



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

JESSICKA VICTORYA ARAUJO DA SILVA

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS COLETADA PELA ABELHA
***Apis mellifera* NA REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ**

RECIFE
2024

JESSICKA VICTORYA ARAUJO DA SILVA

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS COLETADA PELA ABELHA
***Apis mellifera* NA REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado (a) em Química.

Orientadora: Prof.(a). Dr^a(a). Tania Maria Sarmiento da Silva.

Coorientadora: Dr^a(a) Amanda Lins Bispo Monteiro.

RECIFE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Suely Manzi – CRB-4 809

S586c Silva, Jessicka Victorya Araújo da.
Composição química da própolis coletada pela abelha
Apis mellifera na região semiárida do Ceará / Jessicka
Victorya Araújo da Silva. – Recife, 2024.
47 f.; il.

Orientador(a): Tania Maria Sarmiento da Silva.
Co-orientador(a): Amanda Lins Bispo Monteiro.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura
em Química, Recife, BR-PE, 2024.

Inclui referências.

1. Abelhas. 2. Abelha africanizada. 3. Própole. 4.
Química - Estudo e ensino 5. Abelhas - Produtos. I. Silva,
Tania Maria Sarmiento da, orient. II. Monteiro, Amanda Lins
Bispo, coorient. III. Título

CDD 540

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

JESSICKA VICTORYA ARAUJO DA SILVA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS COLETADA PELA ABELHA
Apis mellifera NA REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ**

Banca Examinadora

Tania Maria Sarmiento da Silva – Orientadora
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Amanda Lins Bispo Monteiro – Coorientadora
Pós-Doc FACEPE, UFRPE

Girliane Regina da Silva
Faculdade Santíssima Trindade-FAST

Ingrid Trajano de Lima Ramos
EREM Senador João Cleofas de Oliveira

AGRADECIMENTOS

Ao longo de todo esse caminho acadêmico, por muitas vezes quase desisti, e se não o fiz foram graças a todos que me apoiaram e me trouxeram até o fim dessa graduação.

Agradeço primeiramente a Deus, por Sua infinita graça e misericórdia em cada dia de minha vida. A minha orientadora Prof. Dra. Tania Sarmiento, coorientadora Dra. Amanda Bispo, por toda paciência, suporte e ajuda em todo processo. E todos os colegas que fazem do LaBioFito um lugar igualmente cheio de aprendizado e risadas.

A minha mãe, Walkiria Paulino de Araújo, e irmã, Agatha Valentina de Araújo, por todo amor e cuidado. Se chego em algum lugar hoje, é porque vocês me ajudaram a chegar até aqui. Ao meu pai, Sandoval, obrigada por ser sempre suporte quando mais precisei. E especialmente, dedico este trabalho a minha vó, Maria do Carmo (*in memoriam*) ser sua neta preferida me fez quem eu sou e me motiva a ser cada vez melhor.

Ao meu amor, Sebastião Melo, segundo a mecânica quântica, num infinito de multiversos e probabilidades, provavelmente existem versões de mim que não escolheram esse curso e provavelmente não conheceram o seu amor, e meu coração se parte por cada versão de mim que não vai viver uma vida com você. Você esteve presente em toda esta graduação e eu, **literalmente**, não chegaria até aqui sem você.

As minhas irmãs, Bruna e Nel, que estão comigo por toda uma vida, não consigo me lembrar de uma época em que não as conhecia, e espero nunca conhecer um tempo em que não as tenha em minha vida.

A todos os amigos de curso que muitas vezes fizeram da rural um refúgio; cada tarde de estudo, desespero, risadas e refeições no RU tornaram esses anos de graduação em memórias felizes.

A todos que infelizmente não consegui citar, mas também me impactaram de alguma forma, meu muito obrigada, não existem palavras que expressem o quanto sou grata de chegar ao fim dessa graduação!

“É justo que muito custe o que muito vale”
– Santa Teresa d’Ávila.

RESUMO

A *Apis mellifera*, é uma abelha social que pertence ao gênero *Apis*, normalmente apontada como uma grande produtora de mel devido à alta capacidade de adaptação e grande criação em apiários. Essas características favoreceram o surgimento de diversas subespécies promovendo variedade geográfica e organização complexa. Entre os produtos produzidos pela *Apis*, a própolis destaca-se como um dos mais populares e é formada por uma complexa matriz resinosa, produzida a partir da coleta de exsudatos vegetais e da adição de cera, portanto dependendo do local e da época do ano, a composição da própolis pode mudar. Devido a essa variabilidade, a própolis pode ser classificada em vários tipos, uma das mais comuns é a própolis marrom, presente em todo Brasil e rica em compostos fenólicos. A própolis verde recebe esse nome devido a clorofila presente em sua origem botânica, *Baccharis dracunculifolia*, e os marcadores químicos, artepilin C e bacarina. A própolis vermelha é característica da região norte e é rica em flavonoides, já a amarela, é rica em triterpenoides. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar os constituintes químicos da própolis coletada pela abelha *Apis mellifera* na região semiárida no interior do Ceará a fim de tentar classificá-la e aumentar valor agregado. Foi avaliado o teor de compostos fenólicos, flavonoides e a capacidade antirradicalar. A avaliação de constituintes químicos foi realizada a partir da obtenção do extrato etanólico, posteriormente particionado em diferentes polaridades com os solventes: hexano, acetato de etila e metanol: água (1:1). Em seguida, a fração hexânica passou por diferentes colunas cromatográficas, e gerou 50 frações que, através de análise por CCDA, foram reagrupadas por similaridade. Dessas amostras, a composição foi indicada através de técnicas como cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) e espectrometria de infravermelho. Por meio dessas análises, foi possível identificar as principais classes de compostos: alcanos, alcenos e triterpenoides, especialmente o lupeol e acetato de lupeol. O resultado de fenólicos e flavonoides foi expressivo para o extrato etanólico e as frações AcOEt e MeOH, como esperado, a fração hexânica, mais apolar, não apresentou atividade nos testes. E o resultado da atividade antirradicalar em comparação aos padrões utilizados de ácido ascórbico e quercetina, apresentam resultados de 9,29 a 20,17 µg/mL para o radical DPPH e 2,52 a 17,45 µg/mL para o radical ABTS, sendo considerados boas fontes de compostos antioxidantes. A análise do perfil químico permitiu a identificação dos constituintes químicos da própolis de *Apis mellifera* da região semiárida do Ceará tais como triterpenos e hidrocarbonetos de cadeias longas. As frações e extrato da amostra analisada apresentaram variações no teor de fenólicos e flavonoides, e no potencial antioxidante com o radical DPPH e ABTS que pode estar ligada a sazonalidade, composição química e botânica das amostras.

Palavras-chave: Abelha. *Apis mellifera*. Própolis. Lupeol.

ABSTRACT

Apis mellifera is a social bee that belongs to the genus *Apis*, commonly recognized as a major honey producer due to its high adaptability and extensive rearing in apiaries. These traits have led to the development of various subspecies, promoting geographic diversity and complex organization. Among the products produced by *Apis*, propolis stands out as one of the most popular and is formed by a complex resinous matrix, created from the collection of plant exudates and the addition of wax. Consequently, depending on the location and the season, the composition of propolis may vary. Due to this variability, propolis can be classified into several types. One of the most common types is brown propolis, found throughout Brazil and rich in phenolic compounds. Green propolis is named for the chlorophyll present in its botanical source, *Baccharis dracunculifolia*, along with chemical markers artepillin C and bacarin. Red propolis is characteristic of the northern region and is rich in flavonoids, while yellow propolis is rich in triterpenoids. Thus, the objective of this study was to analyze the chemical constituents of propolis collected by *Apis mellifera* in the semi-arid region of the interior of Ceará, with the goal of attempting to classify it and increase its added value. The levels of phenolic compounds, flavonoids, and radical-scavenging capacity were evaluated. The evaluation of chemical constituents was performed by obtaining the ethanolic extract, which was then partitioned into different polarities using the solvents: hexane, ethyl acetate, and methanol:water (1:1). Next, the hexane fraction was subjected to various chromatographic columns, generating 50 fractions that were regrouped by similarity through TLC analysis. For these samples, the composition was determined using techniques such as gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and infrared spectrometry. These analyses enabled the identification of the main classes of compounds: alkanes, alkenes, and triterpenoids, particularly lupeol and lupeol acetate. The levels of phenolics and flavonoids were significant for the ethanolic extract and the AcOEt and MeOH fractions, as expected, the more nonpolar hexane fraction showed no activity in the tests. The results of the radical-scavenging activity, when compared to the standards of ascorbic acid and quercetin, ranged from 9.29 to 20.17 µg/mL for the DPPH radical and 2.52 to 17.45 µg/mL for the ABTS radical, indicating good sources of antioxidant compounds. The chemical profile analysis allowed the identification of the chemical constituents of *Apis mellifera* propolis from the semi-arid region of Ceará, such as triterpenes and long-chain hydrocarbons. The fractions and extract of the analyzed sample showed variations in the levels of phenolics and flavonoids and in the antioxidant potential with DPPH and ABTS radicals, which may be related to the seasonality, chemical composition, and botanical origin of the samples.

Keywords: Bee. *Apis mellifera*. Propolis. Lupeol.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 A abelha <i>Apis mellifera</i>	11
2.2 Produtos da <i>Apis mellifera</i>	13
2.3 Própolis	14
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 Geral	20
3. 2 Específicos	20
4. METODOLOGIA	21
4.1 Equipamentos, reagentes e padrões	21
4.2 Obtenção e extração do material	21
4.3 Cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 da fração hexânica da própolis.....	22
4.4 Cromatografia em coluna com sílica gel da fração hexânica	23
4.5 Determinação do teor de flavonoides e fenólicos totais do extrato e frações MeOH e AcOEt da própolis	25
4.6 Atividade sequestradora dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ do extrato e frações da própolis	26
4.7 Análise estatística das amostras submetidas aos testes antirradicalares	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Perfil químico da fração hexânica da propolis.....	28
5.2 Determinação do teor fenólicos totais, flavonoides e atividade antirradicalar..	40
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
7. REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

As abelhas, cuja origem está estimada em cerca de 128 milhões de anos, provavelmente evoluíram a partir de vespas, após o surgimento das angiospermas. Esta evolução está diretamente ligada ao papel essencial que as abelhas desempenham na polinização das plantas (Sann et al., 2018; Silveira et al., 2002). Podem ser classificadas de acordo com as características físicas ou socialização, devido à grande variabilidade, muito ainda se estuda sobre a melhor forma de agrupamento das abelhas, dessa forma pode-se destacar os grupos Bombini, Meliponini e Apini (Michener, 2007; Nogueira Neto, 1997). Dentre elas, pelas características de fácil adaptação a diferentes ecossistemas e alta produção de mel, a *Apis mellifera* foi trazida ao Brasil e atualmente é predominante (Domingos, 2016), portanto, desempenham um papel vital na diversidade ecológica e na sustentabilidade dos ecossistemas, sendo essenciais para a reprodução das plantas e a produção agrícola (EMBRAPA, 2007; Ilyasov et al., 2020).

Na agricultura, as culturas que produzem flores em grande quantidade frequentemente são consideradas recursos forrageiros ideais. Isso ocorre porque a visitação dessas flores por insetos polinizadores pode resultar na polinização eficaz das plantas, levando a um aumento significativo no rendimento das culturas. Assim, a interação entre as plantas e os polinizadores desempenha um papel crucial na produtividade agrícola e na manutenção da biodiversidade (Knapp et al., 2018).

Além do processo de polinização e da produção de mel, outro produto importantíssimo das abelhas é a própolis. Podendo ser definida como o resultado da mistura de resina, brotos e exsudados de diversas partes de plantas adicionados de secreções salivares, cera e pólen, é usado pelas abelhas para cobrir buracos e fissuras das paredes das colmeias, além de embalsamar animais invasores, evitando que a sua decomposição contamine a colmeia (Oliveira, 2023).

Quanto a composição da própolis, estima-se que já foram identificados muitos componentes diferentes, dentre os quais encontram-se terpenos, aldeídos, ácidos carboxílicos, flavonoides e fenóis. A proporção desses componentes também varia de acordo com a região em que a própolis é formada (Franchin et al., 2024), gerando a oportunidade para expandir o conhecimento sobre as propriedades e potenciais aplicações dessas própolis menos estudadas e até mesmo desconhecida.

Acredita-se que uma colmeia possa produzir entre 100 e 300 gramas de própolis anualmente, sendo *Apis mellifera* a mais eficiente produtora de própolis entre todas as abelhas (Cruz, 2021). Comercialmente, o Brasil é um grande exportador e esse mercado se expandiu muito, principalmente após a pandemia de covid-19 (Vidal, 2021). Contudo, a própolis ainda não pode ser considerada um fármaco devido à variabilidade de sua composição química (Yang et al., 2022).

Diante do exposto, demonstra-se a importância de se abranger os estudos acerca da própolis levando em consideração sua origem geográfica e consequentemente, botânica, para entender suas variações acerca de composição química. Para que com esses dados seja possível padronizar suas propriedades biológicas e, dessa forma, aumentar seu valor agregado financeiro e científico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A abelha *Apis mellifera*

As abelhas pertencentes à família Apidae fazem parte da ordem Hymenoptera, a qual também inclui vespas, formigas e cupins, todos conhecidos por seu comportamento social. Esse grupo diversificado contém mais de 20 mil espécies catalogadas (Orr et al., 2021; Michener, 2007). O Brasil é um país privilegiado que abriga cerca de metade dessas espécies, devido à sua vasta extensão territorial e riqueza de ecossistemas.

Dentro dessa família, as abelhas apresentam notáveis diferenças entre si, e estão organizadas em três principais tribos: Bombini, Meliponini e Apini (De Paula, 2019; Michener, 2007). As abelhas do gênero Bombini, mais conhecidas como abelhas-bombus ou mamangavas, são caracterizadas por robustez e capacidade de vibrar as asas em frequências que facilitam a liberação do pólen das flores (Knapp et al., 2018). As Meliponini, conhecidas como abelhas-sem-ferrão, também chamadas de abelhas indígenas, são um grupo diversificado de abelhas sociais encontradas principalmente em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (De Paula et al., 2019; Gruter, 2020).

