

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**BIANCA APARECIDA MARTIN**

**Avaliação da efetividade e segurança de uma nova formulação de  
Cold Cream em pacientes portadores de dermatite atópica**

Ribeirão Preto  
2019

## RESUMO

MARTIN, B. A. **Avaliação da efetividade e segurança de uma nova formulação de Cold Cream em pacientes portadores de dermatite atópica.** 2019. 093f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

A dermatite atópica (DA) é uma inflamação crônica da pele que geralmente provoca prurido intenso e lesões eczematosas. A ausência de tratamentos seguros e eficazes faz com que o tradicional *Cold Cream*, creme água-em-óleo composto por cera de abelha e bórax seja usado na prática clínica para aliviar os sintomas da DA. São poucos, no entanto, os estudos científicos que comprovam sua eficácia. Além disso, sua formulação oficial, o *Cold Cream* Farmacopeico, apresenta baixa estabilidade. O objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar formulações de *Cold Cream* estáveis e entender sua contribuição no tratamento da DA. Para tanto, o impacto da pureza da cera de abelha que compõe os cremes nas características mecânicas, de textura e reológicas foi investigado. Com a identificação de componentes da própolis verde na cera de abelha bruta, suas propriedades anti-inflamatórias foram avaliadas *in vitro* e comparadas àquelas de um extrato de própolis verde padronizado. O efeito do uso do *Cold Cream*, adicionado ou não de própolis na mesma concentração que a presente na cera de abelha bruta, na qualidade de vida, gravidade da doença e hidratação da pele de pacientes com DA do Hospital das Clínicas da FMRP-USP (CAAE 83521418.5.0000.5403) também foi estudado. A identificação dos componentes majoritários das ceras de abelha bruta e purificada foi realizada por CG/MS. Componentes característicos da própolis verde foram separados por HPLC na cera bruta, e o artepelin C, marcador da própolis, quantificado. O tratamento de cultura de macrófagos (AMJ-2), estimulados com LPS, com 6,25 a 25 µg/mL de extrato metanólico da cera de abelha bruta, relativos a 3,5 a 14 ng/mL de artepelin C, resultou na redução significativa dos níveis de IL-6 e TNF- $\alpha$ , sugerindo um efeito anti-inflamatório do extrato da cera de abelha bruta. Cremes preparados com estabilizantes e a cera de abelha bruta (*Cold Cream B.*) ou purificada (*Cold Cream P.*), esta última acrescida ou não de 2,3 mg/100 g de própolis verde (*Cold Cream P. + Própolis*), mantiveram suas características reológicas e organolépticas durante os 60 dias de armazenamento. O *Cold Cream* Farmacopeico, por outro lado, apresentou alterações no comportamento reológico e separação de parte da fase oleosa já após 30 dias. Esse *Cold Cream*, no entanto, também preparado com cera de abelha purificada, apresentou propriedades mecânicas e de bioadesão semelhantes às apresentadas pelos *Cold Cream P.* e *Cold Cream P. + Própolis*. O *Cold Cream B.*, por sua vez, apresentou dureza e compressibilidade quase 3 vezes menores do que os cremes feitos com a cera purificada, além de maiores valores de coesividade, força e trabalho de bioadesão. No estudo clínico, o *Cold Cream* apresentou, de forma geral, capacidade de evitar a agudização da doença. A avaliação do conjunto de instrumentos aplicados para cada paciente sugeriu que a adição de uma pequena concentração de própolis no *Cold Cream* melhorou a qualidade de vida do paciente, hidratação e gravidade da doença.

Palavras-chave: dermatite atópica, Cold Cream, extrato de própolis verde.

