



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Marcela Sayegh Serafim

**Própolis marrom e resina de *Eucalyptus botryoides* da região
de Bambuí-MG: isolamento de compostos fenólicos e
avaliação da atividade antimicrobiana**

**Ribeirão Preto
2019**

MARCELA SAYEGH SERAFIM

Própolis marrom e resina de *Eucalyptus botryoides* da região de Bambuí-MG: isolamento de compostos fenólicos e avaliação da atividade antimicrobiana

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientador: Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 05/11/2019. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2019

SERAFIM, M. S.	Própolis marrom e resina de <i>Eucalyptus botryoides</i> da região de Bambuí-MG: isolamento de compostos fenólicos e avaliação da atividade antimicrobiana		MESTRADO FCFRPUSP 2019
-------------------	---	--	------------------------------

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Serafim, Marcela Sayegh

Própolis marrom e resina de *Eucalyptus botryooides* da região de Bambuí-MG: isolamento de compostos fenólicos e avaliação da atividade antimicrobiana. Ribeirão Preto, 2019.

113 p.; 30 cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Bastos, Jairo Kenupp.

1. Própolis marrom
2. *Eucalyptus*
3. Antimicrobiano
4. Artepelin C
5. Bacarina

FOLHA DE APROVAÇÃO

Marcela Sayegh Serafim

Própolis marrom e resina de *Eucalyptus botryoides* da região de Bambuí-MG:
isolamento de compostos fenólicos e avaliação da atividade antimicrobiana.

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais
e Sintéticos

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Aos meus amados pais

Fernando Serafim e Leda Serafim, que são meus grandes exemplos de pessoas e que sempre me ensinaram os caminhos corretos para se seguir. Quero agradecer o apoio e incentivo que sempre me deram e por todos os conselhos que me ensinam a ser cada dia melhor.

Aos meus irmãos

João Paulo Serafim e Thais Helena Serafim que, apesar da distância, sempre se fazem presente e nos completam como família.

Agradecimentos

- ❖ Ao Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos por ter me recebido com muito carinho no laboratório e por ter me orientado esses dois anos de pesquisa compartilhando seus conhecimentos na química de produtos naturais;
- ❖ Aos técnicos do laboratório de Farmacognosia da FCFRP-USP, Mario Ogasawara e Maria Angélica Chellegatti, por todo apoio durante o projeto e por sempre estarem dispostos a ajudar os alunos;
- ❖ Ao Prof. Dr. Fernando Batista da Costa por disponibilizar o equipamento de espectrometria de massas do laboratório de Farmacognosia da FCFRP-USP;
- ❖ Ao Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins, Prof. Dr. Sérgio Ricardo Ambrósio, à técnica de laboratório Maria Anita Lemos Vasconcelos Ambrosio e à UNIFRAN pela realização dos ensaios antimicrobianos;
- ❖ Ao Laércio George Silva, à Sheila Estefânia Soares e ao Cesar da Natucentro pela coleta e envio das amostras;
- ❖ Ao técnico Vinicius do departamento de química da FFCLRP-USP pelas análises de RMN;
- ❖ A todos meus colegas de laboratório que sempre estiveram disponíveis a ajudar: Debora, Gari, Victor, Bruna, Jonas, Mohamed, Jennyfer, Carol, Jolindo, Marina, João, Adriany, Valdeline;
- ❖ À amiga Debora pelos conselhos e ajuda dentro e fora do laboratório;
- ❖ Ao Gari pelo enorme compartilhamento de conhecimento na química de produtos naturais e por toda a ajuda no projeto;
- ❖ Ao Victor pela receptividade no laboratório e pelos ensinamentos nas técnicas utilizadas no projeto;

- ❖ À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e à Universidade de São Paulo por toda infraestrutura;
- ❖ Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e aos funcionários e professores da unidade;
- ❖ À CAPES, pela bolsa concedida;
- ❖ “O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

"O valor das metas futuras não reside na imagem do futuro que se cria na mente, mas sim na mudança que elas provocam no presente."

