



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas  
poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de  
suas atividades biológicas em células de câncer de próstata**

**ANDRÉIA MARINCEK LUZENTI**

**Ribeirão Preto  
2022**



**ANDRÉIA MARINCEK LUZENTI**

**Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas em células de câncer de próstata**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

**Orientador (a):** Profa. Dra. Priscyla Daniely Marcato Gaspari

**Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 28/04/2022. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.**

Ribeirão Preto  
2022

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Luzenti, Andréia Marincek

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas em células de câncer de próstata. Ribeirão Preto, 2022.

123 p.: il. ; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador (a): Marcato, Priscyla Daniely.

1. Nanopartículas. 2. Câncer. 3. Própolis.

Nome do autor: LUZENTI, Andréia Marincek

Título do trabalho: Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas em células de câncer de próstata

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me guiar, pelas oportunidades e o seu amor infinito.

Aos meus pais e irmãos por todo o amor, amparo e cuidado que tiveram comigo ao longo da minha vida.

Ao meu marido pelo amor e carinho com que tem me acompanhado nos últimos anos e por me apoiar e encorajar sempre.

À Profa. Dra. Priscyla D. Marcato Gaspari pela confiança na minha capacidade, por me incentivar e pelo carinho com que me recebeu em seu grupo de pesquisa.

À técnica Tais N. Chrysostomo Massaro pela paciência, o suporte e a amizade.

Aos amigos e colegas de trabalho Ivana Carvalho, Letícia Prado, Fernando Beserra, Rogério Benati, Cristiane Chedraoui, e em especial à Letícia Bueno, Caroline Botteon, Isabela Araújo, Iasmin Ferreira e Bianca Fontanezi pela parceria, troca de conhecimentos e companheirismo tanto nas dificuldades quanto nas alegrias.

Aos grupos de pesquisa parceiros pela gentileza e apoio nos experimentos realizados.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas e às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPESP pela oportunidade e apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

“O essencial é invisível aos olhos.” (Saint-Exupéri, A., 1943)

## RESUMO

LUZENTI, A. M. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas em células de câncer de próstata.** 2022. 123 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

O câncer de próstata é o sexto tipo com maiores índices de mortalidade na população mundial masculina. O tratamento para esse tipo de câncer pode levar a alterações fisiológicas que prejudicam a qualidade de vida dos pacientes e, por esse motivo, novos compostos têm sido estudados como substitutos ao tratamento convencional. A própolis tem mostrado atividade citotóxica frente a vários tipos de câncer, sendo as de maior interesse no Brasil a própolis verde (PV) e a própolis vermelha brasileira (PVB). O uso terapêutico da própolis é limitado devido à reduzida biodisponibilidade de grande parte de seus compostos, sendo a nanoencapsulação destes uma estratégia para superar essas limitações. Os objetivos deste trabalho foram o desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas contendo PV (NC-PV) ou PVB (NC-PVB) e avaliação da sua atividade biológica em células de câncer de próstata. Para isso, extratos de PV ou PVB foram encapsulados em estruturas do tipo nanocápsulas, sendo o seu método de obtenção otimizado por planejamento experimental *Box-Behnken Design*, avaliando a influência das concentrações de polímero, óleo e tensoativo no diâmetro e índice de polidispersão (PdI) das nanoestruturas. As NC-PV e NC-PVB apresentaram diâmetros de 201 e 183 nm, respectivamente, baixo PdI, potencial zeta negativo e pH entre 3 e 4. A eficiência de encapsulamento dos marcadores de ambos os extratos determinada por UPLC/MS foi superior a 98%, com exceção do ácido cumárico (43%). Os nanocarreadores apresentaram forma esférica, estabilidade no período avaliado (120 dias) e um perfil de liberação *in vitro* dos compostos majoritários controlado especialmente por mecanismos de erosão e difusão. Os ensaios de citotoxicidade conduzidos em células de câncer de próstata PC-3 indicaram uma maior atividade citotóxica dos extratos livre e encapsulado de PVB em comparação aos de PV; além disso, a NC-PV apresentou citotoxicidade superior ao extrato de PV, enquanto a NC-PVB e PVB demonstraram citotoxicidades semelhantes. Dessa forma, os resultados obtidos indicam que as formulações de nanocápsulas desenvolvidas constituem um sistema favorável ao encapsulamento dos extratos de PV e PVB com potencial aplicação em terapias contra o câncer. Palavras-chave: Nanopartículas. Câncer. Própolis.

## ABSTRACT

LUZENTI, A. M. **Development and characterization of polymeric nanoparticles containing propolis extracts and evaluation of their biological activities in prostate cancer cells.** 2022. 123 p. Dissertation (Master) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Prostate cancer is the sixth type with the highest mortality rates in the male population worldwide. The treatment for this type of cancer can lead to physiological changes that impair the quality of life of patients and, for this reason, new compounds have been studied as substitutes for conventional treatment. Propolis has shown cytotoxic activity against several types of cancer, the most interesting in Brazil being green propolis (GP) and Brazilian red propolis (BRP). The therapeutic use of propolis is limited due to the reduced bioavailability of most of its compounds and their nanoencapsulation is a strategy to overcome these limitations. The goals of this work were the development and characterization of nanocapsules containing GP (GP-NC) or BRP (BRP-NC) and evaluation of their biological activity in prostate cancer cells. For this, GP or BRP extracts were encapsulated in nanocapsules and their preparation method was optimized by an experimental design, Box Behnken Design, evaluating the influence of Polymer, oil and surfactant concentrations on the diameter and polydispersity index (PdI) of nanostructures. GP-NC and BRP-NC had diameters of 201 and 183 nm, respectively, low PdI, negative zeta potential and pH around 3 and 4. The encapsulation efficiency of the markers of both extracts determined by UPLC-MS was higher than 98%, with the exception of coumaric acid (43%). The nanocarriers showed a spherical shape, stability in the evaluated period (120 days) and a release profile controlled specially by erosion and diffusion mechanisms. Cytotoxicity assays conducted on PC-3 prostate cancer cells indicated greater cytotoxic activity of free and encapsulated BRP extracts compared to GP; also, GP-NC showed superior cytotoxicity in relation to GP, while BRP-NC and BRP had similar cytotoxicities. Thus, the results obtained indicate that the nanocapsule formulations developed constitute a favourable system for the encapsulation of GP and BRP extracts with a potential application in intravenous therapies against cancer.

Keywords: Nanoparticles. Cancer. Propolis.



## 1 INTRODUÇÃO

Com um estilo de vida cada vez mais urbano e sedentário, as pessoas estão mais susceptíveis a fazerem parte dos altos índices de morbidade e mortalidade decorrentes dos mais variados tipos de câncer. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no ano de 2018 ocorreram 18 milhões de casos novos dos mais diversos tipos da doença e 9,8 milhões de pessoas foram à óbito em decorrência de câncer, sendo a incidência em homens superior em comparação às mulheres (BRASIL, 2019).

De acordo com as estimativas do INCA, são esperados 625 mil novos casos de câncer no Brasil entre os anos de 2020 e 2022 (BRASIL, 2019). A *American Cancer Society* presume que mais de 608 mil pessoas morrerão de câncer somente nos Estados Unidos, sendo o câncer de próstata um dos principais tipos listados (SIEGEL et al., 2021).

O interesse por terapias contra o câncer que sejam mais seguras, com menos efeitos colaterais, direcionamento ao sítio alvo e que evitem mecanismos de resistência tumoral tem crescido nos últimos anos, abrindo espaço para pesquisas focadas em nanomedicina e em compostos alternativos às terapias convencionais (AHMAD et al., 2019; GUAN et al., 2021).

Por apresentarem atividades biológicas diversificadas, as própolis brasileiras tem ganhado destaque no mercado internacional, sendo exportadas para o Japão, Estados Unidos e países da Europa. O interesse no potencial da própolis é tamanho que levou à formação de um grupo para trabalhar em uma nova ISO (ISO/TC34/SC19/WG2) que estabeleça uma padronização dos processos que envolvem esse tipo de material.

Estudos recentes tem mostrado o potencial de extratos de própolis contra tumores como os de cabeça e pescoço, mama, fígado, pele, bexiga, entre outros (PATEL, 2016; BERRETTA et al., 2020), porém muitos dos seus compostos de interesse apresentam baixa biodisponibilidade, gerando uma demanda para a sua veiculação em sistemas nanoparticulados (ALJUFFALI et al., 2016; WATKINS et al., 2015).

Este projeto surgiu pela ideia de realizar um estudo comparativo da atividade das duas principais própolis brasileiras veiculadas em nanocarreadores do tipo poliméricos contra tumores de próstata, visto não ter sido encontrado na literatura científica trabalho semelhante. Além disso, o encapsulamento de própolis em sistemas nanoestruturados com aplicação antitumoral, apesar de promissor, ainda é pouco explorado. Para tanto, nós desenvolvemos nanocápsulas carregadas com extratos de própolis verde (PV) ou própolis vermelha brasileira (PVB) que foram caracterizadas por diferentes técnicas e comparadas com os extratos em forma

livre quanto à sua citotoxicidade em células metastáticas oriundas de câncer primário de próstata.

O presente trabalho está inserido no projeto temático financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (nº 2017/04138-8), coordenado pelo Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos, com a colaboração da Profa. Dra. Priscyla Daniely Marcato Gaspari, e no projeto de pesquisa regular financiado pela FAPESP (nº 2018/13465-5) coordenado pela Profa. Dra. Priscyla Daniely Marcato Gaspari. Além disso, essa pesquisa faz parte do INCT-NANOFARMA (FAPESP nº 2014/50928-2, CNP1 465687/2014-8) e está cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) (AF234D8).

