

Investigação do efeito antinociceptivo e anti-inflamatório da fração hexânica do extrato metanólico de própolis da abelha nativa *Melipona quadrifasciata*

Investigation of the anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of the hexane fraction of the methanolic extract from the Brazilian stingless bee propolis (*Melipona quadrifasciata*)

Duane Pandini¹, Pedro Henrique de Almeida Francisco¹, Débora Delwing-Dal Magro², Caio Mauricio Mendes de Cordova³, Murilo Luiz Cerutti⁴, Caroline Valente⁵

¹Discentes do Curso de Medicina, Universidade Regional de Blumenau-FURB, Blumenau-SC, Brasil. duanepandini99@gmail.com & pedrohafrancisco@hotmail.com;

²Docente do Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau-FURB, Blumenau-SC, Brasil. deboradelwing@yahoo.com.br;

³Docente do Departamento de Farmácia, Universidade Regional de Blumenau-FURB, Blumenau-SC, Brasil. cmcordova@furb.br;

⁴Docente do Departamento de Medicina, Universidade Regional de Blumenau-FURB, Blumenau-SC, Brasil. murilocerutti@yahoo.com.br;

⁵Docente do Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva-PPGSC e Docente do Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau-FURB, Blumenau-SC, Brasil. E-mail: carolvalente11@gmail.com.

Resumo: O termo inflamação refere-se a lesões teciduais com conseqüentes alterações circulatórias e celulares, gerando rubor, calor, edema, dor e perda funcional. Ademais, a sensação dolorosa nomeia-se nocicepção, originada do processamento de estímulos nocivos. Para combater esses processos quando se tornam patológicos, busca-se por substâncias novas, destaca-se aquelas derivadas de compostos naturais, como a própolis. Este artigo objetiva avaliar os efeitos sobre nocicepção e inflamação a partir do uso de fração hexânica de extrato de própolis da abelha nativa *Melipona quadrifasciata*. Foram utilizados camundongos *Mus musculus* machos em dois modelos experimentais. No teste da Placa Quente, os animais foram dispostos sobre superfície aquecida e quantificou-se, em segundos, o tempo de latência de retirada da pata frente ao estímulo térmico para análise da hiperalgesia. Na avaliação do Edema de Pata, houve indução da inflamação através da injeção intraplantar de carragenina, e mensurou-se o edema com um paquímetro para avaliação da atividade anti-inflamatória. Na Placa Quente, o extrato não demonstrou diferença significativa quando comparado ao controle, e apresentou diferença quando comparado à morfina. No teste de Edema de Pata, o extrato demonstrou diferença significativa quando comparado ao controle em $t=0,5h$ (11,01%) e $t=2h$ (11,97%). O presente trabalho apresenta dados que reiteram o potencial anti-inflamatório do extrato, embora o efeito antinociceptivo não foi observado no teste de hipersensibilidade térmica. Dessa forma, reforça a necessidade de mais estudos acerca desta fração e valorização do uso de substâncias alternativas no auxílio do tratamento de nocicepção e inflamação.

Palavras-chave: Inflamação. Dor. Composto Natural. Analgesia

Abstract: The term inflammation refers to tissue damage with consequent changes in circulation and cell components, which generate redness, edema, heat, pain, and functional loss. The sensation of pain is called nociception, originating from the processing and encoding of harmful stimuli. To combat these processes when they become pathological, new substances are sought, especially those derived from natural compounds, such as propolis. This study aims to evaluate the effects on pain and inflammation in house mice when using hexane fraction from the Brazilian stingless bee (*Melipona quadrifasciata*) propolis extract. Male house mice (*Mus musculus*), were used in two experimental models. In the Hot Plate test, the animals were placed on a heated, heated surface and quantified, in seconds, the paw withdrawal latency time in face of the thermal stimulus for the analysis of hyperalgesia. In the evaluation of paw edema, inflammation was induced through the intraplantar injection of carrageenan, and edema was measured with a caliper to evaluate the anti-inflammatory activity. In the hot plate, the extract did not show, statistically, a difference for the control group, and showed difference when compared to morphine. In the paw edema test, the extract showed a statistically significant difference when compared to the carrier in $t=0,5h$ (11,01%) and $t=2h$ (11,97%). This study presents data that reiterates the anti-inflammatory potential of the extract, although the antinociceptive effect was not observed in the thermal hypersensitivity test. Thus, it reinforces the need for further studies and the appreciation of the use of alternatives to help treatments for pain and inflammation.