## ABSTRACT

MARTIN, B. A. **Evaluation of the effectiveness and safety of a new formulation of Cold Cream in patients with atopic dermatitis.** 2019. 093f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory skin disorder, frequently characterized by severe itching and eczematous lesions. The traditional *Cold Cream*, an water-in-oil cream made up by beeswax and borax, is used in the clinical practice to relieve AD symptoms, although its effectiveness has not scientifically been proved. Furthermore, the officinal formula of this cream, the *Cold Cream Pharmacopoeia*, presents a low physical stability. Therefore, this work aimed to prepare and characterize stable *Cold Cream* formulations and understand how *Cold Cream* can contribute with AD treatment. The influence of beeswax purity of the creams on the mechanical, texture and rheological characteristics was investigated. The components of the green propolis present in raw beeswax were identified and anti-inflammatory properties were investigated *in vitro* and compared to a standardized extract of green propolis. The effect of using propolis-free and propolis-added (at the same concentration as raw beeswax) *Cold Cream* formulations on life quality, disease severity and skin hydration of AD patients from the FMRP-USP Hospital das Clínicas (CAAE 83521418.5.0000.5403) was also assessed. Identification of the major components of the raw and purified beeswaxes was carried out using GC/MS. Artepelin C, the main marker of propolis, was quantified using HPLC after separation of the representative components of green propolis from the raw beeswax. Methanolic extract of raw beeswax ranging from 6.25 to 25 µg/mL, which respectively corresponds to artepelin C concentrations from 3.5 to 14 ng/mL, was used to treat AMJ-2 macrophage culture previously stimulated with LPS. The results showed a significant reduction in IL-6 and TNF-α levels, suggesting an anti-inflammatory effect of the beeswax extract. The raw beeswax cream (*Cold Cream B.*), the propolis-free purified-beeswax cream (*Cold Cream P.*) and the propolis-added purified-beeswax cream (*Cold Cream P. + Propolis*) were stable in terms of rheology and sensorial characteristics over a 60-day storage period. Conversely, *Cold Cream Pharmacopoeia* showed changes in rheological characteristics along with oil phase separation after 30 days. The *Cold Cream Pharmacopoeia* prepared with purified beeswax presented mechanical and bioadhesion properties similar to those of the *Cold Cream P.* and *Cold Cream P. + Propolis*. On the other hand, *Cold Cream B.* showed hardness and compressibility properties decreased by 3 times and cohesiveness and bioadhesion strength properties increased when compared to the purified-beeswax prepared creams. Human clinical study showed that *Cold Cream* prevented worsening of AD. In addition, the analysis of the evaluative instruments used in clinical study suggested that the addition of small concentration of propolis to the *Cold Cream* improved the life quality of patients, skin hydration and disease severity.

Keywords: atopic dermatitis, Cold Cream, extract of green propolis.

## 1 INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) ou eczema atópico é uma doença inflamatória crônica da pele associada a atopia com evoluções em surto (FLOHR; MANN, 2014). Os sintomas mais comuns associados à doença são o prurido intenso em determinados locais da pele e lesões eczematosas com evolução cíclica (HANIFIN; RAJKA, 1980). Na fase aguda da doença, essas lesões aparecem como edemas e eritemas mal definidos, enquanto que na fase crônica elas se tornam mais definidas, liquinizadas e descamativas, localizadas principalmente em regiões de dobras do corpo. Além disso, pacientes com a doença apresentam intensa xerose (ANTUNES et al., 2017; CASTRO et al., 2006).

A fisiopatologia da DA envolve múltiplas etiologias inter-relacionadas, como fatores genéticos, ambientais e imunológicos, que acometem a função barreira da pele, conferida especialmente pelo estrato córneo, e desencadeiam respostas inflamatórias (POWER et al., 2015; CASTRO et al., 2006).

Assim, o estrato córneo do paciente atópico sofre alterações nas cadeias lipídicas e conteúdo de água, ocasionando xerose e aumento do pH. Acredita-se que essas alterações sejam ocasionadas principalmente pela deficiência de filagrina, proteína essencial para a formação do estrato córneo, e pela organização da matriz lipídica, com ceramidas com tamanho de cadeias e proporções distintas da pele saudável (ANTUNES et al., 2017).

O estrato córneo alterado do paciente com DA leva a um aumento da perda de água transepidermica e consequente desidratação da pele (PROKSCH; JENSEN; ELIAS, 2003). Os terminais dendríticos das células de Langherans, presentes na epiderme viável, também ficam mais expostos à antígenos que normalmente não seriam capazes de atravessar o estrato córneo, desencadeando respostas inflamatória e imune exacerbadas (CASTRO et al., 2006; SILVERBERG; WONG; YOSIPOVITCH, 2016). A resposta inflamatória culmina na produção de anticorpos IgE e na liberação de diversas interleucinas (IL), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) (BATISTA et al., 2015; CASTRO et al., 2006; LEUNG; BOGUNIEWICZ, 2003; BRUNNER; YASSKY; LEUNG, 2017). A pele do paciente com DA apresenta ainda deficiência de peptídeos antimicrobianos responsáveis pela defesa do organismo contra a invasão de bactérias, vírus e fungos. Sendo assim, pacientes com DA apresentam maior facilidade em desenvolver infecções

microbianas (CASTRO et al., 2006).

Por ser uma doença recidivante, o tratamento da DA está relacionado a redução dos sinais e sintomas da doença (CASTRO et al., 2006). A administração tópica de cremes nas lesões é a principal forma de tratamento. Esses cremes podem conter corticosteroides ou inibidores de calcineurina, que causam efeitos adversos, tais como foliculite, estrias, atrofia cutânea e hipopigmentação (SCHIMMER; PARKER, 2005; CASTRO et al., 2006), além de apresentarem alto custo. Além disso, como o quadro da DA é de difícil controle, o uso de corticosteroides por um tempo prolongado torna a prática não segura (ODEDRA, 2014).