O grupo Apini englobam as abelhas do gênero *Apis*, conhecidas como abelhas melíferas, amplamente reconhecidas por serem as principais produtoras de mel no mundo. As abelhas *Apis* são altamente sociais, formando colônias com uma organização complexa. Cada colmeia é liderada por uma única rainha reprodutora, enquanto milhares de operárias desempenham diversas funções na colônia, desde a coleta de néctar e pólen até a construção e defesa da colmeia (Akongte et al., 2022; Michener, 2007).

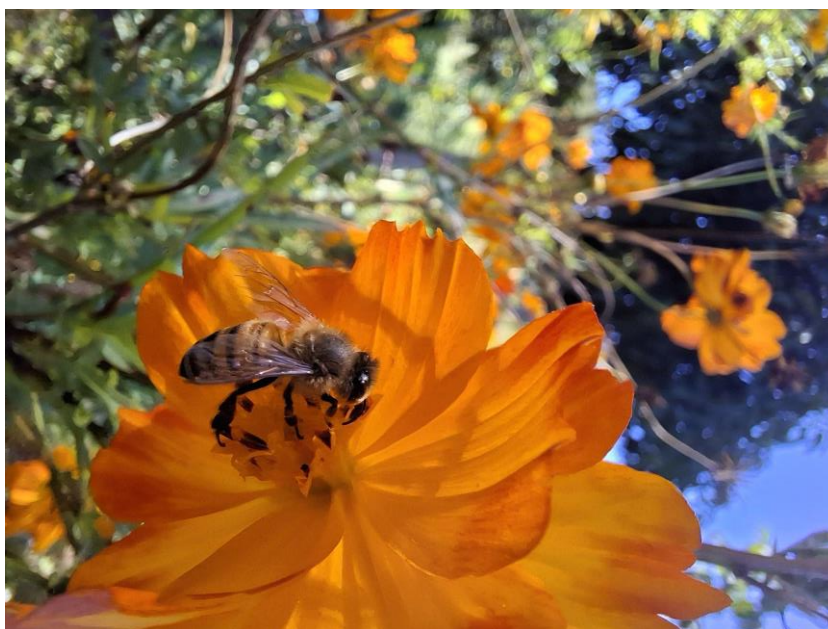
Originárias da África, as abelhas *Apis mellifera* se espalharam para a Ásia e Europa. Ao longo de sua história, evoluíram e se adaptaram a uma ampla gama de ambientes, enfrentando variadas condições climáticas e disponibilidade de recursos alimentares. Essa diversidade ambiental favoreceu o surgimento de diferentes subespécies de abelhas melíferas (Carr, 2023; Ilyasov et al., 2020). Atualmente, a abelha *Apis mellifera* africanizada predomina no país, desenvolvida através de híbridos que combinam a mansidão das abelhas europeias com a produtividade das africanas. Esses cruzamentos resultaram em abelhas com características como alta capacidade enxameatória, comportamento defensivo, produtividade elevada, intensa

atividade forrageira, resistência a doenças e adaptação eficaz a uma variedade de condições climáticas e geográficas (Aguila-Aguilar, 2024; Carr, 2023).

As abelhas *Apis mellifera* também exibem eussocialidade, um nível avançado de organização social entre os insetos. Esse fenômeno é caracterizado pelo compartilhamento do ninho, cuidado coletivo da prole, divisão social de trabalho em castas com indivíduos morfologicamente distintos e sobreposição de gerações (Canciani et al., 2019). Uma colônia típica de *Apis mellifera* é composta pela rainha, milhares de abelhas operárias responsáveis pelas atividades de coleta de néctar, construção de favos e cuidado com a cria, além de algumas centenas ou nenhum zangão, cuja função principal é a reprodução (Smith, 2016).

Quanto à morfologia, a afro-europeu apresenta entre 12 e 13 mm de comprimento, e possuem ferrão. Quando ameaçadas, essas abelhas podem apresentar agressividade e irritabilidade, necessitando de cautela. Em relação ao habitat, a *Apis mellifera* (Figura 1) pode ser encontrada em diversos ecossistemas, como savanas, florestas tropicais, desertos, regiões litorais e áreas montanhosas (Oliveira, 2014).

Figura 1 - Abelha *Apis mellifera mellifera*.



Fonte: (Autora)

As abelhas participam significativamente da diversidade ecológica e da sustentabilidade dos ecossistemas, além de garantir a reprodução bem-sucedida das plantas (Domingos, 2016). Além disso, o papel na polinização é essencial à produção agrícola, pois muitas culturas dependem diretamente da atividade polinizadora das

abelhas para a formação de frutos e sementes. Portanto, salvaguardar as populações de abelhas e os seus habitats é crucial para a saúde dos ecossistemas e para a segurança alimentar global (EMBRAPA, 2007).

2.2 Produtos da *Apis mellifera*

As abelhas produzem uma variedade significativa de produtos, cada um com propriedades e funções particulares (Akongte et al., 2022; Scheiner, et al., 2013). Um dos mais conhecidos é o mel, uma solução supersaturada composta principalmente por açúcares (79,6%), sendo frutose (38,19%) e glicose (31,28%), e água (17,2%). Também contém uma ampla gama de componentes menores com propriedades antioxidantes, como ácidos fenólicos e flavonoides, além de aminoácidos e certas enzimas, como catalase e glicose oxidase. De acordo com as condições geográficas e climáticas, há uma diferença considerável na composição e no conteúdo de fitoquímicos (polifenóis e ácidos fenólicos) encontrados no mel. Alguns desses fitoquímicos são terpenos, álcool benzílico, ácido sirínico (ácido 4-hidroxi-3,5-dimetil benzoico), 5-dimetil-4-hidroxibenzoato, ácido 5-trimetilbenzoico, ácido 4-dihidroxi benzoico e 2-hidroxi benzeno, que contribuem para a atividade antimicrobiana do mel. A cor, sabor, aroma e consistência do mel variam conforme a origem floral, o clima e a manipulação do apicultor (Sah; Chandra, 2023).

A cera, outro grande produto das abelhas, apresentam uma complexa mistura com diversos componentes orgânicos como ésteres ácidos, hidrocarbonetos e ácidos graxos na composição química (Tulloch, 1980). Essa mistura lipídica complexa é formada pelas glândulas das abelhas operárias, adicionadas de secreções salivares e utilizada para construção da colmeia (Svecnjak et al., 2019).

Composto principalmente de carboidratos como frutose, glicose e maltose, tal como proteínas e aminoácidos, o pólen compõe a necessidade nutricional das abelhas, que são conhecidas como grandes agentes polinizadoras (Thakur, Vikas, 2020). Esse pólen coletado também é transformado em outro grande produto das abelhas, o grão de pólen, que é formado pela adição de saliva e néctar, e armazenado nas colmeias em potes construídos de cerume enquanto passam por modificações físico-químicas e microbiológicas (Nogueira-Neto, 1997; Batista, 2024).

A geleia real é secretada pelas glândulas das abelhas (Freitas, 2020). É um produto importante pois contém uma ampla gama de componentes biologicamente ativos e são constituídas basicamente de proteínas, oxidase, glucosidase e amylase

(Ahmad et al., 2020) e é um alimento para a abelha rainha, podendo ser comercializado ao natural, misturado com mel ou em comprimidos nas indústrias de medicamentos e produtos de beleza. (Domingos, 2016).

2.3 Própolis

Conhecida pelas propriedades medicinais, a própolis é um dos principais produtos das abelhas. Formada da mistura de substâncias coletadas de diferentes partes das plantas, exsudatos, secreções salivares e resinas, a própolis é um sólido resinoso, com baixa solubilidade em água (Sousa et al., 2019). É usada na construção da colmeia, para tapar buracos e até mesmo para embalsamar animais invasores a fim de que seus corpos não se decomponham e contaminem a colmeia. Daí vem a origem grega do nome que significa “em defesa da cidade” (pró-, em defesa de, e polis-, cidade) e do latim “*propolire*” (casaco) (Oliveira, 2023).

Em países com clima tropical, como o Brasil, há uma maior diversidade de plantas que servem como fonte para as abelhas, o que torna mais solicitada a identificação da origem botânica da própolis. Portanto, sabendo que a principal composição da própolis são materiais coletados pelas abelhas, o ecossistema que ela se encontra afeta diretamente a qualidade e a composição química deste produto (Oliveira, 2023).

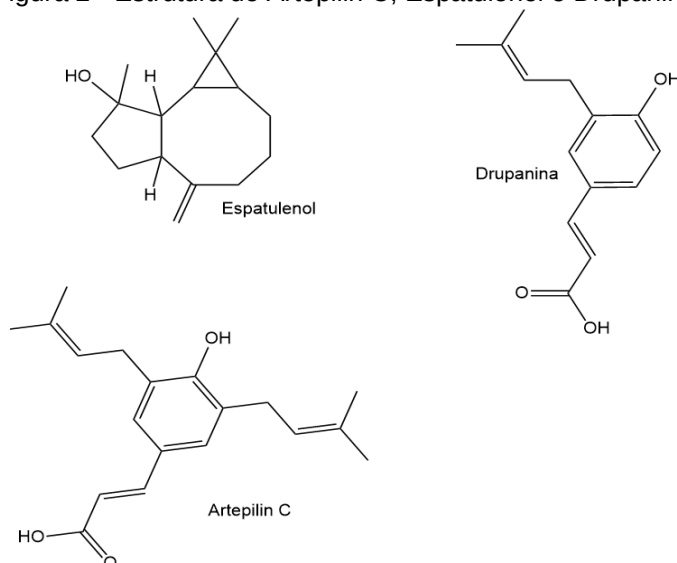
Estima-se que já foram identificados diversos componentes diferentes, dentre eles encontram-se terpenos, aldeídos, ácidos carboxílicos, flavonoides e fenóis. A proporção desses componentes também varia de acordo com a região em que a própolis é formada, essa versatilidade permite a classificação de acordo com a origem botânica (Franchin et al, 2024).

Apresenta uma grande variedade de cores, que vão do marrom ao carmesim e terminando no verde, com características físico-químicas que incluem uma natureza lipofílica e uma textura dependente da temperatura que se torna mais quebradiça a temperaturas mais elevadas (Cruz, 2021).

Conhecida como própolis verde é predominantemente encontrada no sudeste do Brasil, devido a prevalência do bioma cerrado, marcado pela abundância de *Baccharis dracunculifolia* ou como é conhecida, alecrim-do-campo. A própolis recebe esse nome graças a coloração da *B. dracunculifolia*, a clorofila presente nas partes coletadas pelas abelhas confere uma coloração verde a própolis formada (Salatino et al., 2021). A própolis deste tipo é composta principalmente pelos derivados prenilados

do ácido cinâmico, tais como ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (artepillin C, Figura 02), ácido 3-prenil-4-dihidroxicinamoloxicinâmico (bacarina) e 3-prenil-4-ácido hidroxicinâmico (drupanina, Figura 2), além de flavonoides como aromadendrina-4'-metil éter. Contém também terpenos, incluindo sesquiterpenos voláteis como espatulenol (Figura 02) e nerolidol, que desempenham papel crucial na atração das abelhas. Além disso, outros compostos voláteis foram identificados na própolis verde da região de Minas Gerais, como 2,3-dihidrobenzofurano e ácido 2,5-dimetil-γ-oxo benzenobutanóico (Costa et al., 2018; Franchin et al., 2024).

Figura 2 - Estrutura do Artepilin C, Espatulenol e Drupanina.

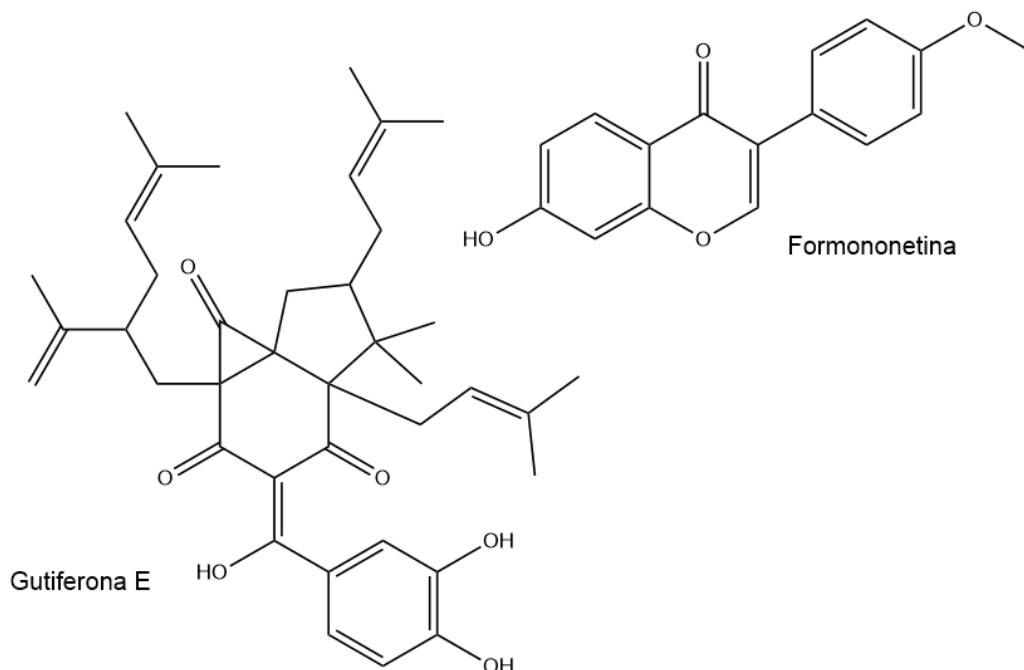


Fonte: (Elaborado pela Autora)

A própolis vermelha de manguezal, proveniente da região Nordeste do Brasil, tem despertado crescente interesse no mercado internacional. Produzida a partir dos exsudatos de *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. (Fabáceas), uma planta que é a fonte dos principais constituintes dessa variedade de própolis no Brasil. Os componentes destacados incluem isoflavonoides como formononetina (Figura 3), liquiritigenina, vestitol, neovestitol, biochanina A e medicarpina, assim como a isoliquiritigenina, que é uma chalcona. A própolis vermelha brasileira também é rica em flavonoides únicos, incluindo dímeros como propolonas, conhecidos pela atividade citotóxica contra células cancerígenas (Franchin et al., 2024). Outros constituintes importantes são as benzofenonas polipreniladas, com destaque para a guttiferona E

(Figura 3) e a oblongifolina B, além de triterpenóides provenientes de *Symphonia globulifera* L.f., uma espécie nativa da Mata Atlântica encontrada nas áreas costeiras próximas aos manguezais (Franchin et al., 2024; De Paula, Izidora, Ribeiro, 2022).