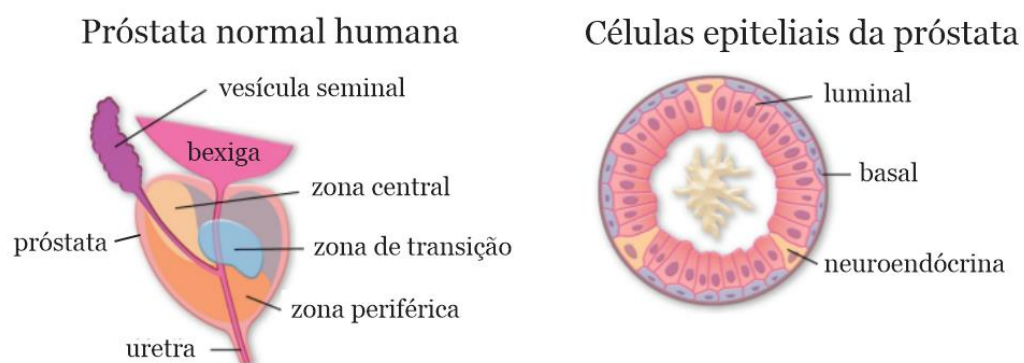
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CÂNCER DE PRÓSTATA

#### 2.1.1 Próstata

A próstata é uma glândula situada abaixo da bexiga formada por tecidos glandulares em forma de ácinos que se dividem entre zonas central, de transição e periférico, envolvendo as regiões dos ductos ejaculatórios e uretra, e um tecido fibromuscular que envolve essa região, o estroma (AARON; FRANCO; HAYWARD, 2016; HENRY et al., 2019). O epitélio prostático é formado por três tipos de células, basal, luminal e neuroendócrinas, sendo que as duas primeiras e as células do estroma expressam receptores andrógenos, essenciais ao desenvolvimento da próstata (HEINLEIN; CHANG, 2004; HENRY et al., 2019; WANG et al., 2018). A Figura 1 ilustra as principais regiões de um tecido prostático humano normal.

Figura 1 - Estruturas da próstata humana normal



Fonte: Adaptado de WANG et al., 2018.

Inicialmente, os receptores andrógenos são ativados pela ligação dos seus substratos, testosterona ou di-hidrotestosterona, gerando mudanças em sua estrutura com consequente translocação nuclear. No núcleo, esses receptores tem a capacidade de atuar como fatores de transcrição, ativando genes responsáveis por induzir proliferação celular e apoptose (HEINLEIN; CHANG, 2004).

Um dos principais produtos das células do epitélio prostático, o antígeno prostático específico (PSA) ou caliceína-3 é uma glicoproteína do tipo serina protease cuja função principal é promover a hidrólise de proteínas como as semenogelina I e II que coagulam o sêmen, liquefazendo-o e permitindo que os espermatozoides se movimentem (PEZARO; WOO;

DAVIS, 2014; FERRO et al., 2016; PÉREZ-IBAVE; BURCIAGA-FLORES; ELIZONDO-RIOJAS, 2018).

### **2.1.2 Desenvolvimento do câncer de próstata**

O câncer de próstata é o segundo tipo de câncer mais incidente em homens no mundo e o sexto com maiores índices de mortalidade nesse gênero (RAWLA, 2019; KHAN et al., 2020). No Brasil, é o primeiro mais diagnosticado após o câncer de pele não melanoma e o segundo tipo mais letal em homens, sendo estimado mais de 65 mil casos para cada ano entre 2020 e 2022 (JEREZ-ROIG et al., 2014; BRASIL, 2019).

Esse tipo de câncer é prevalente em homens afro-americanos e com mais de 65 anos, sendo os principais fatores de risco a idade avançada e histórico familiar da doença, além de condições ambientais como obesidade, hábito de fumar e sedentarismo (RAWLA, 2019; CHOWDHURY-PAULINO et al., 2021).

Quando as células do lúmen prostático sofrem uma mutação neoplásica mas as células basais ainda mantêm sua estrutura normal, considera-se que existe uma lesão pré-cancerosa, denominada neoplasia intraepitelial prostática de alto grau. Se, porém, as células da camada basal também estiverem comprometidas, o paciente é diagnosticado com adenocarcinoma da próstata, de modo que a maior parte dos casos desse tipo de câncer ocorrem na zona periférica da glândula (HENRY et al., 2019; LEE; AKIN-OLUGBADE; KIRSCHENBAUM, 2011).

Uma das características que diferenciam o câncer de próstata de outros tipos de cânceres é o fato de que em cerca de 80% dos casos existem mais de dois núcleos tumorais de origem celular e em sítios diferentes, que podem evoluir de maneira independente (YEOMAN, 2017). A partir de um câncer localizado, as células neoplásicas podem ultrapassar a camada basal e migrar para tecidos próximos, especialmente os linfonodos locais, podendo alcançar a circulação sanguínea e se espalharem para outros sítios metastáticos, sendo um dos mais comuns os tecidos ósseos (WANG et al., 2018).

### **2.1.3 Diagnóstico e Tratamento convencional**

Os critérios e metodologias para diagnóstico do câncer de próstata ainda são controversos entre a comunidade mundial de urologistas, porém a suspeita geralmente é originada a partir de níveis elevados de PSA e anormalidades detectadas pelo exame retal digital. A confirmação da existência do câncer é feita por exame de ultrassonografia transretal

e biópsia do tecido da glândula (STABILE et al., 2020). O prognóstico sugerido pela biópsia baseia-se em um sistema de cinco grupos (*Grade Group*), que são divididos de acordo com pontuações de 2 a 10 (*Gleason Score*) de acordo com os dois padrões predominantes de células, variando de morfologia celular normal a presença de mutação (CIMADAMORE et al., 2021).

O início do rastreamento é recomendado a partir dos 45 anos de idade, especialmente para homens com histórico familiar da doença (RAWLA, 2019), mas deve sempre ser discutido entre médico e paciente. Os níveis séricos de PSA podem estar elevados em casos de hiperplasia prostática benigna ou simplesmente por manipulação da próstata, não devendo, portanto, ser um parâmetro decisivo para o diagnóstico de forma isolada (LOEB; GASHTI; CATALONA, 2009).

Em relação ao tratamento, dependendo das condições do paciente, da sua expectativa de vida e do estágio da doença, opta-se por exames de monitoramento do avanço do tumor ou pelas opções de tratamentos disponíveis, que envolvem principalmente quimioterapia, radioterapia, braquiterapia, hormonioterapia e/ou prostatectomia radical, que consiste na remoção da próstata e vesículas seminais (IZIDORO et al., 2019). A prostatectomia radical, considerada como padrão-ouro no tratamento desse câncer, pode levar o paciente a desenvolver problemas como disfunção erétil e incontinência urinária (NOSSITER et al., 2021).

O tratamento farmacológico pode incluir quimioterápicos como docetaxel e cabazitaxel, que atuam como bloqueadores de mitose; bloqueadores de receptor andrógeno ou de produção de testosterona, como abiraterone e enzalutamide; imunoterápicos, como a vacina Sipuleucel-T (Provenge); ou ainda radioisótopos (KOMURA et al., 2018). Além dos inúmeros efeitos colaterais e prejuízos à qualidade de vida que os tratamentos convencionais ocasionam, muitos tumores prostáticos primários ou metastáticos podem desenvolver mecanismos de resistência aos agentes farmacológicos comumente utilizados (PATEL, 2016; IZIDORO et al., 2019).

Casos de terapia hormônio refratárias geralmente ocorrem devido ao aumento da expressão de receptores andrógenos ou ainda por mutações nessas proteínas (HU; WANG; SUN, 2017). Essas alterações podem tornar os receptores independentes, não havendo mais a necessidade da ligação dos hormônios para o ativarem, atuando então como fatores de transcrição na expressão de genes importantes ao desenvolvimento do tumor (HEINLEIN; CHANG, 2004).

A demanda por estratégias terapêuticas opcionais aos tratamentos existentes contra o câncer despertou o interesse por materiais como a própolis, que tem sido objeto de estudo por demonstrar atividade citotóxica contra vários tipos de tumores, incluindo os de próstata,

representando uma notável estratégia de potencialização de quimioterápicos convencionais e redução dos seus efeitos colaterais (PATEL, 2016; ZABAIYOU et al., 2017a).

## 2.2 PRÓPOLIS

A própolis é um composto resinoso produzido por abelhas principalmente da espécie *Apis mellifera* formado por substâncias coletadas de diferentes partes de plantas misturadas à saliva e cera das abelhas e pólen (SILVA et al., 2012; PREMRATANACHAI; CHANCHAO, 2014; SFORCIN, 2016). É mundialmente conhecida por suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antifúngica, antiviral e antimicrobiana (SFORCIN; BANKOVA, 2011; DANTAS SILVA et al., 2017).

A composição da própolis pode variar de acordo com a região, clima e sazonalidade, sendo que mais de 300 diferentes compostos já foram identificados. Em geral, ela apresenta 50% de resinas e bálsamos, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de compostos orgânicos e 5% de pólen (SILVA et al., 2012; SFORCIN, 2016). São descritos 13 grupos nas diferentes regiões do Brasil, 12 deles apresentando cores que variam entre o amarelo, marrom e verde, sendo o grupo mais recentemente caracterizado de cor vermelha (DANTAS SILVA et al., 2017; REIS et al., 2019).