David Allen

RESUMO

SERAFIM, M. S. **Própolis marrom e resina de *Eucalyptus botryoides* da região de Bambuí-MG: isolamento de compostos fenólicos e avaliação da atividade antimicrobiana.** 2019. 113f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

A própolis é um produto resinoso produzido por abelhas a partir de exsudatos e tecidos de plantas com adição de secreções salivares. Sua composição depende de diversos fatores, tais como época da coleta e composição da flora da região. Há poucos estudos publicados para própolis marrom e compostos isolados. A fonte botânica da própolis marrom também não está bem definida, podendo ser de espécies de *Araucaria*, *Eucalyptus* e *Baccharis*, dentre outras. O interesse pelas própolis brasileiras é crescente tanto no campo da pesquisa quanto no campo comercial, sendo que grande parte da produção brasileira é exportada. Dessa forma, foi proposto o estudo fitoquímico por meio do isolamento de compostos presentes na própolis e na resina de *Eucalyptus botryoides*, com o objetivo de encontrar compostos em comum nas duas amostras. Para isso, as amostras foram submetidas à extração hidroalcoólica e fracionadas utilizando diferentes modalidades cromatográficas, como colunas abertas preenchidas com gel *Sephadex* e CLAE-PREP (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Preparativa). Todos os extratos, frações e substâncias isoladas foram analisados por CLAE-DAD utilizando a coluna Ascentis C18. A identificação das estruturas químicas dos compostos isolados foi realizada utilizando métodos espectroscópicos e espectrométricos, tais como: Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , Espectrometria de Massas (EM) e algumas técnicas espectroscópicas bidimensionais auxiliares como HMBC, HSQC e COSY. Da própolis marrom, foram isolados cinco compostos: ácido cumárico, ácido-4,5-dicafeoilquinico, 1-(4)-hidroxifenil-3-(2,4)-diidroxifenil-propan-2-ol (Propterol B), ácido-3,4,5-tricafeoilquinico e 4-*O*-metil-aromadendrina, além da verificação da presença do ácido *trans*-cinâmico. Da resina de *E. botryoides* foram isolados quatro compostos: 7-*O*-metil-aromadendrina, 1-*O*,2-*O*-digaloil-6-*O*-*trans*-*p*-cumaroil- β -D-glicopiranosídeo, 2-*O*-galoil-1,6-*O*-di-*trans*-*p*-cumaroil- β -D-glicopiranosídeo e 1,2,3,4,6-pentagaloil- β -glicose. Os extratos brutos da própolis e da resina de *E. botryoides* assim como algumas substâncias isoladas foram avaliadas frente à bactérias aeróbias Gram-positivas e Gram-negativas e frente às leveduras. As amostras apresentaram baixa atividade antibacteriana com Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM ≥ 100 $\mu\text{g/mL}$), enquanto que contra leveduras apresentaram alta atividade, especialmente a resina de *E. botryoides* ($2 < \text{CIM} < 50$ $\mu\text{g/mL}$). O ácido-3,4,5-tricafeoilquinico apresentou excelente atividade frente às linhagens de referência *Candida glabrata* e *C. krusei* ($1 < \text{CIM} < 4$ $\mu\text{g/mL}$); 7-*O*-metil-aromadendrina frente à *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* ($1 < \text{CIM} < 4$ $\mu\text{g/mL}$); 1-*O*,2-*O*-digaloil-6-*O*-*trans*-*p*-cumaroil- β -D-glicopiranosídeo foi eficaz frente a *C. krusei* (CIM = 1,56 $\mu\text{g/mL}$); e 2-*O*-galoil-1,6-*O*-di-*trans*-*p*-cumaroil- β -D-glicopiranosídeo foi eficaz frente à *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis* ($3 < \text{CIM} < 7$ $\mu\text{g/mL}$). Este é o primeiro relato da presença de propterol B em amostras de própolis e o 2-*O*-galoil-1,6-*O*-di-*trans*-*p*-cumaroil- β -D-glicopiranosídeo é inédito. Foram realizadas análises de diferentes amostras de própolis marrom e verde por CLAE-DAD visando quantificar seus principais marcadores químicos, incluindo ácido cumárico, artepelin C e bacarina. Os perfis cromatográficos das amostras foram similares, sendo artepelin C e bacarina encontrados em diversas amostras de própolis marrom, especialmente no estado de Minas Gerais e, para algumas, as concentrações dessas duas substâncias foram maiores do que na própolis verde, mostrando que a própolis marrom também possui compostos de interesse tanto para pesquisa quanto para fins comerciais.

