

Universidade Federal de Ouro Preto

Escola de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição

PPGSN

Dissertação

**Comparação Entre a Composição
Química e Atividade Antioxidante
das Própolis Verde e Marrom**

Anny Caroline Messias

Ouro Preto



ANNY CAROLINE MESSIAS

COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DAS PRÓPOLIS VERDE E MARROM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição (PPGSN) da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Nutrição.

Área de Concentração: Bioquímica e Nutrição

Orientadora: Profa. Dra. Sônia Maria de Figueiredo

Ouro Preto

2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

M585c Messias, Anny Caroline.

Comparação entre a composição química e atividade antioxidante das própolis verde e marrom. [manuscrito] / Anny Caroline Messias. - 2022.

56 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Sônia Maria De Figueiredo.

Coorientadora: Profa. Dra. Nancy Scardua Binda.

Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

Área de Concentração: Saúde e Nutrição.

1. Própolis. 2. Antioxidantes. 3. Imunomodulador. I. Figueiredo, Sônia Maria De. II. Binda, Nancy Scardua. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 613.2

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO
EM SAÚDE E NUTRICAÇÃO



FOLHA DE APROVAÇÃO

Anny Caroline Messias

Comparação entre a composição química e física e atividade antioxidante das própolis verde e marrom

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Aprovada em 23 de agosto de 2022

Membros da banca

Dra. Sônia Maria de Figueiredo - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Nancy Scardua Binda - Coorientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Cláudia Barbosa Assunção - (Faculdade Santa Casa BH)
Dra. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Sônia Maria de Figueiredo, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 29 de novembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Sônia Maria de Figueiredo, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 29/11/2022, às 17:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0434283** e o código CRC **49357E83**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pelo dom da vida e por me dar forças para seguir sempre em frente; aos meus pais, Nilson e Fran por sempre acreditarem e investirem em mim, por toda a base educacional e moral, construindo meus valores pessoais, e pelo imenso carinho e apoio de sempre; à minha irmã, Beatriz, grande parceira de jornada que sempre acreditou em meu potencial; ao Douglas, pelo amor e incentivo constante.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Sônia Maria de Figueiredo, pelos ensinamentos, pelo carinho, auxílio constante, confiança e amizade. Por construir ao meu lado sonhos e conquistas; Ao meu grupo de trabalho, Nathalia, Gabriela e Nancy, que construíram ao meu lado essa trajetória, permitindo que chegássemos até aqui, juntos.

Agradeço à minha coorientadora, Profa. Dra. Nancy Scardua Bina, pela gentileza, pelas orientações, engajamento, motivação e por viabilizar o desenvolvimento deste trabalho, com direcionamentos tão importantes; aos funcionários, membros e parceiros da ENUT; aos membros da banca, pela disponibilidade e valiosa contribuição.

E por fim, à Universidade Federal de Ouro Preto, por ter sido uma extensão no meu aprendizado, permitindo que mais uma porta se abrisse, gerando novas perspectivas de mundo, e permitindo a viabilidade desse projeto, do início ao fim.

“Se quer ir rápido, vá sozinho. Se quer ir longe, vá em conjunto”.
(Provérbio Africano)

*“A melhor vida não é a mais comprida, mas
sim a mais rica em boas ações”.*
(Marie Curie)

RESUMO

Dos 13 diferentes tipos de própolis existentes no Brasil, as mais comercializadas são a própolis verde e marrom. Essas substâncias variam de acordo com as regiões geográficas e com a origem botânica nas quais foram extraídas e sintetizadas, apresentando composição química e propriedades funcionais distintas e atribuídas aos compostos fenólicos, como o ácido cinâmico, ácido cumárico, quercetina, rutina, artepilin-C, bacarina. Cada tipo de própolis pode apresentar composições distintas e, portanto, propriedades funcionais diferentes. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a composição química, física e atividade antioxidante das própolis verde e marrom. As amostras das própolis foram coletadas durante os anos de 2008 e 2013 de diferentes localidades e armazenadas em ultrafreezer – 80°C até a data da análise. Foram realizadas análises de umidade; índice de oxidação; teor de ceras; teor de sujidades e dosagem de DPPH; e análise da composição química da própolis, utilizando CLAE. Os dados foram tabulados em Microsoft Excel e as análises estatísticas realizadas utilizando *software GraphPad Prism 5.0*. Como resultados obteve-se que a própolis verde apresentou quantidade significativamente maior de compostos funcionais, como ácido cumárico, kaempferol, pinocembrina, galangina, artepilin-c e bacarina quando comparados à própolis marrom. Além disso, a própolis verde apresentou maior umidade, maleabilidade e massa mecânica. No entanto, ambas as própolis apresentaram potencial antioxidante semelhante, e a própolis marrom apresentou maior conteúdo de cera. Portanto, pode-se concluir que os diferentes tipos de própolis podem ser benéficos para diferentes quadros clínicos, de acordo com seus principais compostos funcionais.

Palavras-chave: Própolis, Artepilin-C, Antioxidante, Imunomoduladores.

ABSTRACT

Of the 13 different types of propolis existing in Brazil, the most commercialized are green and brown propolis. These substances vary according to the geographic regions and the botanical origin in which they were extracted and synthesized, presenting different chemical composition and functional properties attributed to phenolic compounds, such as cinnamic acid, coumaric acid, quercetin, rutin, artepilin-C, bacarina. Each type of propolis can have different compositions and, therefore, different functional properties. Therefore, the aim of this study was to evaluate the chemical and physical composition and antioxidant activity of green and brown propolis. Propolis samples were collected during the years 2008 and 2013 from different locations and stored in an ultrafreezer – 80°C until the date of analysis. Moisture analyzes were performed; oxidation index; wax content; dirt content and DPPH dosage; and analysis of the chemical composition of propolis, using HPLC. Data were tabulated in Microsoft Excel and statistical analyzes were performed using GraphPad Prism 5.0 software. As a result, it was found that green propolis had a significantly higher number of functional compounds, such as coumaric acid, kaempferol, pinocembrine, galangin, artepilin-c and baccarin when compared to brown propolis. In addition, green propolis showed higher moisture, malleability and mechanical mass. However, both propolis had similar antioxidant potential, and brown propolis had a higher wax content. Therefore, it can be concluded that different types of propolis can be beneficial for different clinical conditions, according to their main functional compounds.

Keywords: Propolis, Artepilin-C, Antioxidant, Immunomodulator.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estruturas químicas dos compostos detectados no extrato hidroetanólico da própolis verde e marrom brasileira.	28
Figura 2: Comparação entre o teor de nove constituintes detectados no extrato hidroetanólico da própolis verde brasileira (A) e da própolis marrom brasileira (B) por RP-HPLC.....	29
Figura 3: Comparação entre os compostos encontrados em menor quantidade.....	31
Figura 4: Comparação do teor de flavonoides totais (A), atividade antioxidante (B), índice de oxidação (C), teor de umidade (D), teor de cera medido (E) e porcentagem de massa mecânica (F) da própolis verde brasileira (GrProp) e amostras de própolis marrom (BrwProp).....	32
Quadro 1: Limites físico-químicos estabelecidos pela Legislação Brasileira para avaliação da qualidade da própolis.....	34

SUMÁRIO

1 Introdução.....	10
2 Objetivos.....	11
2.1 Objetivo geral	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
3 Justificativa.....	12
4 Referencial bibliográfico	13
4.1 Histórico e origem botânica da própolis.....	13
4.2 Composição química da própolis	14
4.3 Própolis verde.....	15
4.4 Própolis marrom	15
4.5 Compostos fenólicos	15
4.6 Atividade antioxidante.....	17
4.7 Propriedades terapêuticas	18
4.7.1 Atividade anti-inflamatória.....	18
4.7.2 Atividade antioxidante.....	19
4.7.3 Atividade antimicrobiana e antiviral	20
5 Metodologia.....	23
5.1 Obtenção e padronização do extrato de própolis.....	23
5.2 Análise de flavonoides totais.....	23
5.3 Avaliação de flavonoides, artepilina c e ácido p-cumárico das própolis verde e marrom ..	24
5.4 Determinação do índice de oxidação.....	24
5.5 Análise do conteúdo de ceras	25
5.6 Análise do conteúdo de umidade.....	25
5.7 Determinação de partículas insolúveis	25
5.8 Determinação da atividade antioxidante por DPPH.....	26
5.9 Análise estatística	26
6 Resultados e discussão	28
7 Conclusão	36
Referências	37
ANEXO A – Artigo publicado: Efeito da suplementação de própolis verde no câncer de pâncreas: um relato de caso.....	50

1 Introdução

Própolis é um composto resinoso quimicamente complexo produzido por abelhas a partir de diferentes origens botânicas, o que caracteriza suas diferentes colorações, composição e propriedades funcionais. A própolis é composta por 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleos, 5% de pólen, e 5% restantes são compostos fenólicos e traços de aminoácidos, minerais (cálcio, ferro, cobre e magnésio) e vitaminas (B1, B2, B6, C e E) (PARK *et al.*, 2002; SANTOS, 2012). Park *et al.* (2000) já catalogou 13 tipos de própolis brasileiras, cujo critério de classificação incluem a origem botânica, coloração e composição química. A composição química é bastante variada e está relacionada à sua utilização com finalidade terapêutica, tais como: atividades antibacteriana, antiviral, antifúngica, imunomoduladora, antioxidante, anticancerígena, antipirética e cicatrizante (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; TORETI *et al.*, 2013).

Dentre os compostos que compõem os diferentes tipos de própolis destacam-se os ácidos graxos, ácidos aromáticos, álcoois, terpenos, flavonoides, açúcares, ésteres e microelementos (BANKOVA; CASTRO; MARCUSSI, 2000; KASKONIENE *et al.*, 2014; SAWICKA *et al.*, 2012). Dentre os vários tipos de própolis produzidas pelo mundo, àquelas encontradas em regiões tropicais, como o Brasil, possuem composição química mais variada que nas demais localidades, isso devido à variedade da vegetação e o clima mais favorável (BARBOSA *et al.*, 2009; MELO; MATSUDA; ALMEIDA-MURADIAN, 2012).

A variedade da composição química dos diferentes tipos de própolis e o desconhecimento dessa composição podem ser fatores limitantes na sua aplicabilidade terapêutica (FIGUEIREDO *et al.*, 2014; SALATINO *et al.*, 2005). Em virtude disto, para uso com fins terapêuticos, como suplementos ou medicamentos, é necessário descrever, quantificar e comparar os principais constituintes bioativos da própolis.

Sabendo-se que a composição química, as propriedades físicas e biológicas dependem da origem botânica da própolis e da variabilidade genética das abelhas produtoras, é importante determinar a composição química e física, e realizar a comparação entre os diferentes tipos de própolis comercializadas, bem como das suas propriedades terapêuticas (ALMUHAYAWI, 2020; FERNANDES *et al.*, 2007; LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020). Sendo assim, este trabalho tem por objetivo avaliar a composições química, físicas e atividade antioxidante das própolis verde e marrom.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Comparar a composição química, física e atividade antioxidante das própolis verde e marrom.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar as características químicas através de metodologias de CLAE avaliando nove constituintes químicos;
- Determinar as características físico-químicas dos dois tipos de própolis: compostos químicos, flavonoides totais, ceras, umidade e partículas insolúveis (misturas mecânicas);
- Avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* por meio dos métodos DPPH e índice de Oxidação.

3 Justificativa

A variedade de própolis sendo comercializadas no país e a sua utilização terapêutica empírica têm aumentado o interesse de pesquisadores e profissionais de saúde sobre esse alimento. Diversos trabalhos científicos avaliaram a composição química e físico-química dos diferentes tipos de própolis e suas propriedades funcionais, no entanto ainda encontramos poucos estudos abordando a comparação entre os diferentes tipos (própolis verde e marrom).

Existem importantes descobertas de substâncias bioativas na própolis com resultados positivos e benéficos para saúde, em torno dos mecanismos de ação bactericida e antifúngica da própolis. Embora essas própolis sejam altamente comercializadas, pouco se sabe sobre suas propriedades bioativas e qual seria a melhor escolha para uso terapêutico em quadros clínicos distintos.

Desta forma, pretende-se avaliar as características de cada uma das própolis e compará-las ao final, permitindo um ranqueamento acerca da sua composição e funcionalidade terapêutica, norteadando seu uso em futuros ensaios experimentais e clínicos.

4 Referencial bibliográfico

4.1 Histórico e origem botânica da própolis

A etimologia da palavra “própolis” é originária do grego, na qual “*pro*” significa em defesa e “*polis*” significa cidade. Sendo assim, própolis representa a defesa da colmeia, tendo como principal função a vedação de toda a estrutura interna e externa impedindo a entrada de possíveis invasores e tornando o ambiente asséptico (BANKOVA; CASTRO; MARCUSSI, 2000; LUSTOSA *et al.*, 2008).

Própolis é um composto resinoso quimicamente complexo formado a partir de plantas em conjunto com cera de abelha e suas secreções enzimáticas, diferindo de coloração, composição e propriedades funcionais de acordo com sua origem botânica (PARK *et al.*, 2002). Sua composição consiste em uma diversidade de compostos, sendo basicamente 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleos, 5% de pólen, 5% de compostos fenólicos e traços de aminoácidos, minerais (cálcio, ferro, cobre e magnésio) e vitaminas (B1, B2, B6, C e E) (SANTOS, 2012).

Dentre os grupos de própolis catalogados pela origem botânica e composição química, cinco são encontradas na região Sul do país, uma na região Sudeste e sete na região Nordeste (JUNIOR *et al.*, 2012; LUSTOSA *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2000; SALATINO *et al.*, 2005). A coloração varia de acordo com a origem botânica e composição química, apresentando, no Brasil, tons esverdeados, avermelhados e marrom escuro (LUSTOSA *et al.*, 2008). A finalidade terapêutica pode estar relacionado à sua utilização devido à composição química (LUSTOSA *et al.*, 2008).

A própolis é um dos muitos produtos naturais que vem sendo utilizado durante séculos pela humanidade (CASTALDO; CAPASSO, 2002). Os egípcios conheciam as propriedades anti-putrefativas da própolis e empregavam para embalsamar cadáveres, múmias. Além disso, foi reconhecida por suas propriedades medicinais, por médicos gregos e romanos como Aristóteles, Dioscorides, Plínio e Galeno (CASTALDO; CAPASSO, 2002; DOURADO *et al.*, 2020). O uso de extratos de própolis na medicina popular data de 300 a.C. (LUSTOSA *et al.*, 2008) por suas propriedades cicatrizante (AWALE *et al.*, 2008; BANKOVA, 2005; GUIMARÃES *et al.*, 2012; MARCUCCI, 1995; MARTINS *et al.*, 2002; SANTOS, 2012; SAWICKA *et al.*, 2012; SOUZA; FISHER; VARGAS, 2013; TORETI *et al.*, 2013). Na Idade Média, foi amplamente utilizada por médicos árabes para o tratamento de lesões cutâneas e

assepsia bucal (CASTALDO; CAPASSO, 2002).