Figura 3 - Estrutura da Formonocetina e Gutiferona E.



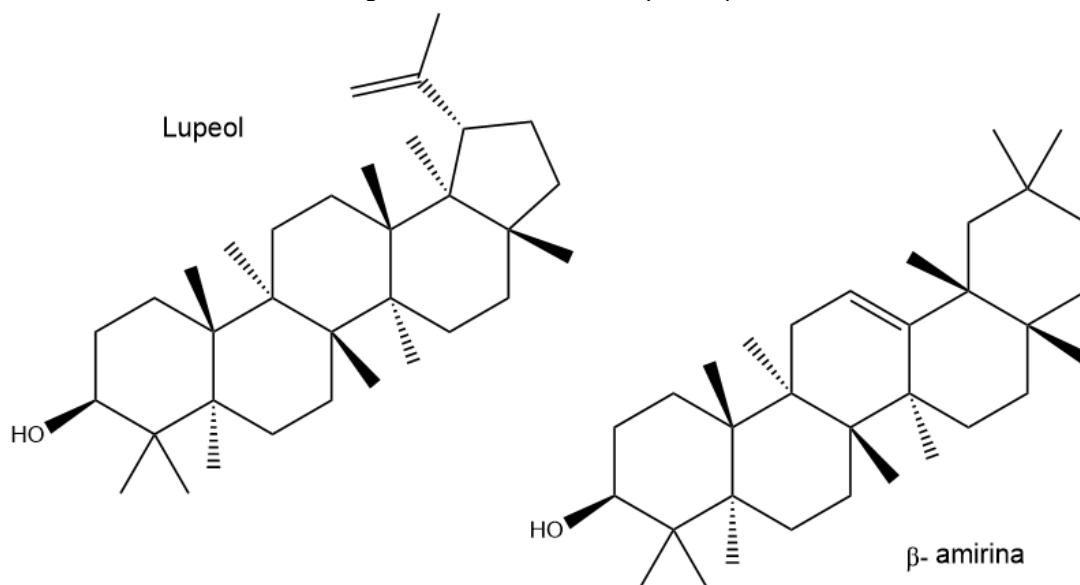
Fonte: (Elaborado pela Autora)

Com relação aos compostos voláteis, uma amostra de própolis vermelha da Bahia revelou a presença de α -copaeno, anetol, eugenol, α -cubebeno, metilbergamoteno, β -cariofileno e elemicina. Esses compostos adicionam complexidade à composição da própolis vermelha, conferindo-lhe propriedades únicas que contribuem para seu potencial terapêutico e valor comercial crescente (Franchin et al., 2024; De Paula, Izidora, Ribeiro, 2022).

Muito presente no nordeste do país, e principalmente no estado do Piauí a própolis amarela é caracterizada pela presença de pelo menos quinze triterpenoides, dentre eles estão derivados de cicloartano: ácido isomangiferólico, ácido mangiferólico, ácido mangiferônico, ácido ambônico, ácido ambólico e 24-metileno cicloartano-3 β ,26-dio, além de três triterpenoides que também são encontrados em

outros tipos de própolis, como demonstrado na figura 5, a β -amirina, lupeol e olean-12-en-3-one (Machado et al., 2016).

Figura 4 - Estrutura do Lupeol e β -amirina.



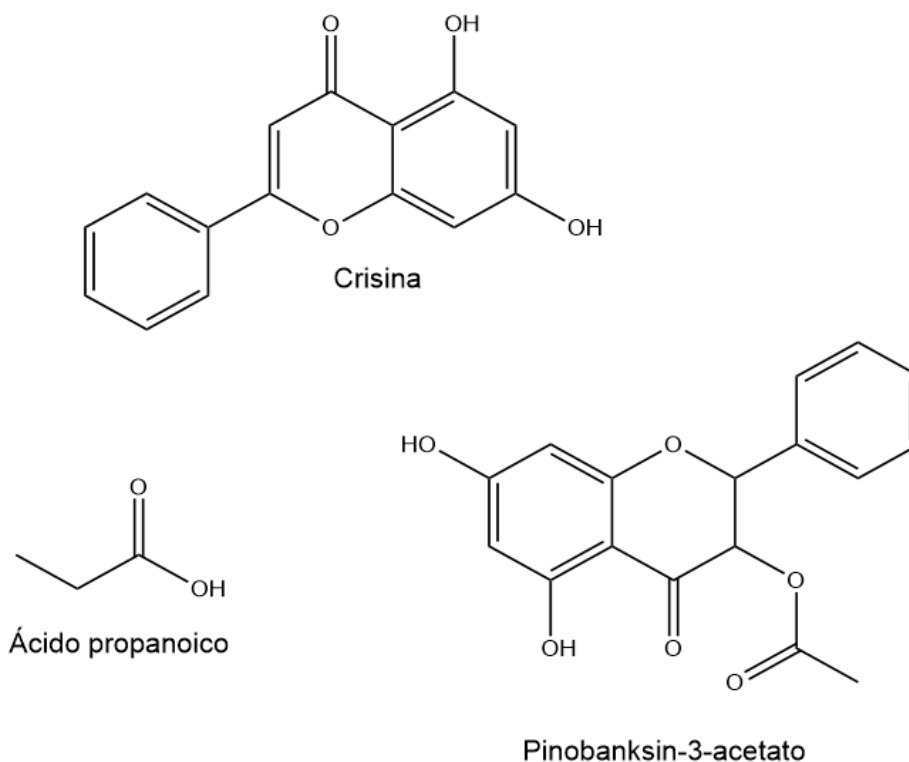
Fonte: (Elaborado pela Autora)

A própolis marrom apresenta uma diversidade química significativa, resultando em diferentes composições químicas e variadas atividades biológicas. Este cenário é um desafio considerável devido à sua produção em diferentes regiões do Brasil, abrangendo do nordeste ao sul do país, onde diferentes biomas e uma vasta diversidade de plantas podem servir como fontes botânicas. A própolis marrom é caracterizada por ácidos cafeoilquínicos, derivados do ácido p-cumárico, flavonóis e compostos derivados do ácido benzóico (Tazawa et al., 2016; De Queiroz et al., 2021).

Compostos fenólicos previamente identificados na própolis verde brasileira, como ácido p-cumárico, drupanina, artepillina C e bacarina, também foram encontrados em extratos padronizados de própolis marrom, revelando similaridades no perfil fenólico entre esses dois tipos de própolis. Além dos marcadores químicos tradicionais da própolis verde, a própolis marrom pode conter concentrações menores de ácido propanóico e cinâmico. Outros compostos fenólicos, como demonstrado na figura 6, como crisina, pinocembrina, galangina, éster feniletílico do ácido caféico e pinobanksin-3 -acetato, também foram detectados na própolis marrom, ampliando

ainda mais sua complexidade química e potencial aplicação terapêutica (Rodrigues et al., 2016; De Queiroz et al., 2021).

Figura 5 - Estrutura da Crisina, Ácido propanoico e Pinobanksin-3-acetato.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Outras variedades de própolis originárias dos diversos biomas brasileiros e suas plantas nativas ainda não alcançaram uma relevância comercial possivelmente devido à escassez de estudos abrangentes que investiguem suas composições fitoquímicas exclusivas. Em geral, a pesquisa tem se concentrado predominantemente na identificação de compostos bioativos utilizando técnicas avançadas como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear. No entanto, há uma carência significativa de estudos quantitativos que avaliem os níveis desses compostos em tipos menos explorados de própolis brasileira (Franchin et al., 2024).

Apesar de ser muito conhecida pelas suas propriedades farmacológicas antibacterianas (Przybyłek; Karpiński, 2019), antiviral (Ripari et al., 2020), antifúngica (Gucwa, 2018), anti-inflamatória (Pimentel et al., 2022), antioxidante (Marcucci et al., 2020) e cicatrizante (Hoffmann; Paiva, 2021), a própolis não pode ser considerada um

fármaco devido à alta variabilidade de sua composição química. Uma amostra coletada no mesmo local em épocas diferentes do ano, podem possuir componentes variáveis (Yang, et al., 2022).

Os antioxidantes desempenham um papel crucial no controle dos efeitos nocivos dos processos oxidativos, prevenindo ou reduzindo a formação de radicais livres (Degasparí et al., 2004; Marcucci et al., 2020). O aumento e o desequilíbrio dos níveis de radicais livres no corpo têm sido associados ao surgimento de várias doenças. À luz desse crescimento significativo, há uma demanda por produtos naturais com propriedades antioxidantes, particularmente aqueles que contêm compostos fenólicos. (Devasagayam et al., 2004; Marcucci et al., 2020). Entre as atividades terapêuticas presentes na própolis, a atividade antioxidante é uma das mais valorizadas, geralmente atribuída à presença de compostos polifenólicos, que são considerados potenciais protetores contra os efeitos prejudiciais dos radicais livres. De maneira geral, esses compostos inibem processos de peroxidação e envelhecimento dos tecidos, além de oferecer proteção contra doenças degenerativas, como a aterosclerose. (Campos, 1997). Essa lacuna representa uma oportunidade para expandir o conhecimento sobre as propriedades terapêuticas e potenciais aplicações dessas própolis menos estudadas, promovendo um maior aproveitamento dos recursos naturais brasileiros e agregar valor aos produtores locais.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar o perfil químico da própolis coletada pela abelha *Apis mellifera* na região semiárida do Ceará

3. 2 Específicos

- Analisar o perfil químico (compostos apolares) da própolis
- Analisar o teor de fenólicos totais, flavonoides e atividade antirradicalar do extrato e frações da própolis
- Identificar através de CG/MS da fração hexânica os componentes da própolis

4. METODOLOGIA

4.1 Equipamentos, reagentes e padrões

Para extração foi utilizado aparelho de ultrassom (Eco-sonics) e rotaevaporador (Buchi). Já para a análise cromatográfica em coluna (CC) foi utilizado suporte Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences, Suécia). A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi realizada utilizando placas de sílica gel (Macherey-Nagel, Alemanha) e como reveladores os reagentes anisaldeído e Liebermann. A análise das amostras foi realizada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) em um Perkins Elmer Clarus 580 GC, aparelho equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm -Hexis Científica), acoplado com um espectrômetro de massa MS Clarus SQ 8 S. O forno foi programado para uma temperatura de 50 a 200°C a uma taxa de 3°C/min durante 20 minutos e se manteve a 200°C com tempo total de 97,67 minutos para eluição. As temperaturas do detector e do injetor estavam em 280°C. O hidrogênio era usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 13,9 mL/min e 15,6 p.s.i. pressão de entrada no modo split. Espectro de massa foram tomadas a 70eV; um intervalo de varredura de 0,3s e fragmentos de 37 a 660 Da. Para a identificação dos compostos foram utilizadas duas bibliotecas Instituto Nacional Estânder e Tecnologia (NIST e NIST2). A análise de infravermelho com transformada de Fourier com módulo ATR (Shimadzu, modelo IRSpirit) da fração hexânica e das misturas obtidas foi realizada combinando alta velocidade, sensibilidade com uma relação de 60.000:1 Sinal/ruído, com uma faixa de varredura é de 4.000-400 cm⁻¹ (região do infravermelho médio) A leitura de absorbância para determinação do teor de fenólicos totais, flavonoides e atividade antiradicalar (DPPH*ABTs) foi realizada no aparelho (Asys HiTech UVM 340, Biochrom, EUA) utilizando placa de 96 poços. Foram utilizados os seguintes reagentes: Carbonato de sódio (Na₂CO₃) à 15%, ácido gálico (Fluka) e Folin-Ciocalteu (marca-avaliação do teor de fenólicos totais), radical DPPH (2,2-difenil-1 picril-hidrazila-marca), etanol PA e ácido ascórbico (Sigma- Aldrich, Sternheim, Alemanha) (atividade antiradicalar com o radical livre DPPH).

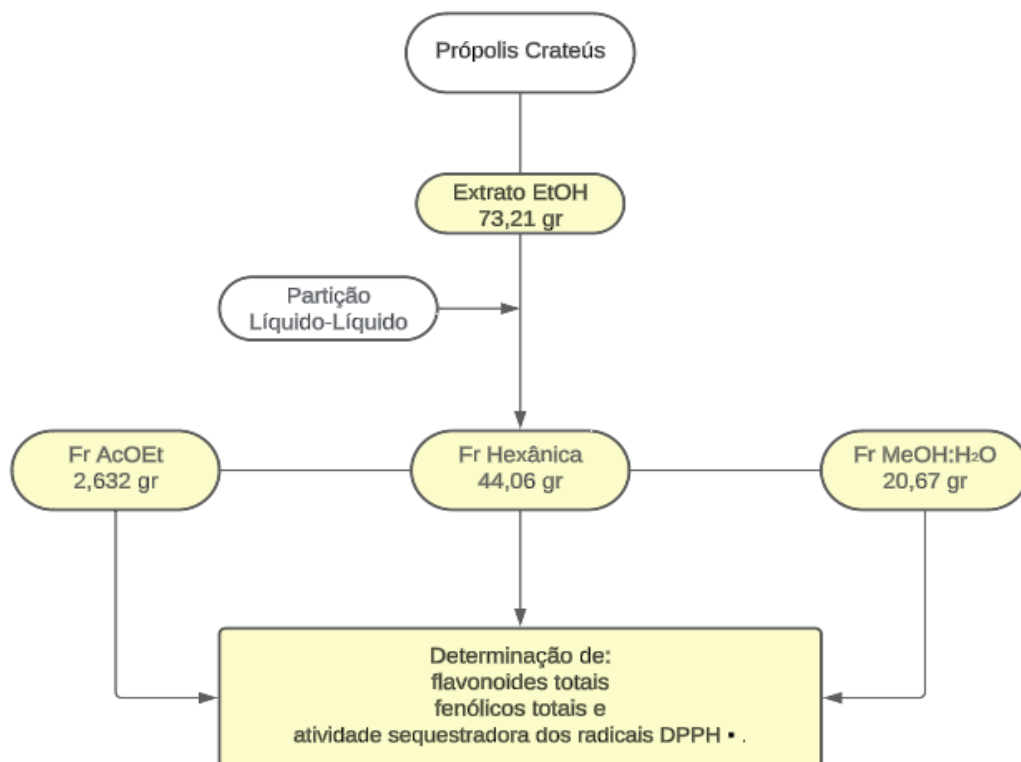
4.2 Obtenção e extração do material

A amostra de própolis da *Apis mellifera* foi coletada no município de Crateús no interior do Ceará. A extração ocorreu com etanol sob agitação por 30 minutos de

forma exaustiva em aparelho de ultrassom. As soluções extrativas foram filtradas e concentradas usando rotaevaporador a 40 °C fornecendo o extrato etanólico.

