

Própolis: Correlação Química e Biológica

Maria Cristina Marcucci

Ângela Ramalho Custódio*

angelarc@uol.com.br

NaturalLab – Análises e pesquisas aplicadas em produtos naturais e meio ambiente

Informações do Artigo

Histórico do Artigo
Criado em Outubro de 2002

Palavras-Chaves

Abelhas
Ecologia
Apídeos
Meio ambiente
Própolis
Propriedades biológicas
Propriedades físico-químicas
Métodos de análise
Cromatografia em camada delgada

Resumo

A abelha é um dos insetos mais versáteis do mundo. Conhecida pelo modelo de sua vida social, fornece ao homem ricos alimentos naturais além de contribuir para o processo de polinização das plantas. Neste texto será apresentado um de seus produtos, a própolis, que nestas últimas décadas deixou de ser descartada pelos apicultores e passou a integrar o contexto dos outros produtos apícolas comerciais. Também ganhou espaço dentro da sociedade e da comunidade científica.

Chemkeys. Licenciado sob Creative Commons (BY-NC-SA)

As abelhas e o meio ambiente

A abelha é um inseto pertencente à ordem dos himenópteros e à família dos apídeos (Figura 1).

Desde os tempos remotos que as abelhas vêm sendo usadas pelo homem. Na Europa, África e Ásia há relatos e desenhos que permitem deduzir que as abelhas já eram exploradas pelo homem há milhares de anos. Os egípcios foram os primeiros apicultores de que se tem notícia, mas a apicultura moderna teve início em 1851 quando o americano Lorenzo L. Langstroth inventou uma caixa, que ficou conhecida como a colméia de Langstroth ou Americana, a qual permitia à abelha trabalhar dos dois lados do favo. Tal caixa ainda é utilizada nos dias de hoje.

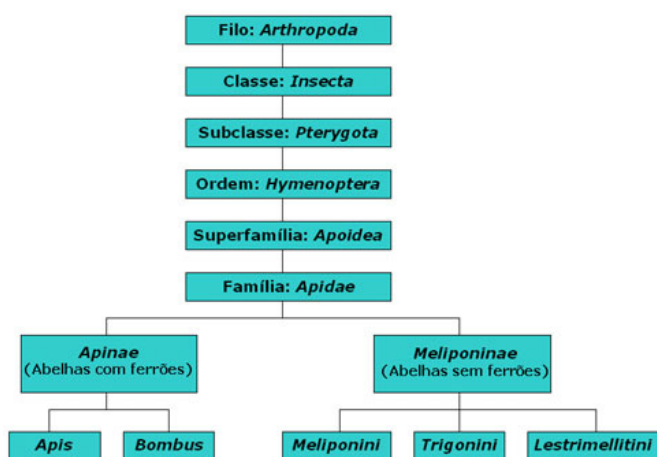


Figura 1: Classificação zoológica das abelhas.

* Autor para contato

A literatura relata que foi o padre português Antônio C. Aureliano quem, em 1839, introduziu no Brasil as primeiras abelhas européias *Apis mellifera*. A partir daí, diversas raças de abelhas européias do gênero *Apis* foram trazidas para o Brasil por diferentes imigrantes. Na década de 1950 foram trazidas para pesquisa algumas espécies de abelhas africanas, que escaparam acidentalmente, e rapidamente se miscigenaram com as européias aqui existentes, resultando assim nas *Apis mellifera* africanizadas. Muito mais agressivas, elas criaram grandes problemas na época para a apicultura brasileira [1-3].

São conhecidas cerca de vinte mil espécies diferentes de abelhas e dentro delas, destacam-se graças à importância econômica e às características fisiológicas, as do gênero *Apis*, produtoras de mel, na maioria dos casos. A palavra *mellifera* significa “carrega o mel”, muito embora as abelhas carreguem o néctar. As espécies encontradas hoje em dia no Brasil são portanto, as *Apis mellifera* africanizadas e as centenas de abelhas nativas ou indígenas [4], muitas delas ainda sem classificação. Por isso, ocorre uma certa confusão entre nomes e espécies, que podem variar de uma região para outra. Algumas comumente encontradas são: Jandaíra (*Melipona subnitida*), Uruçu (*Melipona scutellaris*), Jataí (*Tetragonisca angustula*), Irapuá (*Trigona spinipes*), Moça-bonita (*Frieseomelitta silvestrii languida*), Tubi (*Scaptotrigona bipunctata*) e, Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*).

As abelhas do gênero *Apis* constituem hoje em dia um material de trabalho para os apicultores brasileiros, gerando assim uma atividade sustentável, pois apesar de sua maior agressividade, elas começam a produzir mais cedo, param mais tarde e não apresentam o instinto de hibernação comum às raças européias. Por outro lado, as abelhas nativas, sem ferrões, destacam-se pela sua importância para a manutenção de áreas naturais [5]. Elas estão diretamente ligadas à biodiversidade das reservas ecológicas, pois passam boa parte de suas vidas voando de flor em flor, à procura de néctar, fonte de açúcares, e de pólen, fonte de proteínas, que levam ao ninho. A flor por sua vez, recebe grãos de pólen de outras plantas da mesma espécie, garantindo assim a sua variabilidade genética [6].

No entanto, as agressões que o homem tem imposto ao meio ambiente, tais como, poluição, desmatamento, incêndios florestais, uso de agrotóxicos, acrescentado às mudanças climáticas, têm resultado num desequilíbrio ambiental sem precedentes. Todos esses fatores acabam alterando as atividades das abelhas, que por sua vez colocam em risco não só a produção de alimentos, mas também a preservação das matas e sua biodiversidade

Assim, para um desenvolvimento sustentável é necessário antes de tudo, a educação ambiental [7-9].

Os produtos fornecidos pelas abelhas são o mel, própolis, pólen apícola, cera, geléia real e veneno. Elas os utilizam para o seu próprio consumo (Figura 2), mas também trazem benefícios aos homens, já que têm sido usados nas indústrias farmacêutica, química, alimentícia e cosmética. O Brasil apresenta hoje em dia uma posição favorável na produção de mel e própolis e o uso dos produtos apícolas como alimento natural vem sendo cada vez mais evidenciado no cotidiano das pessoas. Por outro lado, a apiterapia vem utilizando a geléia real, o pólen, a própolis e até mesmo o veneno com finalidades medicinais preventivas ou curativas [10-12].



Figura 2: Produtos elaborados pelas abelhas

As características químicas e físicas, bem como as aplicações destes produtos, são bem diferentes, e serão destacados alguns aspectos gerais de cada um deles, normalmente descritos na literatura.

O mel é um produto elaborado a partir do néctar das flores ou de outras secreções vegetais e das enzimas salivares das abelhas. É rico em açúcares, principalmente glicose e frutose, mas apresenta em sua composição pequenas quantidades de proteínas, vitaminas, sais minerais, lipídeos, ácidos orgânicos e substâncias aromáticas que lhe conferem o odor característico. Possui propriedades antissépticas e é também usado no tratamento de queimaduras e ferimentos.

O pólen apícola é o resultado da aglutinação do pólen das flores elaborado pelas abelhas mediante o néctar e substâncias salivares. É rico em açúcares, lipídeos, fibras, minerais e principalmente proteínas. É amplamente utilizado como suplemento nutricional, como energizante,

fortificante, regulador das funções intestinais e dietéticas. Há relatos populares de que o pólen previne contra câncer de próstata.

A geléia real é um produto glandular, resultado das secreções das glândulas hipofaríngeas e mandibulares, localizadas na cabeça das abelhas jovens. É rica em proteínas, carboidratos, lipídios, hormônios, enzimas, vitaminas e substâncias biocatalisadoras nos processos de regeneração das células. É usada pelo homem como estimulante, para combater alguns tipos de doenças, tais como, problemas das vias respiratórias, tumores e reumatismo.

A cera é produzida pelas glândulas abdominais de abelhas jovens entre 10 a 18 dias de vida. Elas ingerem mel e pólen, excretam após 24 horas uma minúscula escama de cera de coloração branca. Para a produção de meio quilo de cera são necessários de 3 a 4 quilos de mel. A cera do favo é composta principalmente pela mistura de hidrocarbonetos, ésteres complexos e dos ácidos livres e palmítico. Ela é muito usada na indústria química para encerrar aviões, carros, madeiras, lonas, na fabricação de tintas que lhe confere uma fixidez absoluta e resistência incomum, na produção de velas, e como lubrificante de peças, entre outras aplicações. Na indústria cosmética é utilizada para a fabricação de batons e cremes, na de alimentos em goma de mascar e na proteção de queijos, além de ser largamente empregada na construção de figuras nos museus de cera.