Diante disso, levando em consideração o caráter de cronicidade da DA (HARPER et al., 2001), são necessárias alternativas terapêuticas que retardem o aparecimento das lesões e evitem os períodos de crise da doença. Assim, para proteger a pele e ainda evitar o uso constante de corticosteroides e inibidores de calcineurina, a aplicação tópica de creme base, não adicionado de fármacos, pode ser considerada uma abordagem terapêutica segura. Ela ainda tem o potencial de melhorar o curso da doença, pois pode aumentar a hidratação do estrato córneo e restabelecer a função da barreira cutânea.

O *Cold Cream* é uma das formas farmacêuticas dermatológicas mais antigas que se tem notícia, desenvolvida no século II por Galeno. Ele é uma emulsão semi-sólida do tipo água-em-óleo cuja formulação clássica oficial, descrita na Farmacopeia Brasileira, é constituída basicamente por cera de abelha, óleo mineral, água e bórax (ANVISA, 2012). Por possuir elevado teor de lipídios, esta forma farmacêutica é usada em situações em que se requer alta emoliência, como na psoríase e na DA, afecções cutâneas essas caracterizadas por ressecamento intenso da pele (BEHESHTIA et al., 2013; ROMAY; FRANCO; MALDONADO, 1991; EHSANI et al., 2011; KIKUCHI; TAGAMI, 2008).

A efetividade do uso de *Cold Cream* no tratamento de pacientes com DA vem sendo observada na clínica (KOPPES et al., 2016), mas com poucos estudos relatados na literatura científica (KIKUCHI; TAGAMI, 2008).

A Farmácia Ensino da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da USP avia, desde 1979, o *Cold Cream* para pacientes com DA. Há aproximadamente dois anos a formulação do *Cold Cream* Farmacopeico, originariamente aviada, foi modificada com o intuito de aumentar sua vida de prateleira. A nova formulação foi denominada *Cold Cream B*. e apresenta em sua

composição, além da cera de abelha, do óleo mineral e do bórax, a vaselina sólida, a manteiga de cacau e o álcool cetosteárico como agentes de consistência, e o álcool cetosteárico etoxilado e o monoestearato de glicerila como agentes emulsificantes e estabilizantes. Apesar da maior variedade de material graxo, a porcentagem de fase oleosa é semelhante àquela que compõe o *Cold Cream* Farmacopeico. No entanto, a cera de abelha utilizada no *Cold Cream B.* não é purificada, sendo aqui denominada de cera de abelha bruta. Por passar por menos processos de purificação, a cera de abelha bruta pode apresentar própolis em sua composição, conferindo à formulação possíveis propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (LUSTOSA et al., 2008) (MARQUELE et al., 2006; OSKOU EI; NAJAFI, 2013).

Com o aviamento do *Cold Cream B.* em substituição ao *Cold Cream* Farmacopeico pela Farmácia Ensino houve um aumento da demanda de produção, visto que a maioria dos pacientes com DA relataram melhora dos sinais e sintomas característicos da doença após utilização do *Cold Cream B.*

Desta forma, quatro hipóteses foram levantadas para explicar a melhora da DA com o uso do *Cold Cream B.* em relação ao uso do *Cold Cream* Farmacopeico:

- 1) Aperfeiçoamento das características mecânicas, de textura, bioadesão e reológicas do creme, resultando em maior aceitação pelo paciente;
- 2) Maior reposição do conteúdo graxo do estrato córneo, com aumento das propriedades de barreira da pele;
- 3) Influência da própolis, que pode estar presente na cera de abelha bruta, na resposta anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana conferida pelo uso do creme na DA, resultando em melhora da lesão;
- 4) Impacto da efetividade do creme na evolução da DA.

Assim, no presente trabalho, foram preparadas e caracterizadas as duas diferentes formulações do *Cold Cream*, o Farmacopeico e o B., além de uma outra formulação composta pelos mesmos componentes do *Cold Cream B.*, mas preparada com cera de abelha purificada (*Cold Cream P.*), para avaliar a influência da nova formulação e da cera de abelha bruta nas propriedades do creme. O *Cold Cream P.* foi ainda acrescido de extrato de própolis verde (*Cold Cream P.+ Própolis*) para investigar a influência *in vivo* desta substância no tratamento da DA.

