



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO QUIMICO
DEL EXTRACTO ETANOLICO
DE UN PROPOLEO RECOLECTADO
EN ACUEXCOMATL, XOCHIMILCO.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

PRESENTA

VILLAR MARTINEZ EDUARDO



MÉXICO, Cd. Méx.

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: **Dra. María Isabel Aguilar Laurents**
Vocal: **M. en C. José Manuel Mendez Stivalet**
Secretario: **Dr. José Fausto Rivero Cruz**
1er. suplente: **Dr. Mario Alberto Figueroa Saldivar**
2° suplente: **Dr. Abraham Madariaga Mazón**

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 111. Edificio E
Facultad de Química UNAM

Dr. José Fausto Rivero Cruz

Asesor del tema

M. en C. Jessica Granados Pineda

Asesora Técnica

Eduardo Villar Martínez.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Propóleo.....	4
2.1.1. Definición y generalidades.....	4
2.1.2. Aspectos históricos.....	6
2.1.3. Origen botánico.....	8
2.1.4. Distribución de los propóleos.....	9
2.1.5. Tipos de propóleo.	9
2.1.6. Composición química del propóleo	11
2.2. Propiedades biológicas y farmacológicas	12
2.2.1. Actividad antibacteriana.....	12
2.2.2. Actividad antifúngica	12
2.2.3. Actividad antiparasitaria y antriprotozoaria	13
2.2.4. Actividad antiviral	13
2.2.5. Actividad antioxidante	14
2.2.6. Actividad anticancerígena.....	14
2.2.7. Actividad antitumoral	15
2.2.8. Actividad inmunológica.....	15
2.2.9. Actividad antiinflamatoria	15
2.2.10. Actividad cardioprotectora.....	16
2.2.11. Actividad hepatoprotectora.....	16
2.2.12. Actividad antidiabética	16
2.3. Flavonoides	17
2.4. Propiedades biológicas y farmacológicas de los flavonoides.....	18
2.4.1. Actividad antiinflamatoria	18
2.4.2. Actividad anticancerígena.....	19
2.4.3. Actividad cardioprotectora	19
2.4.4. Actividad antioxidante	20
2.4.5. Actividad antiviral	21

2.4.6. Actividad antibacteriana.....	21
2.4.7. Regulación de glucosa en plasma.....	22
3. JUSTIFICACION	23
4. OBJETIVOS	25
4.1. Objetivo general	25
4.2. Objetivos particulares.....	25
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	26
5.1. Recolección del propóleo.....	26
5.2. Procedimientos generales de análisis	27
5.2.1. Análisis cromatográficos	27
5.2.2. Determinación de las constantes espectrométricas y espectroscópicas	27
5.3. Estudio fitoquímico.....	27
5.3.1. Preparación del extracto etanólico del propóleo	27
5.3.2. Fraccionamiento primario de EEP del Centro Ecológico Acuexcomatl Xochimilco.....	28
5.3.3. Fraccionamiento secundario del extracto de propóleo a partir de F-AcOEt.....	28
5.3.4. Purificación de 4',7-dimetilnaringenina.	29
5.3.5. Purificación del 4',7-dimetilkaempferol y kaempferida.	29
5.3.6. Aislamiento de la acetina presente en la fracción FX V: 11-13.	29
5.4. Procedimiento General	30
6. RESULTADOS Y DISCUSION.....	31
6.1. Elección del propóleo	31
6.2. Metabolitos aislados presentes en otros propóleos.....	32
6.2.1. 4',7-dimetilnaringenina.....	35
6.2.2. 4',7-dimetilkaempferol	36
6.2.3. Kaempferida	36
6.2.4. Acetina	37
6.3. Actividades farmacológicas y biológicas de los metabolitos aislados.....	39
6.3.1. 4',7-dimetilnaringenina.....	39
6.3.2. 4',7-dimetilkaempferol	40
6.3.3. Kaempferida	40

6.3.4. Acacetina	41
6.4. Estudio químico del propóleo	42
7. CONCLUSIONES.....	44
8. PERSPECTIVAS	45
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	46
10.REFERENCIAS ELECTRONICAS.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Abeja recolectando resinas.

Figura 2. Muestra de propóleo.

Figura 3. Patrón quimio-geográfico de los tipos de propóleo (Salatino, Fernandes-Silva, Righi, & Salatino, 2011).

Figura 4. Composición general de los propóleos (%).

Figura 5. Estructura básica de los flavonoides (Tenorio *et al.*, 2006).

Figura 6. Estructura química de las subclases de flavonoides más usuales (Tenorio *et al.*, 2006).

Figura 7. Estructura química de los flavonoides selectos aislados a partir de propóleos (Vargas *et al.*, 2013).

Figura 8. Regulación de glucosa en plasma en el organismo (Universidad Tecnológica Nacional, 2016).

Figura 9. Localización del Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl” y la ubicación de otros centros en el Distrito Federal.

Figura 10. Clima presente en el Distrito Federal. INEGI 2016.

Figura 11. Compuestos aislados del propóleo de Acuexcomatl Xochimilco.

Figura 12. Espectro de RMN-¹H de la 4',7-dimetilnaringenina.

Figura 13. Espectro de RMN-¹H del 4',7-dimetilkaempferol.

Figura 14. Espectro de RMN-¹H de kaempferida.

Figura 15. Espectro de RMN-¹H de la acacetina.

Figura 16. Sitios de recolección de propóleos de Portugal (Falco *et al.*, 2013).

Figura 17. Climas De México. INEGI 2016.

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Fraccionamiento del extracto etanólico de propóleo.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Tipos de propóleo de acuerdo al origen vegetal y componentes principales.

Cuadro 2. Fraccionamiento secundario de F-AcOET.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
EEP	Extracto etanólico de propóleo
CCF	cromatografía en capa fina
CCA	Cromatografía en columna abierta
VLC	Columna a presión reducida
UV	Luz ultravioleta
nm	Nanómetro
°C	Grado centígrado
DFS	Double Focus Sector
EV	Electrón-Volts
RMN- ¹ H	resonancia magnética nuclear protónica
RMN- ¹³ C	resonancia magnética nuclear para carbono 13
δ	Desplazamiento químico
MHz	Mega Hertz
ppm	Partes por millon
TMS	Tetrametilsilano
F-hex	fracción hexánica
F-AcOEt	fracción de acetato de etilo
g	Gramos
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
FX	Fracción
cm	Centímetro
mg	Miligramos
H ₂ O	agua
EM/IE	técnica de impacto electrónico
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
OMS	Organización mundial de la salud
INEGI	Instituto nacional de estadística y geografía.
ROS	Especies reactivas de oxígeno
O ₂ ⁻	Radical superóxido
COX	Ciclooxigenasa
LOX	lipooxigenasa
CAPE	fenetil éster del ácido cafeico

INTRODUCCION

A lo largo de la historia, los seres humanos han buscado en la naturaleza cómo obtener recursos para sus necesidades básica (Cragg y Newman, 2001). Muchos años de observación y experimentación han proporcionado conocimientos médicos en el uso de productos naturales (Alves y Rosa, 2013). A excepción de minerales y materiales sintéticos, nuestro entorno consiste enteramente en productos naturales orgánicos de origen orgánico prebiótico o de microorganismos, plantas o fuentes animales. Estos materiales incluyen policétidos, terpenos, aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, bases de ácidos nucleicos, ARN y ADN. La química de los productos naturales puede considerarse como originaria de la curiosidad de la humanidad sobre el olor, sabor, color y curas para enfermedades (Nakanishi, 1999).

Los griegos y los romanos contribuyeron substancialmente al desarrollo racional de la utilización de medicamentos herbarios en el mundo occidental antiguo. Dioscórides, médico griego (100 D.C), registró con precisión la colección, almacenamiento y uso de las hierbas medicinales durante sus viajes con los ejércitos romanos a lo largo del entonces "mundo conocido". Mientras que Galeno (130 – 200 D.C), un practicante y profesor de farmacia de la medicina en Roma, fue conocido por sus complejas recetas y fórmulas utilizadas en medicamentos compuestos (Cragg y Newman, 2013). Durante siglos, China ha conducido el mundo en el uso de productos naturales para la curación. Una de las primeras antologías de ciencia de salud en China es el Nei Ching, cuya autoría se atribuye al legendario emperador amarillo (30 A.C.). El número de hierbas medicinales usadas en 1979 en China ascendían a 5,267: entre ellas se encuentra el ginseng (*Panax ginseng*), una de las más famosas hierbas populares chinas, usada para el mantenimiento de la salud y tratamiento de las enfermedades (Nakanishi, 1999).

Los asirios dejaron 660 tabletas de arcilla que describen 1000 plantas medicinales utilizadas alrededor de 1900-400 A.C. Mientras que en la medicina egipcia el registro farmacéutico más conocido es el "papiro de Ebers" que data del 1500 A.C. (Nakanishi, 1999).; el cual documenta 700 drogas (principalmente plantas) e incluye fórmulas, como gárgaras, rapés, cataplasmas, infusiones, píldoras y ungüentos, con cerveza, leche,

vinificación y miel siendo utilizados como vehículos (Cragg y Newman, 2001). La medicina india también tiene una larga historia, posiblemente desde el segundo milenio A.C. La materia médica indígena consistió principalmente en drogas vegetales, preparadas de plantas y en ocasiones también de animales, huesos y minerales, por ejemplo, azufre, arsénico, plomo, sulfato de cobre y oro (Nakanishi, 1999).

Los productos naturales han proporcionado la inspiración para la mayoría de los ingredientes activos en medicamentos (Harvey, 2007). Un gran número de estos productos naturales tradicionalmente utilizados por varias culturas alrededor del mundo han llegado al mercado gracias al estudio científico (Cragg y Newman, 2013). Ejemplos notables en el área de medicamento contra el cáncer son la síntesis de análogos sintéticos de los metabolitos de organismos marinos, briostatin 1 (Wender *et al.*, 1998) y ecteinascidin 743 (Martinez *et al.*, 1999). La Investigación química y biológica para la búsqueda de productos naturales bioactivos novedosos implica la extracción, aislamiento, purificación (metodologías de aislamiento clásico de productos naturales) y elucidación de los compuestos (Dias *et al.*, 2012).

En este contexto, es importante mencionar que el propóleo es uno de los remedios comúnmente utilizados en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades debido a sus propiedades biológicas. Sin embargo, en el caso particular de México los estudios químicos y farmacológicos son escasos, por lo que en el presente proyecto se planteó determinar la composición química de una muestra de propóleo recolectada en el Centro Ecológico de Acuexcomatl en la Delegación Xochimilco.

El propóleo es un material resinoso aromático de constitución compleja, integrado por al menos 300 compuestos, es elaborado por las abejas a partir de exudados de diversas plantas y árboles que mezclan con secreciones salivares (Salatino *et al.*, 2011) Su coloración varía dependiendo de su origen botánico y edad (Ghisalberti, 1979). Es utilizado por las abejas como material de construcción del panal, pero su principal función es el de agente desinfectante contra diferentes microorganismos patógenos (Simone y Spivak, 2010). El propóleo es uno de los productos naturales conocidos desde tiempos ancestrales, y utilizado por diferentes culturas con diversos fines (empleado por los egipcios para embalsamar cadáveres), entre los que destaca la medicina debido a sus

propiedades farmacológicas y biológicas (Burdock, 1998; Kuropatnicki *et al.*, 2013). Así se le han atribuido propiedades tales como: antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiinflamatorio, antiulcerosos, antitumorales, inmunoestimulante, hepatoprotector entre otros (Bogdanov, 2014). Debido a los beneficios observados a lo largo de la historia de la humanidad el interés en el estudio de los propóleos se ha incrementado y en específico de los compuestos químicos que lo integran (Kumazawa *et al.*, 2004).

2. ANTECEDENTES

2.1. Propóleo

2.1.1. Definición y generalidades

El nombre del propóleo proviene etimológicamente del griego “propolis”, que significa en defensa de la ciudad o la colmena. Esta denominación se ha asignado a la sustancia resinosa recolectada por las abejas (*Apis mellifera* L.) la elaboración de este producto es a partir de exudados de árboles como: álamos (*Populus alba*, L.), sauces (*Salix babilónica*, L.), abedules (*Betula allegheniensis*, Briton), alisos (*Alnus sp*, Miller), castaños silvestres (*Castañea sativa*, Miller), pinos (*Pinus sp.*), enebros (*Juniperus communis*,L.), algunas plantas herbáceas, árboles cítricos y flores (**Figura 1**) entre muchos otros (Salamanca, 2005; Bedascarrasbure, 2006) . Estos insectos utilizan sus mandíbulas para recolectar las partículas resinosas, que mezclan con cera y secreciones salivales para transformarla en un producto de constitución compleja, integrado por al menos 300 compuestos (Salatino *et al.*, 2011). Desde 1960 numerosos estudios tienen relevancia de la variabilidad del propóleo dependiendo de la procedencia de la planta (Burdock, 1998).



Figura 1. Abeja recolectando resinas.

Las abejas utilizan el propóleo principalmente para el mantenimiento y reparación de la colmena lo usan para sellar huecos y orificios en la colmena evitando la entrada de animales y pequeños insectos, los cuales pueden invadir y transformarse en un peligro para la comunidad, sirve para regular la temperatura de la colonia y para cubrir el interior de la colmena para evitar las corrientes de aire (Burdock, 1998; Bankova, 2009; Carrillo *et al.*, 2011). Así mismo, disminuyendo la incidencia y proliferación de las bacterias, hongos y virus (Simone y Spivak, 2010).

El propóleo es de carácter lipofílico, duro y quebradizo (**Figura 2**) a bajas temperaturas, con un leve calentamiento se torna maleable y viscoso (Hausen *et al.*, 1987). Su coloración varía del amarillo-verdoso a marrón oscuro, lo cual se debe básicamente a su hábitat y a su antigüedad (Ghisalberti, 1979; Brown R, 1989). Por lo general posee un aroma placentero a yemas de álamo, miel, ceras y vainilla o se puede relacionar con la flora nativa del sector, en algunos casos los propóleos suelen ser amargos, picantes y hasta astringentes (Ghisalberti, 1979). El propóleo presenta una consistencia variable, dependiendo de su origen y la temperatura. Su punto de fusión oscila entre los 60-70 °C aunque en algunos casos puede llegar hasta 100 °C (Bankova *et al.*, 1992).



Figura 2. Muestra de propóleo.

2.1.2. Aspectos históricos

Los hombres a lo largo de la historia han domesticado abejas lo cual ha conducido a la explotación exhaustiva de los productos apícolas, y las muchas propiedades favorables de propóleo crudo y refinado se prestan para su aplicación en muchas actividades humanas. Hay una larga historia del uso de propóleos, al menos a 300 A.C. (Ghisalberti, 1979), y su uso continúa hoy en remedios caseros y productos personales (Burdock, 1998).

El propóleo es tan antiguo como la miel, y ha sido utilizado por el hombre por años. Hay registros que sugieren el uso del mismo por los antiguos egipcios, persas y romanos (Houghton, 1998).

Los egipcios habían aprendido de las abejas, como utilizar el propóleo como una sustancia de "embalsamamiento". Las abejas cubren el cadáver de un invasor, que fue asesinado por estas, con propóleo y cera (Nicolas, 1947). De esta manera las abejas frenan la propagación de la infección causada por la descomposición del cadáver (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

Los griegos utilizaron el propóleo como el principal ingrediente de polyanthus, perfume que combina propóleo, olíbano, estoraque y hierbas aromáticas (Bogdanov, 2014).

Los antiguos judíos consideran tzori (la palabra hebrea para propóleo) como medicina. Tzori y sus propiedades terapéuticas se mencionan en el Antiguo Testamento (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

Más de 15 autores griegos y romanos reportaron sobre la preparación y aplicación de propóleos, el supuesto tercer producto natural de las abejas (al lado de miel y cera) (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

Se dice que Hipócrates utilizó el propóleo para curar heridas y úlceras, tanto externas como internas (Dealey, 2005).

Pedаний Dioscórides, que vivió alrededor de 50 A.C., describe los usos médicos del propóleo en su principal trabajo de "Materia Médica". Aparte de propóleos, él menciona la miel, cera y diversos vinos de miel como medicina (Ransome, 1937).