Palavras-chave: própolis marrom, *Eucalyptus*, antimicrobiano, artepelin C, bacarina.

ABSTRACT

SERAFIM, M. S. **Brown propolis and *Eucalyptus botryoides*' resin from Bambuí-MG: isolation of phenolic compounds and evaluation of antimicrobial activity.** 2019. 113f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Propolis is a resinous substance produced by *Apis mellifera* from different plant parts, such as tissues and exudates, mixed with wax and salivary secretions. Its composition depends on several factors, such as collection period and composition of the local flora. There are few studies reported for brown propolis and its isolated compounds. The botanical sources of brown propolis have not been well determined, and it has been reported to be from *Araucaria*, *Eucalyptus* and *Baccharis* species. The interest for propolis is rising in both research and commercial levels, where a huge part of its Brazilian production is exported. Therefore, it was undertaken the phytochemical studies of brown propolis and *Eucalyptus botryoides*' resins aiming to isolate their compounds and to compare their chemical profiles, as well as to investigate their antimicrobial activities. For this purpose, the samples were submitted to a hydroalcoholic extraction, followed by fractionation using different chromatographic methods, such as open chromatography columns, flash chromatography and PREP-HPLC. The crude extracts, its fractions, and the isolated compounds were analyzed by HPLC-DAD using Ascentis C18 column. The chemical structures of the isolated compounds were determined by spectroscopic and spectrometric means, including: Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR and ^{13}C NMR), Mass Spectrometry (MS) and two-dimensional (2D) spectroscopic techniques such as HMBC, HSQC and COSY. Five compounds were isolated from brown propolis: coumaric acid, 4,5-dicaffeoylquinic acid, 1-(4)-hydroxyphenyl-3-(2,4)-dihydroxyphenyl-propan-2-ol (propterol B), 3,4,5-tricaffeoylquinic acid, 4-*O*-methyl-aromadendrin, and *trans*-cinamic acid. From *E. botryoides*' resin, four compounds were isolated: 7-*O*-methyl-aromadendrin, 1-*O*,2-*O*-digalloyl-6-*O*-*trans-p*-coumaroyl- β -D-glucopyranoside, 2-*O*-galloyl-1,6-*O*-di-*trans-p*-coumaroyl- β -D-glucopyranoside e 1,2,3,4,6-pentagalloyl- β -glucose. The crude extracts and the isolated compounds were evaluated for their *in vitro* antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria as well as yeasts. Samples displayed low antibacterial activity with Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of $\text{MIC} \geq 100 \mu\text{g/mL}$, while it displayed high activity against yeast, especially the *E. botryoides*' resin ($2 < \text{MIC} < 50 \mu\text{g/mL}$). Compound 3,4,5-tricaffeoylquinic acid displayed high activity against *Candida glabrata* and *C. krusei* ($1 < \text{MIC} < 4 \mu\text{g/mL}$); 7-*O*-methyl-aromadendrin was potent against *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. parapsilosis* ($1 < \text{MIC} < 4 \mu\text{g/mL}$); 1-*O*,2-*O*-digalloyl-6-*O*-*trans-p*-coumaroyl- β -D-glucopyranoside activity against *C. krusei* ($\text{MIC} = 1,56 \mu\text{g/mL}$); and 2-*O*-galloyl-1,6-*O*-di-*trans-p*-coumaroyl- β -D-glucopyranoside against *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. tropicalis* ($3 < \text{MIC} < 7 \mu\text{g/mL}$). To the best of our knowledge, this is the first report of propterol B in propolis samples, and compound 2-*O*-galloyl-1,6-*O*-di-*trans-p*-coumaroyl- β -D-glucopyranoside has been reported for the first time. It was undertaken HPLC-PDA analysis of different samples of brown and green propolis, aiming to quantify their chemical markers, including coumaric acid, artepillin C and baccharin. The chromatographic profile of the samples were similar, being artepillin C and baccharin found in most of the brown propolis samples, especially the ones from Minas Gerais, even at higher concentrations in comparison with green propolis.