Aproximadamente 73,0 gramas do extrato etanólico da própolis foram solubilizadas em metanol:água (1:1 v/v) e realizada a partição com hexano e acetato de etila, fornecendo as denominadas frações hexânica (Fr Hex), fração acetato de etila (Fr AcOEt) e fração metanol:água (Fr MeOH:H₂O) (Esquema 1). Das quais foram determinados o teor de flavonoides totais, fenólicos totais e atividade sequestradora dos radicais DPPH • e ABTS.

Esquema 1. Extração e partição líquido-líquido da própolis de Crateús.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

4.3 Cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 da fração hexânica da própolis

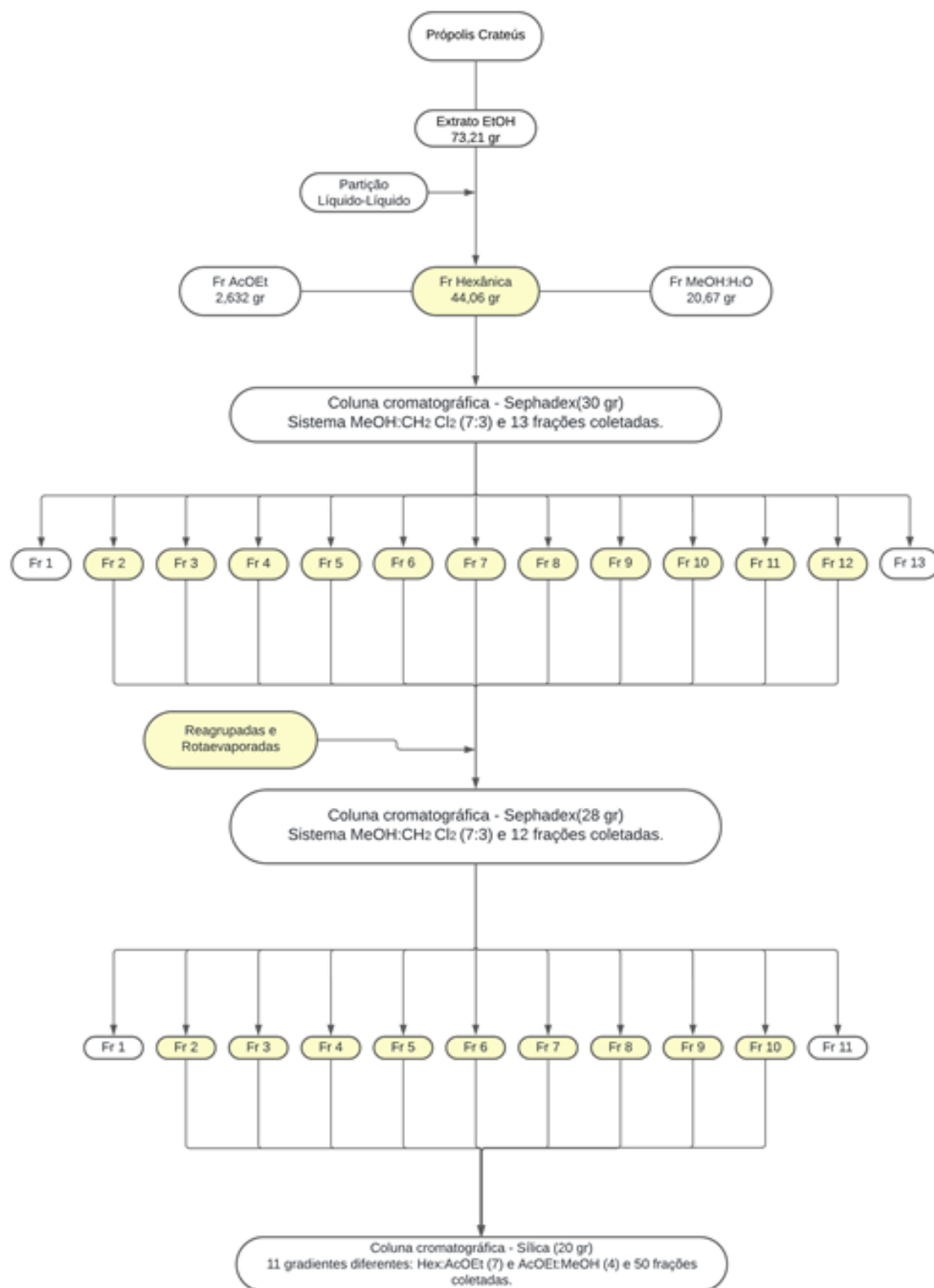
Aproximadamente 30,0 g da fração hexânica da própolis foi submetida a cromatografia em coluna utilizando o Sephadex LH-20 e eluída no sistema

MeOH:CH₂Cl₂ (7:3). Ao total resultaram 13 frações, após análise em CCDA as frações 2 a 12 foram reagrupadas e submetidas a rotaevaporação resultando em aproximadamente 28,0 g de amostra. Essa amostra passou novamente em Sephadex LH-20. Após a coleta das 12 frações resultantes e suas respectivas análises em CCDA, as frações da 2 a 11 também foram agrupadas por similaridade ficando aproximadamente 26,8 g da amostra conforme exemplificado no esquema 2.

4.4 Cromatografia em coluna com sílica gel da fração hexânica

Parte da fração hexânica da amostra foi submetida a cromatografia em coluna utilizando sílica gel e eluída em diferentes concentrações. Ao total, 12 sistemas de eluições foram utilizados, na seguinte ordem: hexano puro, hexano:acetato (95:5), hexano:acetato (9:1), hexano:acetato (8:2), hexano:acetato (7:3), hexano:acetato (5:5), acetato puro, acetato:metanol (9:1), acetato:metanol (7:3), acetato:metanol (5:5), metanol puro e metanol: água (9:1) (Esquema 2). Cinquenta frações foram coletadas, analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), reveladas em câmara de UV (254 e 366 nm), coradas com reagente Liberman, anisaldeído e reunidas de acordo com o fator de retenção. A identificação dos principais compostos foi através dos dados de massas obtidos por CG/MS, técnicas espectroscópicas de UV, e comparação com dados da literatura.

Esquema 2. Isolamento dos principais constituintes químicos da própolis



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Após passar pela coluna de sílica gel, a fração hexânica da própolis de Crateús gerou 50 frações que foram reagrupadas por similaridade após análise por CCDA, conforme tabela 1.

Tabela 1. Frações da partição correspondente a cada amostra analisada.

Nome final da amostra - Peso final	Frações correspondentes
Amostra 1 - 0,0562g	Fração 1
Amostra 2 - 0,5730g	Fração 2
Amostra 3 - 0,3351g	Frações 3, 4 e 5
Amostra 6 - 1,3627g	Fração 6
Amostra 7 - 3,3924g	Frações 7 e 8
Amostra 9 - 1,224g	Fração 9
Amostra 10 - 6,3153g	Frações 10, 11, 12 e 13
Amostra 14 - 0,3123g	Fração 14
Amostra 15 - 0,7175g	Frações 15 e 16
Amostra 17 - 1,4529g	Frações 17, 18 e 19
Amostra 20 - 1,3123g	Frações 20 e 21
Amostra 22 - 0,8076g	Frações 22, 23 e 24
Amostra 25 - 0,2118g	Fração 25
Amostra 26 - 0,351g	Frações 26, 27 e 28
Amostra 29 - 0,2204g	Frações 29, 30 e 31
Amostra 32 - 0,1245g	Frações 32, 33 e 34
Amostra 35 - 0,0365g	Fração 35
Amostra 36 - 0,0235g	Fração 36
Amostra 37 - 0,0654g	Frações 37 e 38
Amostra 39 - 0,0956g	Fração 39
Amostra 40 - 0,1891g	Frações 40 a 50

Fonte: (Elaborado pela Autora)

4.5 Determinação do teor de flavonoides e fenólicos totais do extrato e frações MeOH e AcOEt da própolis

O teor de flavonoides foi determinado utilizando a metodologia proposta por Woisky e Salatino (1998) com modificações, empregando-se a quercetina como padrão. Foram pipetados 100 µL de cada amostra a ser testada, na concentração de 5,0 mg/mL cada, em eppendorf de 1,0 mL, individualmente. Após a adição da solução das amostras, adicionou-se 400 µL de MeOH e 500 µL cloreto de alumínio 5% m/v em metanol, resultando na concentração final de 100 µg/mL para as amostras e foram deixadas ao abrigo da luz por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro

em 425nm. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de flavonoides foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com soluções do padrão de quercetina em várias concentrações (2,5 a 20,0 µg/mL) e expressos como miligrama equivalente a quercetina por grama de extrato (mg EQ/g), considerando-se o erro padrão da média (E. P. M.). A equação da curva de calibração da quercetina foi: $y = 0,1156x - 0,1721$, com o coeficiente de correlação de $R^2 = 0,9901$.

Para quantificação do teor de fenólicos totais, as amostras foram solubilizadas em etanol na concentração de 5mg/mL. Em seguida, foi transferida para um micro tubo uma alíquota de 25µL das amostras, junto a 10 µL do reagente Folin-Ciocalteu, 435 µL de água destiladas e 30 µL da solução de Na₂CO₃ (15%) foram adicionados à mistura e agitados por 30 segundos. Após repouso ao abrigo da luz por 2 horas foi realizada leitura em espectrofotômetro em 760 nm. A quantidade total de compostos fenólicos foi determinada a partir da interpolação da absorbância das amostras comparada a curva de calibração feita em ácido gálico nas concentrações de 1 a 20 µg/mL, usando a equação obtida no gráfico padrão de ácido gálico: $y = 0,1322x + 0,1591$ $R^2 = 0,993$. O resultado foi expresso como mg equivalente a ácido gálico (EAG). Foi utilizada a metodologia descrita por Slinkard e Singleton (1977) modificada.

4.6 Atividade sequestradora dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ do extrato e frações da própolis

Seguindo a metodologia descrita por Silva et al., (2006) com pequenas modificações, as amostras do extrato e frações foram diluídas a 0,5 mg/mL em etanol. Foram pipetados, em Eppendorf de 1,0 mL, valores adequados de amostra e etanol a fim de obter concentrações finais que variaram de 5,0 a 30,0 µg/mL no volume de 50 µL para ser completado com alíquotas contendo um volume de 450 µL de solução DPPH• (23,6 µg/mL em EtOH). O teste foi realizado ao abrigo da luz e as concentrações foram testadas em triplicata. Após 30 min em aparelho ultrassom, a quantificação dos radicais DPPH• restantes foi registrada usando absorção a 517 nm. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo na curva de calibração. A inibição foi dada pela seguinte fórmula:

$$\%AS = \frac{\{[Abscontrole - (Absamostra)] \times 100\}}{Abscontrole}$$

Onde $Abs_{controle}$ é a absorbância do controle negativo, contendo apenas a solução de DPPH•, e $Abs_{amostra}$ é a absorbância do radical na presença da amostra ou do controle positivo.

Os testes com o cátion radical ABTS•⁺ foi realizado seguindo a metodologia de Silva et al., (2014) modificada. O cátion foi preparado a partir da reação de uma solução-mãe ABTS com persulfato de potássio 2,45 mM (concentração final), sob abrigo da luz e em temperatura ambiente por 16 horas até o uso. Para dar uma absorbância de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm, essa solução mãe foi diluída com etanol. Assim como o DPPH, as amostras foram diluídas em etanol, para o extrato e a fração AcOEt foi utilizada a concentração de 0,1 mg/mL e para a fração MeOH, 0,5 mg/mL. Em seguida, foram pipetados, em eppendorf de 1,0 mL, valores adequados de amostra e etanol a fim de obter concentrações finais que variaram de 1,0 a 40,0 µg/mL no volume de 50 µL para ser completado com alíquotas contendo um volume de 450 µL de solução do radical ABTS. Após 6 minutos de agitação em aparelho de ultrassom ao abrigo da luz, as amostras foram submetidas as análises por espectrofotômetro a porcentagem de inibição de absorbância a 734 nm foi calculada para cada concentração relativa à absorbância em branco (etanol).

4.7 Análise estatística das amostras submetidas aos testes antirradicais

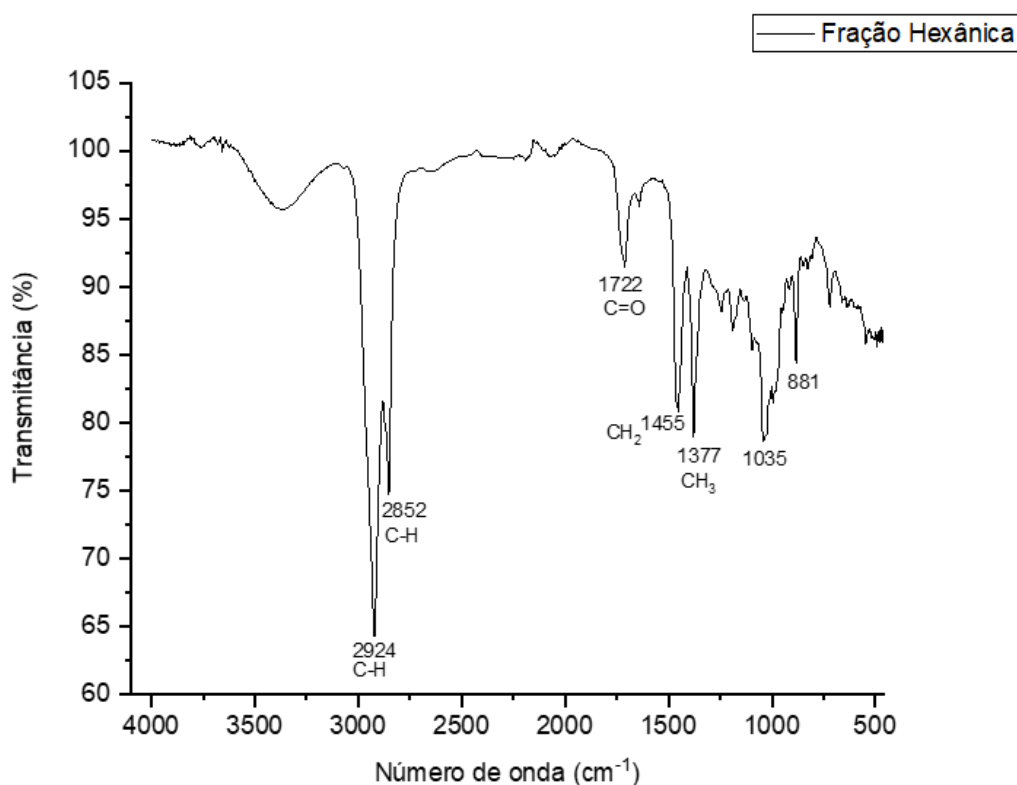
As diferenças nos teores totais de fenólicos, flavonoides e nos testes antirradicais foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$, sendo as análises realizadas com o software GraphPad Prism, versão 5.03. Todos os experimentos foram executados em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Perfil químico da fração hexânica da própolis

No espectro de infravermelho (Figura 6) da fração hexânica é possível observar absorções em 2924 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (CH), assim como as bandas de absorções em 1455 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Também é possível uma banda de absorção na região de 1722 cm^{-1} indicando a presença de C=O e a presença de vibrações na faixa de 1035 cm^{-1} a 800 cm^{-1} referente a alcenos.

