

Propolis – charakterystyka i zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym

Propolis – characteristics and application in the pharmaceutical industry

Streszczenie:

Propolis od lat budził zainteresowanie naukowców. Jako produkt pochodzenia naturalnego, którego korzystny wpływ na organizm człowieka zdołano udowodnić w szeregu badań, jest uważany za potencjalny składnik nowych leków. Dotychczas szczegółowo opisano jego aktywności przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe oraz immunomodulacyjne. Jednak ciągle brak badań poświęconych standaryzacji preparatów na bazie propolisu, co umożliwiłoby jego stosowanie w farmakoterapii.

Celem niniejszej pracy była ocena potencjału zastosowania propolisu w przemyśle farmaceutycznym z uwzględnieniem ostatnich doniesień na ten temat.

Słowa kluczowe:

propolis, flawonoidy, ekstrakty etanolowe propolisu (EEP)

Abstract:

Propolis has been widely investigated in the last years. As a natural product, whose positive effects on the human body was proved in a series of studies, it is considered as a potential component of new drugs. Until now the anti-tumor activity, antimicrobial and immunomodulatory activity was described. However, still there are lack of research into the standardization of preparations based on propolis, which would allow its use for medical treatment.

Key words:

propolis, flavonoids, ethanolic extract of propolis (EEP)

Zatwierdzono do opublikowania: styczeń 2016 r.

Pierwsze informacje na temat propolisu i jego pochodzenia znajdujemy już w starożytności. Przypuszczano wówczas, że powstaje on z lepkiej wydzieliny pączków drzew, takich jak topola czy wierzba. W XX wieku Küstenmacher zaprezentował odmienną teorię, w której wysunął przypuszczenie zwierzęcego pochodzenia propolisu. Według badacza miał on powstawać w wyniku trawienia przez pszczoły pyłku kwiatowego. Pozostali naukowcy zainteresowani tematem próbowali połączyć obie koncepcje prezentując teorię o zarówno roślinnym, jak i zwierzęcym pochodzeniu propolisu, a także o odmiennym jego zastosowaniu w budowie ula. Przypuszczali, że propolis pochodzenia roślinnego był niezbędny przy budowaniu konstrukcji ula, natomiast propolis pochodzenia zwierzęcego miałby być środkiem o właściwościach de-

zynfekcyjnych, mającym na celu utrzymanie higienicznych warunków wnętrza ula. Okres hipotez definitywnie zakończyło odkrycie rosyjskiego uczonego Poprawko z 1976 roku. Przy użyciu techniki chromatografii cienkowarstwowej ustalił on, że jednym z głównych składników propolisu są związki flawonoidowe. Potwierdził również roślinne pochodzenie propolisu, jednocześnie udowadniając, że propolis pobrany z różnych części ula wykazuje identyczny skład chemiczny. Ponadto potwierdził hipotezę zakładającą, że pszczoły zbierają wydzielinę żywiczną, niezbędną do wytworzenia propolisu, z roślin liściastych, a dokładnie ich pączków. Wyjaśnił także, że pączki kątowe roślin pokryte są wydzieliną przez cały okres wegetacji roślin, dlatego to one są jej źródłem nawet po rozwinięciu się liści z pączków wierzchołkowych.



mgr **Katarzyna Siemionow**

dr hab. n. farm. **Wojciech Miltyk**
Samodzielna Pracownia Analizy Leków
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Różnorodność składu