Keywords: brown propolis, *Eucalyptus*, antimicrobial, artepillin C, baccharin.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Produtos naturais	1
1.2 Própolis	1
1.3 Própolis marrom	3
1.4 Importância econômica	3
1.5 Eucalipto (<i>Eucalyptus sp.</i>)	4
5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS	84

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produtos naturais

A natureza possui um papel muito importante para a humanidade, visto que ao longo dos séculos ela foi fundamental para as necessidades do homem. As plantas, em particular, fazem parte de um sistema de medicina tradicional, que são utilizadas no tratamento de diversas doenças (Newman; Gragg, 2013).

Os produtos naturais obtidos de plantas, animais e microrganismos também desempenham importante papel no desenvolvimento de drogas sintéticas atuando como protótipos de novos princípios ativos. Além dos medicamentos, a importância desses produtos está também no dia a dia do ser humano, sendo parte da alimentação (Narender, 2012). O Brasil sendo um dos países com maior biodiversidade do planeta tem grande potencial para a exploração de produtos naturais.

O mercado em relação ao uso de fitoterápicos vem aumentando e muitos países desenvolvidos, como Estados Unidos e Japão, investem altos valores na produção e desenvolvimento de fitomedicamentos. Além disso, esses países são os que mais comercializam e manufaturam os produtos naturais. No Brasil, o mercado de fitoterápicos está ainda se iniciando, estando restrito a um pequeno número de empresas (Castro et al, 2016).

A própolis que é um produto natural bastante importante também vem se destacando nas últimas décadas com diversos estudos sobre suas propriedades químicas e biológicas ganhando ampla aceitação na medicina tradicional em várias partes do mundo (Salatino et al, 2011).

1.2 Própolis

A própolis é uma substância de característica resinosa coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir de diversas partes da planta como ramos, exsudados e brotos de árvores e produzida juntamente com secreções salivares e cera desta. O termo própolis é derivado do grego e significa “em defesa da cidade”. O uso da própolis é bastante antigo, pois no antigo Egito, cerca de 1700 a.C., já era utilizada para embalsamar os mortos, enquanto os gregos, dentre eles Hipócrates, faziam o uso da própolis como cicatrizante (Martinotti; Ranzato, 2015). As abelhas utilizam a própolis como proteção da colmeia contra micro-organismos e insetos invasores, além de prover à colmeia vedação contra vento e frio. A camada de própolis presente na colmeia também reduz possíveis rachaduras na colmeia, ajuda na estabilização da temperatura e umidade interna (Simone-Finstrom et al, 2017).

A composição química da própolis é bastante variada e complexa e depende da época de coleta, flora da região, a técnica empregada e também do genótipo da abelha. No Brasil, essa complexidade química e diversidade biológica é explicada pela grande biodiversidade das regiões do país (Pereira et al, 2002; Martinotti; Ranzato, 2015). De acordo com Park et al (2002) as própolis brasileiras foram divididas em doze classes, sendo cinco tipos no Sul, um no Sudeste e seis no Nordeste do Brasil. Foi adicionado ainda o 13º tipo de própolis, denominada própolis vermelha (Silva et al, 2007). Suas cores variam desde o marrom escuro, passando pelo verde, até o marrom avermelhado, tendo um odor característico que também varia de uma amostra para outra (Berretta et al, 2017). A própolis verde é a mais estudada entre elas e tem como origem botânica a espécie *Baccharis dracunculifolia*. As abelhas coletam tecidos jovens contendo clorofila, como brotos vegetais e folhas jovens, dando origem a própolis verde (Sforzin et al, 2012).

A composição básica da própolis é de cerca 40-55% de resinas vegetais, 20-35% de cera de abelha e ácidos graxos, 10% de óleos essenciais e 5% de pólen (Sartori et al, 2012). Dentre os componentes que se destacam estão os flavonoides, ácidos graxos, ácidos aromáticos, fenóis, aminoácidos, terpenos, ésteres, alguns minerais e vitaminas (Marcucci, 1996; Martinotti; Ranzato, 2015).

As abelhas brasileiras (Figura 1) responsáveis pela produção da própolis são fruto do cruzamento com abelhas africanas, o que resultou em uma espécie “africanizada” altamente resistente a doenças, gerando produtos de alta qualidade e, em consequência disso, ganhou bastante importância econômica no cenário mundial. O interesse pela própolis incentivou um grande número de estudos sobre suas propriedades químicas e biológicas (Salatino et al, 2011).