A utilização da própolis ganhou maior destaque a partir da década de 80, quando suas propriedades medicinais começaram a ser estudadas com cunho científico, resultando em alto valor de mercado, principalmente no Japão (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; LUSTOSA *et al.*, 2008; SALATINO *et al.*, 2005). As propriedades biológicas têm sido de interesse mundial, com destaque especial às própolis produzidas no Brasil, que ocupam a terceira posição entre os países que mais exportam (MACHADO *et al.*, 2012). A sua comercialização tem sido realizada em diversos tipos de formulação, sendo possível encontrá-la em cápsulas, extrato, pasta dental, gel dental, na forma de pastilhas, na área de cosméticos e em pó (CASTALDO; CAPASSO, 2002; SANTOS, 2012).

A própolis tem sido amplamente estudada para fins terapêuticos, podendo resultar na formulação e comercialização de novos produtos de forma isolada ou em combinação com medicamentos e alimentos (MACHADO *et al.*, 2012; SANTOS, 2012). Entretanto, mais estudos clínicos precisam ser realizados a fim de comprovar suas propriedades *in vitro e in vivo*, e que se estendem para humanos, compreendendo melhor seus mecanismos de ação (FIGUEIREDO *et al.*, 2014; SFORCIN; BANKOVA, 2011).

4.2 Composição química da própolis

A região de origem e a origem botânica podem definir a composição química da própolis (PARK *et al.*, 2000). Própolis com maior teor de flavonoides geralmente são originários de regiões de clima temperado do que as de origem tropical, que possuem maior diversidade de componentes (BANKOVA, 2005).

Dentre os compostos que compõem os diferentes tipos de própolis destacam-se os ácidos graxos, ácidos aromáticos, álcoois, terpenos, flavonoides, açúcares, ésteres e microelementos (BANKOVA; CASTRO; MARCUSSI, 2000; KASKONIENE *et al.*, 2014; SAWICKA *et al.*, 2012). Dentre os vários tipos de própolis produzidas pelo mundo, àquelas encontradas em regiões tropicais, como o Brasil, possuem composição química mais variada que nas demais localidades, isso devido à variedade da vegetação e o clima mais favorável (BARBOSA *et al.*, 2009; MELO; MATSUDA; ALMEIDA-MURADIAN, 2012).

4.3 Própolis verde

Própolis verde é considerada como o tipo 12, tendo como origem a planta *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo) característica da região sudeste do Brasil (BITTENCOURT *et al.*, 2014, FIGUEIREDO *et al.*, 2015; FREITAS *et al.*, 2017). Apresenta elevado teor de ácidos fenólicos, possui compostos bioativos de grande relevância terapêutica, como derivados de p-cumárico e terpenóides que têm atividade antimicrobiana; ácido caféico, antiviral e anti-inflamatório; chrisina, excelente antifúngico (TORETI *et al.*, 2013); e Artepilin C (3,5-diprenil-4- ácido hidroxicinâmico) que representa o principal marcador da própolis verde (FIGUEIREDO *et al.*, 2015; TORETI *et al.*, 2013). Artepillin C está presente em 80% a 93% da composição da própolis verde e apresenta várias atividades comprovadas, tais como antioxidante e antitumoral (BANKOVA, 2005; SFORCIN; BANKOVA, 2011; VALENCIA *et al.*, 2012). Estudos sugerem que pode agir em sinergia com várias substâncias (BANKOVA; POPOVA; TRUSHEVA, 2014; MARCUCCI *et al.*, 2021).

4.4 Própolis marrom

Embora a própolis marrom seja a mais comercializada e mais difundida no Brasil, esta própolis apresenta menor quantidade de informação e pesquisa na literatura (RIBEIRO *et al.*, 2021). Pesquisas que caracterizaram e padronizaram a composição química da própolis marrom demonstraram que os principais compostos presentes nesse tipo de própolis são: ácidos cinâmicos (cafeoilquínicos) e flavonoides (canferida, canferol, pinobanksina) (SOUSA *et al.*, 2019; WOZNIAK *et al.*, 2019).

4.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos compõem uma das maiores categorias de compostos presentes na natureza, cerca de 8.000 compostos, e encontram-se vastamente distribuídos no reino vegetal, como em frutos, vegetais, grãos, sementes e flores (DOURADO *et al.*, 2020). Os

polifenóis exercem funções anti-aterogênicas, anti-carcinogênicas, antitrombóticas, antimicrobianas, vasodilatadora e analgésica (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; MARCUCCI *et al.*, 2021; WOLLGAST; ANKLAM, 2000).

Polifenóis são o maior grupo de fitoquímicos, contem pelo menos um grupo hidroxila ligado em anel aromático, dentre estes os compostos que se destacam são os ácidos fenólicos (gálico, cafeico, elágico), flavonoides, cumarinas (sabandinol, sabandinona, escopoletina), taninos (galotaninos, elagitaninos) e estilbenos (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002).

Flavonoides dividem-se em dois grupos: antocianinas e flavonoides não antociânicos e que estão subdivididos em cinco grandes subclasses: flavanas (catequinas, epicatequinas e teaflavinas), flavonas (apigenina, luteolina), flavonóis (quercetina, rutina, miricetina e kaempferol), flavanonas (hesperidina, narirutina, naringina e nepohesperidina) e isoflavonas (daidzeína, daidzina, genisteína, genistina, gliciteína, glicitina) (MARCUCI *et al.*, 2021). Estruturalmente são ligados com grupos hidroxilas, metoxilas ou não conjugados com diferentes compostos fenólicos (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; MARCUCCI *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2018).

Estes compostos fenólicos são eficazes doadores de hidrogênio e o potencial antioxidante está relacionado ao número e a posição dos grupos hidroxílicos e conjugações (RAMIREZ-TORTOZA *et al.*, 2001). Grupos hidroxílicos livres na posição 3 (anel C) e posição 5 (anel A), juntamente com o grupo carbonílico na posição 4 são doadores de elétrons (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). Existe grande variação no teor de compostos fenólicos de alimentos, plantas, própolis, que podem estar relacionadas com a complexidade e diversidade de estruturas e os métodos de extração e análise utilizados (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; KALT, 2005; LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020).

Compostos fenólicos intervêm nas mais diversas funções biológicas, incluindo crescimento, desenvolvimento e mecanismos de defesa, nos alimentos são bastante diversificados e, portanto, observa-se diferentes atividades biológicas (DOURADO *et al.*, 2020; LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020). Existem ainda os fatores intrínsecos (gênero, espécie, cultivar) e extrínsecos como meio ambiente, estocagem e processamento (BERMUDEZ-SOTO; TOMAS-BARBERAN, 2004; LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020). A ampla gama de valores descritos para as várias classes de compostos fenólicos reflete as diferenças na genética, práticas culturais, condições ambientais de crescimento e, possivelmente, de maturação (MARCUCI *et al.*, 2021). Além disso, os valores são afetados por diferenças nas condições de extração, análise, procedimentos e padrões

utilizados para a quantificação (MERTZ *et al.*, 2007) dos ácido cinâmico, ácido cumárico, quercetina, rutina, artepilin-C, bacarina.

Um dos métodos comuns para determinar a quantidade de fenóis totais é baseado no reagente Folin Ciocalteu (FC), com o valor total de compostos fenólicos expressos como equivalentes de ácido gálico (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; MENDONÇA *et al.*, 2015; PACHECO, 2015).

4.6 Atividade antioxidante

Os organismos vivos têm um sistema de oxidação-redução (redox) que permite manter a vida com um balanço saudável, a produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante que limitam os níveis intracelulares e impedem a indução de danos (MARCUCCI *et al.*, 2021). Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; MENDONÇA *et al.*, 2015).

Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada com a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995 *apud* VEDANA, 2008, p. 26). Os mecanismos de atuação dos antioxidantes podem ser diferenciados e seus efeitos consistem na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos para produtos incapazes de formar radicais livres e produtos de decomposição (LIU *et al.*, 2018; LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020).

No decurso da eficiência parcial do sistema antioxidante endógeno do organismo humano, torna-se necessário a contribuição de antioxidantes exógenos, obtidos através da dieta que se encontram presentes naturalmente em muitos alimentos e plantas (DAI *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2018; LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020).

O interesse no papel dos antioxidantes na saúde humana levou ao aumento das pesquisas que avaliam capacidade de compostos fitoquímicos com ação antioxidante presentes, naturalmente, em alimentos e plantas, como: compostos fenólicos, carotenoides, tocoferóis e ácido ascórbico, com efeito protetor, contra doenças crônico-degenerativas (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; MENDONÇA *et al.*, 2015; SUCUPIRA *et al.*,

2012).

4.7 Propriedades terapêuticas

Própolis contêm compostos químicos farmacologicamente ativos, responsáveis por atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, antifúngica, ações anticancerígenas, hipotensora, cicatrizante, anestésico, antiHIV, imunomoduladores, anticariogênico (BARBOSA *et al.*, 2009; FIGUEIREDO *et al.*, 2014), entre eles flavonoides, isoflavonas, compostos fenólicos exantomas (MENDONÇA *et al.*, 2015; SIQUEIRA *et al.*, 2009).

A composição química dos diferentes tipos de própolis podem ser fatores importantes na aplicabilidade terapêutica (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; MENDONÇA *et al.*, 2015). É importante ter conhecimento e comparar os diferentes tipos de própolis comercializadas, bem suas propriedades terapêuticas para direcionar os consumidores e pesquisadores (FERNANDES *et al.*, 2007; MARCUCCI *et al.*, 2021; PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011).

4.7.1 Atividade anti-inflamatória

Estudos *in vivo* observaram que compostos como o Artepillin C, presente na própolis verde brasileira, apresentou efeito benéfico na regressão da inflamação através da mobilização do sistema imune e promoção da migração celular para o local afetado (MOURA *et al.*, 2011), e na inibição da mobilização de neutrófilos para a região afetada pela inflamação, cessando a liberação de prostaglandinas e contribuindo para a cicatrização (PAULINO *et al.*, 2014). A atividade anti-inflamatória pode estar diretamente relacionada à ativação da via do NF-KB, que promove supressão do gene iNOS e liberação de prostaglandinas anti-inflamatórias (PAULINO *et al.*, 2014).

Própolis é capaz de inibir a atividade da cicloxigenase (COX) e lipoxigenases fazendo que pouca quantidade de prostaglandinas pró-inflamatórias e a estrutura secundária COX-2 sejam formadas. Alguns compostos químicos da própolis capazes de inibir atividade do ácido

aracônico são os responsáveis pela sua ação anti-inflamatória (LUSTOSA *et al.*, 2008). Além disso, a capacidade anti-inflamatória da própolis ocorre através da estimulação imunológica, inibindo a síntese e expressão de citocinas pró- inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, NFK-b, TNF-a e INF-g) e estimulando as vias das citocinas anti- inflamatórias (IL-2, IL-4, IL-7, IL-10 e TGF-beta), promovendo ativação e mobilização de células fagocitárias para o local afetado (LLANO; MORENO-ARRIBAS; BARTOLOMÉ, 2020; LUSTOSA *et al.*, 2008; SANTOS, 2012; SFORCIN; BANKOVA, 2011).

Citocinas modulam inflamação da mucosa intestinal, bem como integridade epitelial (MARCUCCI *et al.*, 2021). Estudos demonstram que a própolis apresenta fortes efeitos moduladores sobre mediadores inflamatórios em macrófagos ativados, como aumento da expressão de TGF- β 17. Esse quadro pode ser prevenido através do tratamento com compostos antioxidantes, como os que contém na própolis (AABED *et al.*, 2019; MARCUCCI *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2018).

Diferentes efeitos anti-inflamatórios podem ocorrer de acordo com as diferentes proporções dos compostos presentes na própolis (FIGUEIREDO *et al.*, 2015). Esses autores sugerem que possa ocorrer reações entre esses compostos, o que pode reduzir a eficácia das suas atividades na estimulação, supressão da inflamação, enfatizando a importância da padronização e conhecimento da composição da própolis utilizada (FRACCHIA; PAI; WALSH, 2013).

4.7.2 Atividade antioxidante

Propriedades antioxidantes da própolis têm sido amplamente estudadas (NAKAJIMA *et al.*, 2009), atuando como redutor da produção de radicais livres, do óxido nítrico e das espécies reativas de oxigênio (EROs). Sua ação protetora da formação de EROs pode ocorrer tanto em lesões cutâneas, quanto em lesões da mucosa (CASTALDO; CAPASSO, 2002). O principal composto responsável por esse efeito antioxidante é o Artepillin C que promove efeitos protetores contra o estresse oxidativo (SANTOS, 2012). Entre esses efeitos, a atividade citoprotetora através da inibição da peroxidação lipídica e, consequente, proteção da mucosa afetada pelo estresse oxidativo (GUIMARÃES *et al.*, 2012); e atividade hepatoprotetora, protegendo mitocôndrias presentes no fígado, evitando que processo oxidativo pudesse danificá-las e comprometer sua função (GUIMARÃES *et al.*, 2012; PAULINO *et al.*, 2014).

Atividade antioxidante promovida pela própolis *in vitro* e *in vivo* também pode ser atribuída pela presença de flavonoides, compostos fenólicos e outras substâncias voláteis na sua composição (BANKOVA; POPOVA; TRUSHEVA, 2014). Compostos presentes na própolis, podem proteger o DNA, lipídios e proteínas danificados por radicais livres (ANHÊ *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2018; WRIGHT *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2018), e sua suplementação pode modular a expressão de enzimas antioxidantes (BÚFALO *et al.*, 2013; PARK; LEE, 2013).

A nível intestinal, a modulação do estresse oxidativo também pode estar associada ao aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que desencadeia mecanismos em cascata contra o dano oxidativo ao DNA; regulação do equilíbrio entre proliferação, diferenciação e apoptose dos colonócitos; e estimulação da produção de citocinas anti-inflamatórias, que podem proteger o intestino (CRUZ *et al.*, 2020; MOHANIA *et al.*, 2013; ZIHNI *et al.*, 2016).

Outros estudos verificaram que a suplementação em modelos experimentais com extrato de própolis promoveu aumento de vitamina C e de enzimas antioxidantes, como catalase e glutathione peroxidase. O aumento dessas enzimas está relacionado à conversão de radicais livres primários em metabólitos facilmente difusíveis e estáveis, promovendo menor dano ao DNA (KHAN *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2018).

4.7.3 Atividade antimicrobiana e antiviral

Estudos demonstraram que a ação antimicrobiana dos extratos de própolis estão relacionadas à concentração de alguns flavonoides, e do Artepillin C que atuam com maior eficácia no combate à bactérias Gram positivas, como *Bacillus cereus*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*. (FIGUEIREDO *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2012). A ação antibacteriana da própolis se deve à interação dos seus compostos capazes de danificar a parede celular do microrganismo (SFORCIN; BANKOVA, 2011). Esses compostos com propriedades antimicrobianas dependem das condições ambientais, do local e origem botânica de coleta da própolis (FIGUEIREDO *et al.*, 2015; KASOTE *et al.*, 2014). A atividade antimicrobiana e antiviral do extrato de própolis foi apresentada em diversos estudos, demonstrando efeito positivo na redução da proliferação, crescimento e descolamento de microrganismos, vírus e parasitas da mucosa intestinal, em cerca de 60% dos pacientes tratados, apresentando melhor

eficácia do que o tratamento medicamentoso convencional e também reduziu a incidência de úlceras gástricas (FREITAS *et al.*, 2017; PAULINO *et al.*, 2015). Além disso, a suplementação ou aplicação da própolis também se mostrou eficiente no tratamento de vaginoses e vaginites bacterianas e candidíase vaginal, muito comum em pacientes com diabetes e pacientes com câncer sob quimioterapia (CAPOCI *et al.*, 2015; IMHOF *et al.*, 2005). Vários compostos estão envolvidos na ação antimicrobiana da própolis, mas os mecanismos envolvidos nessa ação são complexos e pouco conhecidos (OLIVEIRA *et al.*, 2012). No entanto, estudos sugerem que exista um sinergismo entre a própolis e os antibióticos, podendo representar uma possível alternativa no combate a microrganismos resistentes (LUSTOSA *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2012).