Em face da complexa composição química desse material, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) elaborou uma Instrução Normativa publicada em 2001 estabelecendo os requisitos mínimos de qualidade para diversos produtos apícolas, dentre eles a própolis e seus extratos (BRASIL, 2001).

### 2.2.1 Própolis verde

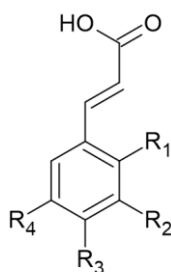
Proveniente da região Sudeste do Brasil, a principal fonte botânica da PV (Figura 2) é o arbusto *Baccharis dracunculifolia*, conhecida como “vassourinha do campo”(BERRETTA et al., 2017; RODRIGUES et al., 2020). Os principais componentes dessa própolis são compostos fenólicos com destaque para os ácidos fenólicos derivados do ácido cinâmico (Figura 3) como o artepelin C, bacarina, drupanina, e ácidos cumárico e cafeico, abundantes na PV brasileira (SALGUEIRO; CASTRO, 2016; BERRETTA et al., 2017; ZABAIYOU et al., 2017; ENDO et al., 2018).

Figura 2 - Própolis verde



Fonte: FRANÇA; RAMOS JÚNIOR, 2019.

Figura 3 - Estrutura básica dos ácidos hidroxicinâmicos



Fonte: VALANCIENE et al., 2020.

Szliszka e colaboradores observaram em estudos realizado em células da linhagem LNCaP (metástase linfonodal de câncer de próstata) que o extrato etanólico de PV de origem brasileira e o artepelin C de forma isolada são capazes de induzir a apoptose mediada pelo ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral (TRAIL), sensibilizando as células resistentes à esse mecanismo de morte celular programada (SZLISZKA et al., 2011; SZLISZKA et al., 2012). Estudos recentes demonstraram que a bacarina é capaz de inibir seletivamente a enzima AKR1C3, uma alfa-ceto redutase super-expressa em tumores prostáticos hormônio dependentes (ENDO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2021).

### 2.2.2 Própolis vermelha Brasileira

Inicialmente descrita na literatura em 2007, a PVB (Figura 4), ganhou destaque no mercado mundial por apresentar uma composição diferenciada das demais própolis (FREIRES; DE ALENCAR; ROSALEN, 2016). Sua principal fonte botânica é uma espécie encontrada em mangues e no litoral da região Nordeste do país, a *Dalbergia ecasthophyllum* (FREIRES; DE ALENCAR; ROSALEN, 2016; REIS et al., 2019). A existência de derivados poliprenilados de

benzofenonas em extratos dessa própolis indicam a coparticipação de uma outra fonte vegetal, a *Symphonia globulifera* (ALDANA-MEJIA et al., 2021).

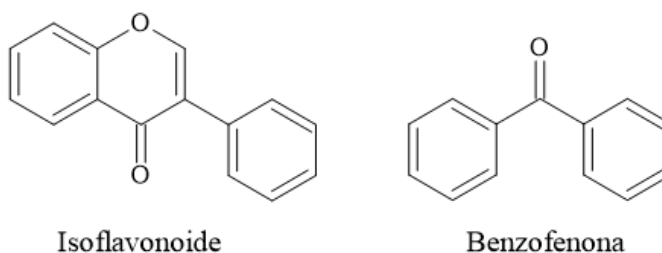
Figura 4 - Própolis vermelha brasileira



Fonte: BERLINCK, 2020.

Os compostos mais relacionados à sua atividade biológica são metabólitos secundários do tipo isoflavonoides, como a formononetina, biochanina A, vestitol, neovestitol, liquiritigenina, isoliquiritigenina e pinocembrina, sendo também encontrados benzofenonas e outras classes de compostos (FREIRES; DE ALENCAR; ROSALEN, 2016; BERRETTA et al., 2017; REIS et al., 2019). As estruturas químicas dos isoflavonoides e benzofenonas estão ilustradas na Figura 5.

Figura 5 – Estruturas químicas básicas dos isoflavonoides e benzofenonas



Fonte: Adaptado de CHERRAK et al., 2016; HASSAN; OLAOYE, 2020.

Dados da literatura apontaram que a formononetina é capaz de induzir apoptose em células das linhagens LNCaP (YE et al., 2012) e PC-3 (metástase óssea de câncer de próstata), sugerindo como mecanismo principal a inibição da sinalização celular mediada pelo fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), que pode estar relacionado à gênese do tumor (HUANG et al., 2014). Szliszka et al. apontaram que a biochanina A também é capaz de induzir apoptose mediada por TRAIL em células de câncer de próstata LNCaP e DU145 (SZLISZKA et al., 2013).



Botteon et al. demonstraram a capacidade citotóxica dose-dependente do extrato de PVB e diferentes frações em células da linhagem PC-3, correlacionando essa atividade com a presença de altas concentrações de formononetina, liquiritigenina, medicarpina e benzofenonas nas diferentes amostras testadas (BOTTEON et al., 2021).

A partir dessas observações, considera-se que os extratos de PV e PVB sejam possíveis alternativas para serem utilizadas na terapêutica do câncer de próstata. Entretanto, esses extratos apresentam limitações como a baixa estabilidade inerente de alguns dos seus compostos bioativos, sendo estes susceptíveis à reações de degradação que reduzem a sua eficácia (DAUDT et al., 2013; WATKINS et al., 2015), alta lipossolubilidade de seus bioativos a ponto de não se solubilizarem no sangue ou ainda terem compostos tão hidrofílicos ou grandes a ponto de não conseguirem atravessar as membranas biológicas, resultando na sua baixa biodisponibilidade (ENRICO, 2019; WATKINS et al., 2015). Uma das estratégias para superar essas limitações é o encapsulamento dos mesmos em nanopartículas.

### 2.3 NANOTECNOLOGIA E NANOMEDICINA

Historicamente, o conceito de nanotecnologia foi apresentado ao mundo pelo físico Richard Feynman em uma palestra intitulada “*There is plenty of room at the bottom*”, em 1959. Anos após, em 1974, o cientista Norio Taniguchi instituiu o conceito de “nanotecnologia” (BAYDA et al., 2020). O *Food and Drug Administration* (FDA) considera como “nanomaterial” um produto composto por materiais com pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica (de 1 a 100 nm) ou material com diâmetro de até 1000 nm que apresente alteração de propriedades físicas, químicas ou biológicas que podem ser atribuídas ao seu tamanho (FDA, 2014).

No campo da nanomedicina, já há no mercado medicamentos nanotecnológicos de primeira geração contra o câncer, como Doxil® (cloridrato de doxorubicina) e Abraxane® (paclitaxel). Esses medicamentos apresentam como vantagem serem direcionados a região tumoral de forma passiva pelo efeito de Permeação e Retenção Aumentados (EPR) devido ao reduzido diâmetro das nanopartículas (BARAR; OMIDI; GUMBLETON, 2015). O efeito EPR é baseado na teoria de que partículas com diâmetro entre 50 e 250 nm teriam maior facilidade de entrar no microambiente tumoral devido à presença de fenestrações nos capilares sanguíneos de regiões tumorais, ficando ali retidas devido ao baixo fluxo linfático causado pelo processo inflamatório envolvido no câncer (WICKI et al., 2015; BARAR; OMIDI; GUMBLETON, 2015; NEL; RUOSLAHTI; MENG, 2017).

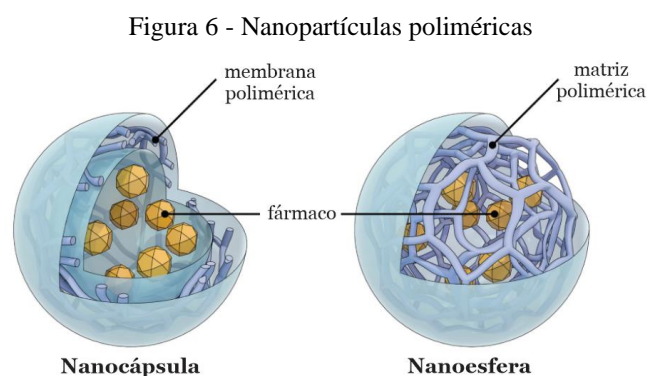
Além disso, o encapsulamento de substâncias ativas em sistemas nanoparticulados pode aumentar a estabilidade e solubilidade desses compostos, reduzir seus efeitos colaterais, promover uma liberação controlada ou sustentada dos mesmos ou ainda um direcionamento ao alvo biológico por tamanho e/ou características de superfície diferenciadas, o que propicia uma internalização celular aumentada e mecanismos de resistência tumoral reduzidos (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; WATKINS et al., 2015; EDIRIWICKREMA; SALTZMAN, 2015; WICKI et al., 2015).

O maior desafio no desenvolvimento de um nanocarreador para o tratamento do câncer está em correlacionar o ativo, a via de administração, as particularidades do tumor e a formulação e ainda apresentar as características adequadas de biodistribuição, eliminação do organismo e toxicidade (VAN DER MEEL et al., 2019). Características como o tamanho, geometria, carga superficial e composição química influenciam tanto no desempenho como na estabilidade das nanopartículas (BANIK; FATTAHI; BROWN, 2016).