A própolis é obtida a partir da resina de plantas coletada pela abelha. As suas propriedades têm sido investigadas e estão descritas na seção “Propriedades Biológicas”.

O veneno, a apitoxina, é produzido pelas glândulas de veneno das abelhas e armazenadas em um reservatório, o qual é eliminado durante a ferroadinha. As aplicações terapêuticas do veneno têm sido exploradas na apiterapia, sobretudo em casos de reumatismo, onde a aplicação pode ser feita pela indução da picada do inseto no local afetado. Pessoas alérgicas podem sofrer choque anafilático com uma única picada.

A própolis

Substância usada pelo homem desde os tempos remotos. Os sacerdotes do antigo Egito faziam uso para embalsamar os mortos. Posteriormente, os gregos passaram a usá-la na

forma de unguento e é a eles que se deve o seu nome, pro, em defesa de e polis, a cidade, ou seja, em defesa da cidade (ou colméia). A medicina popular utiliza-se dela para fins preventivos e curativos. Contudo, foi somente nestas últimas quatro décadas que foi intensificado o interesse dos pesquisadores em estudá-la. Encontra-se na literatura um grande número de publicações, sobre a sua composição química [13-21], atividades biológicas e farmacológicas [22-59]. Nestes estudos, os ensaios biológicos destacam suas ações, bactericida, anti-inflamatória, hepatoprotetora, anti-úlceras, anti-cárie, cicatrizante, anestésica e atividade contra fungos.

A própolis é elaborada pelas abelhas a partir de resinas de broto, exsudatos e outras partes do tecido vegetal. Ela mistura ainda suas enzimas salivares, cera, pólen e materiais inorgânicos para a confecção final deste produto [60]. A própolis bruta encontra-se no estado sólido, sendo dura a 15°C e maleável a partir dos 30°C. Suas propriedades físicas, como cor, odor e faixa de fusão (60° - 70°C) variam de uma amostra para outra. Devido à grande diversidade de espécies vegetais brasileiras visitadas pelas abelhas, ocorre uma elevada variação de seus princípios ativos. Sua composição química é extremamente complexa. É constituída de um modo geral por 55% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de compostos voláteis e 5% de pólen e outros compostos inorgânicos. A cera da própolis tem propriedades e composição química muito similar à cera do favo [61-63].

As principais substâncias químicas encontradas na própolis europeia são o ácido benzóico e seus ésteres, os ácidos e ésteres fenólicos substituídos, flavonóides, carboidratos, ácidos graxos, terpenos, além de outros. Entretanto, como era de se esperar, por causa da grande biodiversidade de plantas existente no Brasil, a própolis brasileira tem uma composição química bastante distinta da europeia e das do restante do mundo. Ela possui ácidos fenólicos prenilados, lignanas, terpenos e álcoois terpênicos e pequenas quantidades de flavonóides. A sua ação farmacológica deve-se em grande parte à presença dos ácidos fenólicos e derivados. Estes, caracterizam-se por apresentarem em suas estruturas químicas, pelo menos um anel aromático, no qual uma ou mais hidroxilas estão diretamente ligadas. **A listagem de alguns compostos encontrados na própolis brasileira pode ser obtida ao final deste artigo.** Os números em vermelho estão relacionados com os da Tabela 1, em Propriedades Biológicas.

A elevada variedade de princípios ativos tem gerado uma grande preferência internacional, não só para fins comerciais, mas também na área científica. Nas revisões bibliográficas, observa-se que mais de 50% dos artigos

publicados, nas revistas internacionais e também várias patentes, apresentam dados sobre a própolis brasileira [64].

A população brasileira também tem feito uso crescente dos seus diversos produtos comerciais, encontrados na forma de tintura, pomada, *spray*, bala, sabonete, xampu, creme dental, etc. Embora seja um produto natural, a mesma não deve ser utilizada indiscriminadamente. Existem relatos de que pessoas propensas a terem alergias, podem também apresentar tais sintomas com o seu uso, tanto tópico quanto oral. A partir da revisão, não foi encontrado para a própolis brasileira nenhum estudo que aponte qualquer de seus componentes como agente alergênico. Para a europa, tal propriedade tem sido descrita para os derivados do ácido cafeico. Embora, eles também apresentem atividades anticancerígena e antiviral, entre outras [46-49]. Como exemplo de um desses ácidos, tem-se o cafeato de feniletila (em inglês: *caffeic acid phenethyl ester*, abreviado como CAPE).

Métodos de Identificação

Diferentes técnicas têm sido propostas para a separação e identificação dos compostos da própolis. Alguns exemplos podem ser citados, com estudos incluindo desde a cromatografia em camada delgada (CCD) [70], até as técnicas mais sofisticadas, tais como, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) [71,72] cromatografia gasosa (CG) [13], espectrometria de absorção atômica [73], assim como, combinações entre elas, cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-MS) [74,75], camada delgada de alta eficiência (CCDAE) e ultravioleta-visível (Uv-visível) [76]. As técnicas de CLAE e CG-MS são as mais precisas e exatas para elucidar a composição química da própolis.

Contudo, nas análises corriqueiras de controle de qualidade, os flavonóides totais expressos em quercetina, tem sido usualmente identificados por espectrofotometria no UV através da reação com o cloreto de alumínio. Esta técnica para a identificação de flavonóides totais em própolis [77,78] foi adaptada das análises de flavonóides em plantas, onde normalmente se encontra a quercetina [79-80]. Estas substâncias absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível. O uso do complexante cloreto de alumínio ($AlCl_3$) no diagnóstico da presença de alguns grupamentos químicos foi feito pela primeira vez

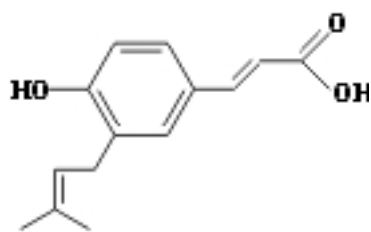
empregando-se antocianinas. Trata-se de um pigmento cuja estrutura química pertence ao grupo dos flavonóides, encontrado principalmente em flores, mas muitas vezes também em frutos, com uma coloração de vermelho a azul, com variações intermediárias. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de ondas e uma intensificação da absorção. Desta maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, impedindo-se a interferência das outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos presentes na própolis. A leitura é feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se uma solução de cloreto de alumínio [78]. Nestas condições o complexo Flavonóide-Alumínio absorve em comprimentos de ondas maiores do que o flavonóide sem a presença do complexante.

Em outro estudo foi proposto [81] um método de controle de qualidade para extratos de própolis, através de cromatografia bidimensional em papel e doseamento espectrofotométrico (U.V. e visível) para flavonóides totais. Usou-se como complexante o oxiclreto de zircônio para obter o índice de flavonóides expresso em quercetina.

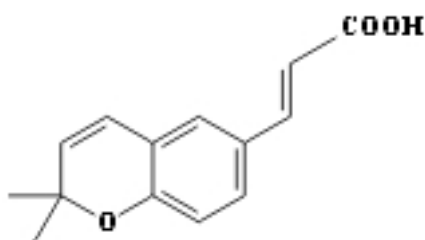
Diferentes autores [18,72,75,82-86] têm observado que a composição química da própolis de regiões de zona temperada, tais como, Europa, Ásia e América do Norte, é diferente das zonas tropicais, especialmente o Brasil. A própolis das zonas temperadas é coletada pelas abelhas nas diferentes espécies vegetais de *Populus*, e sua composição não varia muito entre elas. Estes autores usaram métodos cromatográficos e espectrométricos para isolar e identificar esses compostos. Uma boa parte destes trabalhos envolve a própolis brasileira, principalmente das regiões Sudeste e Sul. Na própolis coletadas dos *Populus* da Europa foram observados em sua composição, em maior frequência, vários flavonóides, ácido cafeico e ésteres deste ácido.

Entre os compostos ativos da própolis brasileira, analisados pelas autoras desse texto, destacam-se os ácidos cumáricos e seus derivados prenilados. Em um dos trabalhos, foram isolados e quantificados quatros novos compostos:

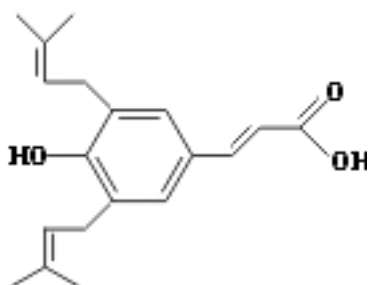
- ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico
- ácido 2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-propenóico
- ácido 3, 5-diprenil-4-hidroxicinâmico
- ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico [86].