En la edad media el uso del propóleo no era muy popular por lo cual desapareció de la medicina convencional. Sólo algunos manuscritos del propóleo sobrevivieron. Algunas fuentes del siglo describen preparados medicinales que contenían productos de abeja que fueron utilizados para el tratamiento de infecciones orales y faríngeas, así como caries dental. Afortunadamente el conocimiento de las propiedades medicinales del propóleo sobrevivió gracias a la medicina tradicional popular (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

El propóleo se ha utilizado en la medicina popular desde tiempos antiguos en muchos países y ha sido estudiado en países de Europa Oriental (Bankova *et al.*, 2000; Castaldo y Capasso, 2002).

El propóleo fue incluido en la farmacopea de Inglaterra en el siglo XVII como un ingrediente de ungüentos (Murray y Pizzorno, 2005).

A principios del siglo XIX el propóleo fue estudiado y descrito por Nicolas Louis Vauquelin, un francés farmacéutico y químico. Escribe que esa masilla es recogida por las abejas, es una sustancia de olor resinoso, dúctil, de color marrón rojizo (Caxton Press, 1824).

A principios del siglo XX se inició la investigación sobre la composición química del propóleo. Los primeros intentos para determinar la composición del propóleo se refiere al fraccionamiento simple. Dieterich y Helfenberg presentaron uno de los informes más tempranos donde mencionaban sus métodos de extracción y constituyentes del propóleo en alcohol, cloroformo y éter (Dieterich, 1908; Helfenberg, 1908).

Las numerosas propiedades del propóleo han sido apreciadas durante mucho tiempo. Sin embargo, a pesar de numerosos estudios llevados a cabo en todo el mundo hasta ahora, la constitución del propóleo sigue siendo desconocida. Requiere de más investigación que puede llevar a nuevos descubrimientos de su composición y sus posibles aplicaciones. (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

2.1.3. Origen botánico

El propóleo tiene más de 300 componentes, tales como polifenoles, flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, terpenos, esteroides y aminoácidos, pero su composición varía cualitativamente y cuantitativamente con el origen geográfico y botánico, esto es dependiendo de la vegetación en el sitio del cual se recolectó y el tiempo de colección (Serra *et al.*, 1994; Moreno *et al.*, 2000).

Algunas de las actividades biológicas observadas de los propóleos pueden atribuirse a los componentes químicos identificados que se derivan parcialmente de su alto contenido de flavonoides. Debido a las diferencias geográficas y botánicas, los propóleos de Europa, Sudamérica y Asia tienen diferentes composiciones químicas (Bankova *et al.*, 1992; Kumazawa *et al.*, 2004).

Los propóleos de Europa y China contienen muchos flavonoides y ésteres del ácido fenólico (Bankova *et al.*, 2000). Por el contrario, los componentes principales en el propóleo de origen brasileño son terpenoides y derivados prenilados del ácido *p*-cumárico.

También las diferencias genéticas entre razas de abejas de una misma región pueden llevar a la composición de diferentes propóleos, posiblemente debido a distintas preferencias hacia fuentes vegetales. La variación estacional en la composición del propóleo es probablemente un reflejo de la variación fenológica de las resinas de las principales fuentes de plantas (Bankova *et al.*, 1998).

Otra causa posible de la variabilidad en la composición del propóleo es la reducción en la disponibilidad de las fuentes principales de resina, para que el material alternativo provisto por las plantas comience a ser recolectado por las abejas (Salatino *et al.*, 2011).

2.1.4. Distribución de los propóleos

Salatino y cols (2011) clasifican a los propóleos en diferentes tipos de acuerdo a sus patrones quimio-geográficos (**Figura 3**). Los propóleos de tipo I de clima templado, son aquellos que se caracterizan por contener flavonoides sin sustitución en el anillo B y ésteres de fenilpropanoides. Los de tipo II son los propóleos verdes brasileños con presencia de fenilpropanoides prenilados y ácidos cafeoilquínicos. Los de tipo III son aquellos derivados del género *Clusia*, con benzofenonas polipreniladas. Los propóleos tipo IV son los que provienen del género *Macaranga*, los cuales contienen geranil flavonoides. Los tipos V son propóleos provenientes de Grecia, Creta y Turquía que contienen principalmente diterpenoides o antraquinonas.



Figura 3. Patrón quimio-geográfico de los tipos de propóleo (Salatino *et al.*, 2011).

2.1.5. Tipos de propóleo.

En el **Cuadro 1** se resumen los tipos de propóleo de acuerdo con sus componentes químicos y origen vegetal (Sforcin y Bankova, 2011).

Cuadro 1. Tipos de propóleos de acuerdo al origen vegetal y componentes principales.

Tipo de propóleo	Origen geográfico	Origen vegetal	Componentes mayoritarios	Autores
Álamo	Europa, Norte de América, Nueva Zelanda, Brasil	<i>Populus spp.</i> De la sección de Algeiros más a menudo <i>P. nigra</i> L.	Flavonas, flavononas, ácidos cinámicos y sus ésteres	Nagy <i>et al.</i> , 1986, Greenaway <i>et al.</i> , 1988, Markham <i>et al.</i> , 1996, Bankova <i>et al.</i> , 2000.
Verde Brasileño	Brasil	<i>Baccharis spp.</i> , predominantemente <i>B. dracunculifolia</i> DC.	Ácido <i>p</i> -cumárico prenilado, ácidos diterpénicos.	Salatino <i>et al.</i> , 2005.
Abedul	Rusia	<i>Betula verrucosa Ehrh</i>	Flavonas y flavononas (diferentes al de álamo)	Popravko, 1978.
Rojo	Cuba, Brasil, México	<i>Dalbergia spp.</i>	Isoflavonoides (isoflavonas, pterocarpanos)	Campo Fernandez <i>et al.</i> , 2008, Dausch <i>et al.</i> , 2008, Lotti <i>et al.</i> , 2010.
Mediterráneo	Sicilia, Grecia, Creta, Malta	<i>Cupressaceae</i> (especies no identificadas)	Diterpenos (principalmente ácidos de tipo labdano)	Trusheva <i>et al.</i> , 2003, Melliou y Chinou 2004, Popova <i>et al.</i> , 2010.
Clusia	Cuba, Venezuela	<i>Clusia spp.</i>	Benzofenonas polipreniladas	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , 2002, Trusheva <i>et al.</i> , 2004.
Pacífico	Regiones del Pacífico (Okinawa, Taiwan, Indonesia)	<i>Macaranga tanarius</i>	C-prenil-flavononas	Chen <i>et al.</i> , 2008, Kumazawa <i>et al.</i> , 2008.

2.1.6. Composición química del propóleo

La composición química del propóleo es compleja y varía de acuerdo con su botánica y origen fitogeográfico. Algunos estudios apuntan que el propóleo posee una composición química aproximada de 55% en resinas y bálsamos aromáticos (compuestos fenólicos como los flavonoides, flavonas, ácidos aromáticos, aldehídos aromáticos, cumarinas, terpenos, triglicéridos fenólicos), 30% ceras, 10% de aceites esenciales y 5% de polen (**Figura 4**), además de ello se han identificado otros constituyentes como ácidos orgánicos, aminoácidos, esterres, alcoholes, aldehídos y terpenos (Silice y Kutluca, 2005; Uzel *et al.*, 2005; Sahinler y Kaftanoglu, 2005). Esta resina también contiene pequeñas cantidades de azúcares simples, polisacáridos, vitaminas como la B1, B2, B6, C y E, antioxidantes, además de minerales como la plata, cesio, mercurio, lantano, antimonio, cobre, magnesio, hierro, calcio, aluminio, vanadio y silicio (Marcucci, 1994; Bankova, V., 2009; Bernal y Marrero, 2007). Otros estudios se están enfocando en determinar la composición química de los extractos etanólicos y acuosos del propóleo (EEP), así como la composición de sus compuestos volátiles (Vargas *et al.*, 2014).

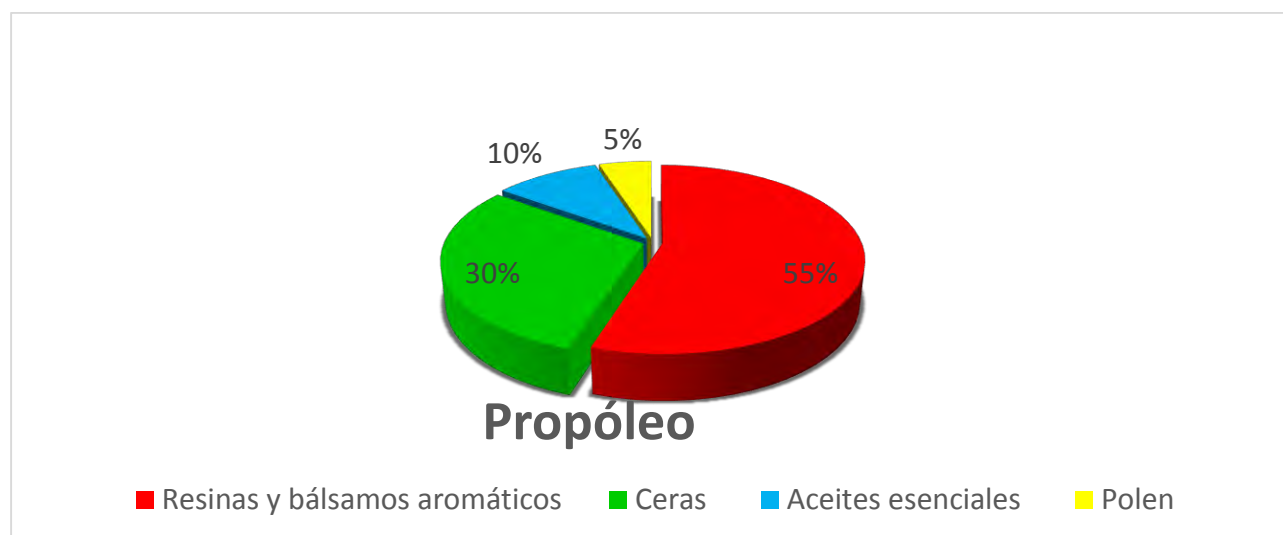


Figura 4. Composición general de los propóleos (%).

Otros compuestos asilados en forma recurrente de los EEP son polifenoles incluyendo flavonoides y ácidos fenólicos relacionados, los flavonoides son la parte más abundante y efectiva (Volpert y Elstner, 1993). Estos compuestos son los principales responsables de las actividades antibacteriana, antiviral y antioxidante descrita para los EEP (extracto etanólico de propóleo). Los principales flavonoides descritos en los EEP son la pinocembrina, galangina, crisina, quercentina, kaempferol y naringenina (Vargas *et al.*, 2014; Volpert y Elstner, 1993).

2.2. Propiedades biológicas y farmacológicas

2.2.1. Actividad antibacteriana

La acción contra microorganismos es una característica esencial del propóleo (Kalogeropoulos *et al.*, 2009). La actividad antibacteriana del propóleo fue confirmada por numerosos estudios. Se ha demostrado actividad antibacteriana contra bacterias tanto gram positivas y gram negativas, tipos aerobios y anaerobios (Bogdanov, 2014). El efecto antibacteriano del propóleo es bactericida (matar bacterias) (Madarová, 1980), inhibiendo su movilidad (Mirzoeva *et al.*, 1997).

Estudios han revelado la actividad antibacteriana contra *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium* (Uzel *et al.*, 2005), *Klesbsiella pneumoniae* (Victorino *et al.*, 2007). Con el incremento de resistencia a antibióticos en los últimos años hay un interés por parte de los hospitales hacia el propóleo como un agente antibacteriano. Se ha demostrado que el propóleo tiene efectos sinérgicos con acción antibiótica contra bacterias (Marcucci, 1994; Stepanović *et al.*, 2003; Onlen *et al.*, 2007).

2.2.2. Actividad antifúngica

El propóleo poplar es el producto de la abeja con la mayor actividad antifúngica, probado con 40 cepas de levadura de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Trichosporon spp* (Koc *et al.*, 2011). Varios autores han reportado sobre el efecto inhibitorio del extracto etanólico del propóleo sobre *Candida* usando propóleos de origen templado y tropical (Velikova *et al.*, 2000; Sawaya *et al.*, 2002). La investigación reciente sobre el propóleo ha mostrado efectos fungicidas en hongos como *Candida famata*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis* y *Pichia ohmeri* (Koc *et al.*, 2007).

2.2.3. Actividad antiparasitaria y antiprotozoaria

Se han realizado estudios donde se observa que el propóleo tiene actividad contra *Tripanosoma evansi* (Gressler *et al.*, 2012). El propóleo inhibe el crecimiento de los trofozoitos de *Giardia duodenalis* en cultivos expuestos a 125, 250 y 500 mg ml⁻¹ de propóleo (Freitas *et al.*, 2006). Por lo tanto puede actuar como un agente protector contra parásitos intestinales como *Schistosoma mansoni* (Issa, 2007) y *Giardia duodenalis* (Freitas *et al.*, 2006).

Se ha demostrado que los extractos etanólicos de propóleos brasileños reducen la infección en macrófagos por *Leishmania amazonensis*. Por otra parte, los extractos etanólicos de muestras de propóleos de Adana reducen significativamente la proliferación del parásito *Leishmania tropica in vitro* (Duran *et al.*, 2008). Se ha observado que los extractos de propóleo aumentan la longevidad de ratones infectados por *Trypanosoma cruzi*, esto da paso a los estudios para investigar la susceptibilidad de *Trypanosoma evansi* a propóleos, un parásito que es muy difícil de controlar con quimioterapia (Castro y Higashi, 1995).

2.2.4. Actividad antiviral

Lo más destacable del propóleo es su actividad contra el virus de la influenza, encontrado en distintos propóleos (Kujumgiev *et al.*, 1999) incluido el propóleo verde brasileño (Shimizu *et al.*, 2008). Las propiedades antivirales de propóleos se han sabido durante muchos años. En estudios de infección del virus de herpes simple de tipo 1 (VHS-1), *in vitro*: 0,5% de extracto de propóleos causa el 50% de inhibición de la infección de VHS-1, mientras que *in vivo*: 5% de propóleos previnieron la aparición y desarrollo de los síntomas de la infección por VHS-1 en animales (Huleihel y Isanu, 2002).

Algunos estudios se han realizado en la aplicación del propóleo en la infección genital por el virus del herpes simple del tipo 2 (VHS-2) el cual ha demostrado su efectividad. Estos efectos pueden ser beneficiosos en el tratamiento de sobreinfecciones como úlceras cervicales que son comunes en la infección por VHS en mujeres (Vynograd *et al.*, 2000).

2.2.5. Actividad antioxidante

Los efectos biológicos del propóleo pueden asociarse con su pronunciada actividad antioxidante (AO) (Potkonjak *et al.*, 2012). Los antioxidantes protegen contra el estrés oxidativo, el cual participa en el desarrollo de varias enfermedades crónicas, incluyendo enfermedades cardiovasculares y cáncer (Da Costa *et al.*, 2012). Marquele (2005) concluyó que la mejor actividad antioxidante de los extractos de propóleos estudiados de Brasil se encontró para el radical superóxido, seguido de inhibición de la peroxidación lipídica y radicales hidroxilo en el ensayo de desoxirribosa. En otros estudios se han investigado las propiedades antioxidantes del propóleo y han informado que son capaces de no sólo disminuir la peroxidación lipídica y daños en el ADN, sino también actuar como un neutralizador de radicales libres y reducir la producción de interferón gamma (INF-c) (Sá-Nunes *et al.*, 2003).

El extracto de propóleo reduce significativamente el estrés oxidativo inducido por clorpirifos (insecticida) en testículo de rata y el efecto protector del tratamiento previo con extracto de propóleo como agente de atenuación podría ser debido a sus propiedades antioxidantes (Attia *et al.*, 2012). El propóleo también induce la activación de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) (Jasprica *et al.*, 2007).

2.2.6. Actividad anticancerígena

Ozkul y colaboradores (2005) demostraron que el propóleo provoca la disminución de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica, lo cual indica que el propóleo puede ser un agente anticancerígeno. Algunos estudios demostraron que el fenetil éster del ácido cafeico (CAPE) y varios ésteres del ácido cafeico adicionales presentes en el propóleo, provocan la inhibición de las lesiones preneoplásicas colónicas inducida por azoximetano y actividades enzimáticas, incluyendo decarboxilasa de ornitina, tirosina quinasa y lipooxigenasa, asociados a la carcinogénesis de colon (Rao *et al.*, 1992). Además CAPE exhibe diferente toxicidad en células cancerígenas (Su *et al.*, 1995).