Dentre os tipos de nanopartículas mais apropriados ao encapsulamento de produtos de origem natural estão os lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas, dendrímeros e as nanopartículas poliméricas, cada uma apresentando particularidades que podem ser mais vantajosas ou não para o fármaco e a via de administração escolhidos (ENRICO, 2019).

### 2.3.1 Nanopartículas poliméricas

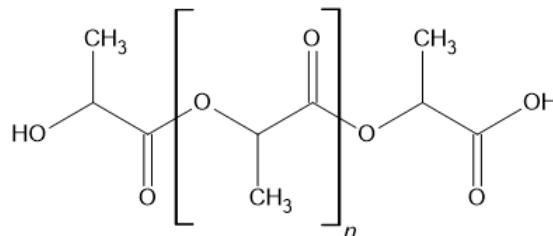
As nanopartículas poliméricas podem ser do tipo nanoesferas, formadas por uma matriz polimérica, ou nanocápsulas, com um núcleo oleoso envolto por uma membrana polimérica, podendo o fármaco estar disperso na matriz, dissolvido no centro ou ainda adsorvido à superfície das nanopartículas (AHLAWAT; HENRIQUEZ; NARAYAN, 2018), conforme ilustra a Figura 6.



As nanopartículas do tipo poliméricas podem ser produzidas com polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, sintéticos ou naturais, permitindo inclusive a funcionalização da sua superfície para um direcionamento ativo ao sítio de ação, ou passivo por meio do seu acúmulo no tecido tumoral através do efeito EPR (WANG et al., 2016; MASOOD, 2016). Geralmente, esse tipo de nanopartícula proporciona alta estabilidade e eficiência de encapsulação de ativos (LU et al., 2011).

O polímero poli ácido láctico (PLA) (Figura 7) é um poliéster obtido a partir de produtos como o milho e a cana de açúcar, aprovado pelo FDA para uso endovenoso por ser biodegradável e biocompatível uma vez que a sua hidrólise resulta em monômeros de ácido láctico não tóxicos e facilmente metabolizados pelo organismo humano (ARMENTANO et al., 2017; EDIRIWICKREMA; SALTZMAN, 2015; QI et al., 2019; ZAABA; JAAFAR, 2020). O PLA está disponível no mercado na forma de PLLA, PDLA ou PDLLA, formado por monômeros de L ou D-ácido láctico ou uma mistura de ambos, respectivamente, (LAKKIREDDY; BAZILE, 2016; ZAABA; JAAFAR, 2020) que influenciam na sua cristalinidade assim como no perfil de liberação das substâncias ativas encapsuladas em nanopartículas preparadas com esse polímero (CASALINI et al., 2019).

Figura 7- Estrutura química do poli (ácido láctico) – PLA



Fonte: VARGAS-VILLAGRAN et al., 2011.

Existem vários métodos de preparo de nanopartículas do tipo poliméricas. As mais comuns envolvem técnicas como emulsificação e evaporação de solvente, *salting-out*, nanoprecipitação e polimerização de monômeros (WANG et al., 2016).

O método de nanoprecipitação, inicialmente descrito por Fessi e colaboradores (FESSI et al., 1989) permite a obtenção de nanopartículas poliméricas do tipo nanoesferas (precipitação de polímero pré-formado) ou nanocápsulas (deposição interfacial de polímero), sendo vantajoso por ser de baixa complexidade e rápida execução, escalonável, consumir pouca energia e proporcionar uma boa eficiência de encapsulamento de fármacos lipofílicos, além de geralmente propiciar a formação de populações monodispersas de nanoestruturas (FESSI et al.,

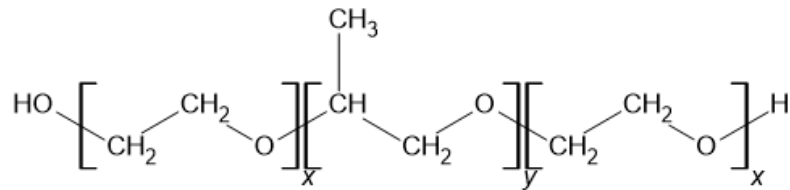
1989; YADAV; SAWANT, 2010; SALATIN et al., 2017). Para a obtenção de estruturas do tipo nanocápsulas, deve-se solubilizar o polímero, óleo e o fármaco em um solvente orgânico miscível em água e adicionar esse sistema à uma fase aquosa contendo um agente estabilizante, sob agitação. Neste processo, o solvente orgânico irá se difundir para a fase aquosa levando a precipitação/deposição do polímero na interface da gota de óleo formada, culminando com a formação das nanoestruturas (FESSI et al., 1989; (ALSHAMSAN, 2014; SALATIN et al., 2017).

Polímeros dos mais variados tipos podem ser utilizados para a formação de nanocápsulas com a função de proteger o fármaco contido no núcleo oleoso, sendo preferidos os polímeros e copolímeros biodegradáveis e, portanto, biocompatíveis, que permitam a liberação do ativo em um ambiente mais favorável à sua ação e sejam facilmente removidos do organismo, como, por exemplo, os poliésteres PLA, poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), policaprolactona (PCL), ou ainda polímeros de origem natural, como alginato e quitosana, sendo escolhidos de acordo com os objetivos pretendidos (BENNET; KIM, 2014; DENG et al., 2020). Além do polímero, o tensoativo e, no caso da nanocápsula, o óleo, são componentes críticos da formulação a serem cuidadosamente definidos. A seleção destes componentes deve ser realizada de acordo com os objetivos pretendidos e com a interação dos mesmos com o fármaco que será encapsulado.

O reduzido diâmetro e a alta área superficial das nanopartículas as torna instáveis por natureza, sendo recomendado, portanto, o uso de tensoativos para reduzir a tensão superficial dessas estruturas e proporcionar estabilidade cinética ao sistema, evitando a formação de aglomerados (PEREIRA et al., 2013; ALLOTEY-BABINGTON et al., 2018; SULTANA et al., 2020).

Os poloxâmeros são copolímeros tribloco, não iônicos e biodegradáveis, formados por uma porção central hidrofóbica de óxido de polipropileno rodeado por dois blocos hidrofílicos de óxido de polietileno, conforme ilustra a Figura 8. São utilizado como agentes estabilizadores de nanopartículas e aprovados pelo FDA para uso em formulações injetáveis (FAKHARI; CORCORAN; SCHWARZ, 2017; ALLOTEY-BABINGTON et al., 2018). Esse tipo de estabilizante confere às nanoestruturas estabilidade estérica e evita o processo de opsonização aumentando a meia-vida das partículas no organismo. Além disso, apresenta um potencial inibitório de efluxo promovido pela glicoproteína P através da depleção seletiva de ATP em células tumorais resistente à fármacos que superexpressam essa proteína (ALAKHOVA et al., 2010; MOURA et al., 2020).

Figura 8 – Estrutura química de um poloxâmero



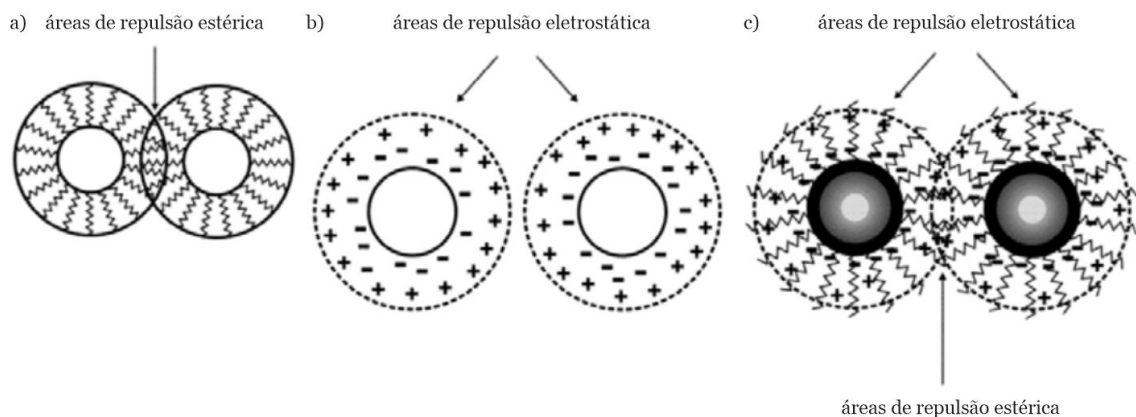
Fonte: BRUSCHI et al., 2017.

### 2.3.2 Mecanismos de estabilização de nanopartículas

A estabilidade de um sistema nanoestruturado depende da intensidade das forças de atração ou repulsão entre as nanopartículas e da composição da sua superfície, podendo ser de três tipos (CAPEK, 2013; SULTANA et al., 2020), conforme ilustrado na Figura 9:

- estérica: a presença de polímeros anfifílicos na superfície das nanopartículas promove a formação de uma barreira física, evitando que as partículas fiquem próximas, devido às cadeias hidrofílicas que se posicionam voltadas à água do meio onde elas estão inseridas;
- elétrica: as partículas podem apresentar cargas superficiais positivas ou negativas, sendo que partículas com carga semelhantes se repelem evitando a sua aglomeração;
- eletroestérica: quando ambos os mecanismos estão presentes na nanoestrutura.

Figura 9 - Mecanismos de estabilidade de nanoestruturas em solução



Onde: a) estabilidade estérica; b) estabilidade elétrica; c) estabilidade eletroestérica.

Fonte: Adaptado de CAPEK, 2013.