Jednocześnie wykazano różnice w składzie chemicznym propolisu w zależności od jego pochodzenia. Propolis zawiera duże ilości kwasów aromatycznych, wśród których najczęściej wymienia się: cynamonowy, kawowy, ferulowy, a także salicylowy i benzoesowy. Istotnymi składnikami są estry etylowe tych kwasów oraz flawonoidy takie jak: chryzyna, galangina i pinobanksyna. Pozostałe związki obecne w propolisie to węglowodory, alkohole triterpenowe, enzymy, związki lotne oraz mikroelementy. Jako złożona mieszanina propolis, będący produktem roślinnym, ale powstającym przy udziale pszczół, składa się głównie z substancji żywicznych, wosku pszczelego, niewielkiej ilości wydzieliny gruczołowej pszczół oraz domieszek mechanicznych, takich jak pyłek kwiatowy, kurz oraz fragmenty martwych pszczół. Należy jednak zaznaczyć, że ekstrakty etanolowe propolisu (EEP), które są głównym produktem wykorzystywanym w przemyśle farmaceutycznym, zawierają przede wszystkim substancje pochodzenia roślinnego. Pozostałe domieszki ulegają usunięciu w trakcie przygotowywania ekstraktów (1).

Propolis, chociaż cieszący się coraz większą popularnością na rynku farmaceutycznym, nie jest traktowany jako środek leczniczy w medycynie konwencjonalnej. Fakt ten wynika z braku dokładnej wiedzy na temat normalizacji jego składu chemicznego, jak również aktywności biologicznej. Konieczne jest więc sporządzenie odpowiednich profili chemicznych propolisu oraz zbadanie aktywności biologicznej EEP tak by uzyskać informacje niezbędne do porównania poszczególnych jego rodzajów. Dane takie pozwoliłyby także na ekstrapolację uzyskanych wyników w celu dokładnej odpowiedzi na temat mechanizmów działania EEP, a to stanowiłoby istotną wskazówkę dla opracowania nowych środków leczniczych z jego wykorzystaniem. Badania przeprowadzane w ciągu minionych lat wykazały wiele właściwości biologicznych i farmakologicznych propolisu pochodzącego z różnych regionów świata.

Właściwości biologiczne i terapeutyczne

* Aktywność antyoksydacyjna

EEP dzięki dużej zawartości flawonoidów oraz kwasów fenolowych wykazują znaczną aktywność antyoksydacyjną. Działanie to wynika z budowy chemicznej flawonoidów i w dużej mierze polega zarówno na hamowaniu aktywności enzymów odpowiedzialnych za powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT), jak również na usuwaniu powstałych RFT. Dotychczas brak jednak jakichkolwiek doniesień na temat dawek EEP, które wywołałyby pożądane efekty wynikające z jego aktywności antyoksydacyjnej (2).

* Aktywność przeciwzapalna i immunomodulacyjna

Ostatnie badania wykazują aktywność przeciwzapalną EEP, która wynika z dużej zawartości kwercetyny oraz związków flawonoidowych wpływających na funkcje komórek układu immunologicznego. Odbywa się to głównie poprzez hamowanie ekspresji genów kodujących między innymi IL-6, IL-13 oraz TNF- α , a więc głównych czynników prozapalnych. Dodatkowo wykazano, że składniki EEP, takie jak kwas kawowy, ester fenetylowy kwasu kawowego (CAPE),

naringenina mają zdolność hamowania tworzenia eikozanoidów w trakcie przemian kwasu arachidonowego. Najbardziej obiecującym modulatorem procesu zapalnego jest CAPE, którego zastosowanie wykazało pozytywne efekty w przypadku leczenia stłuszczenia wątroby. Dodatkowo wykazano, że jest silnym inhibitorem lipooksygenazy 5, co skutkuje zahamowaniem biosyntezy leukotrienów, zaangażowanych w przebieg procesu zapalnego (3).