2.2.7. Actividad antitumoral

La propiedad quimiopreventiva del propóleo se ha analizado en modelos animales y cultivos celulares, observándose su amplia capacidad para inhibir la síntesis de DNA en células tumorales (Orsolich, 2010). La mayoría de los estudios ha indicado que, compuestos polifenólicos de propóleos como quercetina, luteolina, artemillina-C, ácido cafeico y CAPE exhiben efecto antitumoral. (Verma *et al.*, 1988; Sud'ina *et al.*, 1993). Los derivados de propóleo solubles en agua como el ácido cafeico, CAPE, y quercetina, disminuyen el número de nódulos tumorales en pulmón de ratón. La actividad de los compuestos puede estar relacionada con las propiedades inmunomoduladoras (activación de macrófagos) de estos, su citotoxicidad a las células tumorales y su capacidad para inducir apoptosis y necrosis (Orsolich *et al.*, 2004). CAPE provoca la inhibición del promotor tumoral mediado por procesos oxidativos el cual se ha reportado en células HeLa (Bhimani *et al.*, 1993).

2.2.8. Actividad inmunológica

El propóleo se ha utilizado empíricamente desde hace siglos y siempre fue mencionado como un agente inmunomodulador. En los últimos años ensayos *in vitro* e *in vivo* proporcionan nueva información sobre sus mecanismos de acción (Sforcin, 2007). En modelos de inmunosupresión, la administración de un derivado de propóleo soluble en agua (50 mg/Kg) a ratones previno los efectos de la ciclofosfamida mejorando la tasa de supervivencia de los animales. Otras investigaciones sugieren que el propóleo modula la inmunidad no específica a través de la activación de los macrófagos (Dimov *et al.*, 1991). El propóleo (0.2-1.0 mg/ml) estimula la producción de citoquinas, como IL-1 β y TNF- α , por los macrófagos peritoneales de ratones (Moriyasu *et al.*, 1994). En la evaluación de los efectos *in vitro* de propóleo sobre la activación de los macrófagos, se demostró que 5, 10 y 20 μ g/ml de propóleo aumentaron la generación de agua oxigenada (H₂O₂) por estas células (Orsi *et al.*, 2000).

2.2.9. Actividad antiinflamatoria

La inflamación es una respuesta biológica compleja por parte de los tejidos vasculares a estímulos, tales como patógenos, células dañadas, irritaciones, así como radicales libres. La actividad antiinflamatoria está delimitada como consecuencia primaria del sistema de

defensa del hospedero (Bogdanov, 2014). Almeida y Menezes (2002) estudiaron la actividad antiinflamatoria del propóleo. Ellos observaron que el propóleo tiene efectos inhibitorios sobre la actividad mieloperoxidasa, NADPH-oxidasa decarboxilasa de ornitina, tirosina quinasa e hialuronidasa de las células del conejillo de Indias. Esta actividad antiinflamatoria puede ser explicada por la presencia de flavonoides activos y derivados del ácido cinámico.

2.2.10. Actividad cardioprotectora

La modulación de marcadores de enfermedad cardiovascular por propóleo se ha demostrado en varios estudios. Ensayos *in vitro* e *in vivo* se han desarrollado para dilucidar los mecanismos moleculares de este efecto beneficioso: como la regulación del metabolismo de la glucosa y de la lipoproteína, modulación de la expresión génica, disminución de la actividad de los receptores scavenger, citoquinas inflamatorias y el estrés oxidativo, mejora de la función endotelial, y la inhibición de la agregación plaquetaria (Daleprane y Abdalla, 2013).

2.2.11. Actividad hepatoprotectora

Los compuestos fenólicos son conocidos por tener una función hepatoprotectora. La actividad hepatoprotectora para diferentes tipos de propóleos se ha reportado, los cuales se correlacionan con la actividad antioxidante (Banskota *et al.*, 2000; Banskota *et al.*, 2001). El propóleo contrarresta los efectos hepatotóxicos de la lesión hepática del alcohol en ratones (Remirez *et al.*, 1997) y también por daños inducidos por paracetamol en el hígado de ratones (Gonzalez *et al.*, 1994) y de tetracloruro de carbono en ratas (González *et al.*, 1995).

2.2.12. Actividad antidiabética

Matsushige (1996) evaluó el efecto protector del propóleo en células- β contra la toxicidad de la estreptozocina (STZ) en ratas. Demostró que el extracto acuoso de propóleo posee un efecto preventivo en la destrucción de las células β -pancreáticas al inhibir la generación del IL-1 β , la actividad de la óxido nítrico sintasa y la captación de radicales libres, estas actividades inhibitorias son los factores principales para el efecto protector de los extractos acuosos del propóleo contra la toxicidad de STZ.

2.3. Flavonoides

Químicamente los flavonoides son metabolitos secundarios de bajo peso molecular que se encuentran en plantas vasculares. Estructuralmente, pueden ser considerados como fenilbenzo-pironas (fenilcromonas) compuestos de dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos mediante un anillo heterocíclico de pirano o pirona (anillo C) (**Figura 5**) (Tenorio *et al.*, 2006).

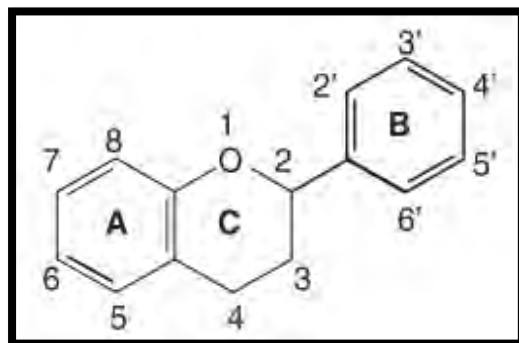


Figura 5. Estructura básica de los flavonoides (Tenorio *et al.*, 2006).

De acuerdo a los sustituyentes presentes en estas tres estructuras cíclicas, se subdividen en función de la presencia o ausencia de un doble enlace entre los carbonos 4 y 5 del anillo C, de la presencia o ausencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 del anillo C, y la presencia de grupos hidroxilo en el anillo B. En función de sus sustituyentes químicos los flavonoides se clasifican en flavonoles, antocianidinas, flavonas, flavononas, y chalconas (**Figura 6**) (Tenorio *et al.*, 2006). Estos compuestos tienen efectos muy importantes en la bioquímica y fisiología de las plantas, en donde actúan como antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tóxicas, así como en la formación de pigmentos y filtros solares (Smith y Banks, 1986). También están involucrados en mecanismos de fotosensibilización y de transferencia de energía, regulando así las reacciones de crecimiento, de control de la respiración, la fotosíntesis, la morfogénesis, la determinación sexual y la defensa contra infecciones (Firmin *et al.*, 1986; Djordjevic *et al.*, 1987)

Los componentes farmacológicamente más activos presentes en el propóleo son los flavonoides (flavonas, flavonoles, flavononas, antocianidinas e isoflavonas) y otros derivados fenólicos y aromáticos. Los flavonoides son los responsables de la mayoría de

las actividades biológicas en el propóleo y la miel (Uzel *et al.*, 2005; Pырzynska y Biesaga, 2009). Se ha reconocido que en el hombre los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antimicrobianas y anticarcinogénicas (Gabor, 1979; Havsteen, 1984; Selway, 1986; Carroll *et al.*, 1998).

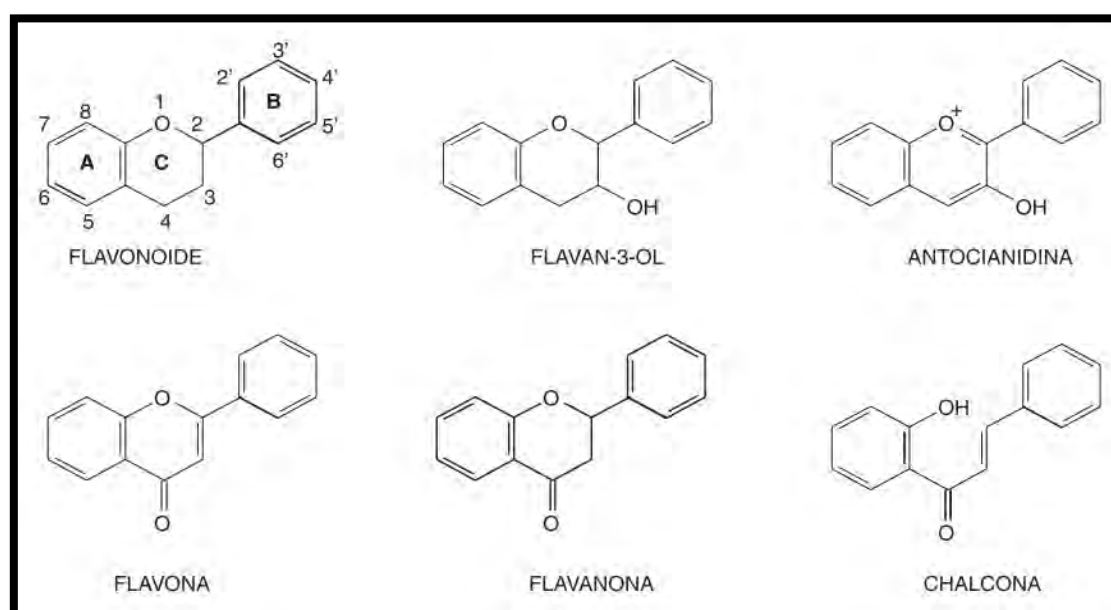


Figura 6. Estructura química de las subclases de flavonoides más usuales (Tenorio *et al.*, 2006).

De los flavonoides con actividad biológica encontrados en los propóleos destaca la presencia de la flavanona pinocembrina, otros flavonoides también han sido descritos como los compuestos más comunes encontrados en los extractos etanólicos de los propóleos, de los cuales destacan la crisina, pinobanksina, kaempferol, naringenina, acacetina, apigenina y galangina (**Figura 7**) (Vargas *et al.*, 2013).

2.4. Propiedades biológicas y farmacológicas de los flavonoides

2.4.1. Actividad antiinflamatoria

Funakoshi-Tago y colaboradores (2015) estudiaron el efecto antiinflamatorio del propóleo de Nepal, el cual contiene cuatro tipos de flavonoides: 3', 4'-dihidroxi-4-metoxidalbergiona, 4-metoxidalbergiona, cearoin y crisina, los cuales inhiben la expresión de mRNA de IL-33-inducida de genes inflamatorios incluidos IL-6, TNF α y IL-13 en

mastocitos de célula ósea. Estos cuatro flavonoides también inhiben la activación de IL-33-inducida del factor nuclear κ B (NF- κ B), con sus efectos inhibitorios sobre la expresión de citoquinas. Los efectos de estos flavonoides se atribuyen a la inhibición de la activación de IL-33-inducida de I κ B quinasa (IKK), que conduce a la degradación de I κ B α y la localización nuclear de NF- κ B.

2.4.2. Actividad anticancerígena

Componentes dietéticos como los flavonoides han demostrado consistencia para conferir protección y hasta la remisión del proceso carcinogénico (Ozkul *et al.*, 2005). Se ha reportado que los flavonoides interfieren en la iniciación, promoción y progresión del cáncer modulando diferentes enzimas y receptores en las vías de transducción de señales relacionados con la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, inflamación, angiogénesis, metástasis y reversión de la multiresistencia. Los flavonoides inhiben con eficacia enzimas como la xantina oxidasa, COX (ciclooxigenasa) y LOX (lipooxigenasa) que participan en la inflamación y las patologías del cáncer (Ravishankar *et al.*, 2013).

2.4.3. Actividad cardioprotectora

Los mecanismos implicados en la acción beneficiosa de los flavonoides sobre el riesgo cardiovascular, pueden estar relacionados con sus propiedades antioxidantes, inhibición de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), inhibición de la agregación plaquetaria, modulación de la función endotelial y con propiedades antihipertensivas (Luis y Aller, 2008). Chopra (1995) estudió el efecto individual de algunos flavonoides como la rutina, en ratas con miocardiopatía, enfermedad producida por el estrés oxidativo. Una dieta rica en flavonoides disminuye el riesgo de muerte por enfermedad coronaria y baja la incidencia de infartos al miocardio.

La oxidación de las LDL es uno de los factores clave en la patogénesis de la aterosclerosis. Las células endoteliales, las del músculo liso y los macrófagos producen radicales libres y favorecen la oxidación de las LDL. Las LDL oxidadas son agentes quimiotácticos para macrófagos y monocitos, originando su acumulación en la íntima. Los flavonoides neutralizan el anión superóxido, el radical hidroxilo y el radical lipoperóxido previniendo la oxidación de LDL, lo que podría explicar los efectos protectores de los flavonoides en las enfermedades cardiovasculares. La catequina y la quercetina

funcionan como tampones, pues pueden captar directamente especies reactivas de oxígeno (ROS), como el radical superóxido (O_2^-), agua oxigenada (H_2O_2) o ácido hipocloroso ($HOCl$), además quelan iones metálicos de transición (hierro y cobre), lo que evita la formación de ROS (Luis y Aller, 2008).

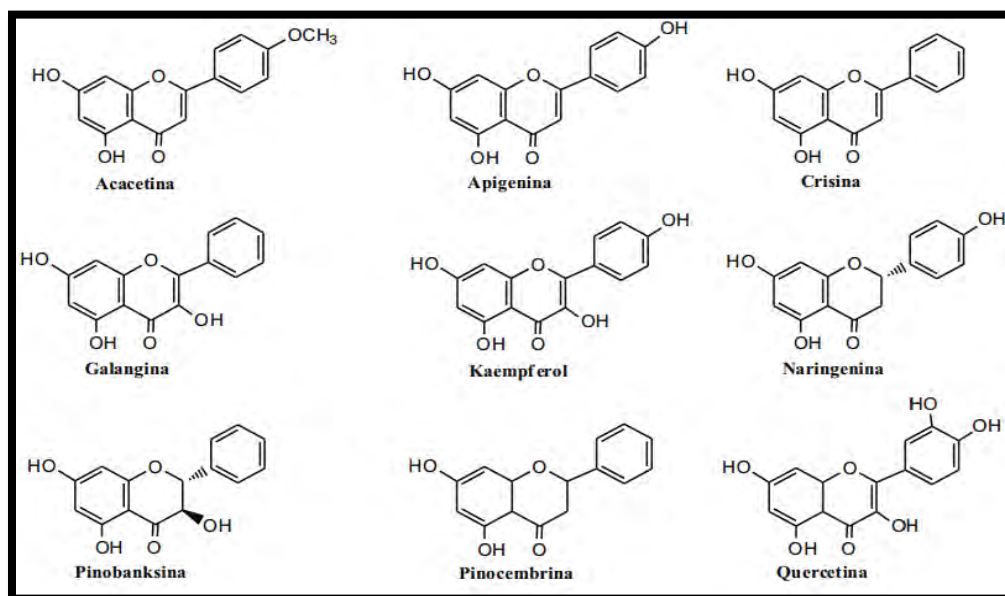


Figura 7. Estructura química de flavonoides selectos aislados a partir de propóleos (Vargas *et al.*, 2013).

2.4.4. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos de propóleo es principalmente atribuida a su contenido en flavonoides, que es capaz de neutralizar los radicales libres y brindar protección contra la peroxidación lipídica (Yousef y Salama, 2009). Los flavonoides inhiben a la lipooxigenasa, xantina oxidasa, la NADPH oxidasa, la fosfolipasa A2, la ciclooxigenasa, la mieloperoxidasa, los flavonoides al ser quelantes y secuestradores de radicales libres, cumplen con su función de antioxidantes. También estimulan a la enzima superóxido dismutasa y a la catalasa las cuales presentan de igual forma propiedades antioxidantes (Enciso y Arroyo, 2011).

La capacidad antioxidante de los flavonoides depende en gran medida del arreglo de sus grupos funcionales sobre su estructura nuclear. El arreglo espacial de sus sustituyentes es quizás el factor determinante de la actividad antioxidante de los flavonoides. Tanto la

configuración y el número total de grupos hidroxilo influyen sustancialmente en muchos mecanismos de la actividad antioxidante (Martens y Mithöfer, 2005).