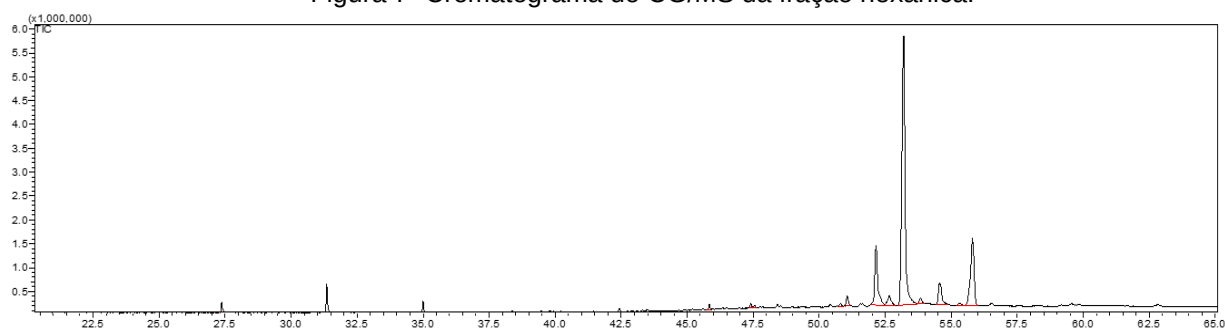
Figura 06 - Espectro de IV da fração Hexânica.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

O cromatograma da fração hexânica (Figura 7) mostra picos significativos que estão expressos na tabela 2, onde o que mais se destaca com uma área de 56,94% é identificado como lupeol. Estudo realizado com o extrato de própolis vermelha do estado de Alagoas também identificou a presença significativa de terpenos com lupeol, acetato de lupeol e lupenona (De Carvalho et al., 2020).

Figura 7- Cromatograma do CG/MS da fração hexânica.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Tabela 02 - Proposta de identificação das substâncias da fração Hexânica.

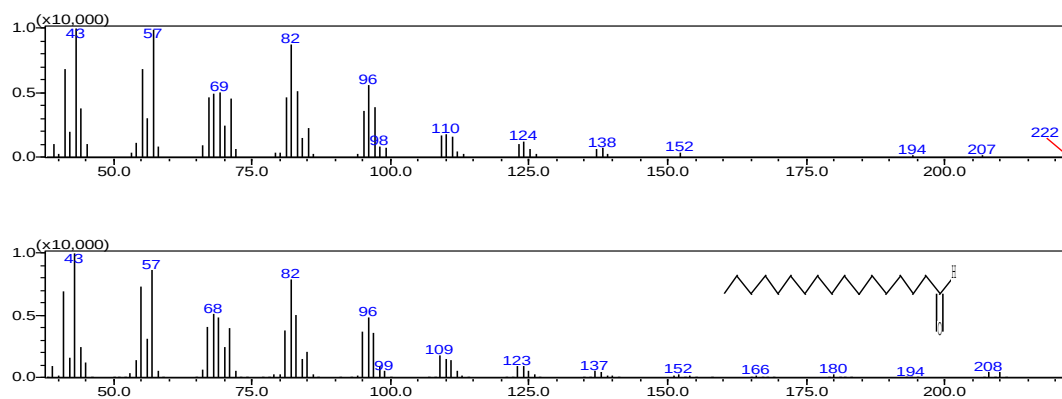
Pico	Tr (min)	MF	PM	%A	Proposta	%Probabilidade
1	31,34	$C_{18}H_{36}O$	254	2,23	Heptadecanal	96
2	51,06	$C_{18}H_{36}O$	426	1,3	Obtusifoliol	74
3	52,14	$C_{30}H_{50}O$	426	11,88	α -amirina	87
4	53,2	$C_{30}H_{50}O$	426	56,94	Lupeol	87
5	55,8	$C_{32}H_{52}O$	468	15,69	Acetato de lupeol	90

Legenda: "%Probabilidade": refere-se a porcentagem de probabilidade de similaridade do composto proposto.

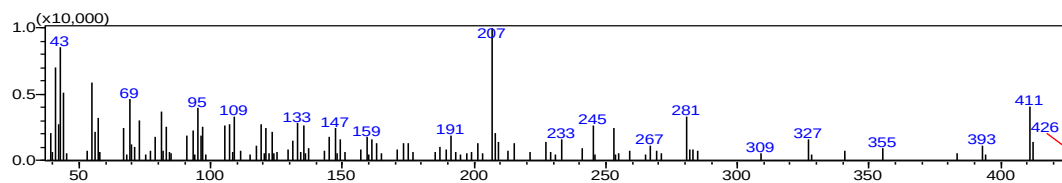
Fonte: (Elaborado pela Autora)

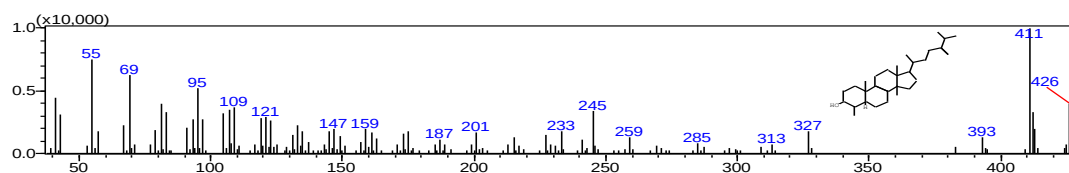
Figura 8- Cromatograma dos picos significativos da fração hexânica.

Pico 1

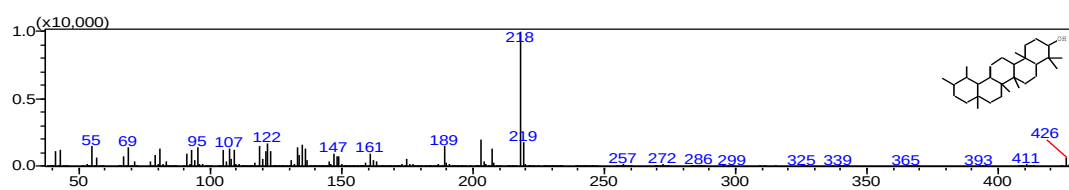
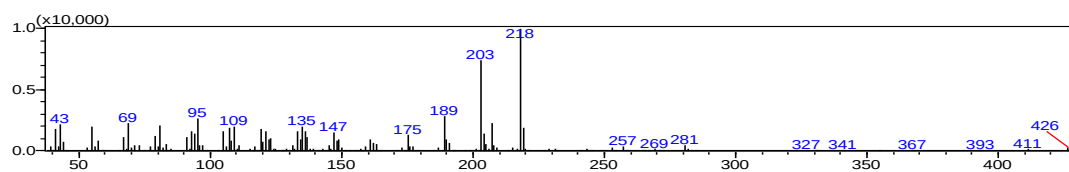


Pico 2

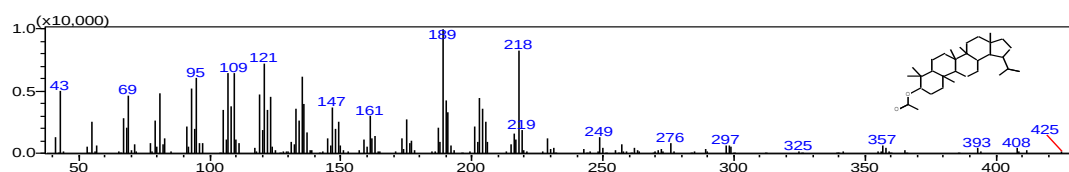
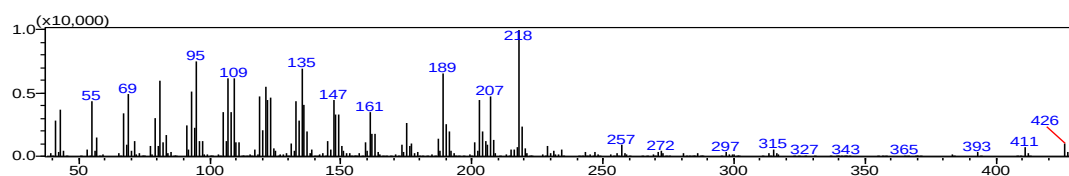




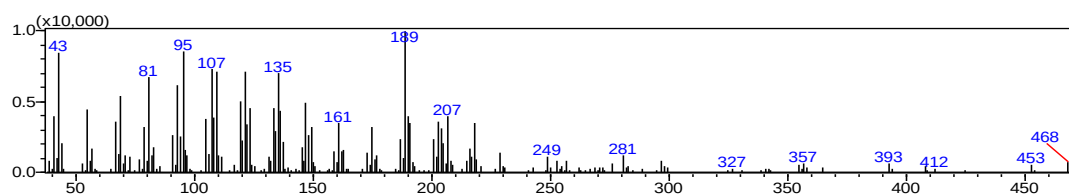
Pico 3

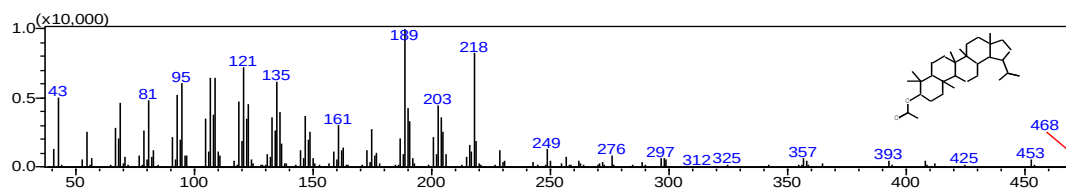


Pico 4



Pico 5

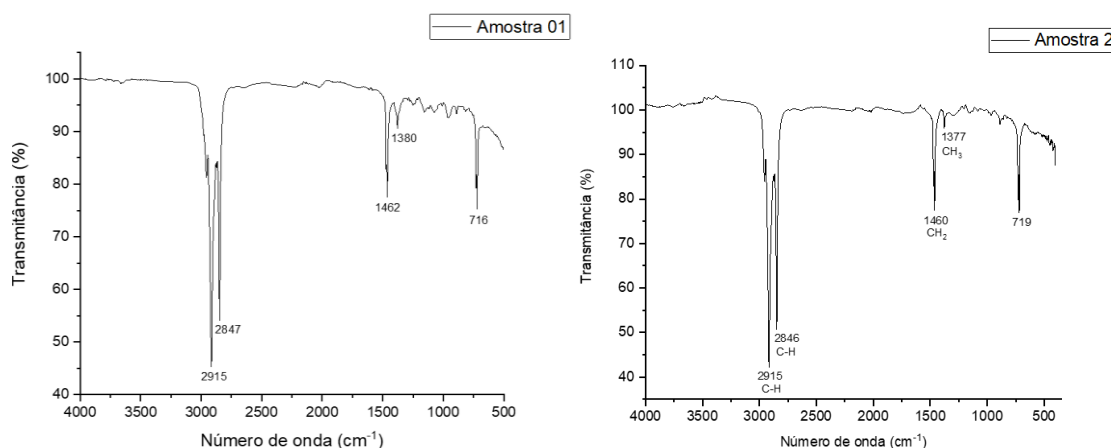




Fonte: (Elaborado pela Autora)

Nas amostras 1 e 2 os espectros de infravermelho (Figura 9) identificou vibrações na faixa entre 2900 cm^{-1} e 2750 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (CH) e na região de 1380 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, é possível observar a presença de vibrações na faixa de 719 cm^{-1} referente a alkenos.

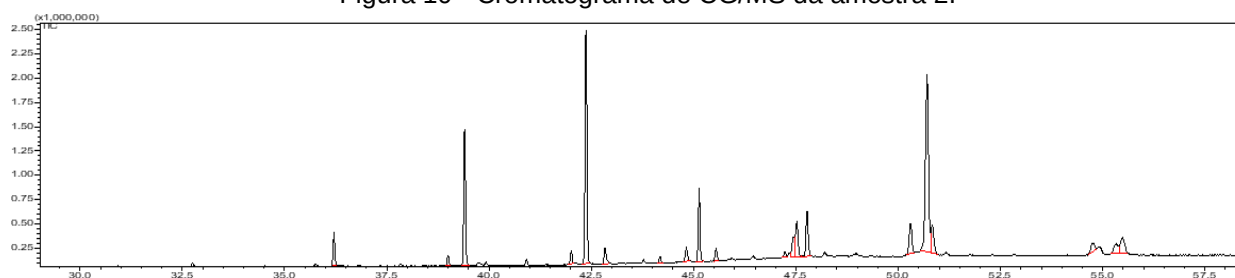
Figura 9 - IV das amostras 1 e 2.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

O cromatograma (Figura 10) da amostra 2 indica que no início da coluna de sílica gel da fração hexânica, foram coletados majoritariamente hidrocarbonetos de cadeia longa como eicosano, conforme mostra tabela 3.