Aktywność immunomodulacyjna EEP wynika głównie z oddziaływania jego składników na makrofagi, skutkiem czego dochodzi do inhibicji, bądź też wzmoczonej produkcji określonych interleukin. Dowiedziono również, że propolis zwiększa produkcję nadtlenu wodoru jednocześnie zmniejszając tworzenie tlenu azotu, co dodatkowo nasila aktywność bakteriobójczą. Wpływ EEP na układ immunologiczny dotyczy również proliferacji limfocytów. Udowodniono, że flawonoidy potęgują działanie produkowanego przez śledzionę interferonu gamma (INF- γ), co powoduje zahamowanie proliferacji splenocytów. Badania pozwoliły również wykazać hamowanie proliferacji limfocytów Th1 zaangażowanych w komórkową odpowiedź immunologiczną. Zahamowanie różnicowania limfocytów Th1 wykazano także *in vivo*, gdzie skutkowało to zmniejszeniem stanu zapalnego w przebiegu zapalenia jelita grubego u myszy leczonych propolisem (4). W badaniach klinicznych udało się także potwierdzić korzystny wpływ stosowania propolisu, między innymi, w leczeniu protetycznego zapalenia jamy ustnej. Po zastosowaniu żelu na bazie propolisu brazylijskiego zaobserwowano między innymi znaczne zmniejszenie obrzęku podniebienia oraz zaczerwienienia śluzówki jamy ustnej (5).

* Aktywność przeciwwirusowa, przeciwbakteryjna oraz przeciwgrzybicza

Wśród wielu aktywności, jakie wykazuje propolis, na szczególną uwagę zasługuje jego działanie przeciwwirusowe. Liczne badania pozwoliły ustalić, że składnikami EEP o największej aktywności przeciwwirusowej są flawonole i flawony. Dowiedziono między innymi istotne zmniejszenie ilości kopii wirusów herpes przy zastosowaniu propolisu w stężeniu 30 $\mu\text{g/mL}$ (6). Ostatnie doniesienia sugerują ponadto, że

EEP ma zdolność do blokowania dostępu wirusów herpes do komórek. Działanie to przypisuje się głównie flawonom oraz katechinom (7).

Aktywność antybakteryjna oraz przeciwgrzybicza propolisu także zostały szeroko przebadane, zwłaszcza ze względu na potrzebę znalezienia nowych leków umożliwiających walkę z patogenami coraz bardziej opornymi na dostępne na rynku antybiotyki. Udowodniono przy tym, że EEP wykazuje silniejsze działanie względem bakterii Gram-dodatnich niż Gram-ujemnych (8).

Badania pozwoliły również na poznanie mechanizmu działania EEP i jego składników, takich jak flawonoidy, które w większych stężeniach działają bakteriobójczo (9). CAPE natomiast okazał się inhibitorem deformylazy peptydowej, enzymu, umożliwiającego ochronę bakterii *Helicobacter pylori* przed mechanizmami obrony organizmu gospodarza. W wielu badaniach wykazano synergizm działania poszczególnych antybiotyków z EEP udowadniając, że potęgują one działanie między innymi streptomycyny, ampicyliny czy też gentamycyny (10). Ustalono także, że EEP wykazuje różną aktywność wobec określonych szczepów bakterii ze względu na region pochodzenia propolisu (8).

Aktywność przeciwgrzybicza również zależy od miejsca i aury klimatycznej, w jakiej propolis został zebrany. Wiele przeprowadzonych badań pozwoliło na wykazanie działania przeciwgrzybiczego między innymi wobec grzybów z rodzaju *Candida spp.*, również tych opornych na działanie leków przeciwgrzybiczych, np. flukonazolu. Zdołano także ustalić, że EEP ma zdolność do hamowania wzrostu i rozwoju *Candida albicans* wywołującego kandydozy narządów płciowych żeńskich (11).

* Aktywność przeciwnowotworowa

Istotną właściwością propolisu jest jego aktywność przeciwnowotworowa, którą wykazano stosując zarówno modele *in vitro* jak i w testach przeprowadzanych *in vivo*. Udowodniono, że również w tym przypadku dużą rolę odgrywa miejsce pochodzenia, a co za tym idzie, skład propolisu. W trakcie licznych badań zdołano wykazać zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych przez takie składniki propolisu