2.4.5. Actividad antiviral

El propóleo brasileño muestra actividad contra el virus de la influenza en pruebas *in vitro* e *in vivo*. Sus componentes eficaces, flavonoides y compuestos relacionados, fueron examinados contra el virus de la influenza en ensayos *in vitro* e *in vivo*. Los flavonoides apigenina y kaempferol exhibieron una actividad antiviral significativa contra el virus de la influenza en ensayos de reducción de placa. La administración oral de kaempferol fue significativamente eficaz en prolongar los tiempos de supervivencia y la reducción de títulos de virus en los fluidos de lavado broncoalveolar de ratones infectados por el virus de la influenza. El kaempferol, exhibió eficacia terapéutica para limitar los síntomas de la gripe en ratones y está indicado para contribuir a la actividad *in vivo* contra el virus de la influenza (Kai *et al.*, 2014).

2.4.6. Actividad antibacteriana

Choi y colaboradores (2006) evaluaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de propóleos, encontrando un efecto frente a *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos Gram positivos, lo cual fue correlacionado con la presencia de flavonoides. Velázquez y colaboradores (2007) de igual forma evaluaron la actividad antimicrobiana de muestras de propóleos colectadas en diferentes áreas del desierto de Sonora (Noroeste de México), para ello emplearon bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Listeria monocytogenes*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), y utilizaron diferentes concentraciones de extracto metanólico de propóleo. Encontraron que en todas las concentraciones de propóleo evaluadas, no se presentó efecto sobre las bacterias Gram negativas. Mientras que en las bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo sobre el que se encontró la más alta efectividad. Esta actividad fue correlacionada con la presencia de algunos compuestos fenólicos: acacetina, crisina, galangina, pinocembrina, pinobanksina y naringenina. El mecanismo antimicrobiano de los flavonoides presentes en el propóleo involucra la inhibición de ácidos nucleicos y la degradación de la membrana citoplasmática (Vargas *et al.*, 2013).

2.4.7. Regulación de glucosa en plasma.

Una dieta rica en compuestos polifenólicos, en específico de flavonoides influcnía la absorción y metabolismo de la glucosa, resultando en una disminución del índice glucémico, el cual se define como la velocidad con que se absorbe la glucosa en el organismo a partir de un alimento. Al consumir porciones normales de alimentos ricos en flavonoides, existe una reducción en la concentración de insulina en plasma después de la comida, así como la disminución del polipéptido insulínico dependiente de glucosa, lo que sugiere que una dieta rica en polifenoles reduce la velocidad de absorción de la glucosa en el organismo (**Figura 8**) y por lo tanto la incidencia de nefropatías en la diabetes tipo II (Andersen y Markham, 2006).

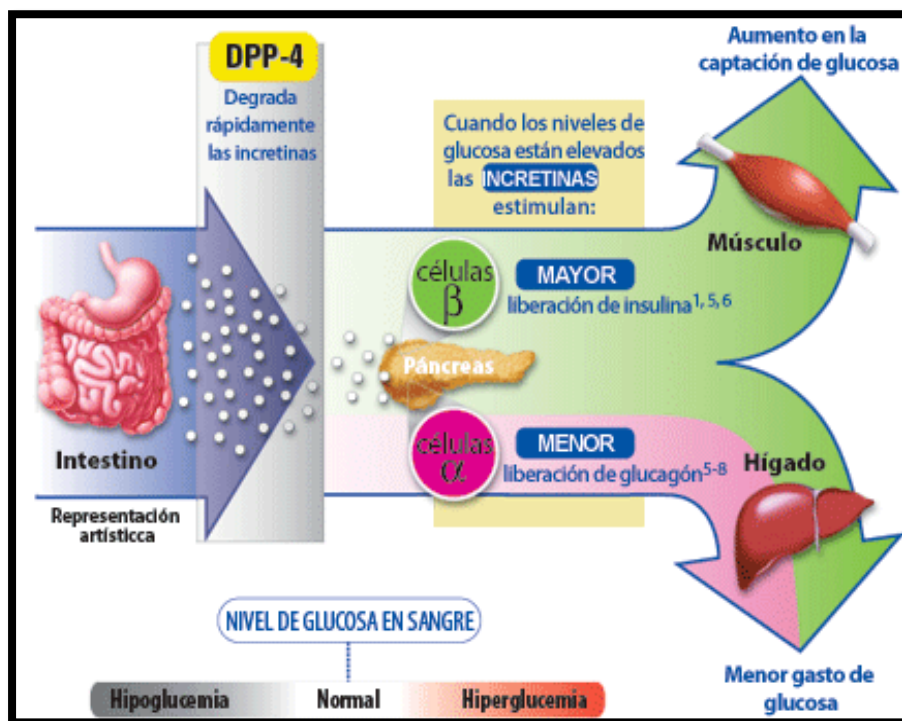


Figura 8. Regulación de glucosa en plasma en el organismo (Universidad Tecnológica Nacional, 2016).

3. JUSTIFICACION

La medicina tradicional abarca una amplia variedad de terapias y prácticas que varían entre países y entre regiones. En algunos países se denomina medicina alternativa o complementarias (OMS, 2015). Se viene utilizando desde hace miles de años, sus practicantes han contribuido enormemente a la salud humana, en particular como proveedores de atención primaria de salud a nivel de la comunidad. La medicina tradicional ha mantenido su popularidad en todo el mundo. Esta es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencia indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (OMS, 2015).

Es importante resaltar que la atención primaria de salud de hasta un 80% de la población de los países en desarrollo se basa en la medicina tradicional, por tradición cultural o porque no existen otras opciones. En los países ricos, muchas personas recurren a diversos tipos de remedios naturales (OMS, 2004).

La medicina tradicional contribuye a la consecución de la meta de una cobertura universal, y muy especialmente en un período en que las enfermedades crónicas no transmisibles han superado a las enfermedades infecciosas como la principal causa de muertes del mundo (OMS, 2015).

En la actualidad los productos naturales representan una excelente alternativa para el tratamiento y la prevención de las enfermedades en los países en desarrollo (Castaldo y Capasso, 2002). Al igual que la miel, el propóleo se conoce desde la más remota antigüedad y ha sido ampliamente utilizado por diferentes culturas con diversas finalidades, entre ellas en medicina. Con el posterior desarrollo de la química farmacéutica, y al igual que ocurrió con los tratamientos fitoterápicos, el propóleo dejó prácticamente de utilizarse. Recientemente se observa un resurgir en el uso del propóleo, debido a su alta gama de propiedades biológicas y farmacológicas (actividad antiviral, antifúngico, antiinflamatorio, cicatrizante, anestésica, anticancerígena, antioxidante y antibacteriana), se ha constituido como uno de los materiales vegetales más estudiados

en el mundo. En la actualidad el avance de las técnicas analíticas han permitido conocer mejor su composición química y estudiar las propiedades farmacológicas y biológicas de sus componentes, para su uso en la biología y medicina, entre los que destacan su aplicación como suplemento dietético y en la industria farmacéutica (Farré *et al.*, 2004; Bogdanov 2014).

Uno de los mayores problemas presentes en el propóleo es la variabilidad de su composición química, esta es dependiente del sitio de colecta, de los distintos ecosistemas, de la época del año, el tipo de cosecha empleado y de las secreciones de las fuentes principales de donde las abejas obtienen las resinas (Serra *et al.*, 1994; Burdock, 1998; Bankova *et al.*, 2000;)

Es por ello que el conocimiento de la composición química del propóleo es un aspecto muy importante, ya que esto permite correlacionar su composición química con la actividad biológica y farmacológica de los mismos (Bankova *et al.*, 1992; Kumazawa *et al.*, 2004), estos beneficios están asociados a distintos compuestos, específicamente a los flavonoides (Vargas *et al.*, 2013). Por tal motivo se ha incrementado el estudio de los compuestos presentes en el propóleo. En México los estudios químicos y biológicos de los propóleos son escasos, a pesar que la mayoría de la población lo utiliza como auxiliar en el tratamiento de enfermedades, esto provoca que no se pueda avalar la efectividad medicinal en el uso tradicional de los propóleos mexicanos. Los estudios químicos y biológicos, son de suma importancia ya que hacen posible que el propóleo sea mejor aceptado en la medicina, pues estos garantizan su calidad, seguridad y eficacia. El interés de estudiar a los propóleos, no solo es para conocer su composición química, sino ayudar a las necesidades de los productores, indicando cuales son los beneficios que puede otorgar a su producto la presencia de algunos compuestos en particular, lo cual les brinde confiabilidad, ventaja y permita mejorar su comercialización frente a apicultores extranjeros (SAGARPA, 2013).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar la composición química Aislar los flavonoides mayoritarios de un propóleo recolectado en el Centro Ecológico de Acuexcomatl en la Delegación Xochimilco.

4.2. Objetivos particulares

1. Realizar una revisión bibliográfica exhaustiva sobre las actividades biológicas y los compuestos aislados de propóleos en el mundo.
2. Preparar el extracto etanólico de propóleo recolectado.
3. Fraccionar el extracto etanólico de propóleo mediante un método de partición líquido-líquido.
4. Realizar el fraccionamiento secundario del extracto utilizando cromatografía en columna.
5. Aislar y purificar los compuestos utilizando métodos cromatográficos.
6. Establecer la estructura molecular de los metabolitos secundarios aislados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1. Recolección del propóleo

La muestra de propóleo fue recolectada en Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl” ubicado en el Pueblo de San Luis Tlaxialtemalco, en la Delegación Xochimilco (Figura 9).

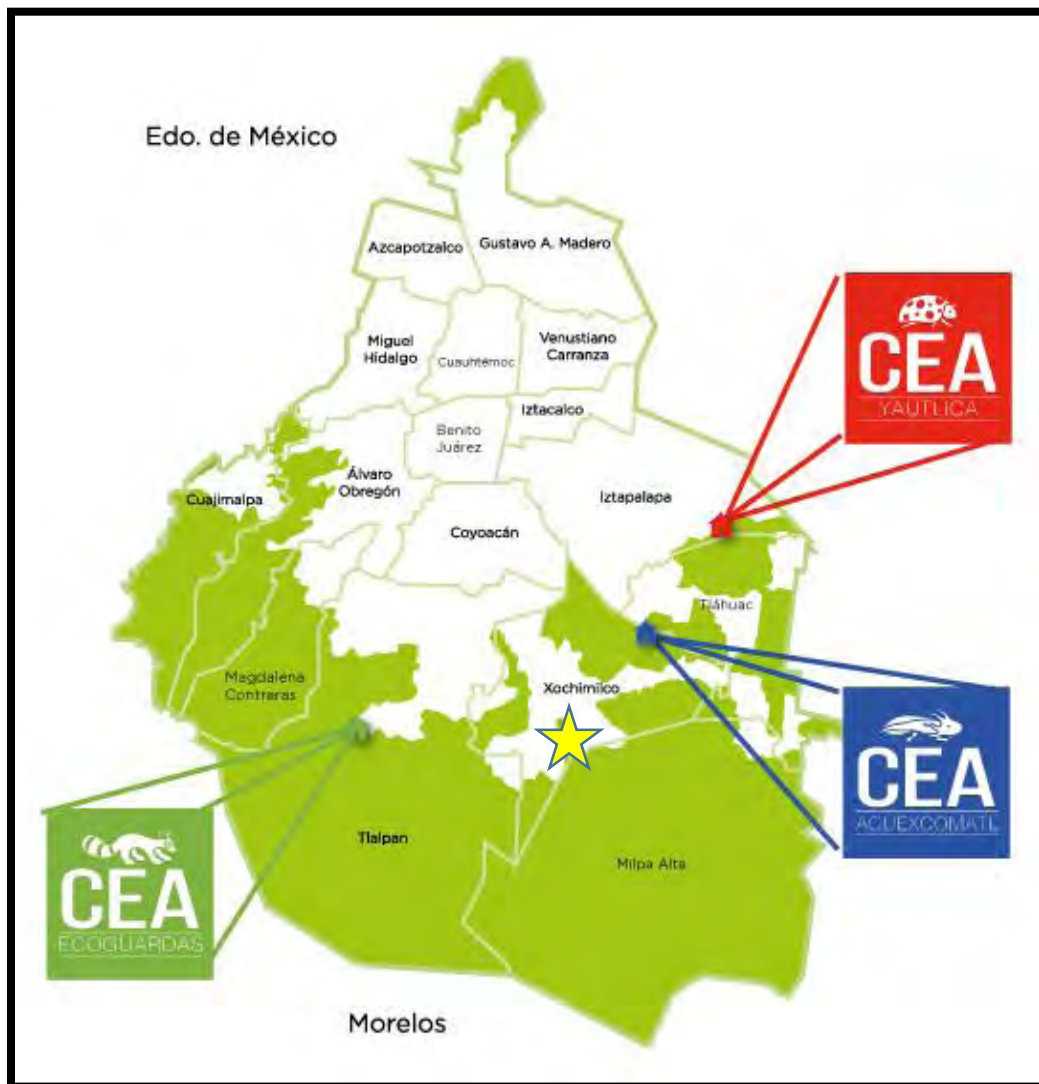


Figura 9. Localización del Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl” y la ubicación de otros centros en el Distrito Federal.

5.2. Procedimientos generales de análisis

5.2.1. Análisis cromatográficos

Para las columnas cromatográficas en columna abierta (CCA) se utilizaron como adsorbentes Sephadex LH-20 (Fluka) y Poliamida 6. Además, se realizó cromatografía en columna al vacío sobre gel de sílice 60 (Merck).

Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) se realizaron sobre placas de aluminio de diversas dimensiones cubiertas con gel de sílice (60 F₂₅₄ Merck, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm) y empleando diversos sistemas de elución. Las placas se visualizaron bajo la luz ultravioleta (UV) (onda corta, 254 nm y onda larga, 365 nm) posteriormente fueron reveladas con vainillina sulfúrica al 1%, seguido de calentamiento (110°C).

5.2.2. Determinación de las constantes espectrométricas y espectroscópicas

Los análisis espectroscópicos y espectrométricos se realizaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y la Industria (USAII) ubicado en el Edificio H de la Facultad de Química de la UNAM.

Los espectros de masas fueron generados por la técnica de impacto electrónico (EM/IE) se determinaron en un Thermo Electron modelo DFS (Double Focus Sector), introducción directa a 70 eV.

Los espectros de resonancia magnética nuclear para protón (RMN-¹H, 400 MHz) y carbono 13 (RMN-¹³C, 100Hz) se registraron en un equipo Varian modelo VNMRS400. Las muestras se disolvieron en CDCl₃, DMSO-*d*₆, MeOH-*d*₄ y acetona-*d*₆, según el caso. Los desplazamientos químicos se expresan en el parámetro δ (ppm) y están referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia.

5.3. Estudio fitoquímico

5.3.1. Preparación del extracto etanólico del propóleo

El propóleo se extrajo por maceración a temperatura ambiente utilizando etanol durante un periodo de una semana. Posteriormente, el extracto se filtró y el disolvente se eliminó con el auxilio de un rotavapor. Este proceso permitió obtener un extracto de color marrón (137.4 g).

5.3.2. Fraccionamiento primario de EEP del Centro Ecológico Acuexcomatl

Xochimilco.

El fraccionamiento primario del extracto se realizó mediante un proceso de partición líquido-líquido. El extracto etanólico de propóleo (EEP) se suspendió en una mezcla metanol-agua (1:1) y posteriormente se realizó el proceso de partición con hexano y acetato de etilo, sucesivamente. Este proceso permitió obtener dos fracciones: la fracción hexánica (F-hex) (70.2 g) y la fracción de acetato de etilo (F-AcOEt) (67.2 g).

5.3.3. Fraccionamiento secundario del extracto de propóleo a partir de F-AcOEt.

La fracción de acetato de etilo se sometió a un fraccionamiento secundario empleando cromatografía en columna al vacío (VLC, 10 x 30 cm) y como eluyente mezclas de CH₂Cl₂-acetona en diferentes proporciones (100-0 a 0-100), lo cual permitió la obtención de 34 fracciones que fueron agrupadas de acuerdo a su similitud cromatográfica en 10 fracciones secundarias. En el cuadro 2 se muestra un resumen de este proceso.