Figura 1. Espécie *Apis mellifera*.

Fonte. Henry Domke, 2012.

As diversas propriedades biológicas da própolis se destacam no mercado mundial e, por isso, estão sendo mais bem estudadas nas últimas décadas (Salatino et al, 2011). As principais atividades já relatadas para própolis são: antimicrobiana (Rocha et al, 2013), antioxidante (Marquele et al, 2005), imunomodulatória (Machado et al, 2012; Orsolíć et al,

2004; Orsatti et al, 2010), anti-inflamatória (Machado et al, 2012; Hori et al, 2013; Paulino et al, 2008) e antiviral (Urushisaki et al, 2011).

1.3 Própolis marrom

A cor marrom é característica de própolis de diferentes lugares e, apesar muitos compostos químicos já terem sido identificados, assim como diversos efeitos biológicos já terem sido descritos não há ainda tantos estudos sobre sua composição química e atividades biológicas em comparação com os outros tipos de própolis. As cores das própolis são classificadas de acordo com os aspectos de seus extratos, assim como a região na qual são coletados. A origem botânica dos diferentes tipos de própolis marrom ainda não está bem definida, podendo ser de espécies de *Araucaria*, *Eucalyptus* e outras plantas (Park et al, 2002).

Num estudo recente foram avaliados os efeitos antioxidante e antígenotóxico em algumas amostras da própolis marrons brasileiras (Fernandes et al, 2014). Em outro estudo foi avaliada a ação inibitória *in vitro* do extrato hidroalcoólico de própolis marrom sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A própolis marrom apresentou inibição das bactérias Gram-positiva (*Streptococcus intermedius*) e Gram-negativa (*Klebsiella*), concluindo-se que devido à ação antimicrobiana dos extratos de própolis marrom, esses podem ser utilizados na alimentação de ruminantes como aditivos para melhorar o desempenho destes animais (Heimbach et al, 2016).

Amostras de propolis marrons brasileiras também foram avaliadas para atividade leishmanicida por meio da inibição do crescimento das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Grande quantidade do triterpeno lupeol no extrato hidroalcoólico da própolis contribuiu para esse efeito (Santana et al, 2013).

1.4 Importância econômica

A apicultura no Brasil é responsável pela geração de muitos empregos e aumento de renda principalmente na agricultura familiar. Considerando a diversidade na flora brasileira e do clima favorável, o país possui grande potencial para a atividade apícola (Portal Brasil, 2015). É também uma atividade altamente sustentável que favorece o meio ambiente (Alemu et al, 2015).

O grande interesse pelas própolis brasileiras tem gerado aumento no valor deste produto. Segundo estudo realizado pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), o Brasil está em terceiro lugar em produção de própolis no ranking mundial. No estado de

Minas Gerais são produzidos 29 toneladas de própolis, das quais 20 são de própolis verde, o que corresponde a 70% da produção de todo o país. Além disso, 92% da própolis *in natura* consumida no Japão são de origem brasileira (SEBRAE, 2014). O interesse do Japão, em especial pela própolis verde, se dá pelo consumo desse produto e também pela pesquisa relacionada com a composição química e às atividades biológicas deste tipo de própolis, especialmente os estudos com artepelin C (Paulino et al, 2008).

A própolis vermelha pode ser encontrada no nordeste do país e possui um alto valor comercial, e, assim como a própolis verde, é exportada para o Japão. Esse tipo de própolis é um produto bastante singular, pois diversos compostos encontrados na própolis vermelha não foram encontrados em outros tipos de própolis (Freires et al, 2016). Além disso, diversas propriedades biológicas já foram descritas, o que torna seu mercado bastante promissor (SEBRAE, 2014).