Figura 10 - Cromatograma de CG/MS da amostra 2.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Tabela 03 - Proposta de identificação das substâncias da amostra 2.

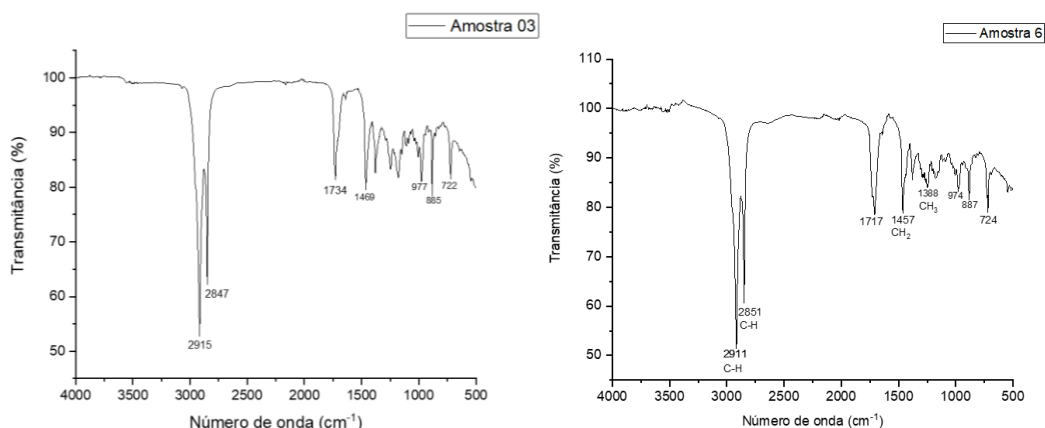
Pico	Tr (min)	MF	PM	%A	Proposta	%Probabilidade
1	36,2	C ₁₅ H ₃₂	212	2,69	Pentadecano	93
2	39,4	C ₂₀ H ₄₂	282	11,68	Eicosano	95
3	42,01	C ₂₀ H ₄₀	280	1,05	Eicoseno	90
4	42,36	C ₂₂ H ₄₆	310	20,79	Docosano	93
5	42,83	C ₂₀ H ₄₂	282	1,67	Nonadecano	89
6	44,82	C ₂₀ H ₄₀	280	1,41	Eicoseno	87
7	45,13	C ₂₀ H ₄₂	282	6,26	Eicosano	93
8	45,54	C ₂₂ H ₄₆	310	1,35	Heneicosano	81
9	47,43	C ₂₃ H ₄₈ O	340	2,36	Tricosanol	83
10	47,52	C ₂₄ H ₅₀ O	354	4,25	Tetracosanol	87
11	47,77	C ₂₄ H ₅₀	338	4,7	Tetracosano	88
12	50,3	C ₂₇ H ₅₆ O	396	3,92	Heptacosanol	82
13	50,7	C ₂₇ H ₅₆ O	396	25,78	Heptacosanol	94
14	50,83	C ₂₄ H ₅₀ O	354	3,53	Tetracosanol	85
15	54,76	C ₂₂ H ₄₆ O ₂	342	1,5	Docosanediol	76

Legenda: “%Probabilidade”: refere-se a porcentagem de probabilidade de similaridade do composto proposto.

Fonte: (Elaborado pela Autora)

Os espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho das amostras 3 e 6 (Figura 11), apresentaram bandas de absorções, em 2915 cm^{-1} , 2911 cm^{-1} , 2847 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} característicos de alcanos (C-H), também é possível observar bandas de absorções na região de 1780 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=O. Além disso, é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 970 cm^{-1} a 720 cm^{-1} , referente a alcenos.

Figura 11 - IV das amostras 3 e 6.

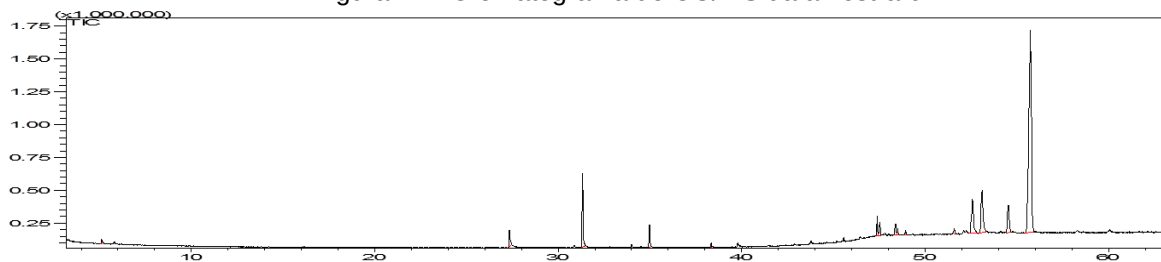


Fonte: (Elaborado pela Autora)

O cromatograma obtido por CG/MS (Figura 12) da amostra 6 teve seus compostos identificados por comparação os dados da literatura. Essa análise, demonstrada na tabela 4, identificou que a amostra 6 é composta majoritariamente

por triterpenos, que também se mostraram significativos na fração hexânica e consequentemente pelas suas amostras derivadas.

Figura 12 - Cromatograma de CG/MS da amostra 6.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Tabela 4- Proposta de identificação das estruturas presentes na amostra 6.

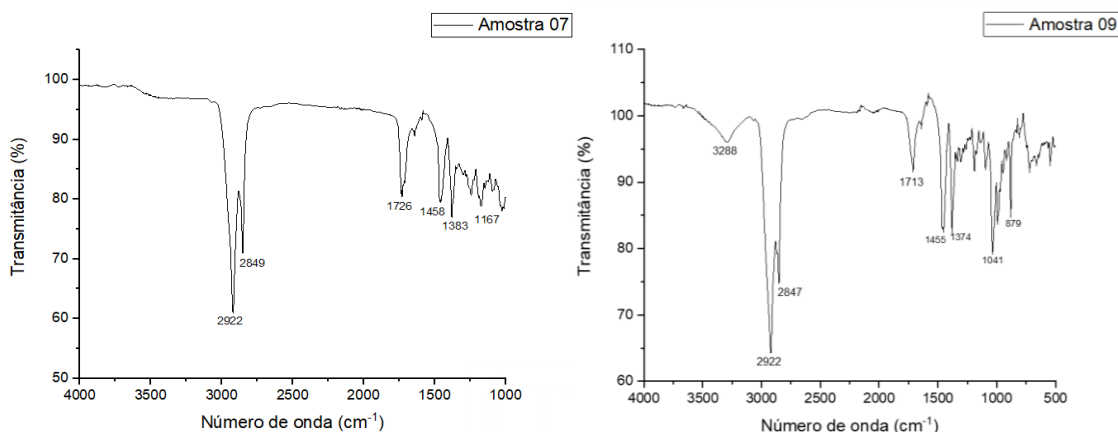
Pico	Tr (min)	MF	PM	%A	Proposta	%Probabilidade
1	31,32	$C_{13}H_{26}O$	226	7,24	Pentadecanal	96
2	52,58	$C_{13}H_{26}O$	426	7,44	Lupeol	76
3	53,1	$C_{30}H_{50}O$	426	9,48	Lupeol	77
4	55,73	$C_{32}H_{58}O_2$	468	58,53	Acetato de Lupeol	90

Legenda: “%Probabilidade”: refere-se a porcentagem de probabilidade de similaridade do composto proposto.

Fonte: (Elaborado pela Autora)

No caso do espectro IV das amostras 7 e 9 (Figura 13), é observado na região de 3288 cm^{-1} indica a presença hidroxila (O-H), as absorções em 2900 cm^{-1} e 2750 cm^{-1} característicos de alcanos (C-H), também é possível observar bandas de absorções na região de 1780 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} correspondem a ligações C=O. Além disso, é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1160 cm^{-1} a 1350 cm^{-1} , referente a C-O.

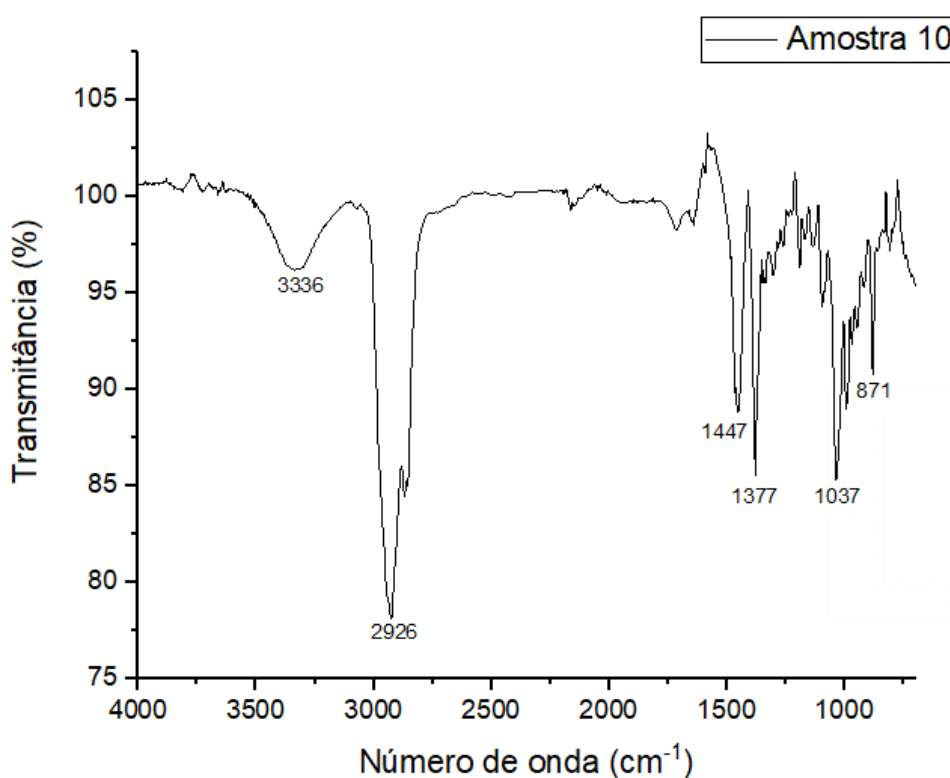
Figura 13 - IV das amostras 7 e 9



Fonte: (Elaborado pela Autora)

O espectro da amostra 10 (Figura 14), apresenta banda na faixa entre 3336 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção em 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1400 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1000 cm^{-1} a 871 cm^{-1} , referente a alkenos (C=C).

Figura 14 - Espectro de IV da amostra 10.

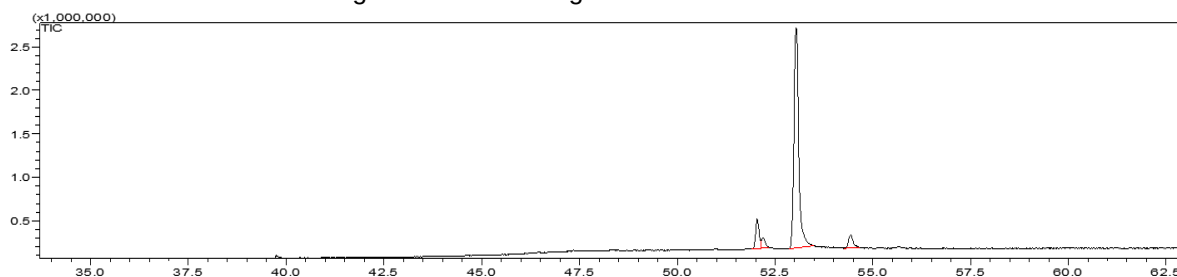


Fonte: (Elaborado pela Autora)

A Figura 15 mostra o cromatograma obtidos por CG/MS e a tabela 5 propõe as substâncias identificadas. É possível observar que há poucos picos significativos, destacando-se o pico do lupeol em 53,04 minutos com 83,54% de área.

Do mesmo modo, Ipav et al., (2022) na Nigéria, realizaram coluna cromatográfica de sílica gel eluída em proporções gradientes de Hex:AcEOt, com extrato hexânico de própolis e conseguiu isolar lupeol e acetato de lupeol.

Figura 15 - Cromatograma de CG/MS da amostra 10.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Tabela 5 - Proposta de identificação das estruturas presentes na amostra 10.

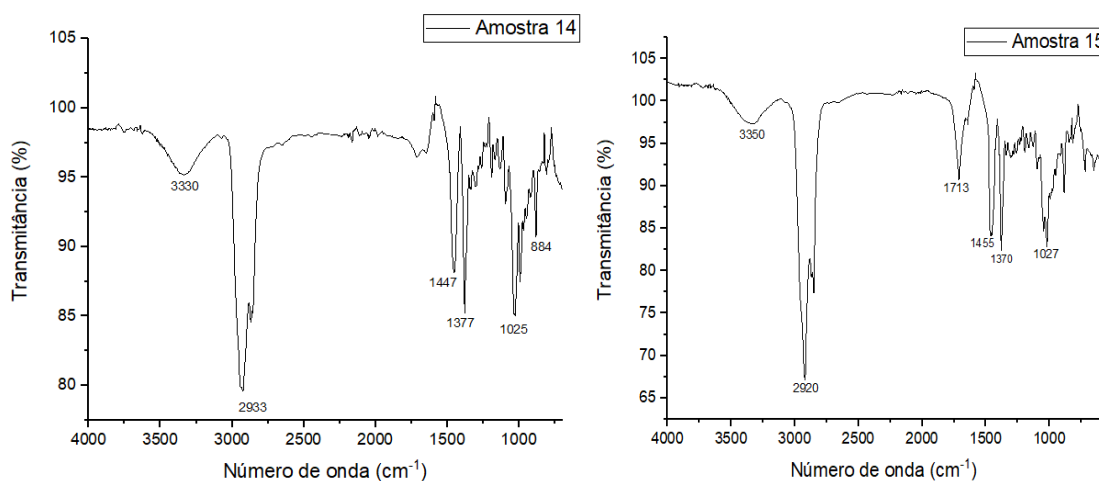
Pico	Tr (min)	MF	PM	%A	Proposta	%Probabilidade
1	52,04	C ₃₀ H ₅₀ O	426	8,19	α-amirina	76
2	52,19	C ₃₀ H ₅₀ O	426	3,07	Urs-12-en-28-ol	67
3	53,04	C ₃₀ H ₅₀ O	426	83,54	Lupeol	86
4	54,44	C ₃₀ H ₅₀ O	426	4,76	Urs-12-en-28-ol	68

Legenda: “%Probabilidade”: refere-se a porcentagem de probabilidade de similaridade do composto proposto.