Cuadro 2. Fraccionamiento secundario de F-AcOEt.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-6	CH ₂ Cl ₂	100
7-11	CH ₂ Cl ₂ -acetona	98:2
12-15	CH ₂ Cl ₂ -acetona	95:5
16-22	CH ₂ Cl ₂ -acetona	90:10
23-27	CH ₂ Cl ₂ -acetona	85:15
28-30	CH ₂ Cl ₂ -acetona	80:20
31-32	CH ₂ Cl ₂ -acetona	50:50
33-34	acetona	100

5.3.4. Purificación de 4',7-dimetilnaringenina.

La fracción FX I: 1-2 se concentró a sequedad con la ayuda de un rotavapor. Posteriormente se disolvió en metanol y se sembró en una columna abierta de Sephadex LH-20 (50 x 2 cm) como fase estacionaria y se eluyó con metanol. A partir de la fracción 15 se obtuvo un sólido blanco (13 mg) que se caracterizó por RMN- H^1 como 4',7-dimetilnaringenina.

5.3.5. Purificación del 4',7-dimetilkaempferol y kaempferida.

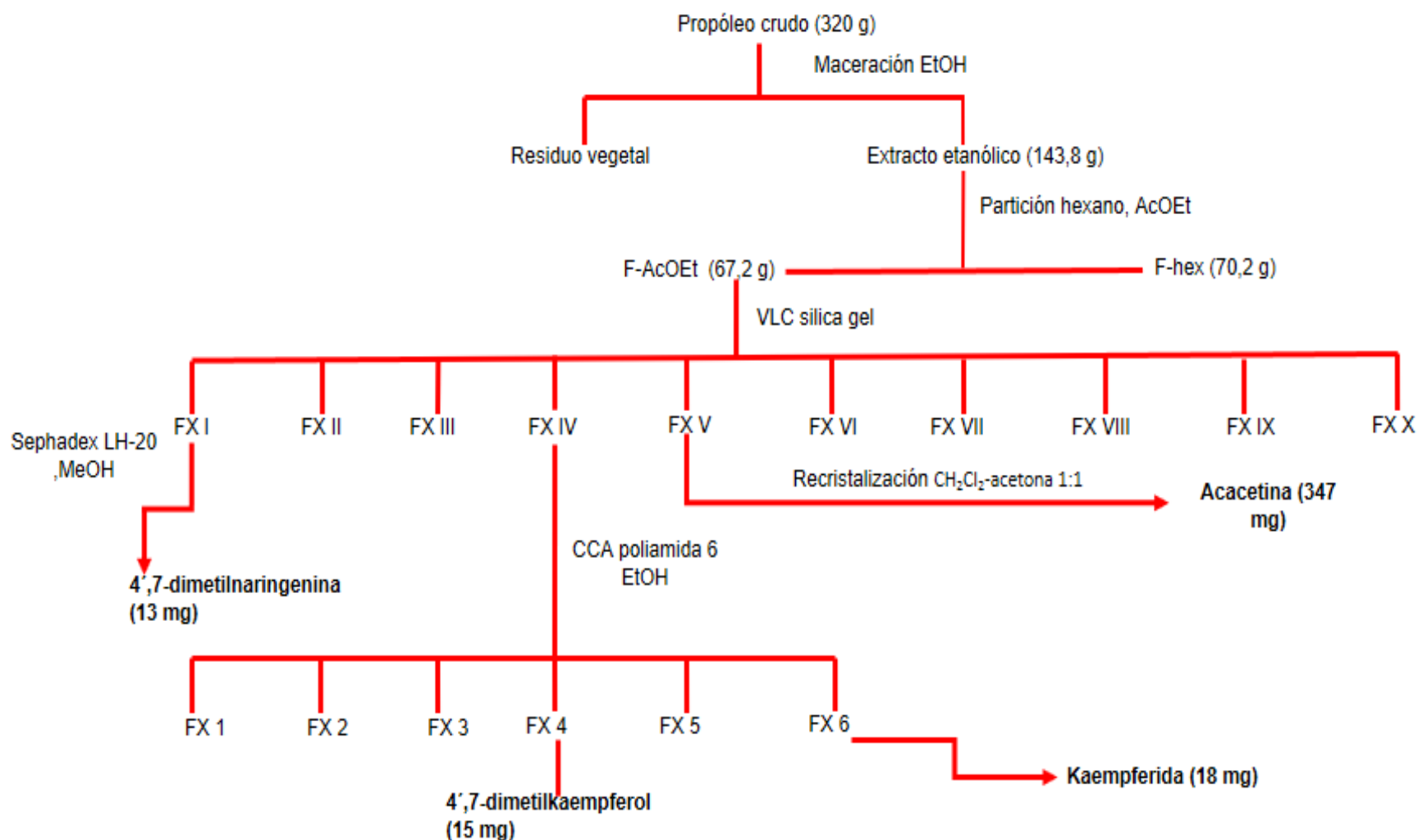
A partir de la fracción FX IV: 8-10, precipitó un sólido amarillo que se sembró en una columna abierta de poliamida 6 como fase estacionaria y etanol como fase móvil.

Se obtuvieron 34 fracciones, que fueron reunidas por similitud cromatográfica en 6 fracciones combinadas. En la fracción 4 se obtuvo un sólido amarillo (15 mg) que se caracterizó por RMN- H^1 como el 4',7-dimetilkaempferol. Mientras que de la fracción 6 se aisló un compuesto amarillo (18 mg) caracterizado por RMN- H^1 como kaempferida.

5.3.6. Aislamiento de la acetina presente en la fracción FX V: 11-13.

De la fracción secundaria FX V: 11-13 precipitó de manera espontánea un sólido amarillo que posteriormente se recrystalizó con CH_2Cl_2 -acetona 1:1 en frío para obtener 347 mg de un sólido que se caracterizó por RMN- H^1 como acetina.

5.4. Procedimiento General



6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Elección del propóleo

El propóleo debido a su alta gama de propiedades biológicas y farmacológicas se ha constituido como uno de los materiales vegetales más estudiados en el mundo. Los estudios que se realizan se hacen para conocer su composición química y propiedades biológicas. Sin embargo, en el caso particular de México los estudios químicos y farmacológicos son escasos a pesar que la mayoría de la población lo utiliza como auxiliar en el tratamiento de enfermedades, esto provoca que no se pueda avalar la efectividad medicinal en el uso tradicional de los propóleos mexicanos. A la fecha gran parte de los estudios se han hecho con muestras de propóleo provenientes de regiones de Europa, Brasil, China y Cuba (Salatino *et al.*, 2011).

La muestra de propóleo estudiada fue recolecta en el Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl” ubicado en el Pueblo de San Luis Tlaxialtemalco, en la Delegación Xochimilco, la cual presenta un tipo de clima templado subhúmedo (**Figura 10**) donde la temperatura media anual es de 16°C (INEGI, 2016).

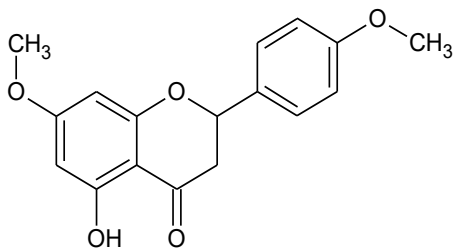
La vegetación propia de la zona lacustre está formada principalmente por ahuejotes, típicos de la región. Otros árboles que también bordean los canales son las casuarinas, sauces, alcanfores y eucaliptos. A la orilla de los canales se encuentran espadañas, hojas de flecha, alcatraces, tule, navajillo, lirio y ninfa amarilla, blanca y salmonada, esta última en peligro de extinción. En las partes elevadas hay pequeñas zonas de bosque mixto con algunos pinos, cedros, ahuehuetes, ocotes, encinos y tepozanes. En zonas de mayor altura se hallan árboles de capulín, durazno, nuez, zapote blanco, higo, breva, tejocote, alcanfor, jarillas y pirul principalmente. Las flores que se cultivan en la región son aretillo, azalea, clavel, cempoalxochitl, dalia, flor de calabaza, floripondio, gladiola, girasol, clavelina, mercadel, flor de chícharo y estatal (Xochimilco, 2016).



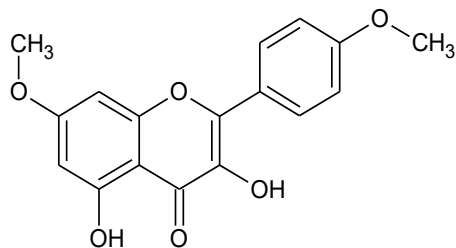
Figura 10. Clima presente en el Distrito Federal. INEGI 2016.

6.2. Metabolitos aislados presentes en otros propóleos.

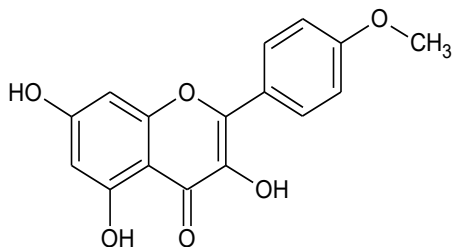
Para la realización del estudio fitoquímico, la muestra de propóleo se sometió a un proceso de extracción por maceración a temperatura ambiente por una semana. El estudio químico del extracto etanólico del propóleo permitió el aislamiento de cuatro flavonoides. Estos compuestos se caracterizaron como la 4',7-dimetilnaringenina (**a**) (Lago *et al.*, 2007), 4',7-dimetilkaempferol (**b**) (Thi *et al.*, 2015), kaempferida (**c**) (Lee *et al.*, 2008) y acacetina (**d**) (Iwona y Agnieszka, 2001) (**Figura 11**). El proceso de caracterización se realizó mediante métodos espectrométricos y espectroscópicos tomando como base la información previamente descrita en la literatura. En las **Figuras 12-15**, se muestran los espectros de RMN-¹H de los compuestos aislados.



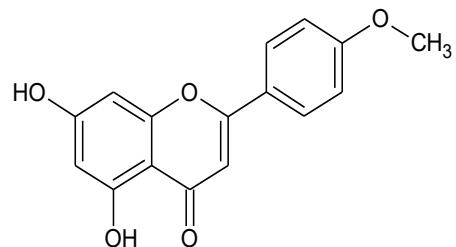
a) 4',7-dimetilnaringenina



b) 4,7-dimetilkaempferol



c) Kaempferida



d) Acacetina

Figura 11. Compuestos aislados del propóleo de Acuexcomatl, Xochimilco.

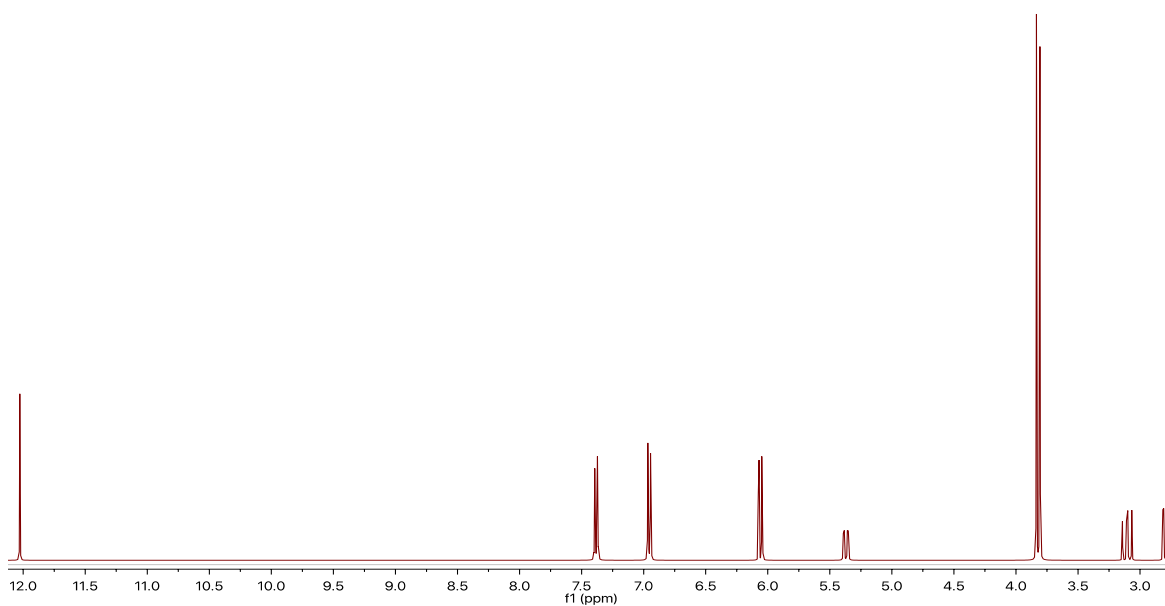


Figura 12. Espectro de RMN-¹H de la 4',7-dimetilnaringenina.

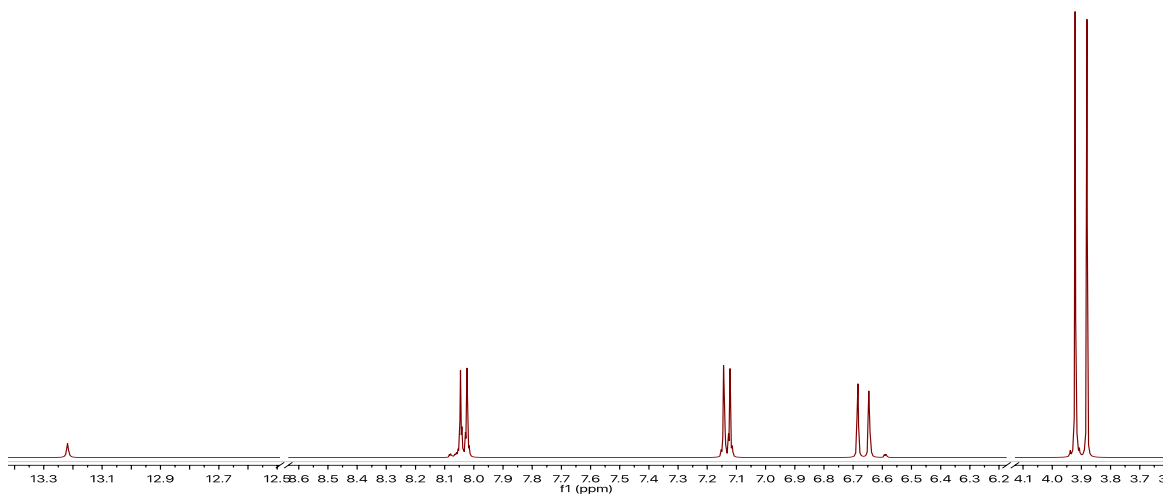


Figura 13. Espectro de RMN-¹H del 4',7-dimetilkaempferol.

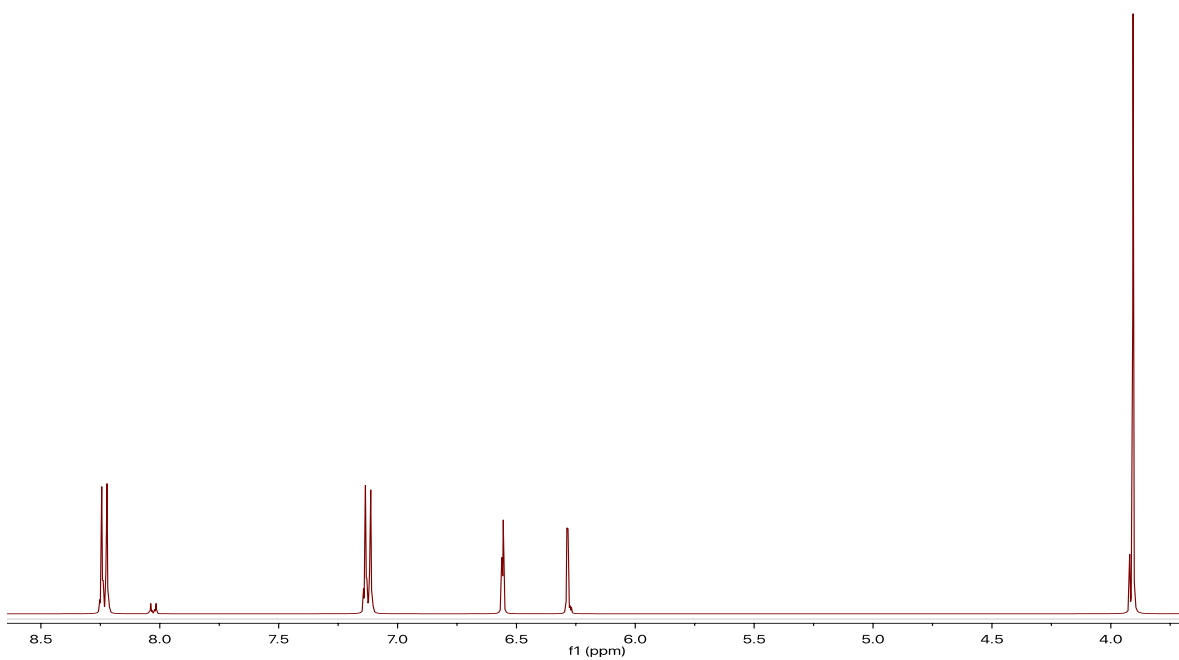


Figura 14. Espectro de RMN-¹H de kaempferida.