No que diz respeito a ação antiviral, estudos *in vitro* demonstraram efeito positivo da própolis em vírus da Herpes Zoster, HIV-1 e H1N1 (MARCUCCI, 1995; SANTOS, 2012; URUSHISAKI *et al.*, 2011), podendo esses efeitos serem atribuídos a alguns compostos como flavonoides e ácidos aromáticos que promovem a estimulação do sistema imune (GEKKER *et al.*, 2005). De acordo com Junior *et al.* (2012), quanto maior a concentração dos compostos bioativos, melhor o efeito bactericida e antiviral. Sendo assim, torna-se essencial conhecer a composição e concentração desses compostos nos diferentes tipos de própolis.

4.7.4 Atividade imunomoduladora e antitumoral

A própolis tem diversas atividades imunomoduladoras, entre as principais, destacam-se a ativação de macrófagos, favorecendo a fagocitose de antígenos; a estimulação o sistema imunológico e da produção de linfócito T (CD4 e CD8) (CASTALDO; CAPASSO, 2002; CHEUNG *et al.*, 2011; MARCUCCI *et al.*, 2021); a regulação da resposta dos receptores Toll-like do tipo 2 e 4 (TLR-2 e TRL-4), que atua na ativação do sistema imune (SFORCIN; BANKOVA, 2011); e a inibição da ação de esplenócitos, que atuam como imunossupressor da resposta linfoproliferativa (SANTOS, 2012; SÁ-NUNES; FACCIOLI; SFORCIN, 2003).

Macrófagos também desempenham papel importante no sistema imunológico, bem como no processo de inflamação. Quando estimulados por lipopolissacarídeos (LPS), os macrófagos podem secretar uma variedade de mediadores inflamatórios, incluindo óxido nítrico, IL-1 e IL-6 (NEIVA *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2013). Wang *et al.* (2013) relatam que o aumento desses mediadores rompe o equilíbrio imunológico e origina inúmeras condições

inflamatórias, incluindo choque séptico, arteriosclerose e câncer. O autor sugere que a própolis pode suprimir a expressão de mediadores inflamatórios relacionados ao nível transcricional desses genes. Além disso, ativação dos mecanismos antioxidantes endógenos do tecido e a regulação das enzimas antioxidantes eliminariam substâncias cancerígenas e intermediários reativos e, portanto, protegeriam as células do estresse (SANTOS, 2012).

Neiva *et al.* (2014) verificaram que a própolis foi capaz de diminuir a expressão de citocinas e/ou quimiocinas induzidas por LPS em células semelhantes a osteoclastos em macrófagos. Além disso, Bachiega *et al.* (2012) pesquisaram o efeito imunomodulador da própolis na síntese e liberação de citocinas (IL-6, IL-1b e IL-10) por macrófagos peritoneais *in vitro*, e verificaram que, devido à ação sinérgica de seus constituintes, pode modular a resposta imune e inflamatória dependendo da concentração. Além disso, a própolis parece exercer efeito quimiopreventivo (CINEGAGLIA *et al.*, 2013; FIGUEIREDO *et al.*, 2014; SANTOS, 2012), principalmente pelo conteúdo de polifenóis (CHEUNG; KONG, 2010) capazes de induzir a expressão e/ou atividade de classes variadas de proteínas citoprotetoras que ativam o fator nuclear derivado de eritroide - 2 (Nfr-2) (ELHALEM *et al.*, 2014; FIGUEIREDO *et al.*, 2015). O Nfr-2 é uma proteína solúvel localizada, principalmente, no citoplasma que, através de uma interação direta com a proteína associada à KEAP1, que controla a expressão de uma sequência de genes citoprotetores (FIGUEIREDO *et al.*, 2015). A homeostase do Nrf2-KEAP1 é essencial para a defesa celular contra o estresse oxidativo (MOON; GIACCIA, 2015), desencadeando mecanismos de ativação das vias de defesa contra o dano ao DNA promovido pelo estresse oxidativo (ELHALEM *et al.*, 2014; MARCUCCI *et al.*, 2021).

Além disso, estudos demonstraram que substâncias como a galangina e os flavonoides presentes na própolis atuam na apoptose de células tumorais em câncer de mama e melanomas, apresentando toxicidade seletiva para esse tipo de célula (BENGUEDOUAR *et al.*, 2015; XUAN *et al.*, 2014). Uma revisão sistemática traçou alguns mecanismos que podem estar relacionados a esse efeito, como NF- κ B, IL-6, COX-2, Nfr-2, óxido nítrico sintase e ativadores de transcrição (MURTAZA *et al.*, 2015).

Outros compostos importantes no efeito quimiopreventivo da própolis são: o Artepilin C, responsável pelo aumento da citotoxicidade das células Natural Killers, sugerindo sua função terapêutica na prevenção do desenvolvimento de câncer (FRANCHIN *et al.*, 2018; TAKEDA *et al.*, 2018). Compostos como o ácido cinâmico e caféico e seus derivados (MARCUCCI, 1995; SZLISZKA *et al.*, 2012), também presentes na própolis, têm a capacidade de ativar o sistema imune, impedindo metástase e promovendo a destruição das células cancerígenas por apoptose (ABUBAKAR *et al.*, 2014; SZLISZKA *et al.*, 2012).

5 Metodologia

5.1 Obtenção e padronização do extrato de própolis

Amostras de Própolis verde e marrom foram coletadas e adquiridas pela Nectar Farmacêutica entre 2008 e 2013. 10g de cada uma das amostras foram armazenadas em sacos de poli náilon a vácuo, à temperatura de - 18 °C após 24 h da coleta. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em ultra freezer à - 80°C até o período de análise em 2021. Para a obtenção e padronização dos extratos hidroalcoólicos (EHA) foi utilizada a metodologia proposta por Park *et al.* (2002) com adaptações propostas por Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012), na qual as amostras das própolis foram previamente trituradas e desidratadas em forno a 60 °C. A mistura de 0,3 g de Própolis e 15 mL de etanol a 80% (v / v) foram agitados durante 10 minutos. Em seguida, a mistura foi centrifugada em 3.000 rpm por 3 minutos (Hermle Z 320 centrífuga). O sobrenadante foi filtrado no filtro papel (Advantec 5A com cinzas de 0,06 mg / 90 mm) e transferido para um balão volumétrico de 50 mL. O resíduo foi extraído de forma semelhante, mas usando 10 mL de etanol a 80% (v / v). Este procedimento foi repetido três vezes. Todos os sobrenadantes foram transferidos para um balão volumétrico e o volume concluído para 50,0 mL com 80% de etanol (v / v) de acordo com a metodologia de Figueiredo *et al.* (2015).

5.2 Análise de flavonoides totais

O conteúdo total de flavonoides presentes nos diferentes tipos de EHA das própolis foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012), em triplicata. O EHA foi adicionado a solução metanólica de cloreto de alumínio 5% (AlCl₃). Os conteúdos foram calculados a partir da curva de calibração do padrão de quercetina (0,01 - 0,2 mg / mL) e expresso como mg de quercetina por g de própolis (mg/g), utilizando-se a fórmula: $FT (\%) = C (\text{mg/mL}) \times 100/d$, onde FT representa o conteúdo total de flavonoides expresso como quercetina (% , w/w) de amostra; C = densidade do extrato (mg/mL). Para avaliar a absorção das amostras, foi utilizado espectrofotômetro (Modelo Shimadzu UV-

1700) em um comprimento de onda de 425 nm em cubetas de vidro óptico de 1 cm. A partir da equação da reta obtida na curva do gráfico do padrão, foi calculado o teor de flavonoides totais, sendo os resultados expressos em mg de quercetina por 100g de amostra.

5.3 Avaliação de flavonoides, artepilina c e ácido p-cumárico das própolis verde e marrom

A solução padronizada de cada extrato hidroalcolico filtrado foi submetida a CLAE, seguindo os métodos e condições analíticas estabelecidas por Park *et al.* (2002). O Cromatógrafo Shimadzu SPD-M10A equipado com detector de matriz de diodos (DAD H8224) e uma Coluna RP-18YMC PACK ODS-A (4,6 x 250 milímetros; tamanho de partícula 5µM) foi usado na análise. A coluna foi eluida usando um gradiente linear após um aumento na concentração de até 90% de água (solvente A) e metanol (solvente B) começando de 30% B (0-15 min), e aumentando para 90% B (15-75 min), mantido em 90% B (75-95 min), seguido pela diminuição para 30% B (95-105 min), com o fluxo de solvente mantido a 1 mL/min. A detecção de constituintes foi realizada em 268 nm. As identificações de onze flavonoides, artepilina C e ácido p-cumárico foram realizados com base na comparação com padrões fabricado por Extrasynthese Co (França). Sendo assim, foram avaliadas as concentrações de treze compostos.

5.4 Determinação do índice de oxidação

Para a avaliação do índice de oxidação, foram utilizados os métodos de Hatano *et al.* (1988), nos quais 0,2g das amostras de EHA das própolis foram dissolvidas em 5 mL de etanol e deixadas em repouso por 1 hora em temperatura ambiente. Adicionou-se 100 mL de água destilada as soluções e em sequência filtradas em papel de filtro nº 3. Uma alíquota de 1,0 mL de cada filtrado foi diluída em 40 mL de água destilada e 1 mL de ácido sulfúrico a 20% (v/v) e agitadas por 1 minuto. Posteriormente, 5 µL de permanganato de potássio 0,1 M foi adicionado a cada solução e o tempo, medido em segundos, foi equivalente ao período do desaparecimento da cor rosa e é diretamente proporcional ao índice de oxidação (MARCUCCI *et al.*, 2021).

5.5 Análise do conteúdo de ceras

O teor de cera foi determinado a partir de 1,0 g de amostra de própolis verde (GrProp) e própolis marrom (BrwProp), previamente triturada, que foi pesada em cartucho de celulose e submetida a extração exaustiva em aparelho Soxhlet com 110 mL de etanol, por 6 horas. O extrato resultante foi armazenado a 5°C por 24h. O extrato ainda frio foi filtrado em papel filtro nº 3 previamente pesado. Após a filtração, o papel foi pesado novamente. O papel de filtro com a amostra foi seco a 105°C e em seguida colocado em dessecador até atingir peso constante. O teor de cera foi determinado pela seguinte fórmula: $Cera (\%) = (P3 - P2)/P1$, sendo P1 = peso inicial da amostra (g), P2 = peso do papel de filtro (g), P3 = peso do papel de filtro + cera (g) (FIGUEIREDO *et al.*, 2017; MELO; MATSUDA; ALMEIDA-MURADIAN, 2012).

5.6 Análise do conteúdo de umidade

Para a determinação da umidade utilizou-se como base os métodos propostos Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012), definindo o grau de umidade utilizando amostras aquecidas a 105 °C por 3 h em estufa. Posteriormente, as amostras foram resfriadas em dessecadores a temperatura ambiente e pesadas. O processo de aquecimento, resfriamento e pesagem foi repetido com intervalos de 2 horas, até que a massa se mantivesse constante sem que a diferença entre as duas pesagens consecutivas fosse superior a 0,25%. Este processo foi realizado em triplicata para cada tipo de própolis e expresso em média (MARCUCCI *et al.*, 2021).

5.7 Determinação de partículas insolúveis

Para determinar a massa de partículas insolúveis dos dois tipos de própolis utilizou-se 1,0 g de amostra bruta tratada com 15 mL de clorofórmio-acetona (2:1 v/v). Após agitação durante 1 hora, à temperatura ambiente, a mistura foi filtrada em um papel de filtro seco,

previamente pesado em balança analítica Tecnal Model 210A. O papel de filtro contendo as partículas insolúveis foi transferido para um vidro de relógio e seco em estufa Deleo Tipo 2, por 10 minutos a temperatura inicial de 60 °C, aumentando para 80 °C por 1 hora. Posteriormente, o filtro foi transferido para um dessecador e pesado. Este procedimento foi repetido até que a amostra atingisse peso constante. O experimento foi realizado em duplicata e o resultado expresso em mediana de acordo com o proposto por Loureiro e Galbiati (2013). A fórmula utilizada para o cálculo foi: % de partículas insolúveis = $100 \times (A1 - A2) / p$, sendo A1 a massa de papel de filtro + partículas insolúveis, A2 a massa do papel de filtro, e p a massa da amostra de própolis (MARCUCCI *et al.*, 2021).

5.8 Determinação da atividade antioxidante por DPPH

Desenvolvido por Brand-Williams *et al.* (1995), o método DPPH tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) por antioxidantes. Com modificações de Kim *et al.* (2002), que aplicam o método com base na absorbância do radical de DPPH 100 µM (3,9 mL) dissolvido em metanol a 80 % no comprimento de onda de 515 nm.

Adicionou-se 0,1 mL da amostra ou padrão, sendo homogeneizado cuidadosamente, mantendo em local escuro, em temperatura ambiente, por 30 minutos. A medida de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 515 nm, do radical antes de adicionar a amostra (A0) e depois de adicionar amostra, a 30 minutos de reação (Af). A concentração de DPPH• no meio de reação foi calculada conforme a curva de calibração obtida por regressão linear. Os resultados também foram expressos em TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox), (µMol.g⁻¹ de amostra).