## 6 CONCLUSÕES

Este trabalho buscou explorar uma nova combinação de materiais para nanoencapsular extratos de própolis resultando em uma formulação que pudesse futuramente ser aplicável como terapia principal ou adjuvante contra o câncer, focando especialmente no adenocarcinoma de próstata, além de permitir a realização paralela de um estudo comparativo da atividade citotóxica desses extratos em uma linhagem celular metastática desse tipo de câncer.

Considerando as características dos extratos de PV e PVB descritas na literatura e os resultados de caracterização destes extratos obtidos no presente trabalho, foi possível explorar algumas das diferenças de composição entre esses materiais, evidenciando uma possível vantagem do uso do extrato de PVB em relação ao de PV em terapias anticâncer devido ao seu maior teor de flavonoides totais e potencial antioxidante, diferenças essas que, associadas à coparticipação de outros compostos com atividade citotóxica, podem auxiliar na compreensão da atividade biológica de cada extrato.

Como parte dos estudos de formulação, o planejamento experimental desenvolvido para otimizar a obtenção dessa formulação possibilitou conhecer a influência de três diferentes variáveis envolvidas no preparo das nanocápsulas (concentrações de polímero, estabilizante e óleo), evidenciando a utilidade desse tipo de metodologia para a obtenção de um produto final de acordo com as características desejadas e a partir de um reduzido número de experimentos.

Por meio das análises de caracterização das nanopartículas, foram identificadas estruturas do tipo *core-shell* com diâmetros considerados adequados para a promoção de um direcionamento passivo dessas nanoestruturas ao microambiente tumoral a partir da administração intravenosa e características de superfície que poderiam contribuir para a sua permanência na circulação sanguínea até a chegada ao destino final, além de ser verificado o encapsulamento dos biomarcadores dos extratos nas nanocápsulas. A partir do ensaio de perfil de liberação *in vitro*, foi possível evidenciar os principais mecanismos de liberação do artepelin C e formononetina a partir das nanoestruturas e mostrar o potencial de liberação prolongada proporcionado pela nanoencapsulação.

O método desenvolvido durante a condução do trabalho para a análise do extrato de PV por UPLC/MS, além de poder ser utilizado para a caracterização e quantificação de três compostos presentes neste material, oferece uma estratégia para a determinação de forma indireta da eficiência de encapsulamento dessas substâncias em nanoestruturas. As análises de eficiência de encapsulamento utilizadas comprovaram o potencial dos nanocarreadores desenvolvidos em encapsular os extratos de PV e PVB.

Por fim, a partir dos ensaios de viabilidade celular demonstrou-se o potencial citotóxico dos extratos de PV e PVB incorporados às nanocápsulas desenvolvidas em células da linhagem PC-3, destacando-se a atividade citotóxica superior das NC-PVB em comparação com as NC-PV que, por sua vez, mostraram-se consideravelmente mais vantajosas do que o extrato livre.

O conjunto de resultados obtidos neste trabalho traz evidências suficientes de que as formulações de nanocápsulas desenvolvidas podem ser consideradas sistemas promissores para a terapia do câncer de próstata. Porém, para uma maior compreensão do potencial de uso dessas formulações, é relevante a realização de estudos futuros onde se possa avaliar as suas atividades biológicas em outras linhagens celulares e os seus efeitos *in vivo*.

## REFERÊNCIAS

AARON, L. T.; FRANCO, O. E.; HAYWARD, S. W. Review of Prostate Anatomy and Embryology and the Etiology of Benign Prostatic Hyperplasia. **Urologic Clinics of North America**, v. 43, n. 3, p. 279–288, 2016.

AFSHARZADEH, M. et al. PEG-PLA nanoparticles decorated with small-molecule PSMA ligand for targeted delivery of galbanic acid and docetaxel to prostate cancer cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 5, p. 4618–4630, 2020.

AHLAWAT, J.; HENRIQUEZ, G.; NARAYAN, M. Enhancing the delivery of chemotherapeutics: Role of biodegradable polymeric nanoparticles. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 1–20, 2018.

AHMAD, A. et al. Precision Cancer Nanotherapy: Evolving Role of Multifunctional Nanoparticles for Cancer Active Targeting. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 23, p. 10475–10496, 2019.

ALAKHOVA, D. Y. et al. Differential metabolic responses to pluronic in MDR and non-MDR cells: A novel pathway for chemosensitization of drug resistant cancers. **Journal of Controlled Release**, v. 142, n. 1, p. 89–100, fev. 2010.

ALDANA-MEJIA, J. A. et al. Nonclinical Toxicological Studies of Brazilian Red Propolis and Its Primary Botanical Source *Dalbergia ecastaphyllum*. **Chemical Research in Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 1024–1033, 2021.

ALJUFFALI, I. A. et al. Nanomedicine as a Strategy for Natural Compound Delivery to Prevent and Treat Cancers. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 27, p. 4219–4231, 2016.

ALLOTEY-BABINGTON, G. L. et al. Cancer chemotherapy: Effect of poloxamer modified nanoparticles on cellular function. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 47, p. 181–192, 1 out. 2018.

ALSHAMSAN, A. Nanoprecipitation is more efficient than emulsion solvent evaporation method to encapsulate curcubitacin I in PLGA nanoparticles. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 22, n. 3, p. 219–222, 2014.

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.

ARAUJO, C. R. R. et al. Total antioxidant capacity, total phenolic content and mineral elements in the fruit peel of *Myrciaria cauliflora*. **Braz. J. Food Technol.**, v. 16, n. 4, p. 301–309, 2013.

ARLUISON, V.; WIEN, F. **Methods in Molecular Biology. RNA Spectroscopy: Methods and Protocols**. New York: Humana Press, 2020. v. 2113.

ARMENTANO, I. et al. **Chapter 5 - Multifunctional nanostructured biopolymeric**

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).



**materials for therapeutic applications.** Bucharest: Nanostructures for Novel Therapy. 2017. p. 107–135.

ATES, G. et al. **Chapter 2 - Assaying cellular viability using the neutral red uptake assay.** In: Cell Viability Assays: Methods in Molecular Biology. New York: Humana Press, 2017. v. 1601. p. 19–26.

BANIK, B. L.; FATTAHI, P.; BROWN, J. L. Polymeric nanoparticles: The future of nanomedicine. **WIREs Nanomed Nanobiotechnol**, v. 8, p. 271–299, 2016.

BARAR, J.; OMIDI, Y.; GUMBLETON, M. 12 - Molecular Targeted Therapy of Lung Cancer: Challenges and Promises. In: **Pulmonary Drug Delivery: Advances and Challenges.** Wiley. 2015.

BATISTA, L. L. V. et al. Comparative study of topical green and red propolis in the repair of wounds induced in rats. **Rev. Col. Bras. Cir**, v. 39, n. 6, p. 515–520, 2012.

BAYDA, S. et al. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 1–15, 2020.

BENNET, D.; KIM, S. **Chapter 8 - Polymer Nanoparticles for Smart Drug Delivery.** In: Application of Nanotechnology in Drug Delivery. London: IntechOpen. 2014.

BERLINCK, R. Flavonoid Dimers from Brazilian Red Propolis have Anti-Proliferative Activity on Cancer Cells. **Organic Chemistry of Biological Systems**, 2020. Disponível em: <<https://qosbioiqsc.blog/2020/09/20/flavonoid-dimers-from-brazilian-red-propolis-have-anti-proliferative-activity-on-cancer-cells/>>. Acesso em: 05 de out. 2021.

BERNARDI, F.; NICOLINI, K. P.; NICOLINI, J. Uso de espectroscopia de ultravioleta visível (UV-VIS) para a detecção de quercetina em plantas por meio da formação do complexo quercetina-alumínio. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 3, p. 271–276, 25 set. 2017.

BERRETTA, A. A. et al. **Chapter 4 - Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market.** In: Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization. InTech. 2017. p. 56–98.

BERRETTA, A. A. et al. Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 131, 2020.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.

BOTTEON, C. E. A. et al. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles using Brazilian red propolis and evaluation of its antimicrobial and anticancer activities. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2021.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. u. Technol.**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução**

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

**Normativa** nº 03, de 19 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC** nº 166, de 24 de julho de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA. 2019.

BRUINSMANN, F. A. et al. Chitosan-coated nanoparticles: Effect of chitosan molecular weight on nasal transmucosal delivery. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 2, p. 1–19, 2019.

BRUSCHI, M. L. et al. **Chapter 12 - Nanostructured therapeutic systems with bioadhesive and thermoresponsive properties**. In: Nanostructures for Novel Therapy. Elsevier. 2017.

CADETE, A. et al. Self-assembled hyaluronan nanocapsules for the intracellular delivery of anticancer drugs. **Scientific Reports**, v. 9, n. 11565, p. 1–11, 2019.

CAÑADAS, O.; CASALS, C. **Chapter 5 - Differential Scanning Calorimetry of Protein–Lipid Interactions**. In: Lipid-Protein Interactions: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. Springer Science+Business Media. 2019. v. 2003. p. 91–106.

CAPEK, I. Preparation and Functionalization of Gold Nanoparticles. **J. Surface Sci. Technol.**, v. 29, n. 3-4, p. 1-18, 2013.

CHANG, T. M. S. PEG-PLA Nanocapsules Containing a Nanobiotechnological Complex of Polyhemoglobin-Tyrosinase for the Depletion of Tyrosine in Melanoma: Preparation and In Vitro Characterisation. **Journal of Nanomedicine & Biotherapeutic Discovery**, v. 2, n. 1, 2012.