## 2 CONCLUSÃO

As substâncias graxas que compõem a cera de abelha bruta e a cera de abelha purificada foram identificadas. Essa identificação mostrou que a cera de abelha bruta apresenta em sua composição uma gama maior de componentes do que a cera de abelha purificada, com destaque para a presença de compostos aromáticos característicos da própolis verde. O extrato concentrado da cera de abelha bruta, assim como o extrato de própolis verde padrão, apresentou atividade anti-inflamatória em baixas concentrações, diminuindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias. O creme oficial, *Cold Cream* Farmacopeico, apresentou-se instável após 15 dias de armazenamento a temperatura ambiente e propriedades mecânicas e bioadesivas inferiores aos cremes adicionados de estabilizantes. A presença da cera de abelha bruta no *Cold Cream* B. conferiu a ele propriedades mecânicas e bioadesivas mais promissoras do que os cremes com mesma composição, mas contendo cera de abelha purificada ao invés da bruta. A adição da própolis ao *Cold Cream* P. não alterou suas características reológicas, mecânicas ou bioadesivas. Os resultados de hidratação da pele sugeriram que apenas a formulação *Cold Cream* Farmacopeico não apresentou capacidade de hidratação da pele superior ao PBS. O ensaio clínico em humanos com o *Cold Cream* P., adicionado ou não da própolis, possibilitou inferir que o uso do creme ajuda a evitar a agudização da DA. A análise qualitativa de cada paciente, levando em consideração seu estado clínico inicial e o conjunto dos instrumentos aplicados, SCORAD, DLQI e medida da hidratação, sugeriram que a adição de uma pequena concentração de própolis no *Cold Cream* melhora a qualidade de vida do paciente, hidratação e gravidade da doença. Porém, a análise de um número maior de pacientes, além do uso de mais instrumentos, possivelmente permitiria a melhor avaliação entre o tratamento com o creme base e aquele contendo própolis.

### 3 REFERÊNCIAS

As referências e formatação do trabalho estão de acordo com o recomendado pela Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP (ABNT). 3.ed., 2016.

AGHAZARIAN, V. L. et al. Texture Optimization of Water-in-Oil Emulsions. **Pharmaceutical Development And Technology**, v.9, n.2, p.125-134, 2004.

ANDRADE, K. C. S.; ROSA, C. L. S.; SILVA, B. A. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.16, n.1, p.12-20, 2013.

ANTUNES, A. A. et al. Guia prático de atualização em dermatite atópica - Parte I: etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Posicionamento conjunto da Associação Brasileira de Alergia e Imunologia e da Sociedade Brasileira de Pediatria. **Arquivos de Asma, Alergia e Imunologia**, v.1, n.2, p.131-156, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259372/FNFB+2\\_Revisao\\_2\\_COFAR\\_s\\_eteembro\\_2012\\_atual.pdf/20eb2969-57a9-46e2-8c3b-6d79dccb0741](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259372/FNFB+2_Revisao_2_COFAR_s_eteembro_2012_atual.pdf/20eb2969-57a9-46e2-8c3b-6d79dccb0741). Acesso em: 15 jun. 2019.

AOYAMA, H. et al. Successful treatment of resistant facial lesions of atopic dermatitis with 0.1% FK506 ointment. **British of Journal Dermatology**, v.133, p.494–6, 1995.

ARMENGOT-CARBO, M.; MARTIN, A. H.; TORRELO, A. The Role of Filaggrin in the Skin Barrier and Disease Development. **Dermosifiliográficas**, v.106, n.4, p.86-95, 2015.

BAROLI, B. M. Penetration of Nanoparticles and Nanomaterials in the Skin: Fiction or Reality?. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.99, n.1, 2010.

BATISTA, D. I. S. et al. Profile of skin barrier proteins (filaggrin, claudins 1 and 4) and Th1/Th2/Th17 cytokines in adults with atopic dermatitis. **Journal of the European Academy Dermatology Venereology**, v.29, p.1091-1095, 2015.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recente advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v.31, p.3-15, 2000.

BAÑSLER, K. et al. The role of tight junctions in skin barrier function and dermal absorption. **Journal of Controlled Release**, v.242, p.105-118, 2016.

BEHESHTIA, A. et al. Comparison of Topical Sucralfate and Silve Sulfadiazine Cream in Second Degree Burns in Rats. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, Iran, v.22, n.4, p.481-487, 2013.

BENEDETTO, A.; KUBO, A.; BECK, L. A. Skin barrier disruption: a requirement for



allergen sensitization?. **Journal Invest Dermatology**, v.132, n.3 pt 2, p.949-963, 2012.

BERRETTA, A. A. et al. Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market. **Superfood and Functional Food**, 2017.

BRUNNER, P. M.; YASSAY, E. G.; LEUNG, D. Y. M. The immunology of atopic dermatitis and its reversibility with broad-spectrum and targeted therapies. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, v.139, n.4, 2017.

BOUWSTRA, J. A. et al. Role of ceramide 1 in the molecular organization of the stratum corneum lipids. **Journal of Lipid Research**, v. 39, 1998.

BUHLER, F. V.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilex paraguariensis* St.Hil. a 5 e 10%. **Revista Perspectiva**, v.32, p.47-55, 2008.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v.35, n.4, p.347-363, 1998.

CANDI, E. SCHMIDT, R.; MELINO, G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.6, p.328-40, 2005.

CAROLL, C. L. et al. The burden of atopic dermatitis: impact on the patient, family, and society. **Pediatric Dermatol**, v.22, p.192-199, 2005.