Key-words: Inflammation. Pain. Natural Compound. Analgesia.

1 INTRODUÇÃO

A inflamação, do latim *inflammatio* para acender ou incendiar, é caracterizada por alterações locais da

microcirculação e pela saída de células e proteínas do leito vascular que resultam na expressão de sintomas característicos: rubor, calor, edema, dor e perda de função. Ainda, pode ser classificada como um processo agudo - de

início acelerado e curta duração - ou crônico - de início insidioso ou a partir de um processo agudo ineficaz e de duração prolongada (KUMAR, 2017). O processo inflamatório tem como objetivo o retorno à homeostase, partindo de um desequilíbrio gerador de dano local, entretanto, apesar dessa resposta ser benéfica ao organismo, quando descontrolada, torna-se prejudicial ao indivíduo (MEDZHITOV, 2008).

Quando se instala um processo inflamatório no organismo, devido às mudanças locais que acontecem, há também uma alteração no limiar de excitação de receptores de nocicepção, ou seja, estímulos menos intensos se tornam capazes de ativá-los (ALVES et al., 2017). A nocicepção por sua vez é o termo que se refere ao processo neural de codificação e processamento do estímulo, que tem como consequência a dor, que possui a finalidade de proteger o organismo contra lesões teciduais (ALVES et al., 2017; NAIDU e PHAM, 2015). Acerca dos receptores de nocicepção acima citados, chamados de nociceptores, estão distribuídos pelos tecidos e se enquadram como terminações nervosas livres, sendo excitados por estímulos mecânicos, térmicos e químicos (GUYTON, 2011).

Assim, a nocicepção diz respeito à sensação desencadeada pelo estímulo, apenas importando as vias neuroanatômicas (KANDEL et al., 2003). Por outro lado, tem-se o conceito da sensação dolorosa como experiência sensorial, que parte de uma perspectiva subjetiva que vai além do estímulo, envolvendo as experiências individuais juntamente com fatores ambientais de cada contexto, constituindo-se da sensopercepção (BRUNTON, 2012).

A partir dos conceitos explicitados, sabe-se que a busca por substâncias que sejam capazes de combater esses processos, tanto de inflamação quanto de nocicepção, quando se tornam patológicos, tem crescido nos últimos anos. Nesse sentido, destaca-se a procura por derivados de compostos naturais. Entre esses, podemos destacar a própolis, utilizada em todo o mundo na medicina popular, por apresentar efeitos terapêuticos e ser de fácil acesso. Por essa razão, apresenta-se como um dos produtos naturais que mantiveram sua popularidade durante um longo período de tempo (BARBOSA et al., 2009).

A própolis caracteriza-se como um produto natural produzido por abelhas, cuja composição é singular e varia de acordo com a localidade de origem. Essa variabilidade entre amostras de própolis de diferentes fontes leva à variação dos seus efeitos farmacológicos (PAILINO et al., 2003).

Comprovadamente, a própolis forma-se a partir de inúmeros componentes químicos, sendo conhecidos mais de 300, e sua ação é fundamentada na atuação sinérgica dos seus constituintes (ANANGARI et al., 2018). Algumas de suas propriedades incluem ações anti-inflamatória, antioxidante, bactericida, antifúngica, antiviral, fotoprotetora, imunomoduladora, antitumoral e como suplementação nutricional (TORRES et al., 2018; SAHLAN et al., 2019; SOEKANTO et al., 2013; SAHLAN e SUPARDI, 2013; MAHADEWI et al., 2018; SFORCIN, 2007; PAGES et al., 2020; FRANCHIN et al., 2012).

Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da fração hexânica (FH) do extrato metanólico de própolis da abelha nativa *Melipona quadrifasciata* para que se tenha maior

conhecimento acerca da ação dos produtos locais. Dessa forma, buscou-se priorizar e dar destaque aos recursos disponíveis na cidade de Blumenau - Santa Catarina.