CHERRAK, S. A. et al. In vitro antioxidant versus metal ion chelating properties of flavonoids: A structure-activity investigation. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–21, 2016.

CHOWDHURY-PAULINO, I. M. et al. Racial disparities in prostate cancer among black men: epidemiology and outcomes. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, p. 1–6, 2021.

CIMADAMORE, A. et al. Prostate cancer in 2021: Novelities in prognostic and therapeutic biomarker evaluation. **Cancers**, v. 13, n. 14, p. 1–12, 2021.

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. **Commision Decision** of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (2002/657/EC). Official Journal of the European Communities. 2002.

CONTRI, R. V. et al. Vegetable oils as core of cationic polymeric nanocapsules: Influence on the physicochemical properties. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 8, n. 7–8, p. 913–924, 2013.

CORRÊA, D. H. A. et al. Dehydrocrotonin and its  $\beta$ -cyclodextrin complex: Cytotoxicity in V79 fibroblasts and rat cultured hepatocytes. **European Journal of Pharmacology**, v. 510, n. 1–2, p. 17–24, 2005.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

DANAELI, M. et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 1–17, 2018.

DANTAS SILVA, R. P. et al. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0172585, 30 mar. 2017.

DAUDT, R. M. et al. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Cienc. Cult.**, v. 65, n. 3, p. 28–31, 2013.

DE LÁZARO, I.; MOONEY, D. J. Obstacles and opportunities in a forward vision for cancer nanomedicine. **Nature Materials**, 2021.

DE MENDONÇA, I. C. G. et al. Brazilian red propolis: Phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, 14 out. 2015.

DENG, S. et al. Polymeric nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: Current status, challenges and opportunities. **Nanomaterials**, v. 10, n. 5, 2020.

DO NASCIMENTO, A. M. **Avaliação da qualidade de extratos de Stryphnodendron adstringens (Martius) Coville**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. 2008.

DO NASCIMENTO, T. G. et al. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, 2016.

DORNAS, G. P. **Processamento e caracterização de mantas de nanofibras de poli (álcool vinílico) (PVOH) com própolis obtidas por eletrofição**. Belo Horizonte: Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. 2018.

DOWD, L. E. Spectrophotometric determination of quercetin. **Anal. Chem.**, v. 31, n. 7, p. 1184–1187, 1959.

EDIRIWICKREMA, A.; SALTZMAN, W. M. Nanotherapy for Cancer: Targeting and Multifunctionality in the Future of Cancer Therapies. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 1, n. 2, p. 64–78, 2015.

ELOI, J. O.; ABRIATA, J. P.; MARCHETTI, J. M. **Nanocarriers for drug delivery - Concepts and Applications**. São Carlos: Springer. 2021.

ELSAWY, M. A. et al. Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. April, p. 1346–1352, 2017.

ENDO, S. et al. Selective inhibition of human type-5 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3) by baccharin, a component of Brazilian propolis. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 4, p. 716–721, 2012.

ENDO, S. et al. Synthesis of non-prenyl analogues of baccharin as selective and potent inhibitors for aldo-keto reductase 1C3. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 19, p.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

5220–5233, 2014.

ENDO, S. et al. Autophagy inhibition enhances anticancer efficacy of artepillin C, a cinnamic acid derivative in Brazilian green propolis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 497, p. 437–443, 26 fev. 2018.

ENRICO, C. **Chapter 3 - Nanotechnology-Based Drug Delivery of Natural Compounds and Phytochemicals for the Treatment of Cancer and Other Diseases**. In: *Studies in Natural Products Chemistry*, v 62. Elsevier. 2019.

ESCRICHE, I.; JUAN-BORRÁS, M. Standardizing the analysis of phenolic profile in propolis. **Food Research International**, v. 106, n. November 2017, p. 834–841, 2018.

FAKHARI, A.; CORCORAN, M.; SCHWARZ, A. Thermogelling properties of purified poloxamer 407. **Heliyon**, v. 3, n. 8, e- 00390, 2017.

FERREIRA, C. D.; NUNES, I. L. Oil nanoencapsulation: development, application, and incorporation into the food market. **Nanoscale Research Letters**, v. 14, 2019.

FERREIRA, J. M. et al. New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 11, p. 3552–3558, 2017.

FERRO, M. et al. Biomarkers in localized prostate cancer. **Future Oncology**, v. 12, n. 3, p. 399–411, 2016.

FESSI, H. et al. Rapid Communication Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55, p. R1–R4, 1989.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Guidance for industry considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology. Methods, Method Verification and Validation**. Office Regulatory Affairs (ORA) - ORA Laboratory Manual Volume II. 2020.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Methods, Method Verification and Validation**. Office Regulatory Affairs (ORA) - ORA Laboratory Manual Volume II. 2020.

FRANÇA, M.; RAMOS JÚNIOR, C. **Própolis verde mineira conquista mercado internacional**. 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.mg.gov.br/index.php/ajuda/story/3605-propolis-verde-mineira-conquista-mercado-internacional>>. Acesso em: 05 de out. 2021.

FREIRES, I. A.; DE ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. **Eur J Med Chem**, v. 110, p. 267-279, 2016.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 171–178, 2006.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

GARCÍA-ALEGRÍA, A. M. et al. Quantification of DNA through the nanodrop spectrophotometer: Methodological validation using standard reference material and sprague dawley rat and human DNA. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2020, 2020.

GERAILI, A.; MEQUANINT, K. Systematic studies on surface erosion of photocrosslinked polyanhydride tablets and data correlation with release kinetic models. **Polymers**, v. 12, n. 5, 2020.

GUAN, J. et al. Regulation of in vivo delivery of nanomedicines by herbal medicines. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 174, p. 210–228, 2021.

GUIMARÃES, K. C.; SALGADO, D. L.; CARVALHO, E. E. N. Evaluation of different methodologies for the determination of phenolic compounds in tropical fruits. **Braz. J. Food Technol.**, v. 23, n. e2019015, p. 1–7, 2020.

HARB, T. B. et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do sistema quelante de metais para extratos de algas. **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**, n. Abril 2018, p. 2–6, 2016.

HASSAN, M. M.; OLAOYE, O. O. Recent advances in chemical biology using benzophenones and diazirines as radical precursors. **Molecules**, v. 25, n. 10, 2020.

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.

HEINLEIN, C. A.; CHANG, C. Androgen receptor in prostate cancer. **Endocrine Reviews**, v. 25, n. 2, p. 276–308, 2004.

HENG, B. C. et al. Comparative cytotoxicity evaluation of lanthanide nanomaterials on mouse and human cell lines with metabolic and DNA-quantification assays. **Biointerphases**, v. 5, n. 3, p. FA88–FA97, 2010.

HENRY, G. H. et al. A Cellular Anatomy of the Normal Adult Human Prostate and Prostatic Urethra. **Cell Rep.**, v. 25, n. 12, p. 3530–3542, 2019.

HU, J.; WANG, G.; SUN, T. Dissecting the roles of the androgen receptor in prostate cancer from molecular perspectives. **Tumor Biology**, v. 39, n. 5, 2017.

HUANG, W. J. et al. Formononetin induces the mitochondrial apoptosis pathway in prostate cancer cells via downregulation of the IGF-1/IGF-1R signaling pathway. **Pharm Biol**, v. 52, n. 4, p. 466–470, 1 abr. 2014.

INDRAYANTO, G.; PUTRA, G. S.; SUHUD, F. **Chapter 6 - Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research**. In: Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology, v. 46. Elsevier. 2021.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION (ICH). **Guideline for Industry: Text on Validation of Analytical Procedures (ICH-Q2A)**. 1995.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION (ICH). **Guidance for Industry -**

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

**Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology.** 1996.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **ISO 10993-5:2009 (E) Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.** 2009

IZIDORO, L. C. et al. Qualidade de vida relacionada à saúde e fatores psicossociais após prostatectomia radical. **Acta Paul Enferm**, v. 32, n. 2, p. 169–177, 2019.

JEREZ-ROIG, J. et al. Future burden of prostate cancer mortality in Brazil: a population-based study. **Cad. Saúde Pública**, v. 30, n. 11, p. 2451–2458, 2014.

JIANG, L. et al. Oleic acid induces apoptosis and autophagy in the treatment of Tongue Squamous cell carcinomas. **Scientific Reports**, v. 7, n. 11277, p. 1–11, 2017.

JOBIN, M. L.; ALVES, I. D. **Chapter 1 - The Contribution of Differential Scanning Calorimetry for the Study of Peptide/Lipid Interactions.** In: *Microcalorimetry of Biological Molecules: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, v. 1964. Springer Science+Business Media. 2019.

KAMALY, N. et al. Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. **Chem Rev.**, v. 116, n. 4, p. 2602–2663, 2016.

KAMEL, R.; ABBAS, H.; SHAFFIE, N. M. Development and evaluation of PLA-coated co-micellar nanosystem of Resveratrol for the intra-articular treatment of arthritis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, n. 118560, 5 out. 2019.

KAPUSCINSKA, A.; OLEJNIK, A.; NOWAK, I. Chapter 8 - Nanocapsules as carriers of active substances. In: **Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics: Applications of Nanobiomaterials.** Elsevier. 2016.

KATO, H. et al. Dispersion characteristics of various metal oxide secondary nanoparticles in culture medium for in vitro toxicology assessment. **Toxicology in Vitro**, v. 24, n. 3, p. 1009–1018, 2010.