jak CAPE i artepilina C (12). Molekularne mechanizmy działania tych czynników sprowadzają się w dużej mierze do zdolności hamowania ekspresji białek zaangażowanych w proces nowotworzenia, między innymi NF- κ B, β -kateniny czy też cykliny D1. EEP wywołuje także indukcję białek proapoptotycznych, takich jak Bax, oraz obniżenie ekspresji białek antyapoptotycznych, takich jak Bcl-2. Udowodniono ponadto, że w zależności od stężenia EEP, zmniejsza się ekspresja inhibitorów apoptozy: cIAP-1, cIAP-2 (13). Inne badania wykazały, że CAPE wpływa również na zahamowanie adhezji komórek nowotworowych poprzez efektywne zablokowanie ekspresji metaloproteinaz 2 i 9. Dowiedziono także, że EEP o dużej zawartości CAPE oraz artepiliny C wpływa na proces angiogenezy skutecznie ją hamując. Dzieje się to dzięki zahamowaniu ekspresji czynników biorących udział w tworzeniu nowych naczyń krwionośnych w procesie przerzutowania, takich jak VEGF oraz metaloproteinazy (14). Niestety, dotychczas brak zarejestrowanych preparatów przeciwnowotworowych na bazie propolisu. Jednak przeprowadzone badania *in vivo* na myszach laboratoryjnych pozwoliły wykazać, że stosowanie 10-proc. EEP w dawce 50 i 150 mg/kg może prowadzić do zmniejszenia ilości guzów nowotworowych w płucach w przebiegu raka sutka (15).

Zastosowanie propolisu w preparatach farmaceutycznych

Na polskim rynku farmaceutycznym dostępnych jest obecnie około 30. preparatów farmaceutycznych mających w swoim składzie propolis. W aptekach znajdziemy preparaty w formie aerozolu, pastylek do ssania i gum do żucia, na bazie propolisu, wskazanych do stosowania w nieżytach nosa oraz stanach zapalnych gardła. Mają one również zastosowanie jako suplementy diety, zalecane w celu wzmocnienia układu odpornościowego organizmu. Istnieje również szereg środków leczniczych (czopki, globulki, puder, żel) zawierających propolis, zalecanych do stosowania w przypadku leczenia hemoroidów, czy też infekcji w obrębie żeńskiego układu rozrodczego.

Niestety, znane są przypadki alergii oraz zapalenia skóry wywołane propoli-

sem, zwłaszcza wśród pszczelarzy. Jednocześnie zanotowano wzrost ilości incydentów alergicznych z nim powiązanych, co ma prawdopodobnie związek z coraz częstszym stosowaniem propolisu w preparatach farmaceutycznych oraz kosmetykach (16). Z drugiej strony znane są również doniesienia o korzystnym wpływie propolisu brazylijskiego na leczenie objawów alergicznego nieżytu nosa (17). Udowodniono także pozytywny wpływ 13-proc. wodnego ekstraktu propolisu w leczeniu pacjentów z łagodną oraz umiarkowaną astmą (przy codziennym stosowaniu przez okres 2. miesiący) (18). Zastosowania te wynikają z korzystnego wpływu propolisu na funkcje błony śluzowej górnych dróg oddechowych oraz jego właściwości przeciwzapalne.

Podsumowanie

Uzyskane dotychczas wyniki badań nad właściwościami biologicznymi propolisu jak i jego poszczególnymi składnikami pozwoliły wykazać szereg korzyści wynikających z jego stosowania w wielu schorzeniach. Jednakże, by rozpocząć stosowanie leków na bazie propolisu na szerszą skalę, spełnione muszą zostać pewne warunki. Po pierwsze, konieczne jest zastosowanie odpowiedniej standaryzacji takich preparatów, ponieważ działanie farmakologiczne i skład EEP różni się w zależności od regionu pochodzenia propolisu. Ponadto przed opracowaniem farmakoterapii, z wykorzystaniem preparatów na bazie propolisu, konieczne jest zbadanie jego potencjalnych interakcji z innymi lekami.