Fonte: (Elaborado pela Autora)

O espectro de infravermelho (Figura 16) das amostras 14 e 15 apresenta banda na faixa entre 3330 cm^{-1} e 3350 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1450 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Também é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1000 cm^{-1} a 870 cm^{-1} referente a alcenos (C=C).

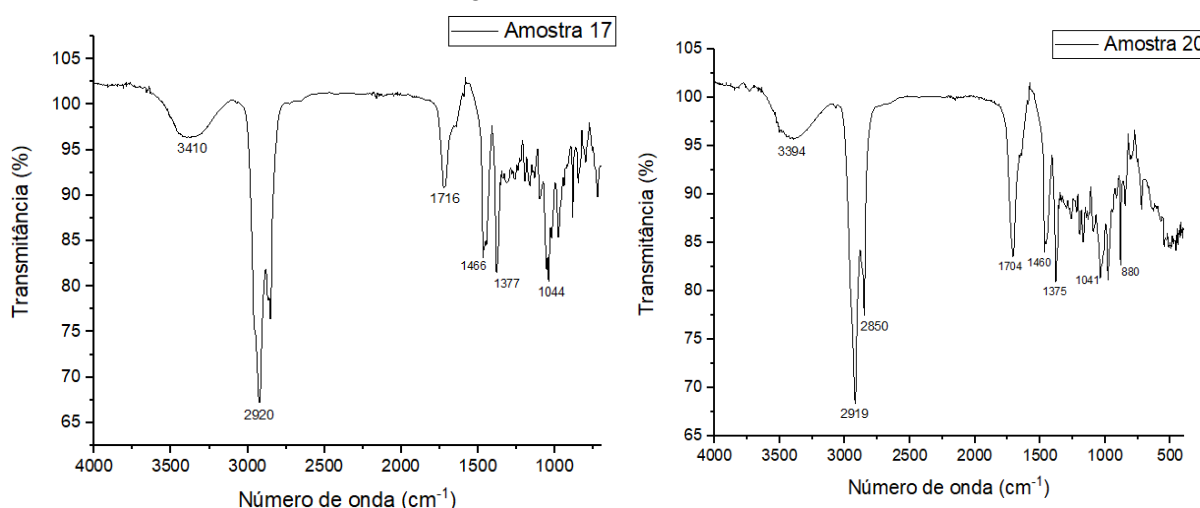
Figura 16 - IV das amostras 14 e 15.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

No caso dos espectros de infravermelho das amostras 17 e 20 (Figura 17), apresenta banda na faixa entre 3410 cm^{-1} e 3394 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1460 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, as bandas de absorções na região de 1716 cm^{-1} e corresponde a ligação C=O. Também é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1000 cm^{-1} a 870 cm^{-1} , referente a alcenos (C=C).

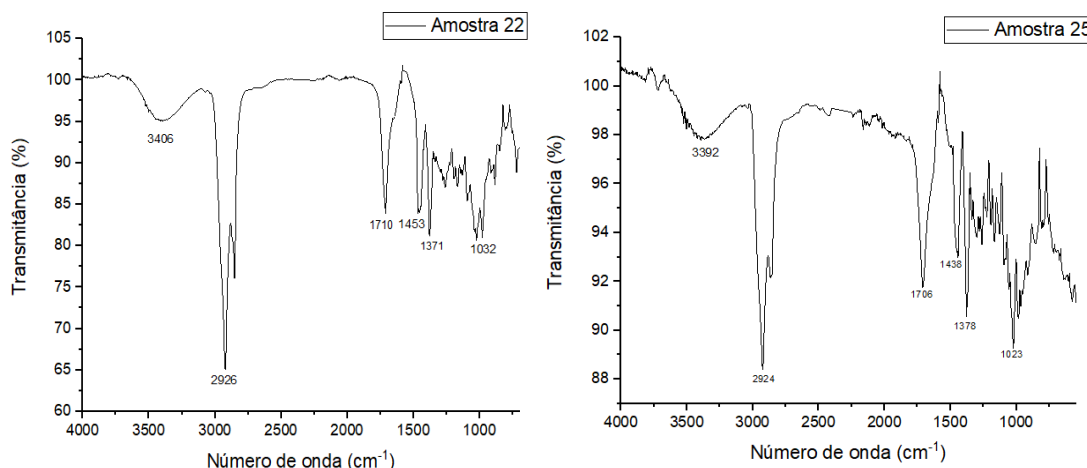
Figura 17 - IV das amostras 17 e 20



Fonte: (Elaborado pela Autora)

O espectro de infravermelho para as amostras 22 e 25 (Figura 18) apresenta banda na faixa entre 3406 cm^{-1} e 3392 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1450 cm^{-1} e 1376 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, a banda de absorção na região de 1710 cm^{-1} e corresponde a ligação C=O. Também é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa próximo a 1000 cm^{-1} referente a alcenos (C=C).

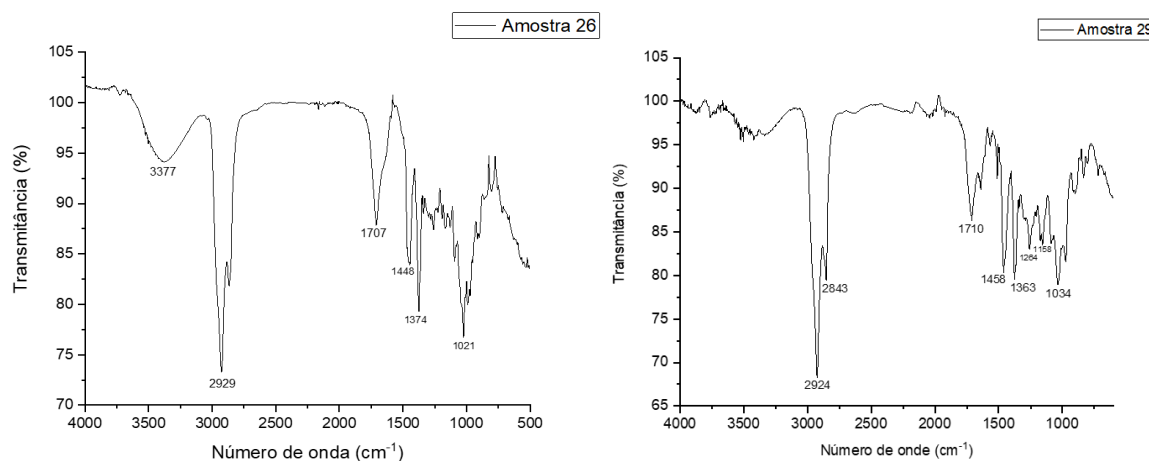
Figura 18 - IV das amostras 22 e 25.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Na figura 19 é visto os espectros de infravermelho referente as amostras 26 e 29, onde é observado banda na faixa entre 3377 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1450 cm^{-1} e 1366 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, a banda de absorção na região de 1710 cm^{-1} e corresponde a ligação C=O. Na amostra 29 é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1030 cm^{-1} a 1300 cm^{-1} , referente a C-O.

Figura 19 - IV das amostras 26 e 29.

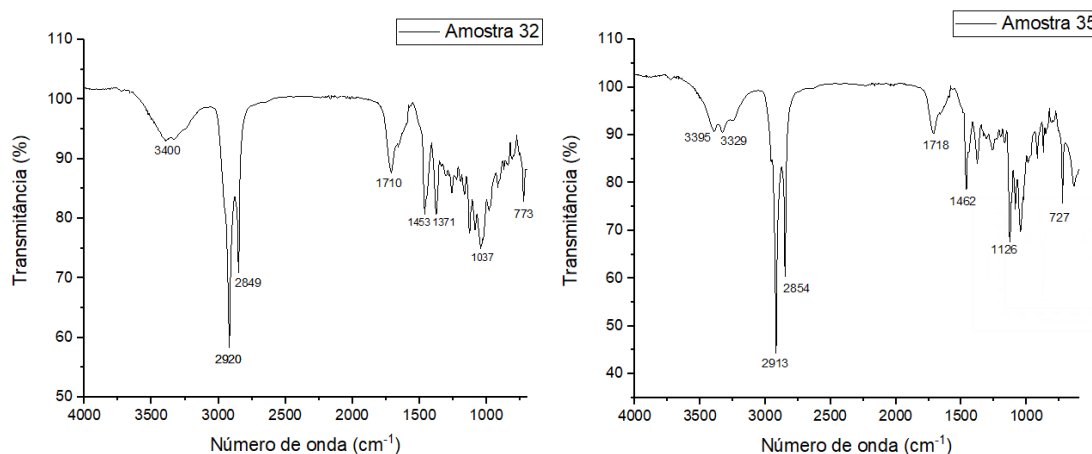


Fonte: (Elaborado pela Autora)

O espectro de infravermelho das amostras 32 e 35 (Figura 20), apresenta banda na faixa entre 3400 cm^{-1} e 3330 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H),

banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1450 cm^{-1} e 1376 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, a banda de absorção na região de 1710 cm^{-1} e corresponde a ligação C=O. Também é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1000 cm^{-1} e 727 cm^{-1} referente a alkenos (C=C).

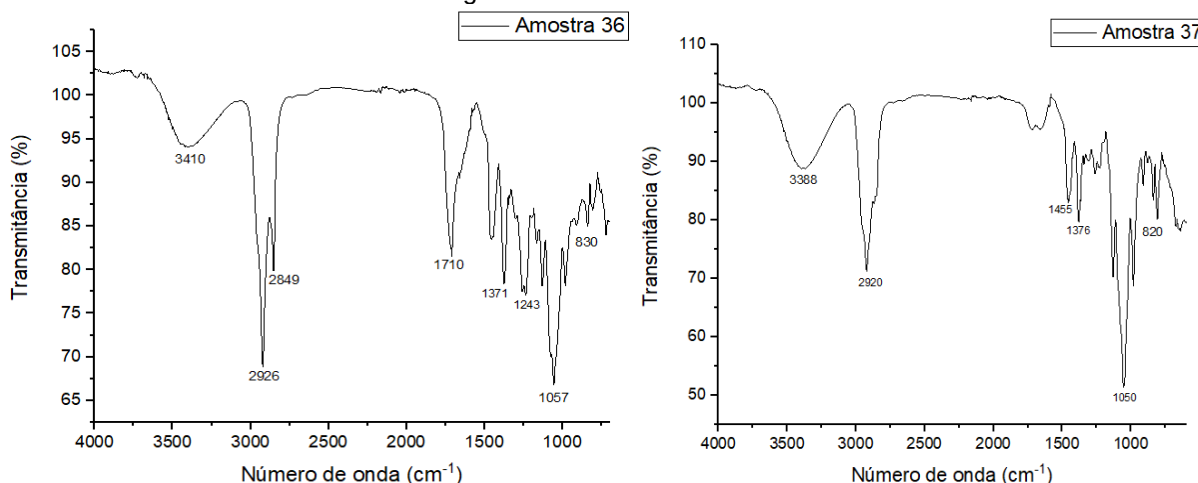
Figura 20 - IV das amostras 32 e 35.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Os espectros de infravermelho das amostras 36 e 37 (Figura 21), apresenta banda na faixa entre 3410 cm^{-1} e 3388 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1450 cm^{-1} e 1376 cm^{-1} que indicam estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, a banda de absorção na região de 1710 cm^{-1} e corresponde a ligação C=O. Também é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1000 cm^{-1} e 727 cm^{-1} referente a alkenos (C=C). Além disso, é possível observar a presença de bandas de absorções na faixa entre 1030 cm^{-1} a 1300 cm^{-1} , referente a C-O.

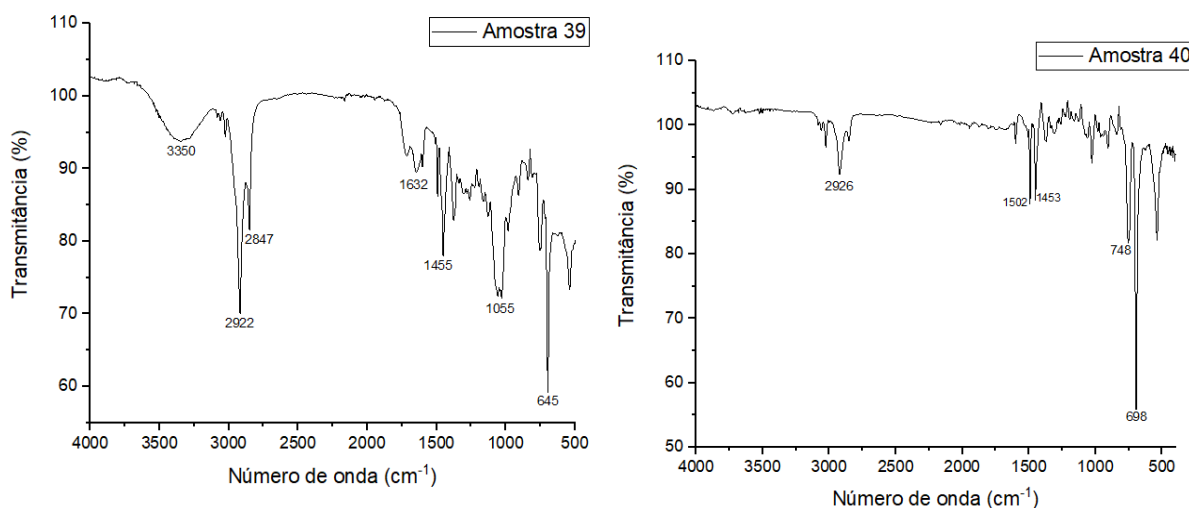
Figura 21 - IV das amostras 36 e 37.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Na figura 22o espectro de infravermelho das amostras 39 e 40, respectivamente. Onde apresenta banda na em 3350 cm^{-1} indicando a presença hidroxila (O-H), banda de absorção entre 2900 cm^{-1} característicos de estiramentos vibracionais para alcanos (C-H) e na região de 1450 cm^{-1} que indica estiramentos rotacionais em alcanos de CH_2 e CH_3 . Além disso, a banda de absorção na região de 1630 cm^{-1} e corresponde a ligação C=O. Também é possível observar a presença de bandas de absorções em faixa próximo a 700 cm^{-1} referente a alcenos (C=C).