5.9 Análise estatística

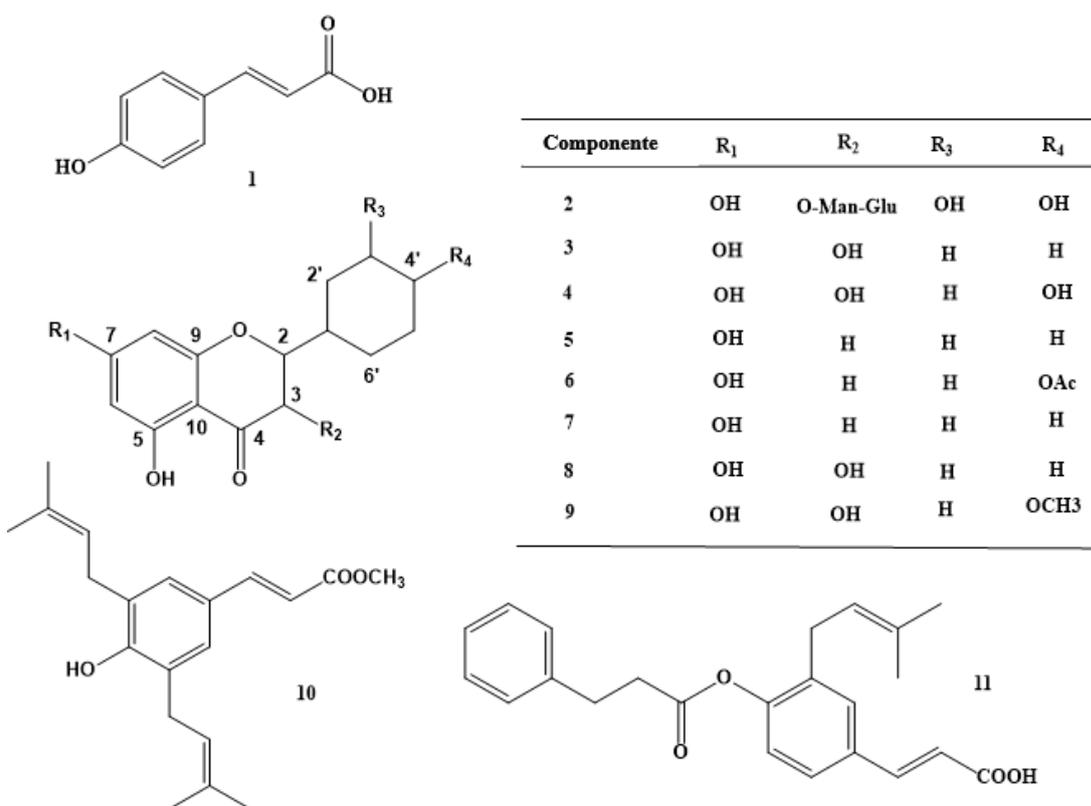
Todos os experimentos foram realizados em triplicata com cada tipo de própolis (verde e marrom) e os resultados expressos como média ± desvio-padrão. Os resultados foram comparados com os limites estabelecidos por legislação brasileira e entre si. Depois de verificar

a normalidade (Teste de Smirnov-Kolmogorov) e homogeneidade de variância (Teste de Bartlett), variações intergrupais foram estimadas por meio de análise de variância (ANOVA) para cada parâmetro avaliado. Os resultados foram complementados com testes de intervalo múltiplo Newman-Keuls para estabelecer possíveis diferenças. Os tratamentos qualitativos foram avaliados por meio do teste de Newman-Keuls com um intervalo de confiança de 95% e significância de 5% ($p \leq 0,05$) para comparação das amostras. Intervalo de confiança de 99% e nível de significância de 1% ($p \leq 0,01$) foram usados para comparação entre meses e grupos de amostras. O *software GraphPad Prism 5.0* foi usado para análise estatística e representação gráfica dos dados.

6 Resultados e discussão

No presente estudo, tanto a própolis verde (GrProp) quanto a própolis marrom (BrwProp) foram produzidos por espécies de *Apis mellifera*. Através do método CLAE foi identificado compostos ácido p-cumárico (1), pinobanksina (2), kaempferol (3), pinocembrina (4), acetato de pinobanksina (5), crisina (6), galangina (7), artepilina c (8), kaempferida e bacarina (9) foram detectados nos extratos hidroetanólico de GrProp e BrwProp brasileiros (Figura 1).

Figura 1: Estruturas químicas dos compostos detectados no extrato hidroetanólico da própolis verde e marrom brasileira.



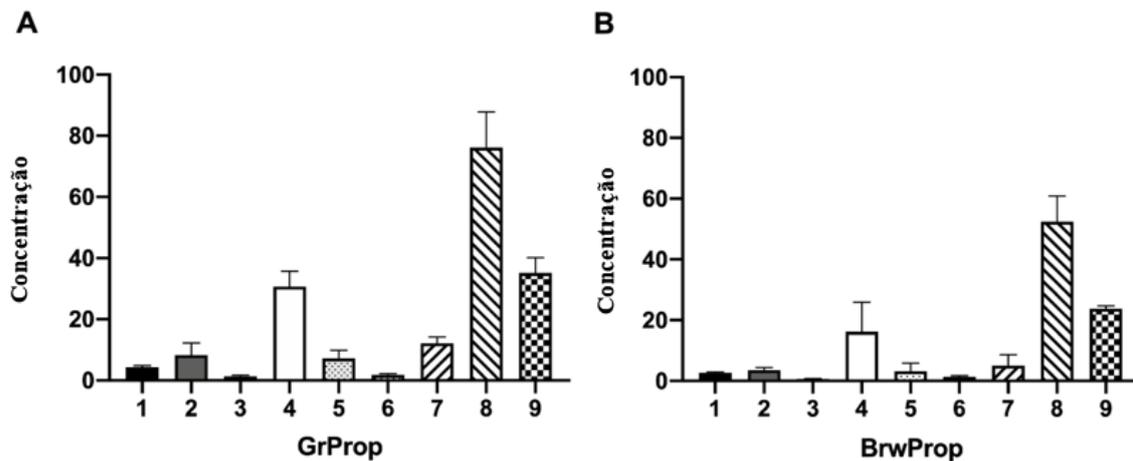
Fonte: Elaborado pela autora (2022)

1 = ácido p-cumárico, 2 = pinobanksina, 3 = kaempferol, 4 = pinocembrina, 5 = acetato de pinobanksina, 6 = crisina, 7 = galangina, 8 = artepilina C e 9 = bacarina.

No entanto, foi observada variação na concentração de alguns constituintes da própolis verde e marrom (Figuras 2 e 3). Este fato é atribuído a fatores como, fontes vegetais, região geográfica, condições climáticas e estação em que a própolis foi produzida, e estes influenciam na composição química e nas características físico-químicas da própolis (OZAROWSKI *et al.*, 2022).

Os polifenóis são frequentemente usados como critério para avaliar a qualidade da própolis, e, esta qualidade pôde ser observada nos dois tipos de própolis estudados, pois os resultados indicaram a presença dos compostos 1 a 9 nos extratos hidroalcoólico de ambas amostras de própolis testadas. Esse fato pode ser explicado pelo fato de as condições geográficas serem semelhantes nas regiões de Minas Gerais, Brasil, onde as amostras foram coletadas. Esses resultados corroboram com os dados publicados por Ozarowski *et al.* (2022) e de Bhargava *et al.* (2021), que detectaram ácidos p-cumárico e ferúlico em 13 amostras de própolis obtidas em áreas geográficas semelhantes, independentemente de sua origem botânica.

Figura 2: Comparação entre o teor de nove constituintes detectados no extrato hidroetanólico da própolis verde brasileira (A) e da própolis marrom brasileira (B) por RP-HPLC.



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

1 = ácido cumárico, 2 = pinobanksina, 3 = kaempferol, 4 = pinocembrina, 5 = acetato de pinobanksina, 6 = crisina, 7 = galangina, 8 = artepilina C e 9 = bacarina.

O solvente mais utilizado para a extração da própolis é o etanol, mas em produtos farmacêuticos e de saúde, a própolis é produzida na forma de extratos etanólicos e aquosos (BANKOVA *et al.*, 2016). Os métodos analíticos utilizados para determinar a composição

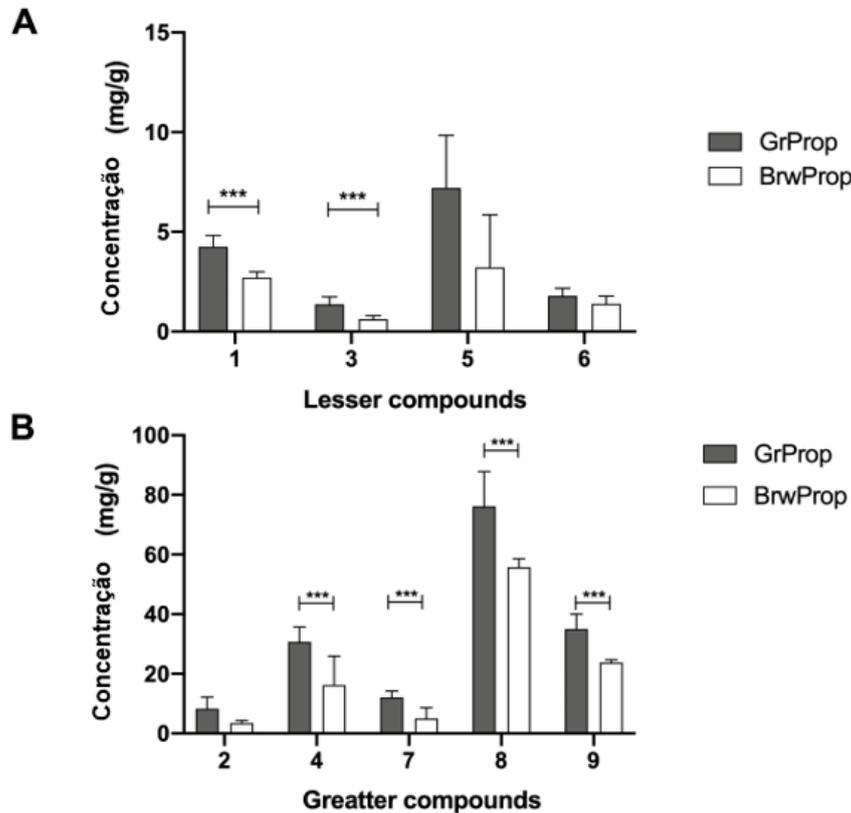
química da própolis e, dos materiais vegetais a partir dos quais a própolis é produzida, bem como métodos para padronização e controle de qualidade de produtos industriais derivados da própolis, já foram descritos e pode-se observar composição bem similar nos dois tipos estudados (BANKOVA *et al.*, 2016; FORMA; BRYŚ, 2021).

Em relação à própolis marrom, mais utilizada no Brasil, é obtida por abelhas (*Apis mellifera*) de *Pinus* spp., *Eucalyptus* spp., *Araucaria angustifolia* e, provavelmente, de *Baccharis dracunculifolia*, que pode ser sua fonte primária de plantas (RIBEIRO *et al.*, 2021). E, a própolis verde é coletadas da resina do arbusto *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae), popularmente conhecido no Brasil como “alecrim do campo” (FIGUEIREDO *et al.*, 2015). No estado de Minas Gerais, Brasil, existem condições ambientais adequadas para a produção desses dois tipos de própolis. Esses tipos de própolis possuem substâncias antioxidantes, como ácidos fenólicos e flavonoides e são atribuídas atividades bactericida, antifúngica e antiviral.

Após identificação dos compostos, foi comparada a concentração de cada um deles em cada amostra de própolis (Figura 2). O teor de acetato de pinobanksina (5) foi maior em GrProp e o teor de pinocembrina (4) foi maior em BrwProp. Artepillina C (8) e bacarina (9) foram os compostos encontrados em maior concentração em ambos os tipos de própolis, sendo o GrProp com maior teor de artepillina C (8) (Figura 2). Observou-se os mesmos compostos entre as concentrações dos dois tipos de própolis, podendo inferir que algumas características da própolis marrom são as mesmas da própolis verde.

Na Figura 3 estão apresentados os constituintes encontrados nas amostras de GrProp e BrwProp (A compostos determinados em menor e B maior concentração). Diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) foram observadas entre as amostras de GrProp e BrwProp entre os teores de pinocembrim, galangina, artepillina C, bacarina, pinocembrim, ácido cumarínico e kampferida e, em maiores concentrações na própolis verde (Figura 3B).

Figura 3: Comparação entre os compostos encontrados em menor quantidade.



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

1 = ácido cumárico, 5 = acetato de pinobanksina, 6 = crisina e 3 = kaempferida] (A), e maior quantidade [2 = pinobanksina, 4 = pinocembrina, 7 = galangina, 8 = artepilina C e 9 = bacarina] (B) nas amostras de própolis verde (GrProp) e marrom (BrwProp). *** = Valores estatisticamente significativos.

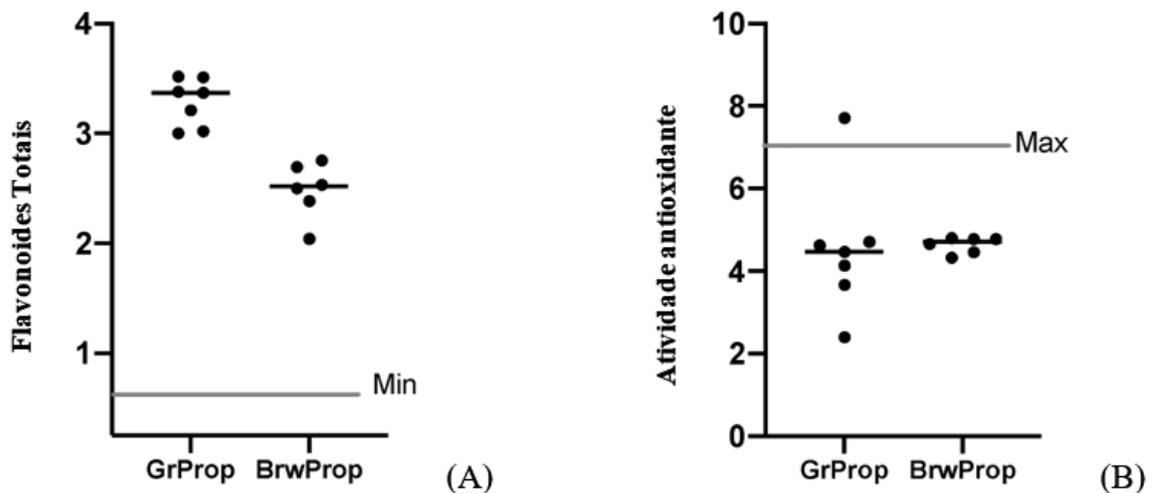
Santos *et al.* (2020) relataram que as propriedades da própolis estão relacionadas ao sinergismo que ocorre entre seus diversos constituintes. Os compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, estão entre os compostos bioativos mais importantes da própolis, pois apresentam propriedades antimicrobianas e antioxidantes, além de participar dos processos de cicatrização e auxiliam na absorção e ação de algumas vitaminas (FIGUEIREDO *et al.*, 2015). Os flavonoides são frequentemente considerados como indicadores taxonômicos devido à sua abundância no reino vegetal, especificidade em algumas espécies, facilidade de identificação, relativa estabilidade e acúmulo com pouca influência do ambiente (FIGUEIREDO *et al.*, 2015). Embora a própolis comercialmente disponível seja produzida pela mesma espécie de abelha (*Apis mellifera*), o teor de flavonoides é modificado de acordo com a estação, localização geográfica e origem botânica da própolis (FIGUEIREDO *et al.*, 2017; SALATINO *et al.*, 2005).