2 METODOLOGIA

2.1 Animais

Para a realização dos experimentos foram utilizados camundongos da espécie *Mus musculus* machos (30 - 40 g), fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Regional de Blumenau, acondicionados a $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ com um ciclo claro/escuro de 12h e com livre acesso à água e ração (*ad libitum*). Os animais foram aclimatados no biotério setorial do Laboratório de Fisiologia durante um período mínimo de uma semana antes dos experimentos, e participaram apenas uma vez em cada teste. Cada grupo experimental foi composto de oito animais. Antes dos experimentos, os animais foram transferidos e aclimatados no laboratório de Bioquímica por um período mínimo de 1h, e todos os procedimentos ocorreram de acordo com as normas de cuidados com animais de laboratório e as diretrizes éticas para investigação em animais (ZIMMERMANN, 1983).

2.2 Tratamentos

Os camundongos receberam o extrato metanólico de própolis da abelha nativa *M. quadrifasciata*. Foi administrado 100 mg/kg de Fração Hexânica (FH) por via oral por método de gavagem 60 minutos antes dos testes (CAMPOS et al., 1998). Quanto aos outros fármacos utilizados, a aplicação foi realizada 30 minutos antes dos testes. As dosagens utilizadas foram: morfina (1 mg/kg, s.c.), dexametasona (0,5 mg/kg, i.p.) (CAMPOS et al., 1998; REIS et al., 2013).

2.3 Edema de Pata

O edema de pata foi induzido como descrito anteriormente por Tratsk et al (1997). Os camundongos receberam uma injeção intraplantar (i.pl.) na pata direita de 0,05 ml de carragenina (300 μg) em solução salina isotônica (NaCl 0,9%). O edema foi mensurado com paquímetro digital Starrett série 799 nos intervalos de tempo de 0,5h, 1h, 2h e 4h após a injeção. Grupos experimentais: Grupo controle, que recebeu veículo (v.o.) + carragenina (i.pl.); Grupo dexametasona que recebeu dexametasona (i.p.) + carragenina (i.pl.); Grupo FH, que recebeu fração hexânica do extrato de própolis (v.o.) + carragenina (i.pl.).

2.4 Placa Quente

O teste da placa quente foi utilizado para avaliar a atividade do extrato de própolis frente a hipersensibilidade térmica ao calor através da latência de retirada da pata dos animais da superfície aquecida, de acordo com o método descrito anteriormente por Ferreira et al (1999). Neste experimento os camundongos foram alocados sobre superfície de metal a $50 \pm 1^{\circ}\text{C}$, e contidos por um cilindro de vidro com 24cm de diâmetro sobre a superfície. Quantificou-se o tempo de latência, em segundos, em retirar uma das patas posteriores a partir da disposição do animal sobre a placa. Adotou-se 60 segundos como tempo

máximo de permanência no meio aquecido, para evitar danos teciduais ao animal (NUCCI et al., 2012).

Grupos experimentais: Grupo Controle, que recebeu solução salina + DMSO 5% (v.o.); Grupo Morfina, que recebeu o fármaco na dose de 1mg/Kg (s.c.); Grupo Extrato FH, que recebeu o extrato na dose de 100mg/Kg (v.o.) (CAMPOS et al., 1998).

2.5 Análise Estatística

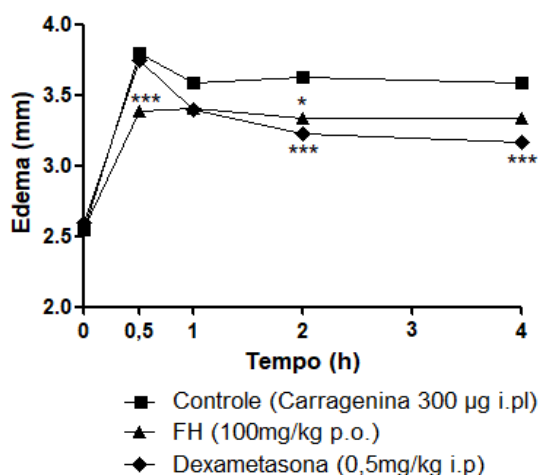
A análise dos resultados foi realizada no programa Graph Pad Prism versão 5.01 (2005, San Diego, CA, USA). Os resultados foram exibidos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste pos-hoc de Student-Newman-Keuls para o experimento da placa quente, e ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni para o experimento de edema de pata. Os valores de p que foram menores do que 0,05 ($p < 0,05$) foram considerados estatisticamente significativos.