CARVALHO, O. V. et al. Guia prático de atualização em dermatite atópica - Parte II: abordagem terapêutica. Posicionamento conjunto da Associação Brasileira de Alergia e Imunologia e da Sociedade Brasileira de Pediatria. **Arquivos de Asma, Imunologia e Alergia**, v.1, n.2, 2017.

CARVALHO, F. C. et al. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.46, n.1, 2010.

CASTRO, A. P. M. et al. Guia Prático para manejo de Dermatite Atópica - opinião conjunta de especialistas em alergologia da Associação Brasileira de Alergia de Imunopatologia e da Sociedade Brasileira de Pediatria. **Revista Brasileira de Alergia Imunopatologia**, v.29, n.6, 2006.

CEVC, G. Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p.675-711, 2004.

CORREA, M. C. M.; NEBUS, J. Management of patients with atopic dermatitis: the role of emollient therapy. **Dermatololy Research and Practice**, v.2, p.1-20, 2012.

COSTA, P. et al. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. **Journal of Ethnopharmacology**, 2018.

CHOI, S. E. et al. Effect of *Alnus japonica* extract on a model of atopic dermatitis in

NC/Nga mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.136, p.406-413, 2011.

DALEPRANE, J. B. et al. Anti-atherogenic and anti-angiogenic activities of polyphenols from propolis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.23, p.557-566, 2002.

DARSOW, U.; VIELUF, D.; RING, J. Evaluating the relevance of aeroallergen sensitization in atopic eczema using the tool 'atopy patch test': a randomized, double-blind multicenter study. Atopy patch test study group. **Journal of American Academy Dermatology**, v.40, p.187-93, 1999.

DAVIDSON, W. F. et al. Report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases workshop on "Atopic dermatitis and the atopic march: Mechanisms and interventions". **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.143, n.3, 2019.

DE BARROS, M. P. et al. Effect of Brazilian green própolis on experimental gastric ulcers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, n.3, p.567-571, 2007.

DEVILLERS, A. C.; ORANJE, A. P. Wet-wrap treatment in children with atopic dermatitis: a practical guideline. **Pediatric Dermatology**, v.29, p.24-7, 2012.

DUTHIE G. G.; GARDNER P. T.; KYLE J. A. M. Plant polyphenols: are they the new magic bullet?. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.62, n.3, p.599-603, 2003.

EGAW, G. KABASHIMA, K. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.138, n.2, 2016.

**Encyclopedia Britannica**, v.3, 14 ed., p.316, 1929.

FEINGOLD, K. R. The outer frontier: the importance of lipid metabolism in the skin. **The Journal of Lipid Research**, 2009.

EHSANI, A. H. et al. Comparison of topical 8-methoxypsoralen and narrowband ultraviolet B with narrowband ultraviolet B alone in treatment-resistant sites in plaque-type psoriasis: a placebo-controlled study. **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v.27, n.6, 2011.

ESTANQUEIRO, M.; AMARAL, M. H.; SOUSA LOBO, J. M. Comparison between sensory and instrumental characterization of topical formulations: impact of thickening agents. **International Journal of Cosmetic Science**, v.38, n.4, p.389-398, 2016.

FITZPATRICK L. R.; WANG J.; LE, T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.299, n.3, p.915-920, 2001.

FLOHR, C.; MANN J. New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis. **Allergy**, v.69, p.3-16, 2014.

FRANZ, J. et al. Nanoscale alterations of corneocytes indicate skin disease. **Skin Research and Technology**, v.22, n.2, p.174-180, 2016.

FRANZOL, A.; REZENDE, M. C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, n.25, p.1-9, 2015.

GARNIER, N. et al. Characterization of archaeological beeswax by electron ionization and electrospray ionization mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.74, n.19, p.4868-4877, 2002.

GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. G. Rheological behavior and the SPF of sunscreen. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.250, n.1, p.35-44, 2003.

GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. **Bee World**, v.60, p.59–84, 1979.

GU, H. et al. Evaluation of diagnostic criteria for atopic dermatitis: validity of the criteria of Williams et al. in a hospital-based setting. **British Journal of Dermatology**, v.145, p.428–433, 2001.

GRIFFITHS, C. et al. **Rook's Textbook of Dermatology**, v.4, Set: Wiley, 2016.

GRIMALT, R.; MENGEAUD, V.; CAMBAZARD, F. The Steroid-Sparing Effect of an Emollient Therapy in Infants with Atopic Dermatitis: A Randomized Controlled Study. **Dermatology**, v.214, p.61-67, 2007.

HANIFIN, J. M.; RAJKA, G. Diagnostic features of atopic dermatitis. **Acta Dermato-Venereologica (Stockh)**, v.92, p.44-47, 1980.

HARPER, J. I. et al. Cyclosporin for Atopic Dermatitis in Children. **Dermatology**, v.203, p.3-6, 2001.