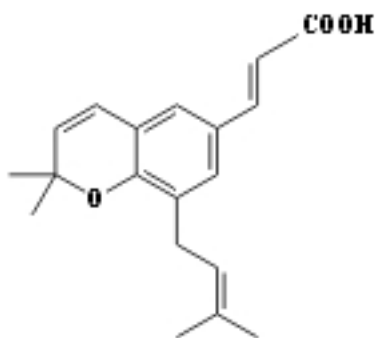
Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico



Ácido 2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-propenóico



Ácido 3, 5-diprenil-4-hidroxicinâmico



Ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico

Foram identificados por CLAE, e sua estrutura determinada por técnicas de espectrofotômetro de massa e ressonância magnética nuclear. Foi sugerido que *Baccharis spp.* e a *Araucaria spp.* são provavelmente as espécies vegetais nativas mais visitadas pelas abelhas *Apis Mellifera* para a coleta da resina de própolis nas regiões Sudeste e Sul do Brasil.

Métodos de extração

A extração de substâncias pode ser feita de diferentes maneiras, as quais envolve normalmente uma extração simples, onde a amostra é deixada em contato com o solvente a frio por um tempo determinado, com ou sem agitação, ou por uma extração exaustiva, que utiliza um aparelho com solvente aquecido, passando continuamente através da amostra [87].

A maneira mais comum para se extrair os princípios ativos da própolis bruta é por extração simples, conhecida como maceração. Geralmente, uma solução 30% (m/v) da amostra é deixada em contato com álcool etílico P.A ou 70%(v/v). O tempo de contato da própolis bruta com o solvente pode variar de semanas a meses, com ou sem agitação, à temperatura ambiente.

Outra maneira usada nos laboratórios de pesquisas é através do extrator Soxhlet (Figura 3). Esta extração é mais rápida, e envolve o aquecimento da amostra a cerca de 70° C. Utiliza-se normalmente como solvente o álcool etílico, que fica em refluxo contínuo até que o solvente, que passa pelo sifão do soxhlet, fique incolor. A metodologia desta extração é amplamente utilizada por pesquisadores que trabalham com produtos naturais. A mesma foi adaptada para a extração da própolis brasileira [88].

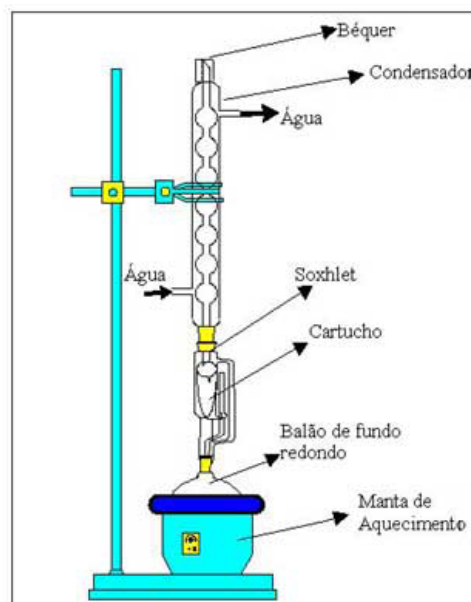


Figura 3: Processo de Extração da própolis bruta com o extrator Soxhlet (Reproduzido de Pardo dos Reis, M., Relatório parcial de IC, Fapesp, 2000, (Proc. no. 99/03831-1)

No final de cada uma destas extrações separam-se os resíduos insolúveis da solução etanólica por filtração ou por centrifugação. Em seguida, separa-se a cera por resfriamento desta solução a baixas temperaturas. Nestas

condições a cera precipita. Assim ao final do processo tem-se o extrato seco (conhecido normalmente como EEP - extrato etanólico da própolis), cera e resíduo, que podem ser pesados e quantificados. O rendimento da extração por soxhlet é maior do que por maceração e varia de uma amostra para outra [89]. Valores normalmente encontrados: EEP de 40-60% (m/m), em relação à quantidade da amostra de própolis inicial, Cera de 5 - 15% e Resíduo de 30-40%. A partir do extrato seco é que se devem preparar as formulações.

É possível empregar também a técnica de extração líquido-líquido, para separar alguns dos ácidos fenólicos [90]. A eficiência da extração foi monitorada pela cromatografia líquida de alta eficiência. A extração líquido-líquido (Figura 4) é uma técnica experimental corriqueira, que permite a separação de um composto em um sistema de duas fases, uma de solvente orgânico e outra aquosa, usando um funil de separação. Diferentes solventes orgânicos foram usados para a dissolução da própolis, tais como, clorofórmio e acetato de etila. Apesar dos ácidos fenólicos serem fracos, eles apresentam relativa solubilidade em água, mas, esta é dificultada pela presença de substâncias resinosas da própolis, que lhe conferem o caráter lipofílico. Pode-se alterar a solubilidade destes ácidos fracos através do controle do pH do meio. As várias etapas da extração foram acompanhadas com a cromatografia líquida de alta eficiência e dependendo do solvente orgânico usado, são extraídos diferentes ácidos fenólicos.



Figura 4: Aparato usado na extração líquido-líquido.

Propriedades físico-químicas

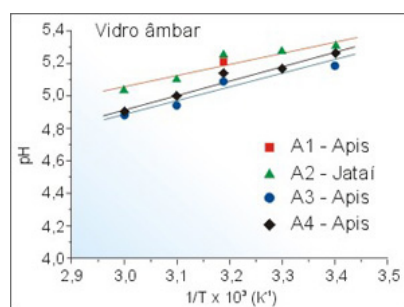
pH

O efeito da temperatura sobre o valor do pH nominal de algumas soluções de própolis tem sido avaliado. A

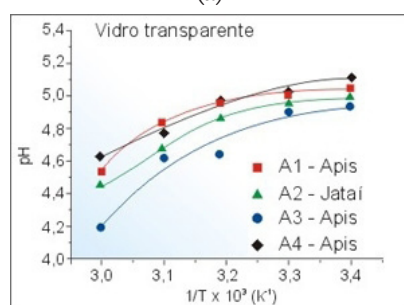
correlação entre o pH e o inverso da temperatura é descrita por uma reta, dada pela equação:

$$pH = 2,303 \frac{\Delta G^0}{RT} + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Em um dos estudos desenvolvidos pelas autoras foram analisadas soluções de própolis 5% (m/v) em álcool 70% (v/v), armazenadas por um período de duas semanas em vidro âmbar e vidro transparente. As soluções em vidro transparente foram mantidas em contato com luz natural. A faixa do pH nominal da própolis, normalmente descrita na literatura está entre 4,0 a 5,5, em função da composição química. As quatro amostras de própolis analisadas encontram-se também nesta faixa, indicando a presença dos ácidos fenólicos. Foram medidos cinco valores de pH para cada temperatura analisada (20 - 60° C). Em seguida a amostra foi resfriada a temperatura ambiente e repetiu-se novamente o experimento. Como pode ser verificado na Figura 5a, observou-se um abaixamento dos valores de pH de 0,10 a 0,30 unidade em relação as anteriores, mas manteve a relação linear entre a temperatura e pH, como prevê a teoria. Por sua vez, nas soluções mantidas em contato com a luz natural, observa-se que os efeitos da temperatura e da exposição à luz ao mesmo tempo acentuam ainda mais o abaixamento do pH, em uma média de 0,5 unidade. Além disso, observa-se o desvio da linearidade (Figura 5b). Uma das classes de compostos, que pode estar se decompondo com estes efeitos são os benzopiranos, substâncias heterocíclicas em que um os anéis apresenta tendência a se abrir.



(a)



(b)

Figura 5: Relação experimental entre o pH e o inverso da temperatura em Kelvin em amostras de própolis. a) obtido sem ação da luz (vidro âmbar); b) obtido com a ação da luz (vidro transparente).