3 RESULTADOS

3.1 Edema de Pata

Os resultados do experimento do edema de pata representados graficamente pela figura 1 demonstram que a dexametasona foi capaz de reverter o edema quando comparada ao controle em 11,01% no $t=2h$ ($p < 0,001$), e 11,97% em $t=4h$ ($p < 0,001$). O grupo Extrato FH apresentou diminuição significativa do edema em relação ao grupo controle em $t=0,5h$ ($p < 0,001$) e $t=2h$ ($p < 0,05$), com redução de 10,92% e 8,92%, respectivamente.

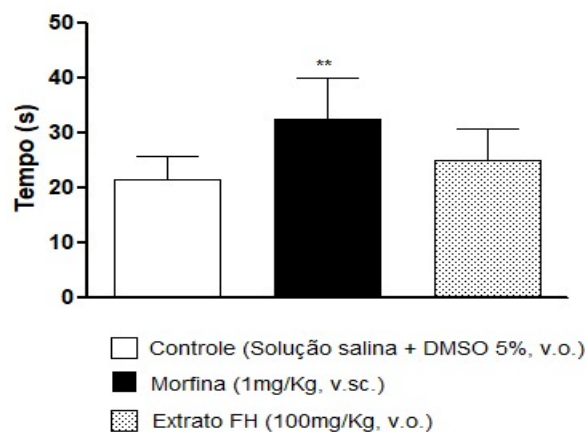
Figura 1. Efeito do extrato FH no teste do Edema de Pata.



3.2 Placa Quente

Na Figura 2, observa-se que o uso da Morfina provocou aumento do tempo de latência de retirada da pata do animal em aproximadamente 51,72%, ($p < 0,01$) quando comparada ao grupo controle. Já o grupo do extrato FH, quando comparado ao controle não apresentou qualquer diferença no tempo de latência de retirada da pata.

Figura 2. Efeito do Extrato FH no Teste da Placa Quente.



4 DISCUSSÃO

No experimento do edema de pata, os resultados encontrados mostram que o extrato FH foi capaz de diminuir o edema da pata do animal em dois momentos com diferença estatisticamente significativa em comparação aos do grupo controle. No entanto, o grupo dexametasona recebeu tratamento com fármaco de efeito amplamente conhecido, e apresentou evolução do edema diferente em relação ao grupo do extrato FH. Dessa forma, não se pode afirmar o efeito anti-inflamatório da fração hexânica.

O efeito antiedematogênico visualizado no grupo que recebeu a fração hexânica pode ser explicado, dentre outros fatores, através da composição química do extrato. Isso porque a própolis da abelha *Melipona quadrifasciata* é rica em flavonóides (TORRES et al., 2018). Por conseguinte, segundo Maleki et al (2019), sabe-se que essas substâncias desempenham função importante contra inflamação, visto que interferem em diferentes etapas desse mecanismo.

Em seu estudo, Torres et al (2018) avaliou o extrato hidroalcoólico da própolis da mesma espécie analisada pelo presente trabalho, *Melipona quadrifasciata*, e demonstrou o efeito anti-inflamatório através do teste do edema de orelha induzido por xileno. No entanto, salienta-se que, em comparação a presente investigação, para demonstrar tal ação foram utilizados diferentes testes avaliativos bem como outra fração da própolis.

Calimag et al (2021), estudou o efeito da própolis da abelha sem ferrão filipina sob a inflamação induzida por carragenina. Para isso, avaliou a resposta dos tratamentos utilizados na 3^a, 6^a e 24^a hora após a indução com carragenina. Deste modo, a atenuação na pata do animal no grupo da própolis filipina apenas foi visualizada depois da 6^a hora de experimento, no entanto, somente houve redução significativa do edema na 24^a hora. Em contrapartida, no presente estudo, a metodologia utilizada restringiu-se a medição do edema até a 4^a hora após injeção intraplantar de carragenina. Portanto, possibilita-se investigar análises mais prolongadas de efeitos da fração hexânica no combate à inflamação.