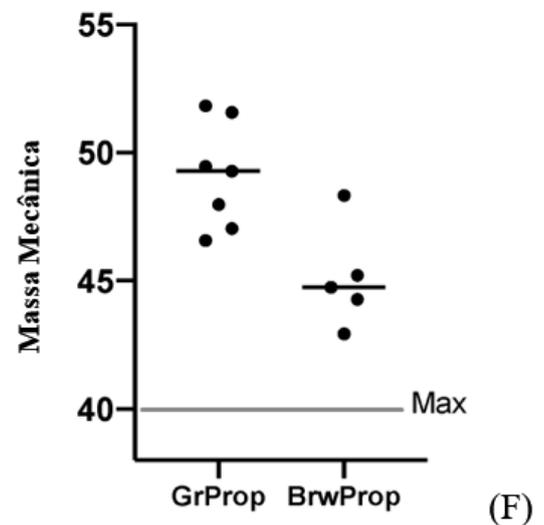
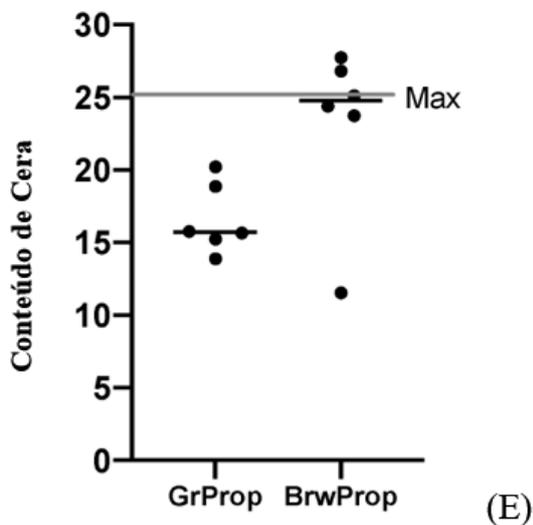
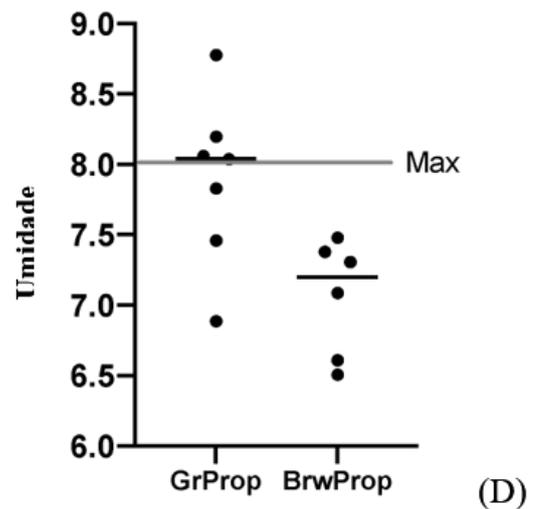
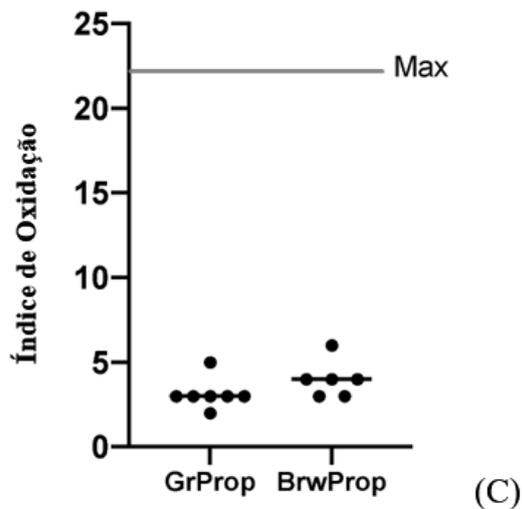
Os flavonoides também são as principais substâncias envolvidas nas propriedades farmacológicas da própolis, enquanto que os terpenóides são responsáveis pelo odor da própolis (ZABAIUO *et al.*, 2017).

Como os compostos de 1 a 9 foram encontrados em ambas as amostras, é possível concluir que a própolis verde e marrom produzem efeitos farmacológicos semelhantes. Certamente, a variabilidade na concentração de alguns compostos pode ser correlacionada com a flora do entorno das colmeias.

As atividades biológicas da própolis são resultados da interação entre vários compostos (FREITAS *et al.*, 2017; SANTOS, 2012). Junto com outros, os compostos 1 a 9 presentes nas própolis verde e marrom estão envolvidos nos processos de atração de animais polinizadores. Portanto, são considerados essenciais para a sobrevivência das plantas, pois desempenham um papel vital nas atividades biológicas das espécies vegetais e na produção de própolis (RIBEIRO *et al.*, 2021).

Figura 4: Comparação do teor de flavonoides totais (A), atividade antioxidante (B), índice de oxidação (C), teor de umidade (D), teor de cera medido (E) e porcentagem de massa mecânica (F) da própolis verde brasileira (GrProp) e amostras de própolis marrom (BrwProp).





Fonte: Mapa (2001)

Min = mínimo e Max = valores máximos estabelecidos pela legislação brasileira.

GrProp apresentou maior quantidade de flavonóides totais. No entanto, os teores totais de flavonóides encontrados em ambas as amostras apresentam valores superiores aos estabelecidos pela legislação brasileira que é de mínimo de 0,5%(m/m) (Figura 4a).

A atividade antioxidante em GrProp foi semelhante à encontrada em BrwProp (Figura 4B). Com isso, observou-se que os dois tipos de própolis brasileira apresentam valores superiores ao limite estabelecido pela legislação brasileira (MAPA, 2001).

O índice de oxidação está associado ao tempo que a própolis mantém suas propriedades de oxidação. Os índices de oxidação de GrProp (3,3 segundos) e BrwProp (4,1 s) (Figura 4C) foram substancialmente inferiores aos 22 segundos estabelecidos pela legislação brasileira (MAPA, 2001), portanto considerados adequados e mais uma vez destacando a qualidade das

propolis estudadas.

Comparado ao BrwProp, o teor de umidade foi maior nas amostras de GrProp (Figura 4D). No entanto, em relação à legislação brasileira que preconiza uma perda máxima de 8% (m/m), o teor de umidade nesses dois tipos de própolis é adequado. O maior teor de umidade torna o GrProp mais maleável que a própolis marrom. Funari e Ferro (2006) observaram que os valores de umidade de amostras de própolis coletadas na região de Cabreúva, no estado de São Paulo, Brasil, variaram de 10,8 a 11,0%. Estes autores correlacionaram os resultados não só com a perda de água, mas também com a perda de substâncias voláteis, principalmente compostos aromáticos.

Em relação ao teor de cera, observou-se maior concentração na própolis marrom (25,84%) em relação à própolis verde (15,03%) (Figura 4E). No entanto, os dois tipos de própolis analisados apresentaram teores de cera semelhantes entre si, e ambos superiores aos valores máximos estabelecidos pela legislação brasileira. Os valores de teor de cera encontrados para a própolis verde são semelhantes aos determinados por Figueiredo *et al.* (2017). Já Ribeiro *et al.* (2021) encontraram valores de teor de cera variando de 3,4 a 74,6% em amostras de própolis verde coletadas na região sudoeste de Estado de Mato Grosso, Brasil.

Quadro 1: Limites físico-químicos estabelecidos pela Legislação Brasileira para avaliação da qualidade da própolis.

Requisitos físico-químicos	Limites estabelecidos pela Legislação Brasileira
Umidade	Máximo de 8% (m/m)
Cera	Máximo de 25% (m/m)
Compostos Fenólicos	Mínimo de 5% (m/m)
Flavonoides	Mínimo de 0,5% (m/m)
Atividade de oxidação	Máximo de 22 segundos
Massa mecânica	Máximo de 40% (m/m)

Fonte: Adaptada Embrapa (2001).

A variabilidade no teor de cera em diferentes amostras de própolis ocorre porque as abelhas incorporam mais cera à própolis durante os períodos em que as resinas são escassas ou mais difíceis de coletar (SALATINO *et al.*, 2005). Como consequência, um maior teor de cera implica em menor teor de outras substâncias, como resinas e compostos balsâmicos, nos quais se encontram os principais compostos bioativos (SALATINO *et al.*, 2005). Em termos físico-

químicos, a alta quantidade de cera é a principal causa da turbidez dos extratos de própolis quando armazenados em baixas temperaturas.

O teor de massa mecânica representa um indicador de qualidade da própolis, sendo que teores elevados indicam processamento inadequado ou contaminações. A massa mecânica refere-se às partículas incorporadas à própolis na sua elaboração, e podem incluir folhas, insetos e pedaços de madeira (MELO; MATSUDA; ALMEIDA-MURADIAN, 2012). No presente trabalho, os percentuais de massa mecânica encontrados para GrProp (49,0%) e BrwProp (44,5%) (Figura 4F) foram superiores ao nível máximo da legislação brasileira que estabelece máximo de 40% (m/m) de massa mecânica (MAPA, 2001). A massa mecânica é o resíduo obtido após a extração dos componentes da própolis com álcool etílico. Assim, este parâmetro refere-se à presença de impurezas, como fragmentos de madeira, folhas, pedaços de flores, pólen, etc., incorporados pelas abelhas. Ou devido à técnica de manejo da colmeia em que fragmentos de folhas, pedaços de insetos ou outro material, são acidentalmente incorporados à própolis (MELO; MATSUDA; ALMEIDA-MURADIAN, 2012; WARAKOMSKA; MACIEJEWICZ, 1992).

Os valores de massa mecânica acima dos estabelecidos na legislação brasileira ocorrem porque as amostras de própolis oriundas de colméias estão localizadas em matas nativas. Acredita-se que o maior valor de massa mecânica possa estar correlacionado com a qualidade desses dois tipos de própolis analisados, ou seja de origem orgânica (FREITAS; BARTH; LUZ, 2010; MELO; MATSUDA; ALMEIDA-MURADIAN, 2012). Os valores de massa mecânica encontrados neste estudo corroboram os resultados publicados por Figueiredo *et al.* (2017) e Matsuda (2002). Esses autores também avaliaram o teor de massa mecânica de amostras de própolis de Minas Gerais e encontraram valores que variaram de 28,9 a 50,0%. Mesmo com alto teor de massa mecânica, a quantificação de substâncias bioativas e atividade antioxidante demonstram boa qualidade dos dois tipos de própolis estudados.

7 Conclusão

Os compostos 1 a 9 foram detectados nos dois tipos de própolis analisados. GrProp apresentaram maior teor de pinocebrina (4), artepilina C (8) e baccarina (9), e maior quantidade de flavonóides totais, em comparação com BrwProp. Os parâmetros físicos de ambos os tipos de própolis estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. A composição química, especialmente o teor de flavonóides e a atividade antioxidante conferem aos dois tipos de própolis produzidos em Minas Gerais, Brasil uma atividade farmacológica promissora.

Considerando a boa atividade antioxidante proporcionada por ambos os extratos, considera-se que ambos são promissores. Os resultados mostram a boa qualidade da própolis produzida e coletada no estado de Minas Gerais, Brasil. Já em relação ao uso da própolis para manutenção da saúde e prevenção de doenças, o BrwProp apresenta características físicas relevantes, mais acessível à população e de menor custo.

Referências

AABED, K. *et al.* Ameliorative effect of probiotics (Lactobacillus paracasei and Protexin®) and prebiotics (propolis and bee pollen) on clindamycin and propionic acid-induced oxidative stress and altered gut microbiota in a rodent model of autism. **Cellular and Molecular Biology**, v. 65, n. 1, p. 1-7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.14715/cmb/2019.65.1.1>. Acesso em: 12 out. 2022.

ABUBAKAR, M. B. *et al.* Polyphenols as Key Players for the Antileukaemic Effects of Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1-11, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/371730>. Acesso em: 08 ago. 2022.

ALMUHAYAWI, M. S. Propolis as a novel antibacterial agent. **Saudi Journal Biology Science**, v. 27, n. 11, p. 3079-3086, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.016>. Acesso em: 06 set. 2022.

ANHÊ, F. F. *et al.* A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet- induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gut microbiota of mice. **Gut**, v. 64, n. 6, p. 872-883, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307142>. Acesso em: 16 set. 2022.

AWALE, S. *et al.* Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 181-189, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.10.004>. Acesso em: 17 set. 2022.

BACHIEGA, T. F. *et al.* The effects of propolis and its isolated compounds on cytokine production by murine macrophages. **Phytotherapeutic Research**, v. 26, n. 9, p. 1308-1313, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3731>. Acesso em: 12 ago. 2022.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>. Acesso em: 09 set. 2022.

BANKOVA, V. *et al.* Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 2, p.1-49, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1222661>. Acesso em: 19 ago. 2022.

BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2, n. 1, p. 29-32, 2005. Disponível em:

<https://doi.org/10.1093/ecam/neh059>. Acesso em: 03 set. 2022.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S.; MARCUSSI, M. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, n. 1, p. 3-15, 2000. Disponível em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00891696/document>. Acesso em: 07 ago. 2022.

BANKOVA, V.; POPOVA, M.; TRUSHEVA, B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 28, p. 1-8, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-28>. Acesso em: 19 set. 2022.

BARBOSA, M. H. *et al.* Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 22, n. 3, p. 318-322, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-21002009000300013>. Acesso em: 08 out. 2022.

BENGUEDOUAR, L. *et al.* Algerian ethanolic extract of propolis and galangin decreased melanoma tumour progression in C57BL6 mice. **Annales de Dermatologie et de Vénérologie**, v. 142, n. 6-7, p. S294, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.annder.2015.04.053>. Acesso em: 11 out. 2022.

BERMUDEZ-SOTO, M. J.; TOMAS-BARBERAN, F. A. Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 2, p. 133-141, 2004.

BHARGAVA, P. *et al.* Experimental Evidence for Therapeutic Potentials of Propolis. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 1-23, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu13082528>. Acesso em: 15 ago. 2022.

BITTENCOURT, F. O. *et al.* Avaliação da atividade antifúngica de formulações semi-sólidas contendo extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v. 10, n. 10, p. 1-11, 2014. Disponível em: <https://www.scienciaplenu.org.br/sp/article/view/1914>. Acesso em: 07 set. 2022.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel – Wissenschaft und -Technologie*. **Agricultural Sciences**, v.4 ,n. 9B, p. 25-30, 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.48A00>. Acesso em: 07 ago. 2022.

BÚFALO, M. C. *et al.* Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS- stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. **Journal Ethnopharmacology**, v.1 49, n. 1, p. 84-92, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.06.004>. Acesso em: 07 ago. 2022.

CAPOCI, I. R. G. *et al.* Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal *Candida albicans*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/287693>. Acesso em: 01 out. 2022.

CASTALDO, S; CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, p. S1-S6, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00185-5). Acesso em: 13 ago. 2022.

CHEUNG, K. L.; KONG, A. Molecular targets of dietary phenethyl isothiocyanate and sulforaphane for cancer chemoprevention. **The AAPS Journal**, v. 12, n. 1, p. 87-97, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1208/s12248-009-9162-8>. Acesso em: 11 set. 2022.

CHEUNG, K. W. *et al.* Brazilian green propolis and its constituent, Artepillin C inhibits allogeneic activated human CD4 T cells expansion and activation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, n. 2, p. 463-471, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.031>. Acesso em: 15 set. 2022.

CINEGAGLIA, N. C. *et al.* Cytotoxic action of Brazilian propolis *in vitro* on canine osteosarcoma Cells. **Phytotherapeutic Research**, v. 27, n. 9, p. 1277-1281, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.4861>. Acesso em: 17 out. 2022.

CRUZ, B. C. S. *et al.* Preclinical and clinical relevance of probiotics and synbiotics in colorectal carcinogenesis: a systematic review. **Nutrition Reviews**, v. 0, n. 0, p.1-21, 2020. Disponível em: <https://www.posnutricao.ufv.br/wp-content/uploads/2020/06/PRECLINICAL-AND-CLINICAL-RELEVANCE-OF-PROBIOTICS-AND-SYMBIOTICS.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2022.

DAI, J. *et al.* A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 4, p. 837-847, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.016>. Acesso em: 05 out. 2022.

DOURADO, E. *et al.* Diet as a Modulator of Intestinal Microbiota in Rheumatoid Arthritis. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 1-19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12113504>. Acesso em: 17 out. 2022.