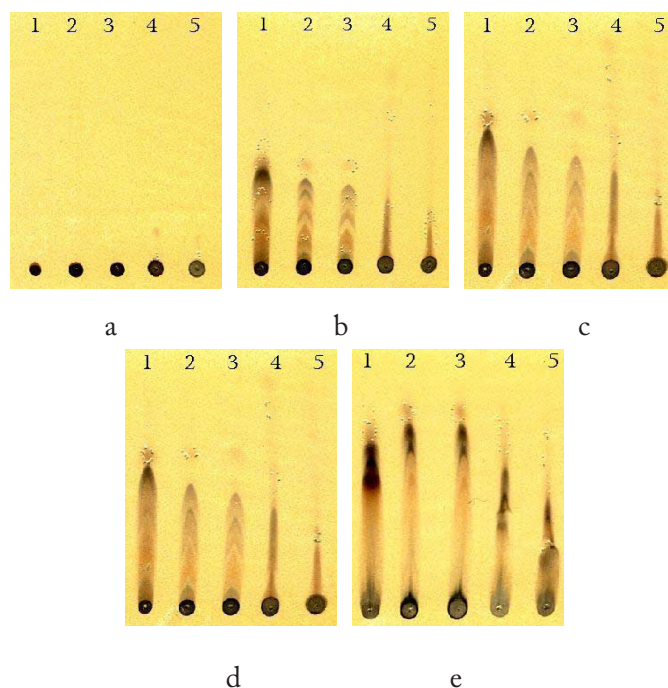
Solubilidade

A solubilidade de uma substância está diretamente relacionada com a natureza do solvente [87]. Testes indicam que a própolis se dissolve bem em solventes com polaridades intermediárias, como álcool, éter, acetona, diclorometano, sendo insolúvel em solventes apolares como, hexano e tetracloreto de carbono. Observou-se que a ordem de solubilidade a 25° C da própolis nos solventes testados é a seguinte: álcool etílico, propileno glicol e acetona > clorofórmio > éter e diclorometano > água, hexano e tetracloreto de carbono. Misturas destes solventes também foram testadas. A mistura propileno glicol:H₂O (50% (v/v)) solubilizou melhor a própolis do que a de álcool etílico e água, na mesma proporção.

Comparou-se estes dados com a constante dielétrica de cada um dos solventes. A ordem destas constantes é a seguinte: água > propileno glicol > álcool etílico > acetona > diclorometano > éter etílico > clorofórmio > tetracloreto de carbono > hexano. Observou-se que é praticamente a ordem indicada nos estudos experimentais. Tanto a água quanto o hexano não dissolvem a própolis, a água apresenta uma constante dielétrica muito alta, indicando que é um solvente muito polar e o hexano uma constante dielétrica muito baixa, e apolar. Como a própolis é composta por substâncias tanto hidrofílicas quanto hidrofóbicas, os solventes com polaridades intermediárias conseguem interagir melhor com essas duas classes de substâncias.

Para separar as dezenas de substâncias apolares das polares, que apresentam atividades, precisa-se fazer a escolha correta dos solventes. Como exemplo [91], foram feitos cinco extrações por maceração em diferentes solventes e utilizou-se a cromatografia em camada delgada para avaliar se houve a extração das substâncias polares contidas na própolis por esses solventes. Foram usados como fase móvel para a cromatografia, uma mistura de solventes com diferentes polaridades, conforme está indicado na Figura 6. Inicialmente fez-se a cromatografia com o solvente mais apolar, o hexano [Fig.4a], e em seguida foram misturados com um solvente polar, o acetato de etila. O aumento do solvente polar na fase móvel (acetato de etila nas proporções de 7:3 [Fig.4b]; 1:1 [Fig.4c]; 3:7 [Fig.4d]; até 100% [Fig.4e]), proporciona o arraste dos compostos polares nos extratos. O revelador usado foi uma solução etanólica de cloreto de ferro 2% (m/v). Os números de um a cinco indicam os solventes usados na maceração: Álcool etílico, Álcool etílico + solução de polissorbato 80 0,5 % (m/v), Álcool + solução de laurilsulfato de sódio 0,1% (m/v), álcool + Solução propilenoglicol 1:1, Álcool + solução de polietilenoglicol 1:1. Os pontos nas placas cromatográficas indicam substâncias fluorescentes na luz

ultravioleta de comprimento de onda 254 nm.



A literatura apresenta também alguns estudos sobre a cromatografia em camada delgada para identificar os compostos fenólicos usando condições similares. Em um deles, usou-se como fase móvel uma mistura de solventes, benzeno: acetato de etila: ácido fórmico (36:12:5), e como revelador uma mistura de ácido bórico com ácido oxálico. Para identificar os ácidos fenólicos, a fase móvel uma mistura de acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:15:5). Neste estudo foram Identificados 12 flavonóides e 5 ácidos fenólicos [70].

Propriedades físico-químicas

A busca do homem para aproveitar o potencial farmacológico dos produtos naturais tem se intensificado, e dentro deste contexto, a própolis vem ganhando destaque à medida que se correlaciona sua composição química com as propriedades biológicas, como indicado na Tabela 1, a seguir.

Nestes estudos observam-se os diferentes ensaios biológicos feitos com seus compostos isolados. Isso representa a tendência atual, de se caracterizar o tipo de própolis para cada uma das aplicações, em função de sua composição.

Tabela 1 : Propriedades biológicas dos compostos presentes na Própolis brasileira.
A letra **C** e os respectivos números em **vermelho** estão relacionados com os compostos químicos indicados na listagem ao final do artigo

| Atividades biológicas [#] | | | | | | | |
|------------------------------------|--|---------------|---|--|---------------|-----------------------------------|--|
| C | Cultura de células Atividade antitumoral (LD50 mg/mL) ^{&} | | Cultura de células. Efeito hepato- protetor (IC50 mM) ^{&&} | Microbiológico CIM (H.pylori mg/mL) ^{**} | | | Atividade antioxidante (DPPH) ^{***} (mg/mL) |
| | HT1080 (Fibrosarcoma) | L5-26 (Cólon) | (Hepatócitos) | NTCT 11637 | NTCT 11916 | ATCC 43504 | |
| 1 | 71,53 | 77,07 | -- | 0,13 | 0,25 | 0,25 | -- |
| 2 | 46,86 | 50,22 | 88,1 | 0,50 | 0,50 | 1,00 | -- |
| 3 | > 100 | > 100 | -- | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 4 | > 100 | > 100 | -- | -- | -- | -- | -- |
| 5* | 45,47 | 59,32 | -- | > 1 | > 1 | > 1 | 5,6 |
| 6 | 25,94 | 77,90 | 26,9 | 0,25 | 0,50 | 0,50 | -- |
| 7 | > 100 | > 100 | 34,6 | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 8 | > 100 | > 100 | 22,1 | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 9 | 4,05 | 10,44 | 45,8 | > 1 | > 1 | > 1 | 11,1 |
| 10 | 72,91 | 63,54 | 94,4 | 0,50 | 0,50 | 1,0 | -- |
| 11 | 70,10 | 73,27 | 80,2 | 0,13 | 0,25 | 0,25 | -- |
| 12 | 75,43 | 95,92 | 79,6 | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 13 | 72,82 | > 100 | -- | 0,13 | 0,13 | 0,13 | -- |
| 14 | 75,43 | 95,92 | -- | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 15 | 94,86 | > 100 | 44,1 | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 16 | 57,40 | 58,09 | -- | -- | -- | -- | -- |
| 17 | 45,48 | 57,15 | -- | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 18 | > 100 | > 100 | -- | 1,0 | 1,0 | 1,0 | -- |
| 19 | 5,83 | 4,85 | 12,7 | > 1 | > 1 | > 1 | -- |
| 20 | 2,91 | 5,95 | 17,6 | > 1 | > 1 | > 1 | 4,8 |
| 21 | 2,30 | 7,64 | 15,0 | 0,50 | 1,0 | > 1 | -- |
| 22 | 26,97 | 70,98 | 22,0 | 1,0 | 1,0 | > 1 | -- |
| 23 | 38,92 | 39,86 | 47,2 | > 1 | > 1 | > 1 | 61,9 |
| 24 | > 100 | > 100 | 15,2 | 0,13 | 0,25 | 0,25 | 12,2 |
| 25 | > 100 | > 100 | -- | 0,25 | 0,13 | 0,13 | 15,0 |
| 26 | 13,9 | 12,4 | 63,5 | > 1 | > 1 | > 1 | 29,1 |
| 27 | 43,2 | 13,7 | 15,0 | > 1 | > 1 | > 1 | 30,1 |
| Atividade antitumoral (IC50 mM) | | | | | | | |
| | | | | B16-BL6 (melanoma) | | A-549 (carcinoma de pulmão) | |
| 28 | > 195 mM | 44,5 mM | 78 | > 195 | | > 195 | -- |
| 29 | 116 mM | 37,7 mM | -- | 127 | | > 190 | -- |
| 30 | 157 mM | 76,3 mM | -- | 105 | | > 190 | -- |
| 31 | 119 mM | 52,4 mM | -- | 122 | | > 190 | -- |
| 32 | -- | -- | -- | -- | | -- | -- |
| 33 | 337 mM | 111 mM | -- | 314 | | 387 | -- |
| 34 | -- | -- | -- | -- | | -- | -- |
| 35 | -- | -- | -- | -- | | -- | -- |

Compostos descritos nas referências [92-100].