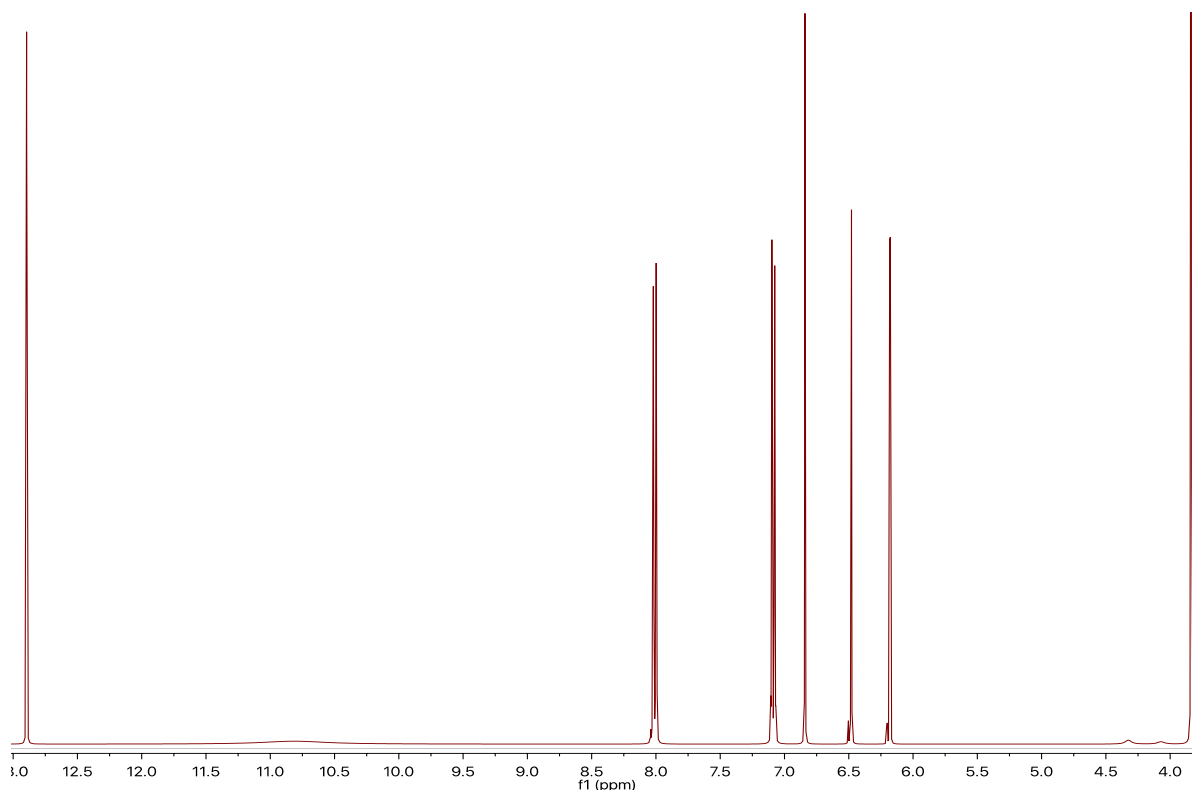


Figura 15. Espectro de RMN-¹H de la acetina.

6.2.1. 4',7-dimetilnaringenina

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio utilizando propóleos de la zona rural del Distrito Federal y de los Estados de Puebla, Zacatecas, Tlaxcala y Guanajuato han permitido proponer este compuesto como un marcador para los propóleos del altiplano mexicano (Martínez, 2012). Estos reportes representan la primera evidencia sobre la presencia de este flavonoide como componente de propóleos en el mundo.

Es importante mencionar que este flavonoide ha sido aislado a partir de: *Piper mollicomun* (hojas) y *Piper ihotzkyanum* (Piperaceae)(Lago *et al.*, 2007); *Chromolaena odorata* (Pisutthanan *et al.*, 2006); *Terminalia fagifolia* (Garcez *et al.*, 2006); *Aglaca odorata* (Xiang-Hai *et al.*, 2005); *Artemisa campestris subsp. gluminosa* (Valant *et al.*, 2003); *Baccharis conferta* (Weimann *et al.*, 2002) y *Adenothamus validus* (Crins y Bohm, 1998). También se ha descrito en algunas especies de los géneros *Aniba* (Rossi *et al.*, 1997), *Garcinia* y *Allabkaja* (Gutiferae)(Duddeck *et al.*, 1978) y se ha identificado en la

resina de *Passiflora foetida* (Echeverri *et al.*, 1991). Asimismo, se encontró como uno de los compuestos principales en especies del género *Arnica* como: *A. attenuata*, *A. angustifolia* y *A. tomentosa* K (Schmidt y Willuhn, 2000).

6.2.2. 4',7-dimetilkaempferol

Greenaway y colaboradores (1990), estudiaron en la Universidad de Oxford, en el Departamento de Ciencia de las Plantas, la composición de las secreciones de las yemas de álamo las cuales son particularmente atractivas a las abejas y son aprovechadas por estas para incorporarlas al propóleo. Por otra parte, en este estudio se realizó la investigación química de propóleos recolectados en Austria, Ecuador, Alemania, Israel, Reino Unido y Estados Unidos. Los análisis de los exudados de los brotes del álamo y el bálsamo de propóleo se realizaron mediante CG-EM. Este análisis permitió la detección de 129 metabolitos entre ellos el 4',7-dimetilkaempferol.

6.2.3. Kaempferida

Castro y colaboradores (2014) estudiaron y caracterizaron la composición fenólica de seis propóleos de Chile de las regiones de Pirque, Cajón del Maipo, Buin, Caleu, Curacaví y Lo Cañas. El estudio de los extractos etanólicos de propóleos (EEPs) de la región de Lo Cañas, Cajón del Maipo y Caleu permitió determinar la presencia de kaempferida y ácido cafeico como los componentes de mayor abundancia en los EEP de la región de Lo Cañas. Por otra parte, en los EEP derivados de los propóleos de Valdivia XVI de la región de los Ríos, Chile y de la central matorral chilena el flavonoide kaempferida fue el más abundante (Muñoz *et al.*, 2001; Muñoz *et al.*, 2001).

Otros estudios realizados utilizando propóleos de Portugal de la región Funchal, en la Isla de Madeira (M) (**Figura 16**) describen al flavonol kaempferida como componente mayoritario (Falco *et al.*, 2013). En muestras de propóleos brasileños obtenidas de Paraná, Brasil, cerca de Prudentópolis, y de otras regiones, fueron aisladas la kaempferida, un lignano benzofurano y la 5,6,7-trihidroxi-3,4-dihidroxi flavona (Bankova *et al.*, 1996; Bankova *et al.*, 2000). En un estudio del propóleo verde brasileño por parte de Szliszka y colaboradores (2013) la kaempferida y sus derivados, artemillina C, fueron los principales compuestos fenólicos. El estudio realizado a propóleos del norte de Rusia permitió detectar la presencia de kaempferida, acetina, apigenina, ermanina,

ramnocitrina, α -acetoxibetulenol (Popravko, 1978).

Por último, en el estudio de cinco muestras de propóleos las cuales fueron recolectados de diferentes zonas de China (Beijin, Anhui, Jiangxi y dos más obtenidas comercialmente de un apicultor local de Changchun, China) permitieron la detección de la kaempferida, crisina, ácido cafeico y ácido ferúlico como componentes principales (Wang *et al.*, 2014).

6.2.4. Acacetina

Volpi y Bergonzini (2006) estudiaron la composición de propóleos de Argentina, Italia, España, Azerbaiyán, China, Etiopia y Kenia y determinaron la presencia de acacetina como uno de los componentes mayoritarios.

Los propóleos de Uruguay, Brasil y China se estudiaron empleando cromatografía líquida de alta presión (HPLC), se identificaron como componentes mayoritarios a la acacetina y apigenina (Serra *et al.*, 1994).

Muñoz y colaboradores (2001) aislaron de propóleos de Valdivia XIV de la Región de los Ríos, Chile la acacetina, pinocembrina, galangina, izalpina, kaempferida, preniletina y diarilheptano. El estudio de los propóleos de la central matorral Chilena, dio como resultado los mismos compuestos fenólicos hallados en los propóleos de Valdivia (Muñoz *et al.*, 2001).

Por otra parte, 40 muestras de propóleo de Portugal, fueron recolectadas del norte continental (N), central interior (CI), costa central (CC), sur (S), archipiélagos de las Azores (A) y de la isla Madeira (M) (**Figura 16**). Todas las muestras se obtuvieron después de la temporada de cosecha de miel (julio-septiembre), por el método convencional de raspado o a través de pantallas de plástico. Este estudio que incluye las muestras de la costa central y el archipiélago de Azores, así como la mayoría de las muestras del norte y algunos del interior central, del sur y de Madeira, se analizó por LC–DAD–ESI–MSⁿ, lo cual permitió la identificación de la flavona acacetina (Falco *et al.*, 2013).

Falcao y colaboradores (2013) realizaron la cuantificación de fenoles en los propóleos de Portugal (**Figura 16**) y determinaron como componentes mayoritarios a la acacetina, galangina, pinocembrina, apigenina, crisina, kaempferol, entre otros. Al realizar el estudio

botánico de las posibles fuentes florales de los propóleos portugueses, las especies *Populus x canadensis* y *Cistus ladanifer* L mostraron la presencia de metabolitos como acacetina, derivados de apigenina y kaempferol.

El metabolito acacetina también ha sido aislado de propóleos del norte de Rusia así como otros compuestos: apigenina, ermanina, ramnocitrina, kaempferida y α -acetoxibetulenol (Popravko, 1978).

Valencia y colaboradores (2012) aislaron la molécula de acacetina de un propóleo proveniente de la zona conocida como el “Coyote”, ubicado en Ures, Sonora, México, ésta zona presenta condiciones templadas subhúmedas. También se ha encontrado en propóleos de apiarios presentes en la Delegación Milpa Alta (Gonzales, 2012).



Figura 16. Sitios de recolección de propóleos de Portugal (Falco *et al.*, 2013).

6.3. Actividades farmacológicas y biológicas de los metabolitos aislados.

Los compuestos aislados pertenecen al grupo de los flavonoides que son los responsables de la mayoría de las actividades biológicas en el propóleo y la miel (Uzel *et al.*, 2005; Pyrzynska y Biesaga, 2009). Se ha reconocido que en el hombre los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antimicrobianas y anticarcinogénicas (Gabor, 1979; Havsteen, 1984; Selway, 1986; Carroll *et al.*, 1998).

6.3.1. 4',7-dimetilnaringenina.

Lago y colaboradores (2007) evaluaron la actividad antifúngica de 4',7-dimetilnaringenina contra cepas de *Cladosporium cladosporioides* y *Cladosporium sphaerospermum*, y usando como controles la nistatina y miconazol, observando que la cantidad mínima requerida de 4',7-dimetilnaringenina para inhibir el crecimiento de los hongos fue de 25 µg, y la obtenida para los controles nistatina y miconazol fue de 1 µg.

Por otra parte, Weimann y colaboradores (2002) determinaron el potencial espasmolítico del extracto etanólico de *Baccharis conferta* utilizando como modelo farmacológico las contracciones inducidas por histamina y KCl en el íleon aislado de cobayo. De acuerdo con los resultados obtenidos, la actividad antiespasmódica se concentró en la fracción constituida por cirsimaritina y 4',7-dimetilnaringenina.

Otros estudios han evaluado la actividad antibacteriana del compuesto 4',7-dimetilnaringenina en bacterias patógenas orales, *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, observado que la concentración mínima inhibitoria para *Streptococcus mutans* fue de 250 µg/mL y para *Porphyromonas gingivalis* 125 µg/mL (Gonzales, 2012).

Castillo (2014) evaluó el efecto vasodilatador de la 4',7-dimetilnaringenina en aorta de rata, concluyendo que esta ocasiona un efecto relajante de la musculatura lisa vascular.

Por último, Garcez y colaboradores (2006) evaluaron la actividad citotóxica de la 4',7-dimetilnaringenina en líneas celulares cancerígenas, H2a2 (carcinoma de pulmón) y Hep2 (carcinoma de laringe), con lo cual concluyeron que la 4',7-dimetilnaringenina no muestra actividad citotóxica frente a este tipo de carcinomas. Sin embargo, en un ensayo citoestático basado en la inhibición de la biosíntesis de proteínas celulares se encontró

que su $DE_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$.

6.3.2. 4',7-dimetilkaempferol

Los estudios biológicos sobre la molécula 4',7-dimetilkaempferol son muy escasos en la literatura. Stangaciu (1998) menciona que el 4',7-dimetilkaempferol muestra actividad antimicótica.

6.3.3. Kaempferida

El metabolito kaempferida y otros flavonoides como: galangina y kaempferol, poseen propiedades antiinflamatorias lo cual se les atribuye a su capacidad de captación de radicales libres (Bankova, 2000). Król y colaboradores (1996) describieron la regulación a la baja del óxido nítrico (NO) (involucrado en procesos inflamatorios) por kaempferida en macrófagos peritoneales murinos y neutrófilos activados en ensayo de quimioluminiscencia. Szliszka y colaboradores (2013) estudiaron la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN) en macrófagos J774A.1 los cuales fueron determinadas de igual forma por ensayos de quimioluminiscencia, donde kaempferida y otros extractos etanólicos de propóleo verde brasileño (EEP) inhibieron la liberación de ERO y ERN que están involucrados en enfermedades de tipo inflamatorias.

En los estudios realizados por Banskota y colaboradores (2001) de los extractos metanólicos de los propóleos brasileños las moléculas de kaempferida, artepillina C, aldehído coniferílico y un compuesto prenilado ((E)-3-[2,3-Dihidro-2-(1-metileténil)-7-prenil-5-benzofuranilo]-2-ácido propiónico), mostraron la actividad más fuerte de captación de radicales libres entre los compuestos aislados ($DE_{50} < 15 \mu\text{g/ml}$) en el ensayo de DPPH. En el ensayo de D-galactosamina (D-GalN) / factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) que induce la muerte celular en hepatocitos de ratones, la actividad hepatoprotectora del propóleo brasileño se debe a la presencia de compuesto fenólicos incluyendo a los flavonoides que poseen una fuerte actividad inhibitoria del TNF- α . La molécula de kaempferida y otros compuestos presentes en los extractos metanólicos de propóleos, debido a su capacidad antioxidante mantiene un equilibrio entre ERO que pueden tener posibles efectos en los mecanismos de señalización de las diferentes respuestas del TNF- α .

Investigaciones realizadas sobre las líneas celulares de cáncer de próstata, han

demostrado que estas células son resistentes al factor de necrosis tumoral relacionado al ligando inductor de apoptosis (TRAIL). Sin embargo, el cotratamiento con EEP sensibiliza de manera significativa la muerte inducida por TRAIL en células de cáncer de próstata. Los efectos citotóxicos sobre las células cancerígenas son exhibidos por las moléculas presentes en los EEP: kaempferida, apigenina, galangina y CAPE. Por lo cual los propóleos juegan un papel significativo en la quimio prevención del cáncer de próstata (Krol *et al.*, 2011).

6.3.4. Acacetina

Alyane y colaboradores (2008) estudiaron los propóleos de la Cooperativa Apícola Kaous, Jijel en Argelia, observando que los extractos eran ricos en flavonoides (especialmente de acacetina, kaempferol y isorhamnetina), al realizar el ensayo DPPH *in vitro* observaron una eliminación de radicales libres por parte de EEP, mostrando así su potencial antioxidante.

Estudios realizados sobre la molécula de acacetina han determinado que esta induce la apoptosis de líneas celulares cancerígenas escamosas orales (HSC-3). Kim y colaboradores (2015) estudiaron el mecanismo de acción de la acacetina en la inhibición del cáncer (HSC-3), con lo cual se concluyó que la acacetina está estrechamente relacionada con su capacidad para activar las vías de señalización de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) que juegan un papel importante en la regulación de la apoptosis.