HATA, T. et al. Artepillin C, a Major Ingredient of Brazilian Propolis, Induces a Pungent Taste by Activating TRPA1 Channels. **Plos One**, v.7, n.11, 2012.

HAUSEN, B. M. et al. Propolis allergy I. Origin properties usage and literature review. **Contact Dermatitis**, v.17, p.163–170, 1987.

HECK, R. et al. Film-forming formulations containing porous silica for the sustained delivery of actives to the skin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.108, p.1-8, 2016.

HJALTE, F.; STEEN, C. K.; SCHMITT, E. M. Sustained PASI, DLQI and EQ-5 response of biological treatment in psoriasis: 10 years of real-world data in the Swedish National Psoriasis Register. **British Journal of Dermatology**, 2017.

HILL, C. J.; ROSTENBERG, A. Adverse effects from topical steroids. **Cutis**, v.21, n.5, p.624-8, 1978.

HORI J. I. et al. The Inhibition of inflammasome by Brazilian Propolis (EPP-AF). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

ILLI, S. et al. The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.113, p.925-31, 2004.

JEONG, J. M. et al. Antioxidant and Chemosensitizing Effects of Flavonoids with Hydroxy and/or Methoxy Groups and Structure-Activity Relationship. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.10, n.4, p.537-546, 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, vol. 9. Guanabara Koogan, Brasil, p.111-128, 1999.

JOHNSON, M. E.; BLANKSCHTEIN, D.; LANGER, R. Evaluation of Solute Permeation through the Stratum Corneum: Lateral Bilayer Diffusion as the Primary Transport Mechanism. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.86, n.10, 1997.

JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; BROWN, A. D. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v.151, p.223–233, 1997.

KALILIN, A. E.; KAJAVA, A. V.; STEINERT, P. M. Epithelial barrier function: assembly and structural features of the cornified cell envelope. **BioEssays**, v.24, p.789–800, 2002.

KANEEDA, J.; NISHINA, T. Safety of propolis acute toxicity. **Honeybee Science**, v.15, p.29–33, 1994.

KANG, H. et al. Theobroma cacao extract attenuates the development of Dermatophagoides farinae-induced atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. **Food Chemistry**, v.1, n.216, p.19-26, 2017.

KIKUCHI, K.; TAGAMI, H. Noninvasive biophysical assessments of the efficacy of a moisturizing cosmetic cream base for patients with atopic dermatitis during different seasons. **Department of Dermatology**, p.980-8574, 2008.

KIRCIK, L. H.; DEL ROSSO, J. Q. Nonsteroidal treatment of atopic dermatitis in pediatric patients with a ceramide-dominant topical emulsion formulated with an optimized ratio of physiological lipids. **The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, v.4, n.12, p.25, 2011.

KOBAYASHI, T. et al. Dysbiosis and Staphylococcus aureus Colonization Drives Inflammation in Atopic Dermatitis. **Immunity**, v.42, 2015.

KOPPEL, S. A. et al. Efficacy of a Cream Containing Ceramides and Magnesium in the Treatment of Mild to Moderate Atopic Dermatitis: A Randomized, Double-blind, Emollient-and Hydrocortisone-controlled Trial. **Acta dermato-venereologica**, v.96, n.7, p.948-953, 2016.

KOPPEL, S. A. et al. Effect of allergens and irritants on levels of natural moisturizing factor and corneocyte morphology. **Contact dermatitis**, v.76, n.5, p.287-295, 2017.

KUBO, A. et al. The stratum corneum comprises three layers with distinct metal-ion barrier properties. **Scientific Reports**, v.3, p.1731, 2013.

KUNZ, B. et al. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. **Dermatology**, v.195, n.1, p.10-9, 1997.

LAI-CHEONG, J. E.; MCGRATH, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine (Baltimore)**, v.41, n.6, p.317-20, 2013.

LEE, S. H.; JEONG, S. K.; AHN, S. K. An update of the defensive barrier function of skin. **Yonsei Medical Journal**, v.47, p.293-306, 2006.

LEMOS, C. N. et al. **Nanoparticles influence in skin penetration of drugs: In vitro and in vivo characterization**. In: LEMOS, C. N.; PEREIRA, F.; DALMOLIN, L. F.; CUBAYACHI, C.; RAMOS, D. N.; LOPEZ, R. F. V. Pharmaceutical Nanotechnology Series. 1.ed. Estados Unidos: Elsevier, 2018. cap. 6, p.187-229.

LEMOS, C. N. et al. Iontophoresis-stimulated silk fibroin films as a peptide delivery system for wound healing. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.128, p.147-155, 2018.

LEITE, S. N.; VASCONCELLOS, M. D. P. C. Adesão à terapêutica medicamentosa: elementos para a discussão de conceitos e pressupostos adotados na literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.8, n.3, p.775-782, 2003.

LEUNG, D. Y. M.; BOGUNIEWICZ, M. Advances in allergic skin diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.111, n.3, 2003.