* O composto 5 também foi avaliado em outras linhagens tumorais por uma das autoras, com os valores LD 50 expressos em mg/mL: NCI460 (tumor de pulmão): 9,0; UACC62 (melanoma): 6,5; MCF7 (tumor de mama normal): 11,0; NCIADR (tumor de mama que expressa fenótipo de resistência a múltiplas drogas): 23,0 (M.C.Marcucci e J.E. Carvalho, resultados não publicados).

** CIM - concentração mínima inibitória (inibição de 100% do crescimento microbiano).

*** DPPH - sigla para o composto de referência, 2,2 difenil - 1 picrilhidrazil.

& LD50 - dose letal capaz de inibir 50% do crescimento das células tumorais.

&& IC50 - concentração inibitória capaz de inibir 50% do crescimento das células tumorais.

Referências Bibliográficas

1. **Kerr, W. E.**, "The history of the introduction of African bees in Brazil", *Apiculture in Western Australia*, 1967,2:53-55.
2. **Gonçalves, L.S.**, "The introduction of the african bees (*Apis mellifera adansonii*) into Brasil and some comments on their spread in South America", *Am. Bee J.*, 1974, 14(11):414-415.
3. **Goncalves, L.S.**, "Africanização das abelhas nas Américas, impactos e perspectivas de aproveitamento genético". *Anais do Encontro Brasileiro sobre biologia de abelhas e outros insetos sociais*. São Paulo, 1992.
4. **Nogueira-Neto, P.**, "Vida e criação das abelhas indígenas sem ferrão", editora Nogueirapis, São Paulo, 1997.
5. **Imperatriz-Fonseca, V.L.**, "O apicultor e a conservação de abelhas sem ferrão" *Anais do XII Congresso Brasileiro de Apicultura*, 1998, pg 79.
6. **Ramalho, M.**, "Diversidade de abelhas em um remanescente de Floresta Atlântica em São Paulo", Tese de Doutorado do Inst. de Biociências, USP, 1995.
7. **Nogueira-Neto, P.**, "As abelhas e o meio ambiente", *Anais do XII congresso Brasileiro de Apicultura*, Salvador - Bahia , pg 149, 1998.
8. **Martins, M.A.**, "A criação das abelhas e a preservação da biodiversidade: uma questão de educação ambiental. Monografia. FUNDESF/UCSAL. Salvador , 1995.
9. **Salomón, R.C.; Hernández, D.Z.**, "Reflexiones sobre problemas contemporaneos y consecuencias economicas asociadas a los cambios en el medio ambiente y la apicultura" *Apiacta*, 1999, 34:117 - 121, Cuba. http://beekeeping.com/apiacta/medio_ambiente.htm
10. **Facchini, O.**, "Tratamento apiterapêutico nas hipertensões", I simpósio Brasileiro sobre própolis e apiterápicos". *Revista da Universidade de Franca*, ano7, no.7, pg 54, 1999.
11. **Facchini, O.**, "Tratamento apiterapêutico no diabetes", I simpósio Brasileiro sobre própolis e apiterápicos", *Revista da Universidade de Franca*, ano7, no.7, pg 55, 1999.
12. I simpósio Brasileiro sobre própolis e apiterápicos. *Revista da Universidade de Franca*, Seção de posters, 1999, ano7, no.7, 33-61.
13. **Bankova, V., Christov, R., Sotev, G.; Popov, S.**, "Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography", *J. Chromatogr.*, 1992, 607:150.
14. **Marcucci, M. C.**, "Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity". *Apodologie*, 1995, 26 :83-99.
15. **Bankova, V.; Christov, R.; Kujumgiev, A.; Marcucci, M.C.; Popov, S.**, "Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis", *Z. Naturforsch.*, 1995, 50c:167-172.
16. **Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Prasain, J.K.; Matsushige, K.; Dsaiki, L.; Kadota, S.H.**

- "Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities" *J. Nat. Prod.*, 1998, v.61, p.896-900.
17. **Cunha, I.B.S.; Bueno, M.I.M.; Marcucci, M.C.R. e Custodio, A. R.**, "Caracterização de Própolis Brasileira por Fluorescência de Raio-X: Evidência de Contaminação de Chumbo", *Lecta - Revista de Farmácia e Biologia*, 1997, 15(12): 99.
18. **Marcucci, M.C.; Ferreres F.J.R.; Bankova, V.; Groto, R.M.; Popov, S.**, "Chemical Composition of Brazilian Propolis from São Paulo State". *Z. Naturforsch.*, 1998, 53c:117-119.
19. **Bankova, V.; Castro, S.L.; Marcucci M.C.**, "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin" *Apidologie* 2000, 31:3-15.
20. **Velikova, M.; Bankova, V.; Marcucci, M.C.; Tsvetkova, I.; Kujumgiev, A.**, "Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae", *Z. Naturforsch.(C)*, 2000, 55:785-789
21. **Koo, M.H.; Park, Y. K.**, "Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* Propolis from various regions of Brazil". *Arq. Biol. Tecnol.* 1997, 40(1): 97-106.
22. **Brumfit, W., Hamilton-Miller, J.M.T., Franklin, I.**, "Antibiotic activity of natural product: Propolis", *Microbios*, 1990, 62:19-2.
23. **Krol, W., Scheller, S., Shani, J. Pietsz G., Czuba Z.**, "Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*". *Arzneim. Forsch. Drug Res.*, 1993, 43:607-8.
24. **Park, Y. K.; Koo, M.H.; Abreu, J.A.S.; Ikegagaki, M.; Cury, J. A.**, "Antimicrobial Activity of Propolis on oral Microorganisms". *Current Microbiology*. 1998, 36:24-38.
25. **Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Chistov, R., Popov, S.**, "Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin", *J. of Ethnopharmacology*, 1999, 64:235-40.
26. **Fernandes Júnior, A.**, "In vitro activity of propolis against bacterial and yeast pathogens isolated from human infections". *J. of Vem. Na. and Toxins*. 1995, 1:63-9.
27. **Basnet, P., Matsushige, K., Hase, K., Kadota, S.**, "Potent activity of dicaffeoylquinic acids from propolis", *Z. Naturforsch.*, 1996, 52c:828-833.
28. **Velikova, M.; Bankova, V.; Tsvetkova, I.; Kujumgiev, A.; Marcucci, M.C.**, "Antibacterial entkaurene from Brazilian propolis of native stingless bees", *Fitoterapia*, 2000, 71(6): 693-696.
29. **Drago, L.; Mombelli, B.; De Vecchi, E.; Fassina, M.C.; Tocalli, L.; Gismondo, M.R.**, "In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract" *J. Chemother.*, 2001, 13(1):102.
30. **Sforcin, J.M.; Fernandes, A.; Lopes, C.A.M.; Bankova, V.; Funari, S.R.C.**, "Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity", *J. Ethnopharmacol.*, 2000, 73(1-2):243 -249.
31. **Ozcan, M.**, "Antifungal properties of propolis", *Grasas&Aceites*, 1999, 50(5): 395-398.
32. **Hernández N.M.R., Bernal K.C.**, "Efecto antibiótico del propóleo frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico humano", *Rev Cubana Farm*, 1990, 24(1):45-50.
33. **Grange J.M.; Davey R.W.**, "Antibacterial properties of propolis (bee glue)" *J. R. Soc. Med.* 1990, 83:159-160.
34. **Kedzia A.**, "Sensitivity of anaerobic bacteria to the ethanol extract of propolis" *Phytothérapie*, 1990, 6:4-6.
35. **Kedzia A.**, "Effect of ethanol extract of propolis (EEP) on anaerobic bacteria", *Herba Pol.*, 1986, 32(1):53-58.
36. **Pepelnjak S.; Jalsenjak I.; Maysinger D.**, "Growth inhibition of *Bacillus subtilis* and composition of various propolis extracts", *Pharmazie*, 1982, 37(12):884-885.
37. **Holderna E.; Kedzia B.**, "Investigations upon the