Investigaciones sobre el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) han demostrado que este desempeña un papel importante en el crecimiento de la angiogénesis, la formación y crecimiento de tumores. En estudios realizados con la flavona acacetina se observó que disminuyó el nivel constante VEGF mRNA lo cual inhibe la activación transcripcional de VEGF. Esto lo hace por medio de la inhibición del factor inducible por hipoxia (HIF-1) el cual es un factor clave en la carcinogénesis, angiogénesis tumoral y el crecimiento tumoral, HIF-1 es un importante regulador de la expresión de VEGF. La acacetina provoca la expresión de la proteína quinasa B (AKT) que a su vez regula la expresión de HIF-1. (Liu *et al.*, 2011).

También la acacetina, crisina, quercetina y CAPE presentan actividad cardioprotectora (Farooqui y Farooqui, 2010).

Por último, Debiaggi y colaboradores (1990) examinaron diferentes flavonoides del propóleo (acacetina, kaempferol, crisina, quercetina y galangina). Dos de los flavonoides estudiados crisina y kaempferol, mostraron inhibición en la replicación del virus del herpes, adenovirus y rotavirus. Mientras que los flavonoides acacetina y galangina no fueron activos en ninguno de los virus estudiados incluso a concentraciones 100 veces superiores a la de crisina y kaempferol.

6.4. Estudio químico del propóleo

Es importante mencionar que la composición química del propóleo es compleja contiene componentes, tales como polifenoles, flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, terpenos, esteroides y aminoácidos, pero su composición varía cualitativamente y cuantitativamente de acuerdo con patrón químico-geográfico, esto es dependiendo de la vegetación en el sitio de la cual se recolectó y el tiempo de colección (Serra *et al.*, 1994; Moreno *et al.*, 2000; Salatino *et al.*, 2011)

De acuerdo a Salatino y colaboradores (2011) los propóleos mexicanos se encuentran en el grupo de los propóleos de clima templado (**Figura 17** regiones de clima templado en México, indicadas en color verde), que contienen flavonoides sin sustitución en el anillo B y ésteres de fenil propanoides, donde las fuentes principales son las especies del género *Populus* sección *Aigeiros*.

Sin embargo, los flavonoides aislados en el propóleo presentan sustitución en el anillo B **Figura 11**, lo cual se debe a la zona geográfica y al tipo de vegetación predominante en la zona de Xochimilco.

La composición del propóleo depende de las fuentes vegetales disponibles y esto a su vez determina las sustancias biológicamente activas en el propóleo, así como la zona geográfica. Las especies de plantas silvestres tienen una distribución geográfica con frecuencia características de especies y géneros, y además la distribución de los metabolitos secundarios en las plantas que se muestran frecuentemente no se debe al azar, pero está ligada a la taxonomía de la planta. Otro factor importante son las diferencias genéticas entre las razas de abejas de la misma región que puede provocar

que la composición del propóleo sea distinta, debido a que las abejas visitan plantas de diferentes especies, pero a menudo parece haber una marcada preferencia por una o varias fuentes de resina (Salatino *et al.*, 2011).



Figura 17. Climas De México. INEGI 2016.

7. CONCLUSIONES

1. La investigación realizada acerca de la composición química del propóleo de Acuexcomatl Xochimilco representa una contribución al conocimiento de los propóleos mexicanos, pues es importante mencionar que los estudios realizados en México sobre el propóleo son escasos.
2. El estudio fitoquímico del propóleo recolectado en el Centro Ecológico de Acuexcomatl en la Delegación Xochimilco permitió el aislamiento de los flavonoides: 4',7-dimetilnaringenina, 4',7-dimetilkaempferol, kaempferida y acacetina.
3. La composición química del propóleo recolectado en Acuexcomatl Xochimilco es similar a la de otras muestras recolectadas en la misma zona melífera (zona rural de la Ciudad de México). Estas similitudes pueden ser explicadas por la semejanza en la altitud y vegetación que rodea los apiarios.
4. El estudio químico realizado permitió aislar por primera vez la molécula de 4',7-dimetilkaempferol en propóleos mexicanos.

8. PERSPECTIVAS

1. Continuar con el estudio químico del propóleo de Acuexcomatl para purificar los componentes que se encuentran en menor cantidad.
2. Determinar la actividad antioxidante y antibacteriana de los compuestos aislados a la fecha.
3. Cuantificar los compuestos químicos activos por CL-EM.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Almeida, E C D; Menezes, H. (2002). Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review 2104. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 8(2), 191–212.
- Alyane, M., Benguedouar, L., Kebsa, W., Boussenane, H. N., Rouibah, H., & Lahouel, M. (2008). Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(3), 201–209.
- Andersen, O. M., & Markham, K. R. (2006). *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications*.
- Attia, A. A., ElMazoudy, R. H., & El-Shenawy, N. S. (2012). Antioxidant role of propolis extract against oxidative damage of testicular tissue induced by insecticide chlorpyrifos in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(2), 87–93.
- Bankova, V. (2000). Determining quality in propolis samples. *J Am Apither Soc*, 7(2).
- Bankova, V., Boudourova-Krasteva, G., Popov, S., Sforcin, J. M., & Funari, S. R. C. (1998). Original article Seasonal variations of the chemical of Brazilian propolis composition. *Apidologie*, 29, 361–367.
- Bankova, V., Christoy, R., Stoev, G., & Popov, S. (1992). Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 607(1), 150–153.

- Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S., Evstatieva, L., Kuleva, L., Pureb, O., & Zamjansan, Z. (1992). Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. *Apidologie*, 23, 79–85.
- Bankova, V., Nikolova, N., & Marcucci, M. (1996). A new lignan from Brazilian propolis. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C - Journal of Biosciences*, 51(9-10), 735–737.
- Bankova, V. S., De Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3–15.
- Bankova, V., 2009. (2009). Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1, 23–28.
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., Adnyana, I. K., Ishii, E., Midorikawa, K., Matsushige, K., & Kadota, S. (2001). Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 8(1), 16–23.
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., Adnyana, I. K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., ... Kadota, S. (2000). Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2), 239–246.
- Bedascarrasbure E. (2006). *Propóleos. Caracterización y normalización de propóleos argentinos. Revisión y actualización de componentes y propiedades química.* (Magna, Ed.). Argentina.

- Bernal, M. G., & Marrero, R. M. (2007). Actividad in vitro del Propoleo frente a Patógenos Bacterianos aislados de Infecciones Humanas, *26*(1), 100–102.
- Bhimani, R.S., Troll, W., Grunberger, D., Frenkel, K. (1993). Inhibition of oxidative stress in HeLa cells by chemopreventive agents. *Cancer Research*, *53*(19), 4528–4533.
- Bogdanov, S. (2014). Propolis : Composition , Health , Medicine : A Review. *Bee Product Science*, (February), 1–40.
- Brown R. (1989). Hive products: pollen, propolis and royal jelly. *Bee World*, *70*, 109–117.
- Burdock, G. a. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, *36*(4), 347–363.
- C. Dealey. (2005). *The Care of Wounds*. Blackwell Publishing.
- Carrillo, M. L., Castillo, L. N., & Mauricio, R. (2011). Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Información Tecnológica*, *22*(5), 21–28.
- Carroll KK, Guthrie N, SO FV, C. A. (1998). Anticancer properties of flavonoids, with emphasis on citrus flavonoids. En: Rice-Evans CA, Packer L. Eds. *Flavonoids in Health and Disease*. New York. *Marcel-Dekker*, 437–446.
- Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, *73*, S1–S6.
- Castillo, C. (2014). Determinación del efecto vasodilatador de plantas y propóleos utilizados en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de las

- enfermedades cardiovasculares. *Tesis. UNAM.*
- Castro, C., Mura, F., Valenzuela, G., Figueroa, C., Salinas, R., Zuñiga, M. C., ...
Delporte, C. (2014). Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. *Food Research International*, 64, 873–879.
- Castro, S. L., & Higashi, K. O. (1995). Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Ethnopharmacology*, 46(1), 55–58.
- Caxton Press. (1824). *The Universal Herbal; or, Botanical, Medical, and Agricultural Dictionary* (Vol. 2). London, UK.
- Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., & Kim, J. M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT - Food Science and Technology*, 39(7), 756–761.
<http://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.05.015>
- Chopra, S., Pillai, K. K., Husain, S. Z., & Giri, D. K. (1995). Propolis Protects against Doxorubicin-Induced Myocardiopathy in Rats. *Experimental and Molecular Pathology*, 62(3), 190–198.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2001). Medicinals for the millennia: The historical record. In *Annals of the New York Academy of Sciences* (Vol. 953, pp. 3–25).
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(6), 3670–95.
- Crins, W. y B. B. (1998). Flavonoids of *Adenothamus validus*. *Phytochemistry*, 27(8), 2647–2649.

- Da Costa, L. A., Badawi, A., & El-Soehy, A. (2012). Nutrigenetics and Modulation of Oxidative Stress. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 60(s3), 27–36.
<http://doi.org/10.1159/000337311>
- Daleprane, J. B., & Abdalla, D. S. (2013). Emerging roles of propolis: antioxidant, cardioprotective, and antiangiogenic actions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2013, 175135.
- Debiaggi, M., Tateo, F., Pagani, L., Luini, M., & Romero, E. (1990). Effects of propolis flavonoids on virus infectivity and replication. *Microbiologica*, 13(3), 207–213.
- Dias, D. A., Urban, S., & Roessner, U. (2012). A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites*, 2(4), 303–336.
- Dimov, V., Ivanovska, N., Manolova, N., Bankova, V., Nikolov, N., & Popov, S. (1991). Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. *Apidologie*, 22(2), 155–162.
- Djordjevic, M. A., Redmond, J. W., Batley, M., & Rolfe, B. G. (1987). Clovers secrete specific phenolic compounds which either stimulate or repress nod gene expression in *Rhizobium trifolii*. *The EMBO Journal*, 6(5), 1173–9.
- Duddeck, H., Snatzke, G. y Yemul, S. (1978). C NMR and CP of some 3,8''- biflavonoids from *Garania* species and of related flavanones. *Phytochemistry*, 17, 1369–1373.
- Duran, G., Duran, N., Culha, G., Ozcan, B., Oztas, H., Ozer, A., & B. (2008). In vitro antileishmanial activity of adana propolis samples on *leishmania tropica*: a preliminary study. *Parasitology Research*, 102(6), 1217–1225.
- Echeverri, F., Cardona, G., Torres, F., Pelaez, C., Quiñones, W. y Rentería, E. (1991).

- Ermanin: an insect deterrent flavonoid from *Passiflora foetida* resin. *Phytochemistry*, 30(1), 153–155.
- Enciso, E. A., & Arroyo, J. (2011). Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *An Fac Med*, 72(4), 231–237.
- Falcao, S. I., Tomas, A., Vale, N., Gomes, P., Freire, C., & Vilas-Boas, M. (2013). Phenolic quantification and botanical origin of Portuguese propolis. *Industrial Crops and Products*, 49, 805–812.
- Falco, S. I., Vale, N., Gomes, P., Domingues, M. R. M., Freire, C., Cardoso, S. M., & Vilas-Boas, M. (2013). Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC-MS spectrometry: Uncommon propolis rich in flavonoid glycosides. *Phytochemical Analysis*, 24(4), 309–318.
- Farooqui, T., & Farooqui, A. A. (2010). Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: A critical review. *Current Nutrition and Food Science*, 6(3), 186–199. <http://doi.org/10.2174/157340110792389136> [Epub Ahead of print]; de Sousa, J.P., Bueno, P.C., Gregório, L.E., A reliable quantitative method for the analysis of phenolic compounds in Brazilian propolis by reverse phase high performance liquid chromatography (2007) *J Sep Sci*, 30, pp. 2656-2665; Silici, S., Kutluca, S., Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region (2005) *J Ethnopharmacol*, 99, pp. 69-73; Chen,
- Farré, R., Frasquet, I., & Sánchez, A. (2004). El própolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*,

45, 21–43.

Freitas, S. F., Shinohara, L., Sforcin, J. M., & Guimarães, S. (2006). In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 13(3), 170–5.

Funakoshi-Tago, M., Okamoto, K., Izumi, R., Tago, K., Yanagisawa, K., Narukawa, Y., ... Tamura, H. (2015). Anti-inflammatory activity of flavonoids in Nepalese propolis is attributed to inhibition of the IL-33 signaling pathway. *International Immunopharmacology*, 25(1), 189–98.

Gabor M. (1979). Anti-inflammatory substances of plant origin. En: Vane JR, Ferreira JH. Eds. Handbook of Experimental Pharmacology: Anti-Inflammatory Drugs. New York. Springer-Verlag, 698–739.

Garcez, F., Garcez, W., Santana, A., Alves, M., Matos, M. y Scaliante, M. (2006). Bioactive flavonoids and triterpenes from *Terminalia fagifolia* (Combretaceae). *Journal Brazilian Chemical Society*, 17(7), 1223–1228.

Ghisalberti E. L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, 60, 59–84.

Gonzales, L. (2012). Estudio químico de un propóleo recolectado en la zona rural del Distrito Federal. Evaluación de su actividad antibacteriana contra bacterias patógenas orales. Tesis. UNAM.

González, R. Corcho, I. Ramirez, D. Rodriguez, S. Ancheta, O. Merino, N. González, A. Pascual, C. (1995). Hepatoprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats 1073. *Phytotherapy Research*, 9(2), 114–117.

- Gonzalez, R. Ramirez, D. Rodriguez, S. Gonzalez, A. Ancheta, O. Merino, N. Pascual, C. (1994). Hepatoprotective effects of propolis extract on paracetamol-induced liver damage in mice 1074. *Phytotherapy Research*, 8(4), 229–232.
- Greenaway W, T. S. & F. R. W. (1990). The Composition and Plant Origins of Propolis: A Report of Work at Oxford. *Bee World*, 71(3), 107–118.
- Gressler, L. T., Da Silva, A. S., Machado, G., Dalla Rosa, L., Dorneles, F., Gressler, L. T., ... Monteiro, S. G. (2012). Susceptibility of *Trypanosoma evansi* to propolis extract in vitro and in experimentally infected rats. *Research in Veterinary Science*, 93(3), 1314–7.
- H. M. Ransome. (1937). *The Sacred Bee in Ancient Times and Folklore*. George Allen & Unwin, London, UK.
- Harvey, A. L. (2007). Natural products as a screening resource. *Current Opinion in Chemical Biology*, 11(5), 480–484.
- Hausen BM, Wollenweber E, Senff H, P. (1987). Propolis allergy. I. Origin, properties, usage and literature review. *Contact Dermatitis*, 17, 163–170.
- Havsteen B. (1984). Flavonoids: A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 32, 1141–1148.
- Issa, R. (2007). *Schistosoma mansoni*: The prophylactic and curative effects of propolis in experimentally infected mice. *Rawal Med J*, 94–98.
- Iwona Wawer y Agnieszka Zielinska. (2001). ¹³C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 39(7), 374–380.