No experimento da placa quente desenvolvido neste estudo, a fim de investigar a hiperalgesia térmica por este modelo clássico, dentre os resultados obtidos, tem-se

a resposta do Extrato FH ao estímulo térmico, que se mostrou ausente na análise, pressupondo uma ineficiência antinociceptiva da fração estudada. Além disso, a avaliação demonstrou o efeito da Morfina, fármaco que aumentou o tempo de latência de retirada da pata do animal da superfície aquecida, de modo a comprovar seu efeito analgésico, propriedade amplamente conhecida e explorada (SUN et al., 2018).

Em comparação ao que foi utilizado neste trabalho, a ineficiência do extrato em causar analgesia já havia sido apontada por Campos et al (1998), em seus ensaios com extrato etanólico de própolis coletada na região sul do Brasil e administrada por via oral na dose de 100 mg/kg 1h antes do experimento, o qual também já demonstrou que, em contraste com o controle positivo, Morfina, os extratos são ineficazes em modelos térmicos de nociceção, como a placa quente. Por outro lado, utilizando o mesmo extrato, os autores concluíram que a própolis estudada apresentava efeito antinociceptivo em testes químicos, seja quando administrada por via oral ou por via intraperitoneal. Dessa forma, considera-se que fatores como o método de análise e a via de administração do extrato podem definir a apresentação de efeito antinociceptivo da fração estudada.

Em estudo desenvolvido por Sun et al (2018), acerca do efeito antinociceptivo, foram utilizadas diferentes frações, dentre elas as ricas em ácidos fenólicos e flavonóides, em diferentes modelos *in vivo*, que resultaram em aumento do tempo de latência de retirada da pata do animal. Ainda, os autores reforçam o efeito analgésico da própolis negra marroquina, da qual se utilizou um extrato aquoso para os testes, sendo este potencialmente visualizado através do experimento da placa quente. Entretanto, afirmam a ineficiência analgésica por este modelo de análise das própolis búlgara e brasileira, relacionando o seu potencial efeito antinociceptivo à inibição da inflamação, e não através de efeitos neurogênicos. Constata-se, então, que o efeito antinociceptivo da fração da própolis estudada não foi visualizado pelo modelo térmico descrito.

Ao estudar o efeito antinociceptivo de extrato alcóolico da própolis verde brasileira, rica em flavonóides, Al-Hariri e Abualait (2020) demonstraram que, ao administrar doses de 50 e 100mg/kg, por via intraperitoneal, houve aumento do tempo de latência de retirada da pata do animal no teste da hiperalgesia com infravermelho, bem como redução do comportamento nociceptivo induzido por formalina, e nas contorções abdominais induzidas por ácido acético. Assim, concluíram que a própolis estudada pelos autores apresentava efeito anti-hiperalgésico relacionado aos receptores locais e à fatores inflamatórios. Embora nesse estudo não foram utilizados modelos térmicos de análise de nociceção, foi possível visualizar efeito analgésico da própolis. Portanto, a análise do extrato FH por outros métodos que não o térmico suscita um potencial efeito antinociceptivo da fração.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da presente investigação, considera-se o extrato investigado como potencial agente anti-inflamatório, já que reduziu o edema no teste realizado.

Além disso, o efeito antinociceptivo não foi reconhecido no modelo térmico utilizado. Portanto, faz-se necessário outros estudos com a fração hexânica do extrato de própolis da abelha nativa *Melipona quadrifasciata* para obter-se maior embasamento científico acerca de suas propriedades e benefícios.