- combined action of propolis and antimycotic drugs on *Candida albicans*", *Herba Pol.*, 1987, 33(2):145-151.
38. Valdéz G.; Rojas N.M.; Morales C., "Ensayo preliminar de la acción antifúngica de extractos de propóleo sobre *Candida albicans*", *Cienc. Tec. Agric. Apicultura*, 1987, 3:41-49.
 39. Scheller S.; Szaflarski J.; Tustanowski J.; Nolewajka E.; Stojko A., "Biological properties and clinical application of propolis " *Arzneim -Forsch Drug Res.*, 1977, 27(4):889-890.
 40. Torres D.; Hollands I.; Palacios E., "Efecto de un extracto alcohólico de propóleos sobre el crecimiento de *Giardia lamblia* in vitro", *Ver. Cubana Cienc. Vet.*, 1990, 21(1):15-19.
 41. Higashi K.O.; Cassilhas A.P.; Meirelles M.N.L.; Castro S.L., "Effect of propolis extract on *Trypanosoma cruzi* Infected Cell Cultures and experimental animals", *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1991, 86(1):236.
 42. Debiaggi M.; Tateo F.; Pagani L.; Luini M.; Romero E., "Effects of propolis flavonoids on virus infectivity and replication", *Microbiologica*, 1990, 13, 207-213.
 43. Amoros M.; Sauvager F.; Girre L.; Cormier M., "In vitro antiviral activity of propolis", *Apidologie*, 1992, 23:231-240.
 44. Amoros M.; Simões C.M.O.; Girre L.; Sauvager F.; Cormier M., "Synergistic effect of flavones and flavonols against Herpes Simplex virus Type1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis", *J. Nat. Prod.*, 1992, 55(12):1732-1740.
 45. Serkedjieva J.; Manolova N.; Bankova V., "Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids)" *J. Nat. Prod.*, 1992, 55(3):294-297.
 46. Ban J.; Popovic S.; Maysinger D., "Cytostatic effects of propolis in vitro", *Acta. Pharm. Jugosl.*, 1983, 33:245-255.
 47. Ross .P.B., "The effects of propolis fractions on cells in tissue culture", MPhil Thesis, University of Wales College of Cardiff, UK, 1990, 193pp.
 48. Matsuno, T.; Matsumoto, Y.; Saito, M.; Morikawa, J., " Isolation and characterization of cytotoxic diterpenoid isomers from propolis" *Z. Naturforsch.* 1997 52c:702-704.
 49. Vynograd, N.; Vynograd, I.; Sosnowski, Z., "A comparative multi-center study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in treatment of genital herpes(HSV)" *Z. Phytomed.* 2000, 7:1-6.
 50. Matsuno, T.; Jung, S. K.; Matsumoto, Y.; Morikawa, J., " Preferencial cytotoxicity to tumor cells of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) isolated from propolis" *J. Anticancer Res.*, 1997, 17: 3565-3568.
 51. Kimoto, T.; Arai, S.; Kohguchi, M.; Aga, M.; Nomura, Y.; Micallef, M. J.; Kurimoto, M.; Mito, K., "Apoptosis and suppression of tumor growth by artepillin C extrated from Brazilian propolis " *Cancer Detect. Prev.* 1998, 22:506-515.
 52. Junko, I.; Frang-Rong, C.; Hui-Kang, W.; Park, Y.K.; Masaharu, I.; Nicole, K.; Kou-Hsiung, L., " Anti-AIDS Agents. Anti-HIV Activity of Moronic Acid Derivatives and the New Melliforene-Related Triterpenoid from Brazilian Propolis" *J. Nat. Prod.* 2001, 64: 1278-1281.
 53. Draganova L.; Dishovski C.H.; Dishovska Z.; Shkendevov S.; Samnaliev M., "In vitro and in vivo studies of drugs on the base of propolis for local application", *Proc. XXXII Int Congr Apiculture, Apimondia, Rio de Janeiro, Brasil, 1989*, 221.
 54. Kabanov A.N.; Suvorov A.M.; Lesnykh Iu .F.; Kononov A.V.; Lopushanski V.G., "Endoscopic treatment of duodenal ulcers with proposal", *Sov. Med.*, 1989, 6: 92 - 94.
 55. Matsushige, K.; Basnet, P.; Hase, K.; Kadota, S.; Tanaka, K.; and Namba, T., "Propolis protects pancreatic b-cells against the toxicity of streptozotocin(STZ)". *Phytomedicine*, 1996, 3:203-209.
 56. Burdock G.A., "Review of the biological properties and toxicity of bee propolis". *Food&Chem. Toxicol.*

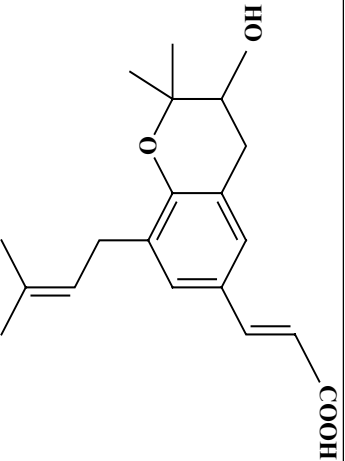
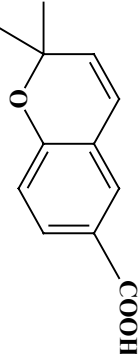
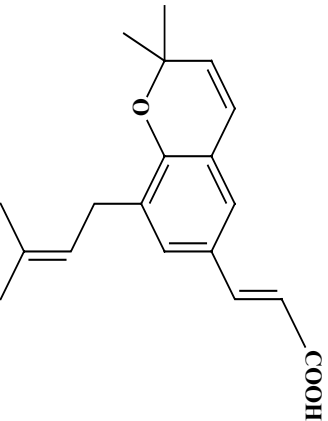
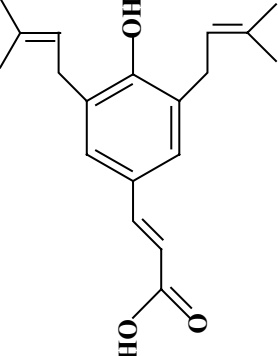
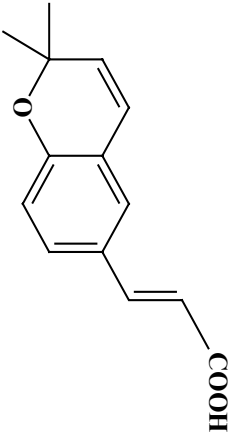
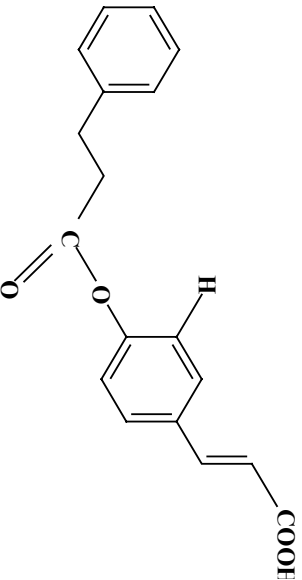
- 1998, 3:347 - 363.
57. Campos, R.O.P.; Paulino, N.; Silva, C.H.M.; Scremin A. Calixto J.B., "Anti-hyperalgesic effect of the ethanolic extract of propolis". *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1998, 50: 1187-1193.
58. Bretz, W.A. ; Chiego Jr, D.J.; Marcucci, M.C.R; Cunha, I.B.S.; and Custodio, Angela . R., Schneider, L.G., "Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp", *Z. Naturforsch* , 1998, 53c:1045-1048.
59. Marcucci, M.C., "Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis". *Quím. Nova* 1996, 19: 529-536.
60. Ghisalberti, E. L., "Propolis: a review", *Bee World*, 1979, 60:59-84.
61. Negri, G.; Marcucci, M. C.; Salatino, A.; Salatino, M. L. F., "Hydrocarbons and Monoesters of Propolis Waxes from Brazil". *Apidologie* 1998, 29: 305-314.
62. Negri, G.; Marcucci, M. C.; Salatino, A.; Salatino, M. L. F., "Comb and Propolis Waxes from Brazil", *J. Braz. Chem. Soc.* 2000, 11: 453-457.
63. Negri, G.; Marcucci, M. C.; Salatino, A.; Salatino, M. L. F., "Comb and Propolis Waxes from Brazil. Triterpenoids in Propolis Waxes", *Journal of Apicult. Resear.* 2000, 39:86-88.
64. Pereira, A. S.; Seixas, R.M.S.; Neto, F.R.A., "Própolis: 100 anos de pesquisas e suas perspectivas futuras", *Quim. Nova*, 2002, 25(2):321-326.
65. Matsuno, T., "Própolis, Farmacologia e Efeitos Terapêuticos". *Mensagem Doce*, 1996, 37:1-7.
66. Hepsen, I.F.; Bayramlar, H.; Gultek, A.; Ozen, S.; Tilgen F., Evereklioglu, C., "Caffeic acid phenethyl ester to inhibit posterior capsule opacification in rabbits", *J. of Cataract and Refractive Surgery*, 1997, 23:1572-1576.
67. Chen, Y.J.; Shiao, M.S.; Wang, S.Y., "The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells" *Anti-cancer drugs*, 2001, 12:143-149.
68. Na, H.K.; Wilson, M.R.; Kang, K.S.; Chang, C.C.; Grunberger, D.; Trosko, J.E., "Restoration of gap junctional intercellular communication by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in a ras-transformed rat liver epithelial cell line", *Cancer Lett.*, 2000, 157:31-38.
69. Lee, Y.J.; Liao, P.H.; Chen, W.K.; Yang, C.C., "Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells", *Cancer Lett.* 2000, 153:51-56.
70. Arvouet-Grand, A. et.al., "Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants", *J. Pharm. Belg.*, 1994, 49(6):462-68.
71. Markham, K.R., Mitchell, K.A., Wilkins, A.L., Daldy, J.A., Lu, Y., "HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis", *Phytochemistry*, 1996, 42:205-211.
72. Garcia-Viguera, C.; Ferreres, F.; Tomás-Barberán F.A., " Study of Canadian propolis by GC-MS and HPLC", *Z. Naturforsch.* 1993, 48c:731-735.
73. Kulevanova, S. et. al., "Determination of same macroelements in propolis by atomic absorption spectrometry". *Acta Pharm.*, 1995, 45:45-52.
74. Pereira, A.S.; Norsell, M.; Cardoso, J.N.; Neto, F.R.A.; Ramos, M.F.S., "Rapid screening of polar compounds in Brazilian propolis by high-temperature high-resolution gas chromatography-mass spectrometry", *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48:5226 -5230.
75. Nagy, E.; Papay, V.; Litkei, G.; Dinya, Z., "Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and *Populi gemma* by GC/MS methods" *Org. Chem.* 1986, 23:223-232.
76. Park, Y. K., Koo, M. H., "Investigation of Flavonoid Aglycones in Propolis Collected by Two Different Varieties of Bees in the Same Regions" *Bioci. Biotech. Biochem.*, 1997, 61: 367-369.