ELHALEM, E. *et al.* Sulforaphane homologues: Enantiodivergent synthesis of both enantiomers, activation of the Nrf2 transcription factor and selective cytotoxic activity. **European Journal Medicine and Chemistry**, v. 87, p. 552-563, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.09.052>. Acesso em: 16 out. 2022.

FERNANDES, F. *et al.* The “in vitro” antifungal activity evaluation of própolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 2, p. 93-95, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000200005>. Acesso em: 22 out. 2022.

FIGUEIREDO, S. M. *et al.* Green Propolis: Thirteen Constituents of Polar Extract and Total Flavonoids Evaluated During Six Years through RP-HPLC. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 12, n. 4, p. 229-239, 2015. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/article/70684>. Acesso em: 19 set. 2022.

FIGUEIREDO, S. M. *et al.* Immunomodulatory Properties of Green Propolis. **Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery**, v. 6, n. 2, p.1872-2148, 2014. Disponível em: <http://apitherapy.com/wp-content/uploads/2020/04/Immunomodulatory-Properties-of-Green-Propolis-2014-Brazil.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2022.

FIGUEIREDO, S. M. *et al.* Physicochemical Characteristics of Brazilian Green Propolis Evaluated During a Six-Year Period. **Current Drug Discovery Technology**, v. 14, n. 2, p. 127-134, 2017. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/article/80466>. Acesso em: 25 out. 2022.

FORMA, E.; BRYŚ, M. Anticancer Activity of Propolis and Its Compounds. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 1-21, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu13082594>. Acesso em: 14 jul. 2022.

FRACCHIA, K. M.; PAI, C. Y.; WALSH, C. M. Modulation of T Cell Metabolism and Function through Calcium Signaling. **Front Immunology**, v. 4, p. 1-12, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00324>. Acesso em: 15 jul. 2022.

FRANCHIN, M. *et al.* The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 153, n.1, p. 49-55, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.050>. Acesso em: 11 set. 2022.

FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P. Brownish propolis from the Atlantic coastal areas in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a palynological approach. **Brazilian Journal of Botanic**, v. 33, n. 2, p. 343-354, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042010000200015>. Acesso em: 13 set. 2022.

FREITAS, M. C. D. *et al.* Biological activities of red propolis: a review. **Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery**, v. 11, n. 1, p. 3-12, 2017. Disponível

em: <http://www.eurekaselect.com/article/88766>. Acesso em: 29 set. 2022.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 171-178, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100028>. Acesso em: 15 set. 2022.

GEKKER, G. *et al.* Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4(+) lymphocyte and microglial cell cultures. **Journal Ethnopharmacology**, v. 102, n. 2, p. 158-163, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.045>. Acesso em: 29 jul. 2022.

GUIMARÃES, N. S. S. *et al.* *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3-4, p. 1091-1097, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.014>. Acesso em: 09 nov. 2022.

HATANO, T. *et al.* Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical-scavenging effects. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 6, p. 2090-2097, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/cpb.36.2090>. Acesso em: 19 ago. 2022.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572-584, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5). Acesso em: 16 set. 2022.

IMHOF, M. *et al.* Propolis solution for the treatment of chronic vaginitis. **International Journal Gynecology and Obstetrics**, v. 89, n. 2, p. 127-132, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2005.01.033>. Acesso em: 23 set. 2022.

JUNIOR, W. B. *et al.* Atividade antimicrobiana de frações da própolis vermelha de Alagoas, Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 1, p. 3-10, 2012. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/95a7/ff41d1afca8eae24d2393585dee289d06817.pdf>. Acesso em: 14 set. 2022.

KALT, W. Effects of Production and Processing Factors on Major Fruit and Vegetable Antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. 11-19, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09053.x>. Acesso em: 03 ago. 2022.

KASKONIENE, V. *et al.* Chemometric analysis of volatiles of propolis from different regions using static headspace GC-MS. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, n. 6, p. 736-746, 2014.

KASOTE, D. *et al.* Chemical profiling and chemometric analysis of South African propolis. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 156-163, 2014.

KIM, D. O. *et al.* Vitamina C equivalente antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713-3717, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf020071c>. Acesso em: 12 ago. 2022.

KHAN, M. N. *et al.* Caffeic acid phenethyl ester is protective in experimental ulcerative colitis via reduction in levels of pro-inflammatory mediators and enhancement of epithelial barrier function. **Inflammopharmacology**, v. 26, p. 561-569, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0364-x>. Acesso em: 12 ago. 2022.

LIU, Q. *et al.* Comparison of antioxidant activities of different grape varieties. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 1-17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23102432>. Acesso em: 14 jul. 2022.

LLANO, D. G.; MORENO-ARRIBAS M. V.; BARTOLOMÉ, B. Cranberry Polyphenols and Prevention against Urinary Tract Infections: Relevant Considerations. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 1-15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25153523>. Acesso em: 25 out. 2022.

LOUREIRO, E. M.; GALBIATI, C. Evaluation of the influence of seasonality and landscape on the physicochemical characteristics of propolis. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 4, p. 790-795, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/4gLMHJSq4GZzJYtygx8jX8z/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 27 out. 2022.

LUSTOSA, S. R. *et al.* Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300020>. Acesso em: 11 jul. 2022.

MACHADO, B. A. S. *et al.* Estudo prospectivo da própolis e tecnologias correlatas sob o enfoque em documentos de patentes depositados no Brasil. **GEINTEC – Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 2, n. 3, p. 221-235, 2012.

MARCUCCI, M. C. *et al.* Metodologias Acessíveis para a Quantificação de Flavonoides e Fenóis Totais em Própolis. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 61-73, 2021. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v13n1a05.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2022.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, n. 2, p. 83-99, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/apido:19950202>. Acesso em: 17 ago. 2022.

MARTINS, R. S. *et al.* Effect of commercial ethanol propolis extract on the *in vitro* growth of *Candida albicans* collated from HIV-seropositive and HIV- seronegative Brazilian patients with oral candidiasis. **Journal of Oral Science**, v. 44, n. 1, p. 41-48, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.2334/josnusd.44.41>. Acesso em: 14 out. 2022.

MATSUDA, A. H. **Aplicação da técnica de irradiação gama para preservação de própolis**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2002. Disponível em: http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Andrea%20Harumi%20Matsuda_M.pdf. Acesso em: 11 set. 2022.

MELO, A. A. M.; MATSUDA, A. H.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Identidade e qualidade da própolis proveniente de quatro regiões do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 540-548, 2012.

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. 357, p. 1-12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0888-9>. Acesso em: 02 out. 2022.

MERTZ, C. *et al.* Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8616-8624, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf071475d>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001**. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 jan. 2001. Seção 1, p. 1-22. Disponível em: <http://iberpharm.com.br/www/arquivos/IN03-19-01-2001.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2022.

MOHANIA, D. *et al.* Anticarcinogenic effect of probiotic Dahi and piroxicam on DMH-induced colorectal carcinogenesis in Wistar rats. **American Journal of Cancer Therapy Pharmacology**, v. 1, n. 1, p. 1-17, 2013.

MOON, E. J.; GIACCIA, A. The dual roles of NRF2 in tumor prevention and progression: possible implications in cancer treatment. **Free Radical Biology Medicine**, v. 79, p. 292-299, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.009>. Acesso em: 17 jul. 2022.

MOURA, S. A. L. *et al.* Aqueous extract of Brazilian green propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-8, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ecam/nep112>. Acesso em: 16 out. 2022.

MURTAZA, G. *et al.* Possible molecular targets for therapeutic applications of caffeic acid phenethyl ester in inflammation and cancer. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 1, p. 11-18, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.06.001>. Acesso em: 15 out. 2022.

NAKAJIMA, Y. *et al.* Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-4>. Acesso em: 12 ago. 2022.

NEIVA, K. G. *et al.* Propolis decreases lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in pulp cells and osteoclasts. **Dental Traumatology**, v. 30, n. 5, p. 362-367, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/edt.12096>. Acesso em: 19 ago. 2022.

OLIVEIRA, K. A. M. *et al.* Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 211-222, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2012v33n2p211>. Acesso em: 15 out. 2022.

OŻAROWSKI, M. *et al.* Antifungal Properties of Chemically Defined Propolis from Various Geographical Regions. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 1-19, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020364>. Acesso em: 14 jul. 2022.

PACHECO, S. M. **Frutos da família Myrtaceae: Caracterização físico- química e potencial inibitório da atividade das enzimas digestivas.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015. Disponível em: http://guaiaca.ufpel.edu.br:8080/bitstream/prefix/3055/1/Disserta%20a7%20a3o_Simone_Pacheco_Frutos%20da%20fam%20adlia%20Myrtaceae_Caracteriza%20a7%20a3o%20f%20adsico-qu%20admica%20e%20potencial%20.pdf. Acesso em: 17 set. 2022.

PARK, B. S.; LEE, J. O. Recognition of lipopolysaccharide patterns by TLR4 complexes. **Experimental of Molecular Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1-9, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/emm.2013.97>. Acesso em: 27 out. 2022.

PARK, Y. K. *et al.* Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 997-1003, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000600013>. Acesso em: 22 out. 2022.

PARK, Y. K. *et al.* Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Honeybee Science**, v. 21, n. 2, p. 85-90, 2000.

PAULINO, N. *et al.* Antiulcerogenic effect of Brazilian propolis formulation in mice. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 6, n. 12, p. 580-588, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4236/pp.2015.612060>. Acesso em: 17 out. 2022.

PAULINO, N. *et al.* Hepatoprotective effect of green propolis is related with antioxidant action in vivo and in vitro. **Oxidative and Antioxidative Medicine Science**, v. 3, n. 1, p. 43-50, 2014. Disponível em: <https://www.bibliomed.org/mnsfulltext/65/65-1380817542.pdf?1669561397>. Acesso em: 28 out. 2022.

PEREIRA, A. S.; NASCIMENTO, E. A.; AQUINO NETO, F. R. Lupeol alcanoates in Brazilian propolis. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 57, n. 7-8, p. 721-726, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/znc-2002-7-829>. Acesso em: 09 de set. 2022.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-26, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000200021>. Acesso em: 21 set. 2022.

PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 76-100, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/ref.v8i3.15805>. Acesso em: 6 out. 2022.

RAMIREZ-TORTOSA, C. *et al.* Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 9, p. 1033-1037, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00618-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00618-9). Acesso em: 13 jul. 2022.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Phytochemical, Antiplasmodial, Cytotoxic and Antimicrobial Evaluation of a Southeast Brazilian Brown Propolis Produced by *Apis mellifera* Bees. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 9, p. 1-11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100288>. Acesso em: 16 ago. 2022.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9). Acesso em: 11 set. 2022.

SALATINO, A. *et al.* Origin and Chemical Variation of Brazilian Própolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 1, p. 33-38, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ecam/neh060>. Acesso em: 19 jul. 2022.

SANTOS, D. C. *et al.* Prospecção Química e Avaliação da Atividade Biológica da Própolis de Salinópolis, Pará. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 2, p. 492-499, 2020. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v12n2a18.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2022.

SANTOS, J. A. S. *et al.* Estudo do potencial antioxidante da *Anacardium occidentales* L. e determinação de seus compostos fenólicos. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 455-474, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v3i2.637>. Acesso em: 2 out. 2022.

SÁ-NUNES, A.; FACCIOLI, L. H.; SFORCIN, J. M. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN-g production. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 1, p. 93-97, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00121-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00121-1). Acesso em: 1 set. 2022.

SAWICKA D. *et al.* The anticancer activity of propolis. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 50, n. 1, p. 25-37, 2012. Disponível em: https://journals.viamedica.pl/fovia_histochemica_cytobiologica/article/view/18693. Acesso em: 19 out. 2022.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs. **Journal Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 253-260, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>. Acesso em: 29 jul. 2022.

SIQUEIRA, A. B. S. *et al.* *Trichophyton* species susceptibility to green and red propolis from Brazil. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 90-96, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02494.x>. Acesso em: 31 out. 2022.

SOUSA, J. P. L. M. *et al.* Estudo Químico e Potencial Antimicrobiano da Própolis Brasileira Produzida por Diferentes Espécies de Abelhas. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, p. 1480-1497, 2019. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v11n5a07.pdf>. Acesso em: 19 jul. 2022.

SOUZA, F. B. R.; FISHER, G.; VARGAS, G. D. A. Efeito antimicrobiano da própolis contra agentes infecciosos de interesse veterinário. **Science and Animal Health**, v.1, n.1, p. 24-37,

2013. Disponível em: <https://doi.org/10.15210/sah.v1i1.2413>. Acesso em: 14 jul. 2022.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012. Disponível em: <https://journalhealthscience.pgsskroton.com.br/article/view/885>. Acesso em: 12 set. 2022.

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. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/ijo.2012.1527>. Acesso em: 25 out. 2022.

TAKEDA, K. *et al.* A water-soluble derivative of propolis augments the cytotoxic activity of natural killer cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 218, p. 51-58, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.035>. Acesso em: 13 jul. 2022.

TORETI, V. C. *et al.* Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-13, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/697390>. Acesso em: 17 out. 2022.

URUSHISAKI, T. *et al.* Caffeoylquinic acids are major constituents with potent anti-influenza effects in brazilian green propolis water extract. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-7, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2011/254914>. Acesso em: 08 ago. 2022.

VALENCIA, D. *et al.* Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p. 645-651, 2012. Disponível em: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-4f93263e-f037-3aa6-bbe2-8888a7a51ed1>. Acesso em: 13 jul. 2022.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 2008. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/17289/Disserta%20c3%a7%20c3%a3o%20Maria%20Isabel%20Vedana.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 18 out. 2022.

WANG, K. *et al.* Molecular mechanisms underlying the in vitro anti-inflammatory effects of a flavonoid-rich ethanol extract from Chinese propolis (Poplar Type). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-11, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/127672>. Acesso em: 20 out. 2022.

WANG, K. *et al.* Propolis from Different Geographic Origins Decreases Intestinal Inflammation and *Bacteroides* spp. Populations in a Model of DSS- Induced Colitis. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 62, n. 17, p. 1-29, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800080>. Acesso em: 13 out. 2022.

WARAKOMSKA, Z.; MACIEJEWICZ, W. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. **Apidologie**, v. 23, n. 4, p. 277-283, 1992. Disponível em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00890993/document>. Acesso em: 27 out. 2022.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 423- 447, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5). Acesso em: 30 ago. 2022.

WOZNIAK, M. *et al.* The role of seasonality on the chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity of Polish propolis in human erythrocytes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 301-308, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.02.002>. Acesso em: 02 set. 2022.

WRIGHT, E. K. *et al.* Recent advances in characterizing the gastrointestinal microbiome in Crohn's disease: a systematic review. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 21, n. 6, p. 1219-1228, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000382>. Acesso em: 21 set. 2022.

XUAN, H. *et al.* Antitumor activity of Chinese propolis in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1-11, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/280120>. Acesso em: 14 jul. 2022.

YANG, G. *et al.* Regulation of the intestinal tight junction by natural polyphenols: a mechanistic perspective. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 18, p. 3830-3839, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1152230>. Acesso em: 18 out. 2022.

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, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005>. Acesso em: 4 jul. 2022.

ZHANG, H. *et al.* Serine alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis and regulates the gut microbiota in mice. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03062>. Acesso em: 15 ago. 2022.

