFjh7shTZdp/?lang=en&format=html>. Acesso em: 13 nov. 2022.

FORT, P.; MORAES, C. S.; PARK, Yong Kum. Própolis vermelha do nordeste: nova descoberta e potencial atividade antimicrobiana. **Sínteses: Revista Eletrônica do SimTec**, n. 2, p. 210-210, 2008. Disponível em: <https://econtents.bc.unicamp.br/inpec/index.php/simtec/article/view/8578>. Acesso em: 01 mar. 2022.

FRANCHIN, M. et al. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European journal of medicinal chemistry**, [s. l.], v. 153, p. 49-55, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28755848/>. Acesso em: 12 jan. 2022.

FRANCISCHI, Janetti N. et al. Pharmacological Characterization of Sephadex-Induced Oedema in Rat Paws: Predominant Role of Serotonin and Platelet-Activating Factor. **International archives of allergy and immunology**, v. 109, n. 4, p. 398-406, 1996. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/237269>. Acesso em: 11 dez. 2022.

GATTO, D. B.; CLAUZET, M.; LUSTOSA, M. C. Governança ambiental e Indicação Geográfica: o caso da denominação de origem manguzeiras das alagoas. **Desenvolvimento Regional em Debate**, v. 9, n. 2, p. 229-247, 2019. Disponível em: <https://www.redalyc.org/journal/5708/570864650011/570864650011.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2022.

GUZELMERIC, Etil et al. Comparison of antioxidant and anti-inflammatory activity profiles of various chemically characterized Turkish propolis sub-types: Which propolis type is a promising source for pharmaceutical product development?. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 203, p. 114196, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708521003071>. Acesso em: 16 dez. 2022.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 5. ed. Oxford. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=3DIKCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=bonD4TBpIR&sig=4ycV3GxDILXMAcXHbhokQPXZ0UY&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 10 de abril de 2023.

JUANES, C. de C. et al. Própolis vermelha e L-lisina na angiogênese e no crescimento tumoral em novo modelo de bolsa jugal de hamster inoculada com células de tumor de Walker 256. **Einstein (São Paulo)**, v. 17, n. 2, p. 1-7, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/QbYLx6JKG5CQkFn8dLTddGg/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 10 fev. 2022.

LIMA, Amanda Beatriz Sales de. Prospecção de constituintes bioativos em própolis vermelha do estado da Bahia: utilização de espectroscopia NIR e MIR para calibração multivariada. Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2020, Disponível em: <http://www2.uesb.br/ppg/ppgecal/wp->

<content/uploads/2020/07/Disserta%C3%A7%C3%A3o-final-AMANDA.pdf>. Acesso em 10 de abril de 2023.

LIMA, A. B. S. de. et al. Quantificação de constituintes fenólicos de extratos de própolis vermelha de diferentes concentrações por HPLC. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e1111830536-e1111830536, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/30536>. Acesso em: 11 ago. 2022.

LIMA, D. R. F. de. et al. 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. Disponível em: <https://periodicos.feevale.br/seer/index.php/revistatecnologiaetendencias/article/view/2078>. Acesso em: 21 ago. 2022.

LOTIF, Mara Assef Leitão. Estabilidade, avaliação clínica e microbiológica de dentifrício de própolis vermelha brasileira. 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/67727>. Acesso em: 19 nov. 2022.

MACHADO, A. C.; DE FREITAS, A.; PERES, S. H. C. S. Atividade anti-inflamatória de produtos naturais em Odontologia: uma revisão sistemática. **Revista Fitos**, v. 10, n. 1, p. 47-58, 2016. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/263>. Acesso em: 04 mar. 2022.

MARCUCCI, M.C. et al. **Metodologias acessíveis para a quantificação de flavanóides e fenóis totais em própolis**. Revista Virtual de Química.v.13.n.1. São Paulo.2021

MATSUI, T. et al. Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3, 4, 5-tri-O-caffeoylquinic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 11, p. 1797-803, 2004. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/27/11/27_11_1797/_article/-char/ja/. Acesso em: 04 fev. 2022.

MÉJIA, J.A. A. et al. Validated HPLC-UV method for the analysis of phenolic compounds in Brazilian red própolis and *Dalbergia ecastaphillum*. **Pharma Biomed**. Anual.2021; 198:114029. Disponível em <http://bv.fapesp.br/pt/publicacao/192780/a-validated-hplc-uv-method-for-the-analysis-of-phenolic-comp>. Acesso em 30 de março de 2023.

MELLO, B. C. B. S., HUBINGER, M. D. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. **Food Science & Technology**, Basel, v. 47, n. 1, p. 2510-2518, 2012.

MENEZES, H. Propolis: A review of the recent studies of its pharmacological properties. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 405-411, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/FmZNzDD5zCqgCBjMmcgdJmf/abstract/?lang=en>. Acesso em: 11 dez. 2022.

NASCIMENTO, G. P. V. do.; VERAS, T. de. F. Atividade antimicrobiana e antifúngica de amostras comerciais de extrato alcoólico de própolis verde e própolis vermelho

contra cepas causadoras de lesões cutâneas. **Revista Ibero-americana de Podologia**, v. 2, n. 2, p. 182-189, 2020. Disponível em: <https://iajp.com.br/index.php/IAJP/article/view/33>. Acesso em: 13 jul. 2022.

NASCIMENTO, T. G. et al. Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 18293, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-54591-3>. Acesso em: 23 jun. 2022.