- J. L. Firmin, K. E. Wilson, L. R. & A. W. B. J. (1986). Flavonoid activation of nodulation genes in *Rhizobium* reversed by other compounds present in plants. *Nature*, *324*, 90–92.
- Jasprica, I., Mornar, A., Debeljak, Z., Smolčić-Bubalo, A., Medić-Sarić, M., Mayer, L., ... Sverko, V. (2007). In vivo study of propolis supplementation effects on antioxidative status and red blood cells. *Journal of Ethnopharmacology*, *110*(3), 548–54.
- K. D. Helfenberg. (1908). "The analysis of beeswax and propolis." *Chemikerzeitung*, *31*, 987–988.
- K. Dieterich. (1908). "The analysis of beeswax in its several stages of formation and concerning the bee resin (propolis)." *Phar- Mazeutische Post*, *40*, 369.
- Kai, H., Obuchi, M., Yoshida, H., Watanabe, W., Tsutsumi, S., Park, Y. K., ... Kurokawa, M. (2014). In vitro and in vivo anti-influenza virus activities of flavonoids and related compounds as components of Brazilian propolis (AF-08). *Journal of Functional Foods*, *8*, 214–223.
- Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinou, I., & Karathanos, V. T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, *116*(2), 452–461.
- Kim, C.-D., Cha, J.-D., Li, S., & Cha, I.-H. (2015). The mechanism of acacetin-induced apoptosis on oral squamous cell carcinoma. *Archives of Oral Biology*, *60*(9), 1283–98.
- Koc, A. N., Silici, S., Kasap, F., Hormet-oz, H. T., Mavus-Buldu, H., & Ercal, B. D. (2011). Antifungal activity of the honeybee products against *Candida* spp. and

- Trichosporon spp. *Journal of Medicinal Food*, 14(1-2), 128–134.
- Koç, A. N., Silici, S., Mutlu-Sariguzel, F., Sagdic, O., & Koc, A. (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology*, 45(1), 57–61.
- Krol, W., Szliszka, E., Czuba, Z. P., Bronikowska, J., Mertas, A., & Paradysz, A. (2011). Ethanol extract of propolis augments TRAIL-induced apoptotic death in prostate cancer cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <http://doi.org/10.1093/ecam/nep180>
- Król. W, Z.P.Czuba, G.Pietsz, M. D. Threadgill, and B. D., & Cunningham. (1996). “Modulation of the cytotoxic activity of murine macrophages by flavones, . *Current Topics in Biophysics*, 20, 88–93.
- Kujumgiev A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., R.Christov, & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol*, 64(64), 235–240.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84(3), 329–339.
- Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., & Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2013, 964149.
- Lago, J., Young, M., Reigada, J., Soares, M., Roesler B. y Kato, M. (2007). Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. ihotzkyanum* (Piperaceae), 30(5), 1222–1224.

- Lee, E., Moon, B. H., Park, Y., Hong, S., Lee, S., Lee, Y., & Lim, Y. (2008). Effects of hydroxy and methoxy substituents on NMR data in flavonols. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 29(2), 507–510.
- Liu, L.-Z., Jing, Y., Jiang, L. L., Jiang, X.-E., Jiang, Y., Rojanasakul, Y., & Jiang, B.-H. (2011). Acacetin inhibits VEGF expression, tumor angiogenesis and growth through AKT/HIF-1 α pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 413(2), 299–305.
- Luis, D. a. De, & Aller, R. (2008). Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. *Anales de Medicina Interna*, 25(3), 105–107.
<http://doi.org/10.4321/S0212-71992008000300001>
- M. T. Murray and J.E. Pizzorno Jr. (2005). "Bee products: pollen, propolis, and royal jelly," in *Textbook of Natural Medicine*. Eds.,chapter 70,Elsevier Health Sciences.
- M.Huleihel and V. Isanu. (2002). "Anti-herpes simplex virus effect of an aqueous extract of propolis,." *Israel Medical Association Journal*, 4(11), 923–927.
- Madarová, L. (1980). Antibacterial properties of propolis. *Ceskoslovenska Stomatologie*, 80(4), 304–307.
- Marcucci, M. C. (1994). Propolis : chemical composition , biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(1), 83–99.
- Marquele, F. D., Di Mambro, V. M., Georgetti, S. R., Casagrande, R., Valim, Y. M. L., & Fonseca, M. J. V. (2005). Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(3-4), 455–62.

- Martens, S., & Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, 66(20), 2399–2407. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.07.013>
- Martínez Diana. (2012). “Desarrollo y validación de un método analítico por cromatografía de líquidos de alta eficiencia para cuantificar la 4',7-dimetilnaringenina y la 4',7-dimetilnapigenina en propóleos mexicanos.” *Tesis. UNAM.*
- Martinez, E. J., Owa, T., Schreiber, S. L., & Corey, E. J. (1999). Phthalascidin, a synthetic antitumor agent with potency and mode of action comparable to ecteinascidin 743. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(March), 3496–3501.
- Matsushige, K., Basnet, P., Hase, K., Kadota, S., Tanaka, K., & Namba, T. (1996). Propolis protects pancreatic β -cells against the toxicity of streptozotocin (STZ). *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 3(2), 203–9.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., & Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152(3), 239–46.
- Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., & Vattuone, M. a. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1-2), 109–114.
- Moriyasu, J., Arai, S., Motoda, R., Kurimoto, M. (1994). In vitro activation of mouse macrophage by propolis extract powder. *Biotherapy*, 8, 364–365.

- Muñoz, O., Peña, R. C., Ureta, E., Montenegro, G., Caldwell, C., & Timmermann, B. N. (2001). Phenolic compounds of propolis from Central Chilean matorral. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 56(3-4), 273–277.
- Muñoz, O., Peña, R., Ureta, E., Montenegro, G., & Timmermann, B. (2001). Propolis from Chilean Matorral Hives. *Zeitschrift Fur Naturforschung C: Journal of Biosciences*, 56c, 269–272.
- Nakanishi, K. (1999). A Brief History of Natural Products Chemistry. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, 1–31.
- Nicolas, A. (1947). Cire d’Abeilles et Propolis. *Thomas, Nancy, France*.
- Onlen, y; Duran, N; Atik, E; Savas, I; Altug, E; Yakan, S; Aslantas, O. (2007). Antibacterial activity of propolis against MRSA and synergism with topical mupirocin. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 13(7), 713–718.
- Orsi, R.O., Funari, S.R.C., Soares, A.M.V.C., Calvi, S.A., Oliveira, S.L., Sforcin, J.M., Bankova, V. (2000). Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6, 205–219.
- Orsolich N. (2010). A review of propolis antitumor action in vivo and in vitro. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(1), 1–20.
- Orsolčić, N., Knezević, A. H., Sver, L., Terzić, S., & Basić, I. (2004). Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2-3), 307–15.
- Ozkul, Y., Silici, S., & Eroğlu, E. (2005). The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and*

Phytopharmacology, 12(10), 742–7.

P. J. Houghton. (1998). “Propolis as a medicine. Are there scientific reasons for its reputation?” in *Beeswax and Propolis for Pleasure and Profit*. (P. Munn, Ed.). International Bee Research Association, Cardiff, UK.

Pisutthanan, N., Liawruangrath, B., Liawruangrath, S. y Bremner, J. (2006). A new flavonoid from *Chromolaena odorata*. *Natural Product Research*, 20(13), 1192–1198.

Popravko S.A. (1978). Chemical composition of propolis, its origin and standardization, in: *A Remarkable Hive Product: PROPOLIS*, Apimondia. *Publ. House, Bucharest*, 15–18.

Potkonjak, N. I., Veselinović, D. S., Novaković, M. M., Gorjanović, S. Ž., Pezo, L. L., & Sužnjević, D. Ž. (2012). Antioxidant activity of propolis extracts from Serbia: A polarographic approach. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3614–3618.

Pyrzynska, K., & Biesaga, M. (2009). Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893–902.
<http://doi.org/10.1016/j.trac.2009.03.015>

R.R.N. Alves, I. L. R. (2013). *Animals in Traditional Folk Medicine. Implications for Conservation* (p. 493). Berlin Heidelberg: Springer.

Rao, C. V., Desai, D., Kaul, B., Amin, S., & Reddy, B. S. (1992). Effect of caffeic acid esters on carcinogen-induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cell growth. *Chemico-Biological Interactions*, 84(3), 277–290.

Ravishankar, D., Rajora, A. K., Greco, F., & Osborn, H. M. I. (2013). Flavonoids as

- prospective compounds for anti-cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(12), 2821–31.
<http://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.10.004>
- Remirez, D., González, R., Rodríguez, S., Ancheta, O., Bracho, J. C., Rosado, A., ... Ramos, M. E. (1997). Protective effects of Propolis extract on allyl alcohol-induced liver injury in mice. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 4(4), 309–314.
- Rossi, M., Yoshida, M. y Soares, J. (1997). Neolignans, styrylpyrones and flavonoids from an Aniba species. *Phytochemistry*, 45(6), 1263–1269.
- Sahinler, N., & Kaftanoglu, O. (2005). Natural product propolis: chemical composition. *Natural Product Research*, 19(2), 183–188.
- Salamanca, G. (2005). Propiedades nutricionales y apiterapéuticas de los productos de la colmena. In *Memorias I Congreso Internacional de Apicultura de Los Andes. III Convención de Apicultores. Universidad Nacional Experimental Del Táchira, San Cristóbal, Venezuela*, 5–14.
- Salatino, A., Fernandes-Silva, C. C., Righi, A. A., & Salatino, M. L. F. (2011). Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*, 28(5), 925–936.
- Sá-Nunes, A., Faccioli, L. H., & Sforcin, J. M. (2003). Propolis: lymphocyte proliferation and IFN- γ production. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), 93–97.
- Sawaya, a. C. H. F., Palma, a. M., Caetano, F. M., Marcucci, M. C., Da Silva Cunha, I. B., Araujo, C. E. P., & Shimizu, M. T. (2002). Comparative study of in vitro methods

- used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of *Candida*. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 203–207.
- Schmidt, T. y Willuhn, G. (2000). Sesquiterpene lactone and flavonoid variability of the *Arnica angustifolia* aggregate (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 133–142.
- Selway JWT. (1986). Antiviral activity of flavones and flavans. En: Cody V, Middleton E, Harborne JB Eds. *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological, and Structure-Activity Relationships*. . New York. Alan R. Liss, 521–536.
- Serra Bonvehí, J., Ventura Coll, F., & Escolà Jordà, R. (1994). The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 71(5), 529–532.
- Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 1–14.
- Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 253–260.
<http://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>
- Shimizu, T., Hino, A., Tsutsumi, A., Park, Y. K., Watanabe, W., & Kurokawa, M. (2008). Anti-influenza virus activity of propolis in vitro and its efficacy against influenza infection in mice. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 19(1), 7–13. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18610553>
- Silice, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of

- propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 69–73.
- Simone-Finstrom, M., & Spivak, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), 295–311.
- Smith, D. A., & Banks, S. W. (1986). Formation and biological properties of isoflavonoid phytoalexins. En: Cody V, Middleton E, Harborne JB. Eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. *New York. Alan R. Liss.*, 113–124.
- Stangaciu, S. (1998). Composicion Y Propiedades Del Propóleo. *Apiacta*, XXXIII, 71–77. Retrieved from <http://bee-winner.com/Dr.pdf>
- Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I., & Svabić-Vlahović, M. (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*, 158(4), 353–7.
- Su, Z.Z., Lin, J., Prewett, M., Goldstein, N.I., Fisher, P. . (1995). Apoptosis mediates the selective toxicity of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) toward oncogene-transformed rat embryo fibroblast cells. *Anticancer Research*, 15, 1841–1848.
- Sud'ina, G. F., Mirzoeva, O. K., Pushkareva, M. A., Korshunova, G. A., Sumbatyan, N. V., & Varfolomeev, S. D. (1993). Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxigenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Letters*, 329(1-2), 21–24.
- Szliszka, E., Kucharska, A. Z., Sokół-Łęćtowska, A., Mertas, A., Czuba, Z. P., & Król, W. (2013). Chemical composition and anti-inflammatory effect of ethanolic extract of Brazilian green propolis on activated J774A.1 macrophages. *Evidence-Based*

Complementary and Alternative Medicine, 2013.

- Tenorio López, F. A., del Valle Mondragón, L., & Pastelín Hernández, G. (2006). Los flavonoides y el sistema cardiovascular: pueden ser una alternativa terapéutica? *Archivos de Cardiología de México*, 76 Suppl 4, 33–45.
- Thi, N., Hang, M., Thi, N., Oanh, T., Hue, C. T., Tung, T. H., ... Minh, C. Van. (2015). BENZOYL ESTERS AND FLAVONES FROM THE LEAVES OF POLYALTHIA PARVIFLORA. *Vietnam Journal of Chemistry*, 53(2e), 61–64.
- Uzel, A., Sorkun, K., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö., & Sali'h, B. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological Research*, 160(2), 189–195.
- Valant-Vetschera, K., Fischer, R. y Wollenweber, E. (2003). (2003). Exudate flavonoids in species of Artemisa (Asteraceae-Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochemical Systematic and Ecology*, 31, 487–489.
- Valencia, D., Alday, E., Robles-Zepeda, R., Garibay-Escobar, A., Galvez-Ruiz, J. C., Salas-Reyes, M., ... Velazquez, C. (2012). Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis. *Food Chemistry*, 131(2), 645–651.
- Vargas-Sánchez, R. D., Torrescano-Urrutia, G. R., Acedo-Félix, E., Carvajal-Millán, E., González-Córdova, A. F., Vallejo-Galland, B., ... Sánchez-Escalante, A. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of commercial propolis extract in beef patties. *Journal of Food Science*, 79(8), 1499–1504.

- Vargas-Sánchez, RD; Torrescano-Urrutia, GR; Mendoza-Wilson, A. et al. (2013). Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propoleo. *Revista de Ciencias Biológicas Y de La Salud*, 32–37.
- Velázquez, C., Navarro, M., Acosta, A., Angulo, A., Dominguez, Z., Robles, R., Robles-Zepeda, R., Lugo, E., Goycoolea, F.M., Velazquez, E.F., Astiazaran, H. y Hernández, J. (2007). Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1747–1756.
- Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., Houcine, S., Tsvetkova, I., & Kujumgiev, A. (2000). Propolis from the Mediterranean region: chemical composition and antimicrobial activity. *Z Naturforsch [C]*, 55(c), 790–793.
- Verma, A. K., Johnson, J. A., Gould, M. N., Yerma, A. K., & Tanner, M. A. (1988). Inhibition of 7,12-Dimethylbenz (a) anthracene and N Nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin. *Cancer Research*, 48, 5754–5758.
- Victorino, F. R., Franco, S. L., Estivalet Svidzinski, T. I., Avila-Campos, M. J., Nakamura Cuman, R. K., Hidalgo, M. M., & Bersani-Amado, C. A. (2007). Pharmacological Evaluation of Propolis Solutions for Endodontic Use. *Pharmaceutical Biology*, 45(9), 721–727.
- Volpert, R., & Elstner, E. F. (1993). Biochemical activities of propolis extracts. I. Standardization and antioxidative properties of ethanolic and aqueous derivatives. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 48(11-12), 851–857.
- Volpi, N., & Bergonzini, G. (2006). Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical*

Analysis, 42(3), 354–61.

Vynograd, N., Vynograd, I., & Sosnowski, Z. (2000). A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine*, 7(1), 1–6.

Wang, Z., Sun, R., Wang, Y., Li, N., Lei, L., Yang, X., ... Zhang, H. (2014).

Determination of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by silica-supported ionic liquid-based matrix solid phase dispersion extraction high performance liquid chromatography-diode array detection. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 969, 205–12.

Weimann, C., Göransson, U., Pongprayoon-Claeson, U., Claeson, P., Bohlin, L., Rimpler, H. y Heinrich, M. (2002). Spasmolytic effects of *Baccharis conferta* and some of its constituents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54, 99–104.

Wender, P. a, DeBrabander, J., Harran, P. G., Jimenez, J. M., Koehler, M. F., Lippa, B., ... Pettit, G. R. (1998). The design, computer modeling, solution structure, and biological evaluation of synthetic analogs of bryostatin 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(June), 6624–6629.

Xiang-Hai, C., Xiao-Dong, L., Jun, Z. y Xiao-Jiang, H. (2005). Dolabellane diterpenoids from the higher plant *Aglaia odorata*. *Helvetica Chimica Acta*, 88, 2938–2944.

Yousef, M. I., & Salama, A. F. (2009). Propolis protection from reproductive toxicity caused by aluminium chloride in male rats. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research*

Association, 47(6), 1168–75.

10.REFERENCIAS ELECTRONICAS

- Universidad Tecnológica Nacional a través de (<https://midietacojea.com/2013/10/21/rendimiento-mental-y-dieta-el-azucar-mejora-nuestra-atencion/>) Consultado el día 25 de enero de 2016.
- OMS a través de (http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/) Consultado el día 27 de enero de 2016.
- OMS a través de (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>) Consultado el día 27 de enero de 2016.
- OMS a través de (<http://www.who.int/dg/speeches/2015/traditional-medicine/es/>) Consultado el día 27 de enero de 2016.
- INEGI clima del Distrito Federal a través de (<http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/df/territorio/clima.aspx?tema=me&e=09>) Consultado el 28 de marzo de 2016.
- Xochimilco a través de (<http://www.xochimilco.cdmx.gob.mx/flora-y-fauna.html>) Consultado el 28 de marzo de 2016.
- INEGI climas de México a través de (<http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/nacional/tematicos/climas.pdf>) Consultado el 28 de marzo de 2016.