1.5 Eucalipto (*Eucalyptus sp.*)

O *Eucalyptus* é um gênero de plantas pertencente à família Myrtaceae, que compreende mais de 900 espécies. A maioria dessas espécies é originária da Austrália, sendo algumas da Nova Guiné e Indonésia. É um gênero vegetal disseminado por todo o mundo, sendo amplamente utilizado na produção de energia, obtenção de óleos essenciais e, principalmente, sua madeira é utilizada pela indústria de celulose e papel devido ao seu elevado rendimento de polpa, alta densidade e excelente qualidade de fibra (Carillo et al, 2017). Alguns exemplos de espécies são: *E. citriodora*, *E. botryoides*, *E. alba*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. maculata*, *E. robusta*, *E. urophylla* e *E. occidentalis*.

O eucalipto (Figura 2) é uma planta que tem crescimento rápido e é bastante adaptada para as diferentes situações climáticas brasileiras. O Brasil possui a maior área plantada de eucaliptos no mundo, cerca de três milhões de hectares, grande parte destinada a produção de celulose, colocando o Brasil como um dos maiores produtores mundiais com aproximadamente 6,3 milhões de toneladas por ano. Além das utilizações apresentadas, é possível também produzir própolis a partir do eucalipto (Tume, ESALQ/USP).



Figura 2. Plantação de *Eucalyptus*.

Fonte. Marcos Silveira Wrege, 2014.

As abelhas produzem a própolis a partir de exsudato das plantas e visitam também as flores para coleta de pólen e néctar e, ainda, adicionam substâncias geradas pelo seu próprio metabolismo glandular, como ceras e enzimas (Burdock, 1998). Esse produto pode ser elaborado pelas abelhas durante o ano todo. Porém, existem alguns fatores que influenciam na produtividade da própolis, como o tipo de coletor utilizado, intensidade luminosa e a sazonalidade da região (Souza et al, 2006). Além disso, as abelhas são muito importantes na preservação da flora, pois promovem a polinização cruzada de eucaliptos, gerando benefícios para a floresta e o meio ambiente (Remade, 2001).

Apesar de o eucalipto ser prioritariamente cultivado para a utilização da madeira, o seu óleo aromático foliar é amplamente utilizado nas indústrias farmacêutica e cosmética, por apresentar atividades antimicrobianas (Mekonnen et al, 2016), antioxidantes (Chen et al, 2014), anti-inflamatória (Lux et al, 2004), citotóxica (Doll-Boscardin et al, 2012), antimalárica (Milhaua et al, 1997), bem como é utilizado no tratamento de distúrbios respiratórios (Sisay et al, 2010), cicatrização de feridas (Lawal et al, 2014), como inseticida/repelente de insetos (Lucia et al, 2012), nematicida (Taur et al, 2010) e na fabricação de perfumes e sabonetes.

Além do alto valor terapêutico e comercial de seus óleos essenciais, as espécies de *Eucalyptus* são caracterizadas pela formação de um exsudato espesso, conhecido por kino, que pode ser encontrado nas cavidades dos caules. O kino contém grandes quantidades de taninos, desempenhando papel crucial nos mecanismos de defesa da planta contra infecções patogênicas causadas por insetos, fungos ou queimadas. Esse tipo de produto já foi muito utilizado na medicina para tratar diarreia e como uso tópico para tratar feridas, possuindo também propriedades antimicrobianas (Martius et al, 2012). Num estudo de 2017, os extratos etanólicos do kino de algumas espécies de *Eucalyptus* (*E. citriodora* e *E. torelliana*) foram testados frente a bactérias Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*), Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e frente à *Candida albicans*. Os resultados

mostraram forte atividade antimicrobiana para todos os micro-organismos testados através do cálculo da zona de inibição (Nobakht et al, 2017).

A espécie *E. botryoides* popularmente conhecido na Austrália como Bangalay é uma árvore de porte médio a alto que pode ser encontrada em planícies costeiras e regiões de vale no interior do continente podendo ter um bom desenvolvimento em condições de estresse hídrico (Blakely, 1955). Esse tipo de espécie pode ser encontrada em solos pobres, arenosos e salinos (Boland et al, 2006). No Brasil, os plantios são geralmente feitos em pequenas e médias propriedades para produções de menor escala, não existindo registros de grandes plantações da espécie (TUME, 2015).

Assim, considerando a diversidade de tipos de própolis marrom e a escassez de estudos químicos e biológicos, bem como de identificação da origem botânica dos diferentes tipos amostras, propôs-se, neste trabalho, o estudo de amostra de própolis marrom produzida em Bambuí, Minas Gerais.