ZHAO, L. *et al.* Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. **Science**, v. 359, n. 6380, p. 1151-1156, 2018. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aao5774>. Acesso em: 11 out. 2022.

ZIHNI, C. *et al.* Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 17, p. 564-580, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.80>. Acesso em: 17 out. 2022.

Caso Clínico

Nutr Clín Diet Hosp. 2021; 41(2):61-66
DOI: 10.12873/412messias

Efeito da suplementação de própolis verde no câncer de pâncreas: um relato de caso

Effect of green propolis supplementation on pancreas cancer: a case report

Anny Caroline MESSIAS¹, Gabriela Fonseca LOPES¹, Bruno Vitor Pinto Coelho RODRIGUES², Marina Barcelos de MIRANDA³, Virgínia Maria Gurgel MACHADO¹, Daniel de Castro MONTEIRO², Jacques Gabriel Álvares HORTA¹, Rachel Basques CALIGIORNE⁴, Nathália Sernizon GUIMARÃES¹, Sônia Maria de FIGUEIREDO¹

1 Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Escola de Nutrição. Universidade Federal de Ouro Preto. Campus Universitário. Ouro Preto, MG, Brasil.

2 Escola de Medicina. Universidade Federal de Ouro Preto. Campus Universitário. Ouro Preto, MG, Brasil.

3 Programa de Pós Graduação em Fisiologia e Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Biofísica. Universidade Federal de Minas Gerais. MG, Brasil.

4 Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte (IEP/SCBH), Belo Horizonte. MG, Brasil.

Recibido: 20/enero/2020. Aceptado: 29/marzo/2021.

RESUMO

Introdução: O aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis e a mortalidade associada a estas causas têm se destacado mundialmente. Entre essas doenças, destaca-se o câncer de pâncreas, que é caracterizado por tendência à evolução com metástase e baixa sobrevida.

Relato de caso: As terapias oncológicas podem afetar a qualidade de vida e o estado nutricional dos pacientes e, por essa razão, a utilização de terapias alternativas e complementares, como o uso da própolis, podem auxiliar na melhoria da qualidade do tratamento, através da diminuição na proliferação de células neoplásicas e dos efeitos tóxicos da quimioterapia, devido às características epigenéticas, antitumorais, apoptóticas, antioxidantes e imunomodulatórias. Este relato de caso aborda o acompanhamento clínico e nutricional de um paciente idoso do sexo masculino, portador de câncer pancreático em tratamento quimioterápico, sob aconselhamento nutricional associado à suplementação de extrato hidroalcoólico de própolis verde.

Conclusão: Observou-se com este relato de caso, a melhora da qualidade de vida e aumento da taxa de sobrevida do paciente de 12 meses para três anos e meio, além de estabilização da progressão tumoral.

PALAVRAS-CHAVES

Própolis Verde, Suplementação Alimentar, Câncer de Pâncreas.

ABSTRACT

Introduction: The increase in the incidence of chronic noncommunicable diseases has been highlighted in terms of worldwide mortality rates. Among these diseases, pancreatic cancer stands out, which is characterized by a tendency towards the evolution of metastasis and low survival. Weight loss is associated with increased basal energy expenditure, decreased energy consumption and malabsorption of nutrients.

Case report: Oncological therapies can affect to quality of life and nutritional status of individuals, due to the toxic and immunosuppressive effects. For this reason, the use of alternative and complementary therapies, such as the use of propolis, can help to improve the quality of treatment, by decreasing the proliferation of neoplastic cells and the toxic effects of chemotherapy, due to the epigenetic, antitumor, apop-

Correspondencia:

Escola de Nutrição/Campus Universitário
smfigue@gmail.com

otic characteristics, antioxidants and immunomodulatory. This case report addresses the clinical and nutritional monitoring of an elderly male patient, with pancreatic cancer undergoing chemotherapy, under nutritional advice associated with the supplementation of hydroalcoholic extract of green propolis.

Conclusion: There was an improvement in the quality of life and an increase in the patient's survival rate from 12 months to three years, in addition to stabilization of tumor progression.

KEYWORDS

Green Propolis. Food supplementation. Pancreatic cancer.

INTRODUÇÃO

O aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis e mortalidade por estas causas têm se destacado em todo o mundo¹. Entre essas doenças, destaca-se o câncer de pâncreas, que é considerado o terceiro tipo de câncer que mais causa mortes nos Estados Unidos e o sétimo no Brasil, apresentando sobrevida menor que 5% em cinco anos^{2,3}. Os primeiros sintomas do câncer de pâncreas são inespecíficos, o que dificulta o seu diagnóstico. Entretanto, sabe-se que, no estado mais avançado da doença (adenocarcinoma do pâncreas volumoso), a literatura científica reporta sintomas como dor, icterícia e perda acentuada de peso. Aproximadamente, 80% dos casos evoluem liberando metástases, afetando linfonodos próximos, fígado ou os pulmões, o que reflete na redução da expectativa de vida desses pacientes⁴.

Diversos fatores podem estar associados à perda de peso em pacientes com câncer pancreático, entre eles o aumento do gasto energético basal devido ao estresse metabólico grave, diminuição do consumo energético e má absorção de nutrientes⁴. Terapias oncológicas, como cirurgia, quimioterapia e radioterapia podem contribuir para o comprometimento da qualidade de vida e do estado nutricional dos indivíduos, devido aos efeitos nefrotóxicos, hepatotóxicos, depressão hematopoiética, redução de massa corpórea, neuropatia periférica tóxica, alopecia, diarreia, náuseas, vômito, retração do baço e imunossupressão desencadeados pelo tratamento^{5,6}.

Atualmente, pesquisas têm buscado desenvolver terapias alternativas e complementares às terapias clínicas oncológicas, incluindo compostos naturais, como a própolis, que podem aumentar a qualidade do tratamento, através da diminuição na proliferação de células neoplásicas e desses efeitos tóxicos nas células que não sofreram lesões. Objetiva-se, ainda, reduzir os efeitos colaterais supracitados e melhorar a qualidade e expectativa de vida desses indivíduos⁷.

A própolis é um composto resinoso oriundo de plantas^{8,9} e sintetizada por abelhas que apresenta, através de seus compostos químicos, propriedades funcionais, como efeito antioxidante, anti-inflamatório, antitumoral, apoptótico e epige-

nético. As propriedades antitumorais da própolis são atribuídas à sua capacidade antioxidante, imunomodulação, supressão da proliferação celular, bloqueio de vias específicas de sinalização de oncogene, antiangiogênese, modulação do microambiente tumoral, potencialização de quimioterapêuticos e alívio dos efeitos induzidos por medicamentos¹⁰⁻¹³.

Diante deste contexto, o presente relato de caso aborda o acompanhamento clínico e nutricional de um paciente portador de câncer pancreático, em tratamento quimioterápico (QT) assistido pela equipe de Nutrição da Escola de uma Instituição Pública de Ensino Superior.

Este relato foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética e autorizado pelo paciente por meio da assinatura em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CAAE: 333392820.5.0000.5150).

RELATO DE CASO

Paciente L.S.G., sexo masculino, 71 anos, brasileiro, engenheiro, procurou atendimento médico em fevereiro de 2017 referindo dor epigástrica, náusea, perda de apetite e de peso, fraqueza, icterícia e diarreia (três episódios por dia). Relatou consumo diário moderado de bebidas alcoólicas e negou uso de cigarros.

Paciente diagnosticado com adenocarcinoma do pâncreas em estágio IV por meio de videolaparoscopia em abril de 2017, sem alterações importantes no ultrassom endoscópico. Os resultados dos testes laboratoriais no diagnóstico incluíram nível sérico de lipase de 3.658 (valor de referência: 23-300 U/mL), nível sérico de amilase de 906 (valor de referência: 23-85 U/mL) e marcador tumoral CA 19-9 igual a 77 U/mL (valor de referência: 0-37 U/mL). A apresentação clínica e os resultados laboratoriais foram complementados por tomografia computadorizada (TC) de abdome, em que foi observado massa mal definida invadindo o processo uncinado do pâncreas (Figura 1A) e por TC subsequente de tórax, que demonstrou múltiplos nódulos pulmonares e linfadenomegalia mediastinal compatíveis com metástase (Figura 1C). Devido a estes resultados o paciente foi prognosticado, neste momento, com doença incurável e dado sobrevida de quatro meses no caso da ausência de tratamento e 12 meses se fosse optado tratamento oncológico padrão.

Após o diagnóstico, o paciente foi submetido à QT venosa posterior às consultas clínicas, com o esquema medicamentoso de Folfirinox (oxaliplatina 85 mg/m², leucovorin 400 mg/m², irinotecano 180 mg/m², 400 mg/m² de fluorouracil em bolus e fluorouracil 2400 mg/m² em infusão contínua de 46 horas), e prescrição de repetição a cada 15 dias.

Após avaliação médica e nutricional optou-se pela suplementação do tratamento com própolis em cápsulas, na dose de 1400mg/dia. A opção pelo uso de cápsulas foi adotada para facilitar a ingestão da própolis por via oral. O tratamento

e acompanhamento nutricional foi realizado durante os três anos. A própolis verde foi adquirida da Pharmanectar, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, responsável pela sua encapsulação e controle de qualidade. A estabilidade da própolis verde foi previamente comprovada através da dosagem de treze constituintes do extrato polar e de flavonóides totais avaliados durante seis anos por meio de RP-HPLC¹⁴.

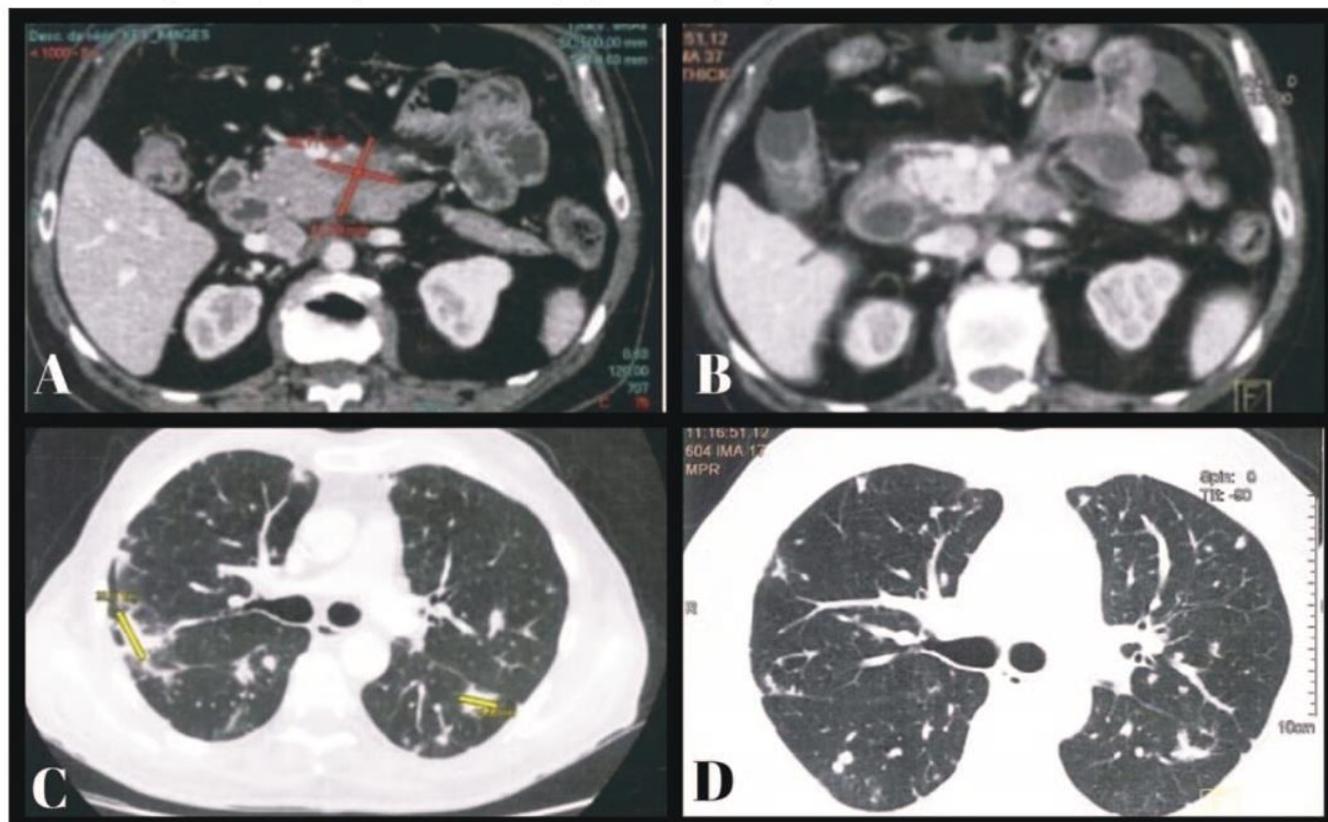
Até junho de 2020, o paciente estava fazendo sessões de QT uma vez por mês, uso de pancreatina (enzimas pancreáticas), ozonoterapia e rivaroxabana 20 mg. Não apresentou efeitos adversos secundários a terapêutica, contudo, no mês de junho de 2020, apresentou tosse grau 2, dispneia grau 2 e neuropatia tóxica periférica. Os dois primeiros sintomas (tosse e dispneia) apresentaram redução evidente um mês após a consulta. A tolerabilidade do paciente ao tratamento quimioterápico foi dentro do esperado e avaliada por exames clínicos, bioquímicos, hematológicos e de marcador tumoral (CA19-9). No entanto, foi observado efeito colateral de neuropatia tóxica periférica induzida pela oxaliplatina de forma irreversível.

De acordo com exames bioquímicos avaliados no decorrer dos três anos de acompanhamento clínico e nutricional, pa-

ciente apresentou glicemia estável (média 80,0 mg/dL); creatinina levemente aumentada, entre 2,2 a 2,6 mg/dL (0,8-1,3 mg/dL); aspartato aminotransferase (AST) com média de 27,0 mg/dL (11 a 45 mg/dL) e alanina aminotransferase (ALT) com média de 22,0 mg/dL (11 a 39 mg/dL); leucócitos totais permaneceram dentro dos limites (4,000 /mm³). O marcador tumoral ficou abaixo dos valores de referência sendo: 10 U/mL (27/12/2017); 11,6 U/mL (26/11/2018) e 13,8 U/mL (10/04/2019). No entanto, o diagnóstico de anemia esteve presente durante os três anos de acompanhamento (hemácias com média de 2,45 mil/mm³ (3,70 a 4,80) e hemoglobina média de 8,0 g/dL (12,0 a 15,0); as plaquetas tiveram variação entre 60 a 99 mil/mm³, média de 75 mil/mm³ abaixo do valor de referência (150 a 450 mil/mm³).

A estabilização das lesões foi observada em abril de 2019, através de TC do abdome e pulmão (Figuras 1B e 1D), permitindo a redução dos ciclos de QT para uma vez por mês com o objetivo de manter o quadro estável. Durante o período de acompanhamento nutricional houveram metástases, mas não foi observado a ocorrência de progressão ou sinais e sintomas característicos do tratamento oncológico.

Figura 1. Tomografia computadorizada comparativa entre o período do diagnóstico (2017) e após dois anos de submissão ao tratamento oncológico e suplementação com extrato de própolis verde (2019).



A) TC do abdome em 2017; (B) TC do abdome em 2019; (C) TC do pulmão em 2017; (D) TC do pulmão em 2019.