77. **Marcucci, M. C.; Woisky, R. G.; Salatino, A.**, "Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis", *Mensagem Doce*, 1998, 46:3-8.
78. **Woisky, R.G.; Salatino A.**, "Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control", *J. Apicult. Res.*, 1998, 37: 99-105.
79. **Marrkham, K.R.**, "Techniques of flavonoid identification", ed. Academic Press, London, 1982.
80. **Harborne, J.B.**, "Phytochemical methods: a guide to mordern techniques of plant analysis", ed. Chapman and hall, London, 1984.
81. **Franco, T. T.; Kurebayashi, A. K.**, "Isolamento dos princípios ativos de Propolis em cromatografia em papel". *Revista do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo.* 1986, 46: 81-86.
82. **Boudorova-Kravsteva, G.; Bankova, V.; Sforcin, J.M.; Nikolova, N.; Popov, S.**, "Phenolics from Brazilian propolis", *Z. Naturforsch.*, 1997, 52c:676-679.
83. **Tomás-Barberán F.A.; Garcia-Viguera, C; Vit-Olivier, P.; Ferreres, F.**, "Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela". *Phytochemistry.* 1993, 34: 191-196.
84. **Marcucci, M.C.; Ferreres, F.; Garcia-Viguera, C.; Bankova, V.S.; De Castro, S.L.; Dantas, A.P.; Valente, P.H.M.; Paulino, N.**, "Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological Activities", *J. Ethnopharmacol.* 2001, 74:105-112.
85. **Bankova, V.; De Castro, S.L.; Marcucci, M.C.**, "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin", *Apidologie*, 2000, 31:3-15.
86. **Marcucci, M.C.; Ferreres, F.; Custodio, Angela R.; Ferreira, M. M.C, Bankova, V.S. and Garcia-Viguera, C.**, "Evaluation of Phenolic Compounds in Brazilian Propolis from Different Geographical Regions." *Z. Naturforsch.* 2000, 55c:76-81.
87. **Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C.**, (revisores) "Vogel - Análise química quantitativa", 5a. ed. , Guanabra Koogan, Rio de Janeiro - RJ, 1992
88. **Marcucci, M.C.**, "Relatório de atividades do CNPq - Própolis brasileiras: um estudo químico associado as suas propriedades biológicas", 1994-1995. Pesquisador Associado, Processo: 301107/86-6).
89. **Caetano, F. M.**, "Metodologias de extração de própolis do Sul de Minas Gerais", Dissertação de mestrado, Universidade São Francisco. Orientadora: Ildenize B. S. Cunha, 2000.
90. **Custodio A. R. ; Cunha I.; Marcucci, M.C.R.; Morais, L.A. B.**, "Extração Líquido-Líquido de compostos presentes na própolis" *Lecta - Revista de Farmácia e Biologia*, 2000, 18: 55-64.
91. **Konishi, S.**, "Análise da influência de agentes solubilizantes na extração da própolis visando uma preparação de spray hidroalcolica" Dissertação de mestrado, Universidade São Francisco. Orientador por Mário T. Shimizu, Co-orientadora por Angela R. Custodio, 2001.
92. **Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Prasain, J.K.; Matsushige, K; Saiki, I., Kadota, S.**, "Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities" *J.Nat.Prod.*, 1998, 61: 896-900.
93. **Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Midorikawa, K.; Matsushige, K.; Kadota, S.**, "Two novel cytotoxic benzofuran derivatives from Brazilian propolis", *J.Nat.Prod.* 2000, 63:1277-1279.
94. **Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Adnyana I.K.; Midorikawa, K.; Matsushige, K.; Message, D.; Huertas, A.A.G.; Kadota, S.**, "Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China" *J. Ethnopharmacol.* 2000, 72:239-246.
95. **Nagaoka, T.; Banskota, A.H.; Xiong, Q.; Tezuka, Y.; Kadota, S.**, "Synthesis and antihepatotoxic and antiproliferative activities of di- and tri-O-caffeoylquinic acid derivatives" *J. Trad. Med.* 2001, 18:183-190.
96. **Marcucci, M.C.; Ferreres, F.; García-Viguera, C.; Bankova, V.S.; De Castro, S.L.; Dantas, A. P.; Valente, P.H.M.; Paulino, N.**, "Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological

activities”, J. Ethnopharmacol., 2001, 74:105-112.

97. **Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Adnyana I.K.; Ishii, E.; Midorikawa, K.; Matsushige, K.; Kadota, S.**, “Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis”, Phytomedicine, 2001, 8: 16-23.
98. **Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Kadota, S.**, “Recent progress in pharmacological research of propolis” Phytother. Res., 2001, 15:561-571.
99. **Midorikawa, K.; Banskota, A.H.; Tezuka, Y.; Nagaoka, T.; Matsushige, K.; Message, D.; Huertas, A.A.G.; Kadota, S.**, “Liquid chromatography-mass spectrometry analysis of propolis”, Phytochem. Anal., 2001, 12: 366-373.
100. **Basnet, P.; Tezuka, Y.; Kadota, S.; Namba, T.**, “Potent antihepatotoxic activity of dicaffeoyl quinic acids from propolis”, Biol. Pharm. Bull. 1996, 19: 655-657.

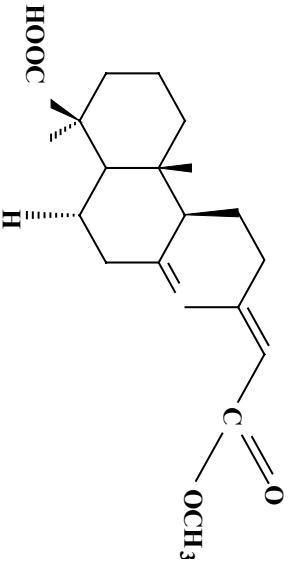
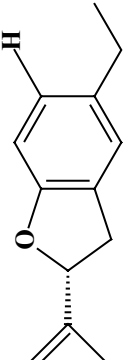
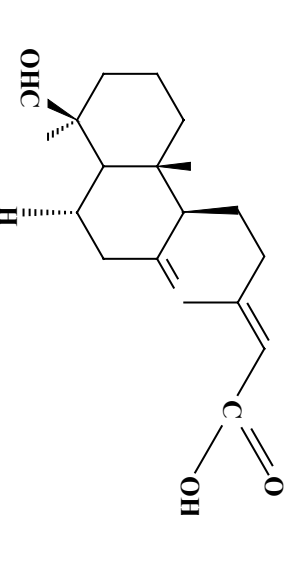
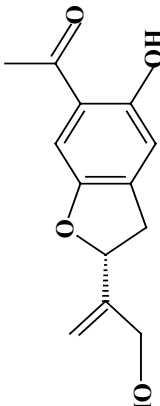
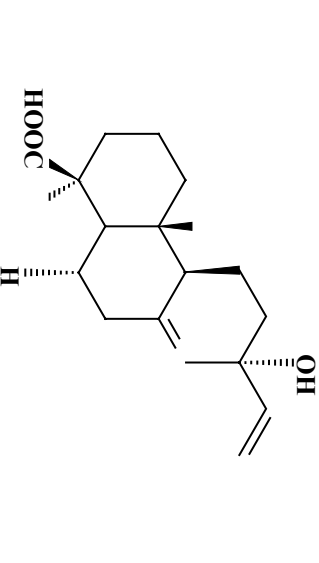
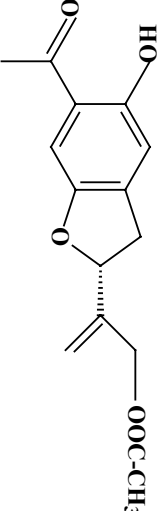
Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (ver também a Tabela 1, em Propriedades Biológicas)