5. CONCLUSÕES

A própolis é um produto de interesse internacional e diversas substâncias químicas já foram isoladas e identificadas, assim como muitas atividades biológicas já foram testadas e reportadas. Das substâncias isoladas, para apenas uma delas, o propterol B (PM-3), não foram encontrados relatos desse composto em amostras de própolis. Apesar de conhecido, não há muitos estudos sobre este composto e nem em relação à atividade biológica. A atividade antifúngica testada frente às leveduras não demonstrou eficácia, uma vez que os valores de CIM foram bastante altos para uma substância pura. No entanto, o propterol B é uma substância a ser explorada tanto em relação as suas atividades biológicas quanto as suas propriedades químicas. Além disso, sugere-se também que a planta do gênero *Acacia* seja uma possível fonte botânica no estado de Minas Gerais para a própolis marrom, além da *B. dracunculifolia*.

O ácido-3,4,5-tricafeoilquínico (PM-4) isolado apresentou excelente atividade antifúngica frente às linhagens referência *C. glabrata* e *C. krusei*, com valores de $1 < \text{CIM} < 4 \mu\text{g/mL}$, o que indica um grande potencial medicamentoso para esse composto. Em relação à própolis marrom, seu extrato bruto também apresentou bons resultados frente aos dois tipos de cândidas, *C. glabrata* e *C. krusei*, enquanto que os testes frente a bactérias não foram muito satisfatórios. Os demais compostos isolados da própolis marrom já haviam sido reportados anteriormente e todos eles em amostras de própolis verde, o que mostra uma similaridade química entre esses dois tipos de própolis.

Os resultados frente às leveduras testados com o extrato bruto da resina do *E. botryoides* foram muito satisfatórios para as quatro espécies testadas. Em relação aos resultados frente às bactérias, a resina foi eficaz apenas contra a bactéria bucal *Streptococcus salivarius* (CIM 25 $\mu\text{g/mL}$). Devido a isso, os compostos isolados da resina também foram testados e apresentaram uma excelente atividade antifúngica para pelo menos uma espécie de cândida. As substâncias RE-1 e RE-3 apresentaram eficácia frente a três tipos de cândidas: *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* para RE-1 ($1 < \text{CIM} < 4 \mu\text{g/mL}$), *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis* para RE-3 ($3 < \text{CIM} < 7 \mu\text{g/mL}$). A substância RE-2 foi eficaz apenas para a linhagem de *C. krusei* (CIM = 1,56 $\mu\text{g/mL}$). Além disso, este é o primeiro relato do glicosídeo fenólico RE-3 na literatura.

Ao quantificar as substâncias artepelin C e bacarina presentes em amostras de própolis marrom em comparação com as própolis verde, pôde-se concluir que, apesar da

maior valorização mundial da própolis verde, as própolis marrons produzidas no estado de Minas Gerais também possuem compostos de interesse e em concentrações comparáveis à própolis verde. Sendo assim, o mercado da própolis marrom pode também ser bastante promissor tanto para suas atividades biológicas quanto para suas propriedades químicas, o que pode levar a um aumento de seu valor agregado para seus produtores.