Figura 22- IV das amostras 39 e 40.



Fonte: (Elaborado pela Autora)

Como observado, os espectros de infravermelho apresentam alta semelhança ao longo das diferentes frações coletadas da amostra de própolis. Na literatura, foram encontrados espectros infravermelhos com vibrações em 3235 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} , caracterizando o lupeol (Iman et al., 2007). Esses resultados corroboram com os espectros infravermelhos encontrados para própolis. A partir dos resultados apresentados, é possível identificar que triterpenos estão entre os marcadores químicos da fração hexânica da própolis analisada, assim como em estudos realizados com a própolis amarela da *Apis mellifera* do Mato Grosso do Sul (Da Silveira et al., 2016) que também encontraram grandes quantidades de compostos como lupenona e lupeol em sua composição.

O lupeol é um composto do grupo dos triterpenoides, substâncias formadas por moléculas de terpeno compostas por seis unidades de isopreno. Especificamente, o lupeol é um triterpenóide pentacíclico, conhecido por ter um grupo hidroxila substituindo o hidrogênio na posição 3β da estrutura da lupaneína. Pode ser encontrado em diversas fontes naturais, e está presente em alimentos (Wal et al., 2015) como pimentão verde, manga, morango, uva, repolho branco e azeitonas, podendo ser a origem botânica para a própolis analisada. Este composto tem efeitos terapêuticos comprovados, com propriedades anti-inflamatórias (Wal et al., 2011) e antioxidantes (Pushpanjali et al., 2019).

5.2 Determinação do teor fenólicos totais, flavonoides e atividade antirradicalar.

Os resultados obtidos no extrato etanólico e frações hexânica, AcOEt e MeOH, na própolis de *Apis mellifera* da região de Crateús estão evidenciados na tabela 6. O teor de fenólicos é expresso em mg equivalente a ácido gálico por grama da amostra (mgEAG/g), e é observado que variou de 227,31 a 305,66 mgEAG/g dentre as amostras analisadas. Já o teor de flavonoides, é expresso em mg equivalente à quercetina por grama de amostra (mgEQ/g), e variou entre 30,63 e 212,03 mgEQ/g. Estudos com própolis vermelha encontraram teores de 266,68 mgEAG/g (Mourão, 2013) e 231,4 mgEAG/g (Oldoni et al., 2007), que corroboram com os valores elevados encontrados para própolis de Crateús. Esses autores justificam os altos valores obtidos devido à sua origem botânica e método de extração utilizado.

Na atividade antirradicalar, os resultados são expressos em $\mu\text{g/mL} \pm$ Desvio Padrão. Para o radical DPPH, houve variação de 9,29 a 20,17 $\mu\text{g/mL}$ e para o radical ABTS, de 2,52 a 17,45 $\mu\text{g/mL}$. a fração AcOEt apresentou o melhor resultado para o

radical DPPH, com a menor quantidade necessária de amostra para consumir 50% da amostra, assim como o extrato etanólico demonstrou com o radical ABTS.

Tabela 6. Resultado do teor de fenólicos, flavonoides e CE₅₀ do extrato e frações da amostra da própolis de *Apis mellifera*.

Frações	Fenólicos	Flavonoides	DPPH CE₅₀	ABTS CE₅₀
Extrato EtOH	227,31±3,4	202,13±3,92	20,17±1,07	2,52±0,01
Hexânica	*	*	>500	>500
AcOEt	305,66±4,75	212,03±6,34	9,29±1,88	3,14±0,1
MeOH	255,57±2,65	30,63±2,44	13,71±0,74	17,45±1,88
			2,61±0,03	2,72±0,06

O teor de fenólicos está expresso em mgEAG/g ± Desvio Padrão, o teor de flavonoides em mgEq/g ± Desvio Padrão e a CE₅₀ dos testes antirradicais em µg/mL ± Desvio Padrão.

Fonte: (Elaborado pela Autora)

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo químico da própolis revelou altos teores de compostos fenólicos e flavonoides, que são indicadores de qualidade segundo a legislação brasileira para própolis. Esses níveis elevados podem ser atribuídos à concentração desses compostos nas frações hexânica, MeOH e AcOEt, obtidas durante a partição líquido-líquido. Os espectros infravermelhos realizados com as amostras obtidas da coluna cromatográfica em sílica gel da fração hexânica permitiram identificar estiramentos característicos de alcanos, terpenos e álcool. Em conjunto com os cromatogramas CG/MS de algumas amostras, foi possível comprovar a presença predominante de triterpenos como lupeol, acetato de lupeol e α -amirina. Para mais precisão na identificação desses compostos, há a perspectiva futura de submeter as amostras a outros tipos de caracterizações e assim possivelmente conseguiremos classificar a própolis produzida nessa região, suas propriedades biológicas e consequentemente agregar valor.

7. REFERÊNCIAS

- AGUILAR-AGUILAR, María de Jesús et al. Dominance of African racial ancestry in honey bee colonies of Mexico 30 years after the migration of hybrids from South America. **Evolutionary Applications**, v. 17, n. 6, p. e13738, 2024.
- AKONGTE, Peter Njukang et al. Honey Bee Colonies (*Apis mellifera* L.) Perform Orientation Defensiveness That Varies among Bred Lines. **Insects**, v. 14, n. 6, p. 546, 2023.
- BANKOVA, Vassya et al. Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 2, p. 1-49, 2019.
- BARBOSA, A. de L. et al. Criação de abelhas (apicultura). 2007.
- BARRETO, A. L. H.; LOPES, M. T. R.; PEREIRA, F. M.; SOUZA, B. A. **Controle de qualidade da própolis**. Teresina, EMBRAPA Meio-norte, 2020.
- BATISTA, Cintia Aparecida. **Propriedades terapêuticas dos “grãos de ouro”: o pólen das abelhas sem ferrão**. 2024.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 jan. 2001. Anexo VI - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 jan. 2001
- CAMPOS, Maria et al. An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 8, n. 4, p. 181-185, 1997.
- CANCIANI, Mark; ARNELLOS, Argyris; MORENO, Alvaro. Revising the superorganism: an organizational approach to complex eusociality. **Frontiers in Psychology**, v. 10, p. 495060, 2019.
- CARPES, Solange Teresinha et al. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**, v. 31, p. 1660-1664, 2008.
- CARR, Steven M. Multiple mitogenomes indicate things fall apart with Out of Africa or Asia hypotheses for the phylogeographic evolution of honey bees (*Apis mellifera*). **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 9386, 2023.
- COSTA, Philipe et al. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. **Journal of ethnopharmacology**, v. 226, p. 82-89, 2018.

DA SILVEIRA, Cinthia Cristina Sousa de Menezes et al. Neurobehavioral and antioxidant effects of ethanolic extract of yellow propolis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, n. 1, p. 2906953, 2016.

DE CARVALHO, Felipe Mendes de Andrade et al. Brazilian red propolis: Extracts production, physicochemical characterization, and cytotoxicity profile for antitumor activity. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 726, 2020.

DE PAULA, Alisson Gabriel; DAS DORES IZIDORO, Letícia; RIBEIRO, Ingridy Simone. ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA PRÓPOLIS VERMELHA: uma revisão integrativa da literatura. **15ª JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA E 12 ° SIMPÓSIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO IFSULDEMINAS**, v. 14, n. 1, 2022.

DE PAULA, Gabriela Toninato et al. Stingless bees and microbial interactions. **Current Opinion in Insect Science**, v. 44, p. 41-47, 2021.

DE QUEIROZ, Ana Paula Marques et al. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS: UMA REVISÃO. **Revista Ciência (In) Cena**, v. 1, n. 8, 2021.

DEGÁSPARI, Cláudia Helena; WASZCZYNSKYJ, Nina. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, 2004.

DEVASAGAYAM, T. P. A. et al. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. **Japi**, v. 52, n. 794804, p. 4, 2004.

DE SOUSA DOMINGOS, Aline Thamara; DA NÓBREGA, Monasses Marques; DA SILVA, Rogério Alexandrino. **Biologia das abelhas Apis mellifera: Uma revisão bibliográfica**. 2016.

FRANCHIN, Marcelo et al. Food-grade delivery systems of Brazilian propolis from *Apis mellifera*: from chemical composition to bioactivities in vivo. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137175, 2024.

FREITAS, Camila Natalli Miranda et al. **Análise da composição da geleia real por FTIR-ATR e capacidade antioxidante durante ciclos padronizados de descongelamento**. 2020.

GRÜTER, Christoph; GRÜTER, Christoph. Stingless bees: an overview. **Stingless Bees: Their Behaviour, Ecology and Evolution**, p. 1-42, 2020.

GUCWA, Katarzyna et al. Antifungal activity and synergism with azoles of polish propolis. **Pathogens**, v. 7, n. 2, p. 56, 2018.

HOFFMANN, L. H.; PAIVA, M. J. M.; O uso da própolis como agente cicatrizante e hepatoprotetor. **Pubsaúde**, 6, a189, 2021.

ILYASOV, Rustem A. et al. A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 12, p. 3615-3621, 2020.

Imam S, Azhar I, Hasan MM, Ali MS, Ahmed SW. Two triterpenes lupanone and

IPAV, S. S. et al. Isolation and Characterisation of Lupeol and Lupeol Acetate from Propolis Obtained from Benue State. **Journal of Chemical Society of Nigeria**, v. 47, n. 1, 2022.

KNAPP, Jessica L. et al. *Bombus terrestris* in a mass-flowering pollinator-dependent crop: A mutualistic relationship?. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 609-618, 2018.

MACHADO, Christiane Schineider et al. Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, n. 1, p. 6057650, 2016.

MARCUCCI, Maria Cristina et al. Espectroscopia UV-Vis e reação com o radical DPPH para a detecção de flavonoides e determinação do potencial antioxidante de extratos de própolis. **Revista Eletrônica de Ciências Exatas**, v. 1, n. 1, 2020.

MICHENER, Charles D. **The bees of the world**. JHU press, 2007.

MONTEIRO, A. L. B. **Análise da própolis da abelha sem ferrão *Trigona spinipes* (arapuá) para aplicação nas áreas de alimentos e veterinária**. Tese de doutorado. Pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2023.

MOURÃO, Luciana Regina Mangeti Barreto. **Estudo in vivo da atividade antioxidante da própolis vermelha brasileira**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OLDONI, Tatiane Luiza C. et al. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. **Separation and purification Technology**, v. 77, n. 2, p. 208-213, 2011.

OLIVEIRA, G. C. C. **Própolis: uma revisão sobre origem, características, composição, aplicação e perspectivas**. Trabalho de conclusão de curso, Instituto de biociências, Universidade estadual Paulista, Rio Claro, 2023.

OLIVEIRA, M. S. et al. Chemical composition of volatile compounds in *Apis mellifera* propolis from the northeast region of Pará state, Brazil. **Molecules**, 26:3462, 2021.

- ORR, M. C. et al. Global Patterns and Drivers of bee distribution. **Current Biology**, v.31, p.451-458, fev. 2021.
- PIMENTEL, C. A. et al. Própolis verde brasileira: citotoxicidade e potencial anti-inflamatório in vitro. **Brazilian Journal of development**, Curitiba, v.8, n.11, p. 76609-76626, nov., 2022.
- PRZYBYLEK, I., KARPINKI, T. M. Antibacterial Properties of Propolis. **Molecules**. v.24, n.2047, 2019.
- PUSHPANJALI, G. et al. Effect of lupeol on enzymatic and non-enzymatic antioxidants in type-2 diabetic adult male Wistar rats. **Drug Invention Today**, v. 12, n. 5, p. 873-876, 2019.
- RIBEIRO, V. P., et al. Brazilian brown propolis: An overview about its chemical composition, botanical sources, quality control, and pharmacological properties. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.33, p.288–299, 2023.
- RIPARI, N., et al. Propolis antiviral and immunomodulatory activity: a review and perspectives for COVID-19 treatment. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, V.73, p. 281–299, 2021.
- RODRIGUES, Carmem Regine Faleiro et al. In vivo evaluation of mutagenic and recombinagenic activities of Brazilian propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 96, p. 117-121, 2016.
- SAH, Kunal; CHANDRA, Sunira. Embalming with honey: Quest for an eco-friendly and non-toxic museum. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 27, n. 3, p. 533-536, 2023.
- SALATINO, Antonio; SALATINO, Maria Luiza Faria; NEGRI, Giuseppina. How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis?. **Apidologie**, p. 1-23, 2021.
- Sann, M., et al. Phylogenomic analysis of Apoidea sheds new light on the sister group of bees. **BMC evolutionary biology**, v.18, n.1 71, 2018.
- SCHEINER, Ricarda et al. Standard methods for behavioural studies of *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1-58, 2013.
- VL, Singleton. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SMITH, Michael L.; OSTWALD, Madeleine M.; SEELEY, Thomas D. Honey bee sociometry: tracking honey bee colonies and their nest contents from colony founding until death. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 553-563, 2016.

- 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.
- SOUZA, V. L. C., et al. Própolis vermelha e ação antifúngica: Potencialidades e desafios. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 28, n. 1, p. 174-187, 2024.
- SVEČNJAK, Lidija et al. Standard methods for *Apis mellifera* beeswax research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 2, p. 1-108, 2019.
- TAZAWA, Shigemi et al. Discovery of a novel diterpene in brown propolis from the state of Parana, Brazil. **Natural Product Communications**, v. 11, n. 2, p. 1934578X1601100218, 2016.
- THAKUR, Mamta; NANDA, Vikas. Composition and functionality of bee pollen: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 98, p. 82-106, 2020.
- TULLOCH, Alexander Patrick. Beeswax—composition and analysis. **Bee world**, v. 61, n. 2, p. 47-62, 1980.
- VIDAL, Maria de Fátima. **Potencial da produção de própolis no Nordeste**. 2021.
- WAL, Ankita et al. Lupeol as a magical drug. **Pharm. Biol. Eval**, v. 2, n. 5, p. 142-151, 2015.
- Wal, P., Wal, A., Sharma, G. and Rai, A.K. Biological Activities of Lupeol. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 2, n. 2, p. 96 -104, 2011.
- YANG, Juan et al. Research progress on therapeutic effect and mechanism of propolis on wound healing. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, n. 1, p. 5798941, 2022.