NUNES, L. C. C. et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p. 524-529, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/jcqVYXspmRLc5LJg8D4ds7m/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 02 mar. 2022.

OLIVEIRA, K.A.M. et al. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis. **Seminário de Ciência Biologia e Saúde**. V.33.2012.p.211-222. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/10827/12168>. Acesso em 07/04/2023.

OSÉS, S. M. et al. Phenolic profile, antioxidant capacities and enzymatic inhibitory activities of propolis from different geographical areas: Needs for analytical harmonization. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 75, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/1/75>. Acesso em: 04 mar. 2022.

PEREIRA, A. dos S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. de. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/8Fq7H5XxvKJXhtZLS4gYDTc/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 18 jan. 2022.

PEREIRA, T. A. C.; SILVA, F. L. da. Efeito do extrato de própolis sobre o processo de cicatrização da pele: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e30111729696-e30111729696, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/29696>. Acesso em: 27 ago. 2022.

PINTO, L. de M. A.; PRADO, N. R. T. do; CARVALHO, L. B. de. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de farmácia**, v. 8, n. 3, p. 25-35, 2011. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/15805>. Acesso em: 09 fev. 2022.

PIRES, J. et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, v. 12, p. 1-6, 2017. Disponível em: DOI:10.13140/RG.2.2.35838.69446. Acesso em: 20 jul. 2022.

PORTILHO, D. R. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do Tocantins. **Revta Cient. ITPAC**, v. 6, p. 1-8, 2013. Disponível

em: <https://assets.unitpac.com.br/arquivos/Revista/62/1.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2022.

RIGHI, A. et al. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **J Sci of Food Agric**, v. 91, p. 2363-2370, 2011.

RUFATTO, L.C. et al. Brazilian red propolis: Chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. **Microbiological Research**. Volume 14. September 2018, Pages 74-82. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501318301204?via%3Dihub>. Acesso em 30 de março de 2023.

SANTOS JÚNIOR, R. E. et al. **Avaliação do perfil de bioativos e atividade antioxidante do extrato etanólico de própolis vermelha proveniente da Bahia**. VI. Seminário de Avaliação de Pesquisa Científica e Tecnológica SENAI CIMATEC, 2021

SARFRAZ, A. et al. Biochanina A: A novel bioactive multifunctional compound from nature. **National Library of Medicine**. v.722. jun. 2020. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969720314200>

SABATIER, s. et al, Identification of Flavonoids in Sunflower Honey. **Journal of Food Science**. v.57.n.3.1992.

SILVA, B.B. et al. Anti-inflammatory mechanisms of neovestitol from Brazilian red propolis in LPS-activated macrophages. **Journal of Functional Foods**, V.36; n.9. 2017. P.440-447.

SILVA, M.B. et al. Desenvolvimento de productos à base de extrato de plantas para o controle de doenças de plantas. IN: VENEZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Epamig/CTZM/ UFV, 2006.

SILVA, R.A. et al. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência rural**.v.36.2006.p.1842-1848.

SIMIC, M. G.; JOVANOVIC, S. V. Inactivation of Oxygen Radicals by Dietary Phenolic Compounds in Anticarcinogenesis. In: **Food phytochemicals for cancer prevention II**. Washington: American Chemical Society, 1994. v. 547p. 20–33.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/mZxTyVMspZY9WJgC7SSFnbnh/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 fev. 2022.

TORETI, V. C. et al. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2013, 2013. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/697390/>. Acesso em: 17 jan. 2022.

WOISKY, R. G.; GIESBRECHT, A. M.; SALATINO, A. Atividade antibacteriana de uma formulação preparada a partir de própolis de Apis mellifera L. **Rev. farm. bioquim.**

Univ. São Paulo, v. 30, n 1, p. 19-21, 1994. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-140737>. Acesso em: 10 jan. 2022.

APÊNDICE : ARTIGO PUBLICADO

Research, Society and Development, v. 11, n. 6, e17411628821, 2022
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i6.28821>

Uso de própolis no tratamento e prevenção de mucosite oral em pacientes submetidos à radioterapia e/ou quimioterapia: revisão integrativa

Use of red propolis in the treatment and prevention of oral mucositis in patients undergoing radiotherapy and/or chemotherapy: an integrative literature review

Uso del propóleo rojo en el tratamiento y prevención de la mucositis oral en pacientes sometidos a radioterapia y/o quimioterapia: una revisión integradora de la literatura

Recebido: 04/04/2022 | Revisado: 12/04/2022 | Aceito: 20/04/2022 | Publicado: 24/04/2022

Maria Cícera Albuquerque Marques

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1034-4117>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: mariaacieracerqueira2014@hotmail.com

Mariana Emanuely Albuquerque Marques

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4149-3174>

Universidade Federal de Alagoas, Brasil

E-mail: marianaemanuely34@gmail.com

Erinaldo Rocha do Nascimento Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4065-7838>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: juniomascymento@gmail.com

Maria Gabrielle do Carmo Aguiar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4545-2134>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: gabi.mgdc28@gmail.com

Daniel Calazans Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4409-526X>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: danielc.medeiros@hotmail.com

Camila da Silva Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1789-1623>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: millacardoso184@gmail.com

Sônia Maria Soares Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4825-171X>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: sonia.ferreira@cesmac.edu.br

José Marcos dos Santos Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4618-1500>

Centro Universitário CESMAC, Brasil