| Composto | Estrutura | Composto | Estrutura |
|--|---|--|---|
| Ácido 3-hidroxi-2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico 1 |  | Ácido 2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-carboxílico 4 |  |
| Ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (DPB) 2 |  | Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (DHCA) 5 |  |
| Ácido 2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-propenóico 3 |  | Ácido 4-dihidroxicinamóil-oxi-3-prenilcinâmico 6 |  |

Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura | Composto | Estrutura |
|---|-----------|---|-----------|
| Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (PHCA) 7 | | Ácido isocuprêssico 10 | |
| Vanilina (G1) 8 | | Ácido 15-acetiliscuprêssico ou 15-acetoxiscuprêssico 11 | |
| 3-Metoxi-4-hidroxicinamaldeído (composto G2 – coniferaldeído) 9 | | Ácido agático 12 | |

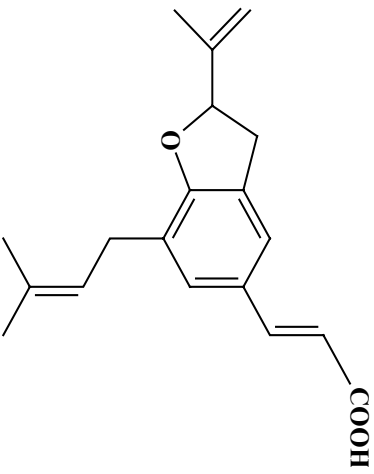
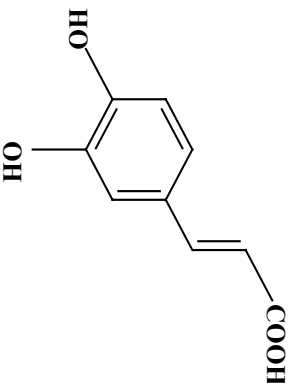
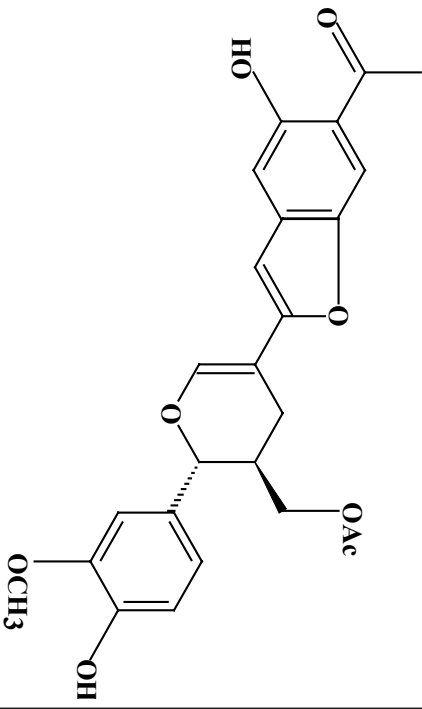
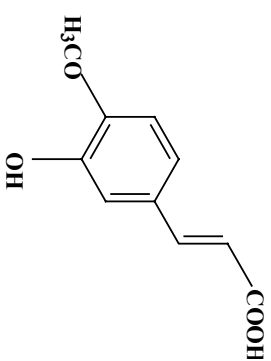
Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura | Composto | Estrutura |
|---|---|--|---|
| Ácido agático 15-metil-éster 13 |  | Tremetona 16 |  |
| Ácido agatálico 14 |  | Viscidona 2-[1-hidroximetil]vinil-5-acetil-hidroxicumarano (1) 17 |  |
| Ácido cuprêssico 15 |  | 12-Acetilviscidona 18 |  |

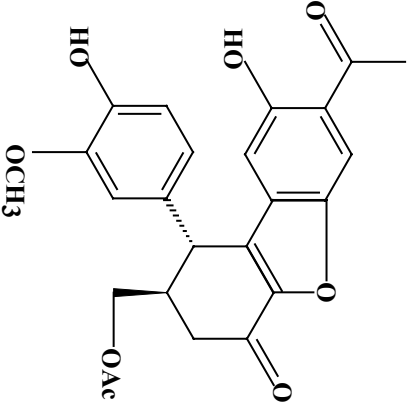
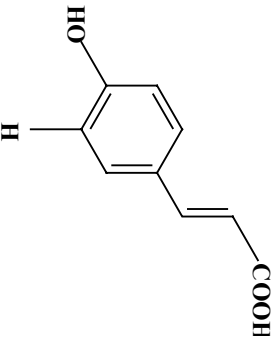
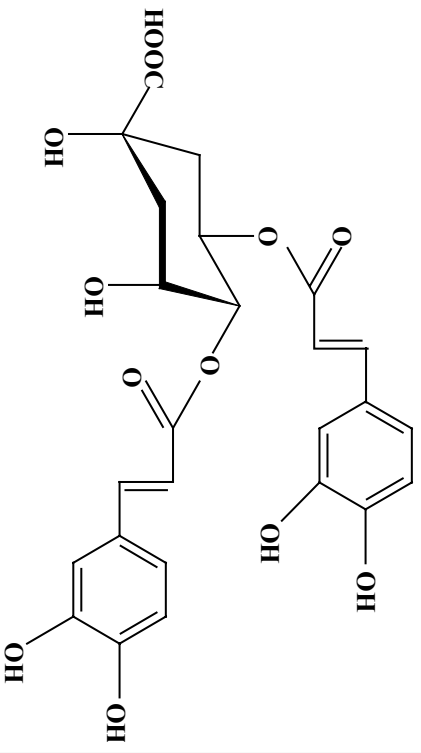
Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura | Composto | Estrutura |
|--|-----------|---|-----------|
| Betuletol (flavonol) 19 | | 3,5,7-trihidroxi-4'-metoxiflavonol (Flavonol) 22 | |
| Canferida (flavonol) 20 | | Acetato de coniferila dimérico 23 | |
| Ermantina (Flavonóide) 21 | | Ácido (E)-3-{4-hidroxi-3-[(E)-4-(2,3-dihidrocinnamiloxi)-3-metil-2-butenil]-5-prenil}-2-propenóico 24 | |

Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura | Composto | Estrutura |
|---|---|--|--|
| <p>Ácido (E)-3-[2,3-diidro-2-(1-metiletenil)-7-prenil-5-benzofuranil]-2-propenóico</p> <p>25</p> |  | <p>Ácido cafeico</p> <p>33</p> |  |
| <p>Benzofurano A</p> <p>26</p> |  | <p>Ácido ferúlico</p> <p>34</p> |  |

Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura | Composto | Estrutura |
|--|---|-------------------------------|--|
| Benzofurano B 27 |  | Ácido p-cumárico 35 |  |
| Ácido 3,4-di-O- cafeoilquínico 28 |  | | |

Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura |
|--|-----------|
| <p>Ácido metil-3,4-di-O –cafeoilquínico</p> <p>29</p> | |
| <p>Ácido metil-4,5-di-O –cafeoilquínico</p> <p>30</p> | |

Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura |
|--|-----------|
| Ácido 3,5-di-O-caffeoilquínico 31 | |

Compostos químicos identificados em própolis brasileiras (continuação)...

| Composto | Estrutura |
|---|--|
| Ácido 3-O–cafeoilquínico 32 | <chem>OC1=CC=C(C=C1C(=O)O)C(=O)O[C@@H]2C[C@H](O)[C@@H](C(=O)O)[C@H](O)[C@H]2O</chem> |

Os números em vermelho estão associados aos compostos mencionados na Tabela 1, em Propriedades Biológicas