KHAN, T. et al. The Prospect of Identifying Resistance Mechanisms for Castrate-Resistant Prostate Cancer Using Circulating Tumor Cells: Is Epithelial-to-Mesenchymal Transition a Key Player? **Prostate Cancer**, v. 2020, n. Article ID 7938280, p. 1–16, 2020.

KLIPPSTEIN, R. et al. Passively Targeted Curcumin-Loaded PEGylated PLGA Nanocapsules for Colon Cancer Therapy in Vivo. **Small**, v. 11, n. 36, p. 4704–4722, 2015.

KOLONKO, A. K. et al. Capsaicin-loaded chitosan nanocapsules for wtCFTR-mRNA delivery to a cystic fibrosis cell line. **Biomedicines**, v. 8, n. 9, 2020.

KOMURA, K. et al. Current treatment strategies for advanced prostate cancer. **International Journal of Urology**, v. 25, n. 3, p. 220–231, 2018.

KONG, B. et al. Experimental considerations on the cytotoxicity of nanoparticles. **Nanomedicine**, v. 6, n. 5, p. 929–941, 2011.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

KORANG-YEBOAH, M. et al. Polycaprolactone/maltodextrin nanocarrier for intracellular drug delivery: Formulation, uptake mechanism, internalization kinetics, and subcellular localization. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 4763–4781, 2015.

KOSHY, O.; SUBRAMANIAN, L.; THOMAS, S. **Chapter 5 - Differential Scanning Calorimetry in Nanoscience and Nanotechnology**. In: Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization. Elsevier. 2017.

KRUVE, A. et al. Tutorial review on validation of liquid chromatography-mass spectrometry methods: Part II. **Analytica Chimica Acta**, v. 870, p. 8–28, 2015a.

KRUVE, A. et al. Tutorial review on validation of liquid chromatography-mass spectrometry methods: Part I. **Analytica Chimica Acta**, v. 870, p. 29–44, 2015b.

LAKKIREDDY, H. R.; BAZILE, D. Building the design, translation and development principles of polymeric nanomedicines using the case of clinically advanced poly(lactide(glycolide))–poly(ethylene glycol) nanotechnology as a model: An industrial viewpoint. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 289–332, 2016.

LEE, C. H.; AKIN-OLUGBADE, O.; KIRSCHENBAUM, A. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 40, n. 3, p. 565–575, 2011.

LEIBIGER, C. et al. First molecular cytogenetic high resolution characterization of the NIH 3T3 cell line by murine multicolor banding. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 61, n. 4, p. 306–312, 2013.

LIGASOVÁ, A.; KOBERNA, K. Quantification of fixed adherent cells using a strong enhancer of the fluorescence of DNA dyes. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.

LIMA, A. R. et al. Discrimination between the human prostate normal and cancer cell exometabolome by GC-MS. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.

LIOTTI, A. et al. Oleic acid promotes prostate cancer malignant phenotype via the G protein-coupled receptor FFA1/GPR40. **J Cell Physiol.**, v. 233, n. 9, p. 7367–7378, 2018.

LOEB, S.; GASHTI, S. N.; CATALONA, W. J. Exclusion of inflammation in the differential diagnosis of an elevated prostate-specific antigen (PSA). **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 27, n. 1, p. 64–66, 2009.

LOPEZ, B. G. C. et al. Antimicrobial and cytotoxic activity of red propolis: An alert for its safe use. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 677–687, 2015.

LU, X. Y. et al. **Polymer nanoparticles**. In: Progress in Molecular Biology and Translational Science, v 107. Elsevier. 2011.

LUCERO-ACUÑA, A.; GUZMÁN, R. Nanoparticle encapsulation and controlled release of a hydrophobic kinase inhibitor: Three stage mathematical modeling and parametric analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 494, n. 1, p. 249–257, 2015.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

ŁYSIK, D. et al. The influence of mucin-based artificial saliva on properties of polycaprolactone and polylactide. **Polymers**, v. 11, n. 11, 2019.

MACHADO, B. A. S. et al. Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1–26, 2016.

MAIER, S. et al. Tributyrin induces differentiation, growth arrest and apoptosis in androgen-sensitive and androgen-resistant human prostate cancer cell line. **Int J Cancer**, v. 88, p. 245–251, 2000.

MARSON, B. M. et al. Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: an overview focused on HPLC methods. **Quim. Nova**, v. 43, n. 8, p. 1190–1203, 2020.

MASOOD, F. Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy. **Materials Science and Engineering C**, v. 60, p. 569–578, 1 mar. 2016.

MELLO, B. B. F. D. **Desenvolvimento e caracterização de carreador lipídico nanoestruturado contendo própolis vermelha brasileira em formulações tópicas**. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2022.

MENDES, A. P. P. **Cinética de liberação de clorexidina em nanocompósito de magnetita e quitosana**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos. 2019.

MIRANDA, M. A. et al. Assessing the cytotoxic potential of glycoalkaloidic extract in nanoparticles against bladder cancer cells. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 71, n. 10, p. 1520–1531, 2019.

MODI, S.; ANDERSON, B. D. Determination of drug release kinetics from nanoparticles: Overcoming pitfalls of the dynamic dialysis method. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 8, p. 3076–3089, 2013.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Polymer-based nanocapsules for drug delivery** *International Journal of Pharmaceutics* Elsevier B.V., , 29 jan. 2010.

MORAES, C. et al. Comparative antiproliferation of human prostate cancer cells by ethanolic extracts of two groups of Brazilian propolis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 2, p. 539–543, 2010.

MOURA, S. et al. Poloxamer 407 based-nanoparticles for controlled release of methotrexate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 575, n. 118924, 15 fev. 2020.

NASEF, A. M.; GARDOUH, A. R.; GHORAB, M. M. Polymeric nanoparticles: influence of polymer, surfactant and composition of manufacturing vehicle on particle size. **World J Pharm Sci**, v. 3, n. 12, p. 2308–2322, 2015.

NEL, A.; RUOSLAHTI, E.; MENG, H. New Insights into “permeability” as in the Enhanced Permeability and Retention Effect of Cancer Nanotherapeutics. **ACS Nano**, v. 11, n. 10, p.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).



9567–9569, 2017.

NII, T.; ISHII, F. Encapsulation efficiency of water-soluble and insoluble drugs in liposomes prepared by the microencapsulation vesicle method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 298, n. 1, p. 198–205, 2005.

NIKRAVAN, G.; HADDADI-ASL, V.; SALAMI-KALAJAHI, M. Stimuli-responsive DOX release behavior of cross-linked poly(acrylic acid) nanoparticles. **e-Polymers**, v. 2019, p. 203–214, 2019.

NOSSITER, J. et al. Hospital volume and outcomes after radical prostatectomy: a national population-based study using patient-reported urinary continence and sexual function. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, p. 1–7, 2021.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). Guidance document on using cytotoxicity test to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests. ENV/JM/MONO (2010)20. 2010.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Draft Guidance document on good in vitro method practices (GIVIMP) for the development and implementation of in vitro methods for regulatory use in human safety assesment**. 2017.

OLDENBOURG, R. Polarized light microscopy: Principles and practice. **Cold Spring Harb Protoc.**, v. 2013, n. 11. pdb.top078600, p. 1023–1036, 2013.

PATEL, S. Emerging Adjuvant Therapy for Cancer: Propolis and its Constituents. **Journal of Dietary Supplements**, v. 13, n. 3, p. 245-268, 2016.

PEREIRA, G. G. et al. Formulation and characterization of Poloxamer 407<sup>®</sup>: thermoreversible gel containing polymeric microparticles and hyaluronic acid. **Quim. Nova**, v. 36, n. 8, 2013.

PÉREZ-IBAVE, D. C.; BURCIAGA-FLORES, C. H.; ELIZONDO-RIOJAS, M. Á. Prostate-specific antigen (PSA) as a possible biomarker in non-prostatic cancer: A review. **Cancer Epidemiology**, v. 54, n. March, p. 48–55, 2018.

PEZARO, C.; WOO, H. H.; DAVIS, I. D. Prostate cancer: Measuring PSA. **Internal Medicine Journal**, v. 44, n. 5, p. 433–440, 2014.

PIRES, R. Modelagem Matemática De Perfis De Liberação De Fármacos a Partir De Nanocarregadores. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências Naturais e Tecnológicas, Santa Maria**, v. 14, n. 1, p. 99-107, 2013.

PREMRATANACHAI, P.; CHANCHAO, C. Review of the anticancer activities of bee products. **Asian Pac J Trop Biomed**, v. 4, n. 5, p. 337–344, 2014.

QI, F. et al. Recent research and development of PLGA/PLA microspheres/nanoparticles: A review in scientific and industrial aspects. **Front. Chem. Sci. Eng.**, v. 13, n. 1, p. 14-27, 2019.

RACHMAWATI, H. et al. Curcumin-loaded PLA nanoparticles: Formulation and physical

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

evaluation. **Scientia Pharmaceutica**, v. 84, n. 1, p. 191–202, 2016.

RAHAIEE, S. et al. Application of nano/microencapsulated phenolic compounds against cancer. **Adv Colloid and Interface Sci.**, v. 279, n. 102153, 2020.

RAVENNA, L. et al. Distinct phenotypes of human prostate cancer cells associate with different adaptation to hypoxia and pro-inflammatory gene expression. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. 1–12, 2014.

RAWLA, P. Epidemiology of Prostate Cancer. **World J Oncol.**, v. 10, n. 2, p. 63–89, 2019.