Em relação à ingestão alimentar, o paciente L.S.G. relatou o consumo de refeições variadas, adição de açafrão nas refeições todos os dias, consumo de vegetais verde escuro (brócolis, couve, dentre outras), frutas e suco de frutas frescas diariamente, ovos, farinhas à base de amido de mandioca, batata doce, inhame, batata inglesa e mandioca cozida. O paciente descreveu sono regular (cerca de 8 horas por dia) e regularidade de atividade física leve (caminhadas) diariamente com peso estável.

No que diz respeito à progressão do estado nutricional geral do paciente, observou-se perda de 6 kg, representando perda ponderal de peso de 9,7% em três anos de tratamento, sem risco nutricional. O Índice de Massa Corporal (IMC) inicial do paciente foi igual a 23,3 kg/m² (eutrofia) em 2017 evoluindo para 21,0 kg/m² no ano de 2020 (desnutrição). Esta evolução foi associada a risco nutricional e necessidade de suplementação alimentar, com atenção dos profissionais ao quadro de anemia ferropriva. Não foi possível obter dados acerca da avaliação nutricional subjetiva global desse paciente desde o início do acompanhamento nutricional.

O resultado esperado da intervenção dietética com suplementação do extrato hidroalcoólico de própolis verde era a redução dos efeitos colaterais do tratamento QT e do perfil inflamatório. Até o final do estudo, o paciente apresentou melhora significativa na qualidade de vida e redução dos sinais e sintomas comuns recorrentes do tratamento desde o diagnóstico, com boa evolução do quadro.

DISCUSSÃO

O câncer de pâncreas é uma doença agressiva, principalmente no estadiamento IV em estado metastático, com sobrevida global média de 13,3 meses após o diagnóstico¹⁵, diferindo do relato de caso, no qual a sobrevida do paciente ultrapassa 3 anos. Além disso, o relato demonstra o papel fundamental do tratamento oncológico associado ao aconselhamento nutricional e suplementação com a própolis verde como tratamento coadjuvante para tumores agressivos.

Alguns estudos demonstraram que o uso da própolis, como tratamento associativo, apresentou benefícios relacionados ao seu potencial antifúngico, antibacteriano, anti ulcerativo, anti inflamatório e antioxidante^{11,15}. O efeito imunomodulatório da própolis está associado à presença de polifenóis capazes de modular a resposta inflamatória através das cascatas de sinalização inflamatória. Entre os principais fatores envolvidos na regulação inflamatória, destaca-se a inibição do fator nuclear κB (NF-κB)^{15,16} e da síntese de prostaglandinas, e por conter nutrientes como ferro e zinco, importantes para a síntese de colágeno e para a regulação da resposta imune¹⁷. O efeito antioxidante está associado à capacidade de neutralizar os radicais livres, espécies reativas comuns ao câncer e ao tratamento oncológico, podendo estar associado à redução da progressão tumoral e do dano ao DNA¹⁸.

Outro fator apresentado, foi a recuperação hematopoética em pacientes oncológicos sob tratamento e suplementação de própolis que também foi destacada no estudo de Benkovic et al.¹⁹. Evidências recentes indicam que alterações epigenéticas poderiam contribuir para danos celulares através da desregulação e inibição de enzimas antioxidantes, genes supressores de tumor, reguladores do ciclo celular, genes indutores de apoptose e de reparo do DNA, receptores nucleares, transdutores de sinal e fatores de transcrição, como p53 e NF-κB^{8,15,16}. Pesquisas explorando o fator nutrigenômico e nutrigenético poderiam demonstrar de maneira mais precisa e ampla os mecanismos epigenéticos envolvidos e como a nutrição os afetaria.

Os dados apresentados neste relato demonstram que a dieta suplementada com cápsulas de própolis verde (1400mg/dia) contribuiu positivamente na QT utilizada para a inibição das vias tumorais e para a supressão do crescimento tumoral. Outro fator importante a se destacar foram as faixas de concentração das transaminases hepáticas e o marcador tumoral que ficaram abaixo dos limites de referência ao longo dos três anos de tratamento. Esses dados corroboram com o encontrado no estudo de Ryu & Kim²⁰, o qual demonstrou que a própolis exerceu efeitos hepatoprotetores, atuando na via do citocromo P450 (CYP450), promovendo biotransformação hepática e redução de substâncias xenobióticas. Além da própolis, algumas substâncias funcionais comuns à dieta do paciente L.S.G., como curcumina e glicosinolatos podem influenciar de forma determinante o processo de detoxificação. Uma vez que são capazes de estimular a conjugação com esses compostos tóxicos, acelerar o processo de eliminação, promover apoptose celular e atividade quimiopreventiva na fase de pós-iniciação do tumor, e inibir o NFκB^{20,21}.

Estudos demonstraram^{14,22} que a suplementação com extrato de própolis adjuvante ao tratamento oncológico em camundongos com neoplasia foi capaz de melhorar os parâmetros bioquímicos e reduzir a toxicidade hepática e renal. Além disso, este uso potencializou o efeito do tratamento oncológico, apresentando efeito supressor do tumor. A atividade antitumoral conferida à própolis está relacionada à sua capacidade de aumentar a apoptose celular, exercer efeitos antiangiogênicos e modular o microambiente tumoral²³⁻²⁵. Pesquisas demonstraram que os efeitos supracitados são decorrentes da interrupção do ciclo celular na fase G0/G1, consolidando a hipótese levantada neste relato de caso de que a suplementação com extrato de própolis poderia contribuir para a estabilização da progressão tumoral^{23,24}.

Além desses efeitos, estudos demonstraram que a suplementação com extrato de própolis apresentou potencial benéfico no alívio de dores e sintomas graves em pacientes com câncer de pâncreas em estágio terminal²⁵⁻²⁷, podendo ser um agente protetor de danos pancreáticos que surgem em decorrência do tratamento oncológico²⁸. Considerando a importância dos efeitos favoráveis da própolis relacionados ao cân-

cer²⁹, esse relato pode nortear futuros estudos clínicos que objetivem esclarecer alguns pontos sobre os efeitos da própolis como tratamento adjuntivo à QT. No entanto, é importante destacar a característica do relato como pontual, fazendo necessário a realização de estudos mais aprofundados, com descrição dos mecanismos de ação e a atuação na diminuição dos sinais e sintomas, e danos celulares, bem como número amostral que possibilite identificar esses efeitos na população.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a suplementação de extrato de própolis verde como terapêutica adjuntiva nesse caso de câncer pancreático, em estágio IV, pode ter sido adjuvante pela melhora do quadro geral do paciente e da qualidade de vida. Devido às propriedades imunomodulatórias e antioxidantes, a própolis pode ter auxiliado na estabilização da progressão tumoral pancreática, redução da atividade tumoral, otimização dos parâmetros bioquímicos, potencialização do tratamento oncológico e redução dos sinais e sintomas decorrentes do tratamento quimioterápico ao qual o paciente foi submetido. Sendo assim, essa terapia adjuvante concomitante ao aconselhamento nutricional e ao tratamento oncológico, destaca-se como uma possível opção terapêutica suplementar para ensaios clínicos futuros.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

REFERÊNCIAS

- Ishikawa H, Goto M, Matsuura N, Murakami Y, Goto C, Sakai T et al. A Pilot, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Phase 0/Biomarker Study on Effect of Artepillin C-Rich Extract of Brazilian Propolis in Frequent Colorectal Adenoma Polyp Patients. *J Am Coll Nutr.* 2013 Jul; 31(5):327-37, doi: 10.1080/07315724.2012.10720434.
- Renouf D, Moore M. Evolution of systemic therapy for advanced pancreatic cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010 Apr; 10(4):529-540, doi: 10.1586/era.10.21.
- Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015 Jan-Feb;65(1):5-29, doi: 10.3322/caac.21254.
- Vieira SC. *Oncologia Básica - capítulo 4.* Ed. Teresina, Piauí. 2012
- Campos CS, Oliveira TSG, Anjos ACY, Ferreira MBG, Magnabosco P, Porto JP. Impact of fatigue on the quality of life of women with breast cancer. *REFACS.* 2020 Nov;8(3):1-11, doi: 10.18554/refacs.v8i3.4136.
- Spezzia S. Mucosite oral em pacientes cancerosos submetidos a tratamento quimioterápico. *Rev Ciênc Odont.* 2020 Abr;4(1):36-40.
- Rzepecka-Stojko A, Kabala-Dzik A, Moździerz A, Kubina R, Wojtyczka RD, Stojko R, Dziedzic A et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester and Ethanol Extract of Propolis Induce the Complementary Cytotoxic Effect on Triple-Negative Breast Cancer Cell Lines. *Molecules.* 2015 May;20(5):9242-9262, doi:10.3390/molecules20059242.
- Figueiredo SM, Nogueira-Machado JA, Almeida BM, Abreu SRL, Abreu JAS, Filho SAV et al. Immunomodulatory Properties of Green Propolis. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2014 Jan;8(2):1-10, doi: 10.2174/1872214808666140619115319
- De Mendonça ICG, Porto ICCM, Do Nascimento TG, De Souza NS, Oliveira JMS, Arruda RES et al. Brazilian Red Propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complementary And Altern Med.* 2015 Oct;15:357, doi: 10.1186/s12906-015-0888-9.
- De-Melo AAM, Matsuda AHM, Freitas AS, Barth OM, Almeida-Muradian LB. Capacidade antioxidante da própolis. *Pesq Agropec Trop Goiânia.* 2014 Set;44(3):341-348. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/26497>.
- Patel S. Emerging Adjuvant Therapy for Cancer: Propolis and its Constituents. *J Diet Suppl.* 2016 Feb;13(3):245-268, doi: 10.3109/19390211.2015.1008614.
- Demir S, Aliyazicioglu Y, Turan I, Misir S, Mentese A, Yaman SO et al. Antiproliferative and proapoptotic activity of Turkish propolis on human lung cancer cell line. *Nutr Cancer.* 2016 Dec;68:165-172, doi: 10.1080/01635581.2016.1115096.
- Chen WT, Sun YK, Lu CH, Chao CY. Thermal cycling enhances the anticancer effect of propolis on PANC-1 cells. *Intern J Onco.* 2019 Jul; 55: 617-628, doi: 10.3892/ijo.2019.4844.
- Figueiredo SM, Binda NS, Almeida BM, Abreu SRL, Abreu JAS, Pastore GM, Sato HH, Toreti VC, Tapia EC, Park YK, Vieira-Filho SA, Caligorne RB. Green Propolis: Thirteen Constituents of Polar Extract and Total Flavonoids Evaluated During Six Years through RP-HPLC. *Current Drug Discovery Technologies,* 2015 Jan;12(4):229-39. doi: 10.2174/1570163812666150929102420.
- Bolouri AJ, Pakfetrat A, Tonkaboni A, Aledavood SA, Najafi MF, Delavarian Z et al. Preventing and Therapeutic Effect of Propolis in Radiotherapy Induced Mucositis of Head and Neck Cancers: A Triple-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Iran J Cancer Prev.* 2015 Oct;8(5):e4019, doi: 10.17795/ijcp-4019.
- Oršolić N, Car N, Lisičić D, Benković V, Knežević AH, Dikić D, Petrik J. Synergism Between Propolis and Hyperthermal Intraperitoneal Chemotherapy with Cisplatin on Ehrlich Ascites Tumor in Mice. *J Pharmaceutical Sci,* 2013 Dec;102(12):4395-4405
- Ahn JC, Biswas R, Chung PS. Synergistic effect of radachlorin mediated photodynamic therapy on propolis induced apoptosis in AMC-HN-4 cell lines via caspase dependent pathway. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy,* 2013 Oct;10(3):236-243.
- Akhavan-Karbassi MH, Yazdi MF, Ahadian H, Sadr-Abad MJ. Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Propolis for Oral Mucositis in Patients Receiving Chemotherapy for Head and Neck Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016 Dec; 17(7):3611-3614, doi: 10.14456/apjcp.2016.142/APJCP.2016.17.7.3611.

19. Benkovic V, Orsolic N, Knezevic AH, Ramic S, Dikic D, Basic I, et al. Evaluation of the radioprotective effects of propolis and flavonoids in gamma-irradiated mice: the alkaline comet assay study. *Biol Pharm Bull.* 2008 Oct;31(1):167–72, doi: 10.1248/bpb.31.167.
20. Ryu CS, Oh SJ, Oh JM, Lee JY, Lee SY, Chae JW et al. Inhibition of Cytochrome P450 by Propolis in Human Liver Microsomes. *Toxicol Res.* 2016 Jul; 32(3): 207–213, doi: 10.5487/TR.2016.32.3.207
21. Purdom-Dickinson SE, Lin Y, Dedek M, Morrissy S, Johnson J, Chen QM. Induction of Antioxidant and Detoxification Response by Oxidants in Cardiomyocytes: Evidence from Gene Expression Profiling and Activation of Nrf2 Transcription Factor. *J Mol Cell Cardiol.* 2007 Jan;42(1): 159–176, doi: 10.1016/j.yjmcc.2006.09.012.
22. Salem MM, Donia T, Abu-Khudir R, Ramadan H, Ali EMM, Mohamed TM. Propolis Potentiates Methotrexate Anticancer Mechanism and Reduces Its Toxic Effects. *Nutr Cancer.* 2020 Jul;72(3):460-480, doi: 10.1080/01635581.2019.1640884.
23. Desamero MJ, Kakuta S, Tang Y, Chambers JK, Uchida K, Estacio MA et al. Tumor-suppressing potential of stingless bee propolis in vitro and in vivo models of differentiated-type gastric adenocarcinoma. *Sci Rep.* 2019 Dec; 9(1):19635, doi: 10.1038/s41598-019-55465-4.
24. Chan GC, Cheung KW, Sze DMY. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2013 Jun; 44(3): 262–273, doi: 10.1007/s12016-012-8322-2.
25. Wezgowiec J, Wieczynska A, Wieckiewicz W, Kulbacka J, Saczko J, Pachura N et al. Polish Propolis - Chemical Composition and Biological Effects in Tongue Cancer Cells and Macrophages. *Molecules.* 2020 May;25(10):E2426. doi: 10.3390/molecules25102426.
26. Münstedt K, Männle H. Bee Products and Their Role in Cancer Prevention and Treatment. *Complement Ther Med.* 2020 Jun;51:102390. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102390.
27. Li F, He Y-M, Awale S, Kadota S, Tezuka Y. Two new cytotoxic phenylallylflavanones from Mexican propolis. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2011 Apr;59(9):1194–6, doi: 10.1248/cpb.59.1194.
28. Ilhan-Ayisigi E, Ulucan F, Saygili E, Saglam-Metiner P, Gulce-Iz S, Yesil-Celiktas O. Nano-vesicular formulation of propolis and cytotoxic effects in a 3D spheroid model of lung cancer. *J Sci Food Agric.* 2020 Jun; 100(8):3525-3535, doi: 10.1002/jsfa.10400.
29. Stošić B, Janković R, Stošić M, Marković D, Veselinović I, Ilić I et al. Caffeic acid phenethyl ester attenuates changes in pancreatic tissue damage biomarkers induced by cisplatin. *Can J Physiol Pharmacol.* 2020 May; 98(5):296-303, doi: 10.1139/cjpp-2019-0374.