LUSTOSA S. R. et al. Propolis: updates on chemistry and pharmacology. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.447-454, 2008.

MACHADO J. L. et al. Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2012, p.157652, 2012.

MANCINI, A. J.; KAULBACK, K.; CHAMLIN, S. L. The socioeconomic impact of atopic dermatitis in the United States: a systematic review. **Pediatric Dermatology**, v.25, p.1-6, 2008.

MARGOLIS, D. J. et al. The persistence of atopic dermatitis and filaggrin (FLG) mutations in a US longitudinal cohort. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.130, n.4, p.912-917, 2012.

MARQUELE, F. D. et al. Propolis extract release evaluation from topical formulations by chemiluminescence and HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, n.2, p.461-468, 2006.

- MARTIN, T. R. Recognition of Bacterial Endotoxin in the Lungs. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v.23, p.128-132, 2000.
- MEDRONHO, A. R. **Epidemiologia**. São Paulo: Atheneu, 2009, p.305.
- MENON, G. K. New insights into skin structure: scratching the surface. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.54 Suppl. 1, p.S3-S17, 2002.
- MIYATAKA, H. et al. Evaluation of propolis. I: Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physicochemical methods. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.20, n.5, p.496-501, 1997.
- MOHER, D. et al. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. **Journal of Clinical Epidemiology**, v.63, n.8, p.1-37, 2010.
- MORE, S. B.; NANDGUDE, T. D.; PODDAR, S. S. Vesicles as a tool for enhanced topical drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.10, p.196–208, 2016.
- MULLER, M. C.; RAMOS, D. G. Psicodermatologia: uma interface entre a Psicologia e a Dermatologia. **Psicologia Ciência e Profissão**, v.24, n.3, p.76-84, 2004.
- NASCIMENTO, E. A. et al. Um marcador químico de fácil detecção para a própolis de Alecrim-do-Campo (*Baccharis dracunculifolia*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, 2008.
- NEEDLEMAN, I. G; SMALES, F. C. *In vitro* assessment of bioadhesion for periodontal and buccal drug delivery. **Biomaterials**, v.16, n.617-624, 1995.
- OEDRA, K. M. Current clinical practice in atopic dermatitis. **Nursing Standard**, v.28, n.49, p.45-51, 2014.
- OECD. **Method B.41**, EU, 2000, 2008; Test Guideline 432, 2004.
- OL´AH, A. et al. Echinacea purpurea-derived alkylamides exhibit potent anti-inflammatory effects and alleviate clinical symptoms of atopic eczema. **Journal of Dermatological Science**, 2017.
- ORFALI, R. L. et al. Atopic dermatitis in adults: clinical and epidemiological considerations. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.59, n.3, p.270–275, 2013.
- ORSATTI, C. L. et al. Propolis immunomodulatory action in vivo on Toll-like receptors 2 and 4 expression and on pro-inflammatory cytokines production in mice. **Phytotherapy Research**, v.24, n.8, p.1141-1146, 2010.

OSKOUEI, T. E.; NAJAFI, M. Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases: A Review. **Iran Journal of Basic Medical Sciences**, v.16, n.6, p.731-742, 2013.

PALLER, A. S.; MANCINI, A. J.; HURWITZ, S. **Clinical Pediatric Dermatology: a textbook of skin disorders of childhood and adolescence**. 5<sup>a</sup>ed. Nova Iorque: Elsevier, 2016, p.640.

PETRILLI, R.; LOPEZ, R. F. V. Physical methods for topical skin drug delivery: concepts and applications. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.54, 2018.

PLANZ, V.; LEHR, C. M.; WINDBERGS, M. In vitro models for evaluating safety and efficacy of novel technologies for skin drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v.242, p.89-104, 2016.

POLAT, B. E. et al. Ultrasound-Mediated Transdermal Drug Delivery: Mechanisms, Scope, and Emerging Trends. **Journal of Control Release**, v.152, n.3, 2011.

POWER, C. E. et al. Microbiome and pediatric atopic dermatitis. **The Journal of Dermatology**, v.42, n.12, p.1137-1142, 2015.

PRAUSNITZ, M. R. et al. Electroporation of mammalian skin: A mechanism to enhance transdermal drug delivery. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.90, p.10504-10508, 1993.

PROKSCH, E.; JENSEN, J. M.; ELIAS, P.M. Skin Lipids and Epidermal Differentiation in Atopic Dermatitis. **Clinics in dermatology**, v.21, p.134-144, 2003.

ROMAY, A. A.; FRANCO, M. A.; MALDONADO, R. R. Therapeutic Efficacy, Secondary Effects, and Patient Acceptability of 10% Sulfur in Either Pork Fat or Cold Cream for the Treatment of Scabies. **Pediatric Dermatology**. México, v.8, n.1, p.64-66, 1991.