Adres do korespondencji:
katarzyna.siemiow@gmail.com

Piśmiennictwo:

1. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W. Historical Aspects of Propolis Research in Modern Times. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013.
2. Daleprane JB, Abdalla DS. Emerging Roles of Propolis: Antioxidant, Cardioprotective, and Antiangiogenic Actions. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013.
3. Bachiega TF, Orsatti CL, Pagliarone AC, Sforcin JM. The Effects of Propolis and its Isolated Compounds on Cytokine Production by Murine Macrophages. Phytotherapy Research. 2012;26(9):1308-13.
4. Okamoto Y, Hara T, Ebato T, Fukui T, Masuzawa T. Brazilian propolis ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice by inhibiting Th1 differentiation. International Immunopharmacology. 2013;16(2):178-83.
5. Santos VR, Gomes RT, de Mesquita RA, de Moura MDG, Franca EC, de Aguiar EG, et al. Efficacy of

Brazilian Propolis Gel for the Management of Denture Stomatitis: a Pilot Study. Phytotherapy Research. 2008;22(11):1544-7.

6. Amoros M, Simoes CMO, Girre L, Sauvager F, Cormier M. SYNERGISTIC EFFECT OF FLAVONES AND FLAVONOLS AGAINST HERPES-SIMPLEX VIRUS TYPE-1 IN CELL-CULTURE - COMPARISON WITH THE ANTIVIRAL ACTIVITY OF PROPOLIS. Journal of Natural Products. 1992;55(12):1732-40.
7. Coelho GR, Mendonca RZ, Vilar KdS, Figueiredo CA, Badari JC, Taniwaki N, et al. Antiviral Action of Hydromethanolic Extract of Geopropolis from *Scaptotrigona postica* against Antihyper Simplex Virus (HSV-1). Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2015.
8. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjewa Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of Ethnopharmacology. 1999;64(3):235-40.
9. Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiological Research. 1997;152(3):239-46.
10. Cui K, Lu W, Zhu L, Shen X, Huang J. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), an active component of propolis, inhibits *Helicobacter pylori* peptide deformylase activity. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2013;435(2):289-94.
11. Grenier Capoci JR, Bonfim-Mendonca PdS, Arita GS, de Araujo Pereira RR, Lopes Consolaro ME, Bruschi ML, et al. Propolis Is an Efficient Fungicide and Inhibitor of Biofilm Production by Vaginal *Candida albicans*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015.
12. Turan I, Demir S, Misir S, Kilinc K, Mentese A, Aliyazicioglu Y, et al. Cytotoxic Effect of Turkish Propolis on Liver, Colon, Breast, Cervix and Prostate Cancer Cell Lines. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2015;14(5):777-82.
13. Sulaiman GM, Ad'hiah AH, Al-Sammarrae KW, Bagnati R, Frapolli R, Bello E, et al. Assessing the anti-tumour properties of Iraqi propolis *in vitro* and *in vivo*. Food and Chemical Toxicology. 2012;50(5):1632-41.
14. Keshavarz M, Mostafaie A, Mansouri K, Shakiba Y, Motlagh HRM. Inhibition of Corneal Neovascularization with Propolis Extract. Archives of Medical Research. 2009;40(1):59-61.
15. Sforcin JM, Fernandes A, Lopes CAM, Bankova V, Funari SRC. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology. 2000;73(1-2):243-9.
16. Rajpara S, Wilkinson MS, King CM, Gawkrödger DJ, English JSC, Statham BN, et al. The importance of propolis in patch testing-a multicentre survey. Contact Dermatitis. 2009;61(5):287-90.
17. Shinmei Y, Yano H, Kagawa Y, Izawa K, Akagi M, Inoue T, et al. Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 2009;31(4):688-93.
18. Khayyal MT, El-Ghazaly MA, El-Khatib AS, Hatem AM, de Vries PJF, El-Shafei S, et al. A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. Fundamental & Clinical Pharmacology. 2003;17(1):93-102.