REFERÊNCIAS

- AHANGARI, Z.; NASERI, M.; VATANDOOST, F. Propolis: Chemical composition and its applications in endodontics. **Iranian Endodontic Journal**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 285–292, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.22037/iej.v13i3.20994>
- AL-HARIRI, M. T.; ABUALAIT, T. S. Effects of Green Brazilian Propolis Alcohol Extract on Nociceptive **Pain Models in Rats**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants9091102>. Acesso em: 5 jul. 2021.
- ALVES, J. E. O. *et al.* Mecanismos Fisiopatológicos Da Nociceção E Bases Da Analgesia Perioperatória Em Pequenos Animais. **Acta Biomédica Brasiliensia**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 56, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18571/acbm.122>
- BARBOSA, M. H. *et al.* Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. **Acta Paulista de Enfermagem**, [S. l.], v. 22, n. 3, p. 318–322, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-21002009000300013>
- CALIMAG, K. P. D. *et al.* Attenuation of carrageenan-induced hind paw edema and plasma tnf- α level by philippine stingless bee (*Tetragonula biroi friese*) propolis. **Experimental Animals**, [S. l.], v. 70, n. 2, p. 185–193, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1538/expanim.20-0118>
- DE CAMPOS, R. O. P. *et al.* Anti-hyperalgesic effect of an ethanolic extract of propolis in mice and rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 50, n. 10, p. 1187–1193, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb03333.x>
- FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. The role of systemic, spinal and supraspinal L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway in thermal hyperalgesia caused by intrathecal injection of glutamate in mice. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 38, n. 6, p. 835–842, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00006-4](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00006-4)
- FRANCHIN, M. *et al.* Geopropolis from *Melipona scutellaris* decreases the mechanical inflammatory hypernociception by inhibiting the production of IL-1 β and TNF- α . **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 143, n. 2, p. 709–715, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.040>
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12 ed ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 144 p.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Princípios da neurociência**. 4. ed. Barueri: Manole, 2003. *E-book*.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul; ASTER, Jon (org.). **Robbins Basic Pathology**. 10. ed, Rio de Janeiro; Elsevier. 2017. 71 p.

BRUNTON, L.L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª ed. Rio de Janeiro; McGraw-Hill. 2012. 245 p.
MAHADEWI, A. G. *et al.* Selection of discrimination marker from various propolis for mapping and identify anti *Candida albicans* activity. **AIP Conference Proceedings**, [S. l.], v. 1933, n. February, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.5023939>

MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B.. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 299, n. March, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>

MEDZHITOV, R.. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, [S. l.], v. 454, n. 7203, p. 428–435, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature07201>

NAIDU, R. K.; PHAM, T. M. Pain Management. *In: Basic Clinical Anesthesia*. New York: Springer International Publishing, 2015. p. 265–296. *E-book*.

NUCCI, C. *et al.* Oleaginous extract from the fruits *Pterodon pubescens* Benth induces antinociception in animal models of acute and chronic pain. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 143, n. 1, p. 170–178, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.020>

PAGES, P-J. *et al.* Relevance of emergency head CT scan for fall in the elderly person. **Journal of Neuroradiology**, [S. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neurad.2019.03.004>

PAULINO, N. *et al.* Bulgarian propolis induces analgesic and anti-inflammatory effects in mice and inhibits in vitro contraction of airway smooth muscle. **Journal of Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 93, n. 3, p. 307–313, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1254/jphs.93.307>

REIS, E. F. C. *et al.* Lipophilic amino alcohols reduces carrageenan-induced paw edema and anti-OVA DTH in BALB/c mice. **International Immunopharmacology**, [S. l.], v. 17, n. 3, p. 727–732, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.08.017>

SAHLAN, M. *et al.* Anti-inflammatory activity of *Tetragronula* species from Indonesia. **Saudi J Biol Sci**, [S. l.], p. 1531–1538, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.12.008>

SAHLAN, M.; SUPARDI, T.. Encapsulation of

indonesian propolis by Casein micelle. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 297–305, 2013.

SFORCIN, J. M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 113, n. 1, p. 1–14, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.012>

SOEKANTO, S. A. *et al.* The effect of propolis honey candy on *C. Albicans* and clinical isolate biofilms viability (in-vitro). **AIP Conference Proceedings**, [S. l.], v. 1933, n. February, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.5023951>

SUN, L.; LIAO, L.; WANG, B.. Potential antinociceptive effects of Chinese propolis and identification on its active compounds. **Journal of Immunology Research**, [S. l.], v. 2018, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/5429543>

TORRES, A. R. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *tetragonisca angustula* stingless bees. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S. l.], v. 51, n. 6, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-431X20187118>

TRATSK, K. S. *et al.* Anti-allergic effects and oedema inhibition caused by the extract of *Drymis winteri*. **Inflammation Research**, [S. l.], v. 46, n. 12, p. 509–514, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s000110050234>

ZIMMERMANN, M.. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 109–110, 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(83)90201-4)