SAITO, Y. et al. Brazilian green propolis water extract up-regulates the early expression level of HO-1 and accelerates Nrf2 after UVA irradiation. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.15, p.421, 2015.

SCHIMMER, B. P.; PARKER, K. L. **Hormônio Adrenocorticotrópico: Esteróides Adrenocorticais e seus análogos sintéticos; inibidores da síntese e das ações dos hormônios Adrenocorticais**. In: SCHIMMER, B. P. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 10.ed. Rio de Janeiro, 2005.

SCHMITT, J. et al. Prednisolone vs. ciclosporin for severe adult eczema. An investigator-initiated double-blind placebo-controlled multicentre trial. **British Journal of Dermatology**, v.162, p.661-8, 2010.

SENYIGIT, T.; OZCAN, I.; OZER O. Innovative topical formulations for treatment of dermatitis. **Recent Patents of Inflammation Allergy Drug Discovery**, v.6, p.186-201, 2012.

SHARMA, L. Diagnostic clinical features of atopic dermatitis. **Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology**, v.67, p.25-27, 2001.

SHAH, K. N. et al. Psoriasis in childhood: effective strategies to improve treatment adherence. **Psoriasis: Targets and Therapy**, v.5, p.43-54, 2015.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, v.31, n.3, p.669-682, 2010.

SILVA, S. A. M.; VALARINI, M. F. C.; LEONARDI, G. R. Estudo de estabilidade, análise de comportamento reológico e investigação de Cristais-Líquidos de formulações contendo pó-de-pérola. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, n.2, p.109-114, 2013.

SIMON, M. et al. Evidence that filaggrin is a component of cornified cell envelopes in human plantar epidermis. **Biochemical Journal**, v.317, p.173–177, 1996.

SILVERBERG, N. B.; WONG, L. M.; YOSIPOVITCH, G. Diet and atopic dermatitis. **Cutis**, v.97, n.3, p.227-232, 2016.

SMEDEN, V.; BOUWSTRA, J. A. Stratum Corneum Lipids: Their Role for the Skin Barrier Function in Healthy Subjects and Atopic Dermatitis Patients. **Currents Problems in Dermatology Basel**, v.49, p.8-26, 2016.

SOLÉ, D. et al. Prevalência de sintomas de asma, rinite e eczema atópico entre crianças e adolescentes brasileiros identificados pelo *International Study of Asthma and Allergies* (ISAAC): Fase 3. **J Pediatric**, v.82, n.5, p.341-6, 2006.

SONG Y. S. et al. Ethanol extract of propolis inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, n.2-3, p.155-161, 2002.

SOUSA, J. P. B. et al. A reliable quantitative method for the analysis of phenolic compounds in Brazilian propolis by reserve phase high performance liquid chromatography. **Journal of separation science**, v.30, n.16, 2007.

SZLISZKA, E. et al. Chemical Composition and Anti-Inflammatory Effect of Ethanolic Extract of Brazilian Green Propolis on Activated J774A.1 Macrophages. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

SZCZEPANOWSKA, J.; REICH, A.; SZEPIETOWSKI, J. C. Emollients improve treatment results with topical corticosteroids in childhood atopic dermatitis: a randomized comparative study. **Pediatric Allergy and Immunology**, v.19, p.614-618, 2008.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, p.227-258, 2004.



TAVARES, N. U. L. et al. Fatores associados à baixa adesão ao tratamento medicamentoso em idosos. **Revista de Saúde Pública**, v.47, n.6, p.1-9, 2013.

TAYLOR, R.; BEWLEY, A.; MELIDONIS, N. Psychodermatology. **Psychiatry and Medicine**, v.5, n.3, p.81-84, 2006.

THOMSEN, S. F. Epidemiology and natural history of atopic diseases. **European Clinical Respiratory Journal**, v. 24, 2015.

TOYODA, M. et al. Never growth factor and substance P are useful plasma markers of disease activity in atopic dermatitis. **British Journal of Dermatology**, v.147, p.71-9, 2002.

TUIN, A. et al. On the role and fate of LPS-dephosphorylating activity in the rat liver. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.290, p.377-385, 2006.

WASSERBAUER, N.; BALLOW, M. Atopic dermatitis. **American Journal of Medicine**, v.122, p.121-125, 2009.

WERTZ, P.W. Current Understanding of Skin Biology Pertinent to Skin Penetration: Skin Biochemistry. **Skin Pharmacology and Physiology**, v.26, p.217-226, 2013.

WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. Penetration enhancers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p.603-618, 2004.

WOLLENBERG, A. et al. ETFAD/EADV Eczema task force 2015 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis in adult and pediatric patients. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.30, n.5, p.729-47, 2016.

YOU, C. E. et al. Effects of emollient containing bee venom on atopic dermatitis: a double-blinded, randomized, base-controlled, multicenter study of 136 patients. **Annals of Dermatology**, v.28, n.5, p.593-599, 2016.