REDONDO, G. P. **Desenvolvimento, caracterização e estudos de dissolução de microencapsulados poliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem Spray Drying.** Maceió: Universidade Federal de Alagoas, 2018.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, L. N. D. M. et al. Use of nanoparticle concentration as a tool to understand the structural properties of colloids. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2018.

RODRIGUES, D. M. et al. The Role of *Baccharis dracunculifolia* and its Chemical Profile on Green Propolis Production by *Apis mellifera*. **J Chem Ecol**, v. 46, p. 150–162, 1 fev. 2020.

RODRIGUES, D. M. et al. Synthesis, antitumor activity and in silico analyses of amino acid derivatives of artemillin C, drupanin and baccharin from green propolis. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 47, n. July, 2021.

RODRIGUES, J. C. Z. **Ação imunomoduladora da própolis vermelha sobre monócitos humanos e citotóxica sobre células de câncer prostático.** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, 2021.

ROY VAN DER MEEL, EINAR SULHEIM, YANG SHI, FABIAN KIESSLING, WILLEM J. M. MULDER, T. L. Smart cancer nanomedicine: Strategic directions to improve translation and exploitation. **Nat Nanotechnol.**, v. 14, n. 11, p. 1007–1017, 2019.

RUFATTO, L. C. et al. Brazilian red propolis: Chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. **Microbiological Research**, v. 214, n. May, p. 74–82, 2018.

SALATIN, S. et al. Development of a nanoprecipitation method for the entrapment of a very water soluble drug into Eudragit RL nanoparticles. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 1, p. 1–14, 2017.

SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192–1199, 2016.

SAMAHA, D.; SHEHAYEB, R.; KYRIACOS, S. Modeling and comparison of dissolution

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

profiles of diltiazem modified-release formulations. **Dissolution Technologies**, v. 16, n. 2, p. 41–46, 2009.

SANNA, V. et al. Targeted nanoparticles encapsulating (-)-epigallocatechin-3-gallate for prostate cancer prevention and therapy. **Scientific Reports**, v. 7, n. February, p. 1–15, 2017.

SARAVANAKUMAR, K. et al. pH-sensitive release of fungal metabolites from chitosan nanoparticles for effective cytotoxicity in prostate cancer (PC3) cells. **Process Biochemistry**, v. 102, p. 165–172, 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. Artepillin. 72944-19-5. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. Baccharin. 107389-85-5. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. 501-98-4. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. Formononetin. 485-72-3. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. Biochanin. 491-80-5. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. Vestitol. 20879-05-4. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCIFINDER. Explore. Substances. Substance identifier. 50-21-5. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SEIBERT, J. B. et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food Chemistry**, v. 287, p. 61–67, 2019.

SENTHIL KUMAR, P.; GRACE PAVITHRA, K.; NAUSHAD, M. **Chapter 4 - Characterization techniques for nanomaterials**. In: *Nanomaterials for Solar Cell Applications*. Elsevier. 2019.

SFORCIN, J. M. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. **Phytother Res.**, v. 30, p. 894-905, 2016.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 253-260, 2011.

SHAARANI, S.; HAMID, S. S.; KAUS, N. H. M. The Influence of pluronic F68 and F127 nanocarrier on physicochemical properties, in vitro release, and antiproliferative activity of thymoquinone drug. **Pharmacognosy Research**, v. 9, n. 1, p. 12–20, 2017.

SHARMA, D. et al. Formulation and optimization of polymeric nanoparticles for intranasal delivery of lorazepam using Box-Behnken design: In vitro and in vivo evaluation. **BioMed Research International**, v. 2014, n. 156010, p. 1–14, 2014.

SHITOLE, A. A. et al. LHRH-conjugated, PEGylated, poly-lactide-co-glycolide nanocapsules for targeted delivery of combinational chemotherapeutic drugs Docetaxel and Quercetin for prostate cancer. **Materials Science and Engineering C**, v. 114, 111035, 2020.

SIEGEL, R. L. et al. Cancer Statistics, 2021. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 1, p. 7–33, 2021.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Sink conditions do not guarantee the absence of saturation effects. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 577, 119009, 2020.

SILVA, J. C. et al. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1790–1795, 2012.

SLADEK, S. et al. **Chapter 10 - Nanoparticle Tracking Analysis to Examine the Temperature-Induced Aggregation of Proteins**. In: Protein Self Assembly. Methods in Molecular Biology, v. 2039, p. 131–139. 2019.

SMITH, S. A. et al. The Endosomal Escape of Nanoparticles: Toward More Efficient Cellular Delivery. **Bioconjugate Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 263–272, 2019.

SOBRINHO, P. et al. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia L.*) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 14, n. 4, p. 586–591, 2012.

SOUSA, J. P. B. et al. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2007.

STABILE, A. et al. Multiparametric MRI for prostate cancer diagnosis: current status and future directions. **Nat. Rev. Urol.**, v. 17, n. 1, p. 41–61, 2020.

STROPE, C. L. et al. High-throughput in-silico prediction of ionization equilibria for pharmacokinetic modeling. **Science of the Total Environment**, v. 615, p. 150–160, 2018.

SU, Y. L. et al. Formation of organosilica nanoparticles with dual functional groups and simultaneous payload entrapment. **Journal of Microencapsulation**, v. 35, n. 4, p. 381–391, 2018.

SUFFREDINI, G.; EAST, J. E.; LEVY, L. M. New applications of nanotechnology for neuroimaging. **American Journal of Neuroradiology**, v. 35, n. 7, p. 1246–1253, 2014.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

SULTANA, S. et al. Stability issues and approaches to stabilised nanoparticles based drug delivery system. **Journal of Drug Targeting**, v. 28, n. 5, p. 468–486, 2020.

SUN, S. et al. Identification and determination of seven phenolic acids in brazilian green propolis by UPLC-ESI-QTOF-MS and HPLC. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1–13, 2019.

SZLISZKA, E. et al. Ethanolic extract of Brazilian green propolis sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. **International Journal of Oncology**, v. 38, n. 4, p. 941–953, 2011.

SZLISZKA, E. et al. Artepillin C (3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) sensitizes LNCaP prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. **International Journal of Oncology**, v. 41, n. 3, p. 818–828, 2012.

SZLISZKA, E. et al. The dietary isoflavone biochanin-A sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 31, n. 3, p. 331–342, 2013.

TAO, J.; CHOW, S. F.; ZHENG, Y. Application of flash nanoprecipitation to fabricate poorly water-soluble drug nanoparticles. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 9, n. 1, p. 4–18, 2019.

THERMO SCIENTIFIC. **Nucleic Acid**. Thermo Scientific NanoDrop Spectrophotometers. 2010.

TOMODA, B. T. et al. **Chapter 3 - Characterization of biopolymer membranes and films: Physicochemical, mechanical, barrier, and biological properties**. In: *Biopolymer Membranes and Films*, p. 67–95. Elsevier. 2020.

VALANCIENE, E. et al. Advances and prospects of phenolic acids production, biorefinery and analysis. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 1–41, 2020.

VARGAS-VILLAGRAN, H. et al. Non-woven membranes electrospun from polylactic acid incorporating silver nanoparticles as biocide. **Materials Research Society Symposium Proceedings**, v. 1376, p. 78–83, 2011.

WANG, G. et al. Genetics and biology of prostate cancer. **Genes and Development**, v. 32, n. 17–18, p. 1105–1140, 2018.

WANG, Y. et al. Manufacturing techniques and surface engineering of polymer based nanoparticles for targeted drug delivery to cancer. **Nanomaterials**, v. 6, n. 26, p. 1–18, 2016.

WATKINS, R. et al. Natural product-based nanomedicine: Recent advances and issues. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 6055–6074, 2015.

WICKI, A. et al. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 200, p. 138–157, 2015.

WILSON, D. R.; GREEN, J. J. **Chapter 3 - Nanoparticle tracking analysis for determination of hydrodynamic diameter, concentration, and zeta-potential of polyplex nanoparticles**. In: *Methods in Molecular Biology*, v. 1570, p. 31–46. Springer

Science+Business Media. 2017.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99–105, 1998.

WRIGHT, M. **Chapter 14 - Nanoparticle tracking analysis for the multiparameter characterization and counting of nanoparticle suspensions**. In: *Methods in Molecular Biology*, v. 906, p. 511–524. Springer Science+Business Media. 2012.

YADAV, K. S.; SAWANT, K. K. Modified nanoprecipitation method for preparation of cytarabine-loaded PLGA nanoparticles. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 3, p. 1456–1465, 2010.

YE, Y. et al. Formononetin-induced apoptosis of human prostate cancer cells through ERK1/2 mitogen-activated protein kinase inactivation. **Horm Metab Res**, v. 44, p. 263–267, 2012.

YEOMAN, C. J. Y. H. D. D. C. M. S. R. I. M. AND I. K. O. C. Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 5, p. 139–148, 2017.

ZAABA, N. F.; JAAFAR, M. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. **Polymer Engineering and Science**, v. 60, n. 9, p. 2061–2075, 2020.

ZABAIYOU, N. et al. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 207, p. 214–222, 1 out. 2017.

ZABAIYOU, N. et al. Ethanolic extract of Algerian propolis decreases androgen receptor transcriptional activity in cultured LNCaP cells. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 189, p. 108–115, 2019.

ZHANG, Y. et al. A novel paclitaxel-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone)/Poloxamer 188 blend nanoparticle overcoming multidrug resistance for cancer treatment. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 6, p. 2045–2052, 2010.