6. REFERÊNCIAS

- AGA, H.; SHIBUYA, T.; SUGIMOTO, T.; KURIMOTO, M.; NAKAJIMA, S. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 58, n. 3, p. 945-946, 1994.
- AKAO Y.; MARUYAMA H.; MATSUMOTO K.; OHGUCHI K.; NISHIZAWA K.; SAKAMOTO T.; ARAKI Y.; MISHIMA S.; NOZAWA Y. Cell growth inhibitory effect of cinnamic acid derivatives from propolis on human tumor cell lines. **Biol Pharm Bull**, v. 26, n. 7, p. 1057–1059, 2003.
- ALEMU, T.; SEIFU E.; BEZABIH, A. Postharvest handling, opportunities and constraints to honey production in northern Ethiopia. **Livestock Research for Rural Development**, v. 27, n. 5, 2015.
- ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potencial and antioxidante activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129-138, 2017.
- BARILLE, G.; COELHO, R.; REIS, T. C.; MARQUES, M. J.; BUENO, A. G. Descrição do perfil clínico de candidemias em hospital terciário entre 2007 e 2018. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 128-129, 2018.
- BERRETTA, A. A.; ARRUDA, C.; MIGUEL, F. G.; BAPTISTA, N.; NASCIMENTO, A. P.; OLIVEIRA, F. M.; HORI, J. I.; BARUD, H. S.; DAMASO, B.; RAMOS, C.; FERREIRA, R.; BASTOS, J.K. Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market. **Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization**, p. 55–98, 2017.
- BERRETTA, G.; ARTALI, R.; CANEVA, E.; FACINO, R. M. Conformation of the tridimensional structure of 1,2,3,4,6-pentagalloyl- β -D-glucopyranose (PGG) by ¹H NMR, NOESY and theoretical study and membrane interaction in a simulated phospholipid bilayer: a first insight. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 49, p. 132-136, 2011.
- BLAKELY, W.F. **A Key to the Eucalypts: with descriptions of 522 species and 150 varieties**. Second Edition. Canberra: Forestry and Timber Bureau, 1955. 383 p.
- BOLAND, D.J.; BROOKER, M.H.; CHIPPENDALE, G.M.; HALL, N.; HYLAND, B.P.M.; JOHNSTON, R.D.; KLEINIG, D.A.; MCDONALD, M.W.; TURNER, J.D. **Forest trees of Australia**. V. 5, p. 296-297, 2006.
- BRASIL, ANVISA. Controle Interno da Qualidade para Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos (Versão 1.2), 2015

- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998.
- CARILLO, I.; VIDAL, C.; ELISSETCHEM J. P.; MENDONÇA, R. T. Wood anatomical and chemical properties related to the pulpability of *Eucalyptus globulus*: a review. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 80, n. 1, p. 1-8, 2017.
- CASTRO, R. A.; ALBIERO, A. L. M. O mercado de matérias primas para indústria de fitoterápicos. **Revista Fitos**, v. 10, n.1, p. 1-93, 2016.
- CHEN, W. H.; WANG, R.; SHI, Y. P. Flavonoids in the poisonous plant *Oxytropis falcata*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 8, p. 1398-1403, 2010.
- CHEN, Y.; WANG, J.; OU, Y.; CHEN, H.; XIAO, S.; LIU, S.; CAO, Y.; HUANG, Q. Cellular antioxidant activities of polyphenols isolated from *Eucalyptus* leaves (*Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* GL9). **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 737-745, 2014.
- CHONG, P. P.; ABDUL, H. S. R.; LEE, Y. L.; PHAN, C. L.; TAN, B. C.; NG, K. P.; SEOW, H. F. Genotyping and drug resistance profile of *Candida* spp. in recurrent and one-off vaginitis, and high association of non-albicans species with non-pregnant status. **Infect Genet Evol**, v. 7, n. 4, p. 449-456, 2007.
- CLSI (2009). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard. M7-A8. Wayne, PA: USA.
- CLSI (2008). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests of yeasts. Approved Standard. M27-A3. Wayne, PA: USA.
- COSTA, P.; ALMEIDA, M. O.; LEMOS, M.; ARRUDA, C.; CASOTI, R.; SOMENSI, L. B.; BOEING, T.; MARIOTT, M.; DA SILVA, R. C. M. V. A. F.; STEIN, B. P.; SOUZA, P.; DOS SANTOS, A. C.; BASTOS, J. K.; DA SILVA, L. M.; ANDRADE, S. F. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methylether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 226, p. 82-89, 2018.
- DE MELO, A. P. V.; ZUZA0ALVES, D. L.; DA SILVA-ROCHA, W. P.; DE SOUZA, L. B. F. C.; FRANCISCO, E. C.; MELO, A. S. AZEVEDO, CHAVES, G. M. Virulence factors of *Candida* spp obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 29, n. 2, p. 132-139, 2019.
- DEMBOGURSKI, D. S. O.; TRENTIN, D. S.; BOARETTO, A. G.; RIGO, G. V.; DA SILVA, R. C.; TASCA, T.; MACEDO, A. J.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B. Brown propolis-metabolomic innovative approach to determine compounds capable of killing

- Staphylococcus aureus* biofilm and *Trichomonas vaginalis*. **Food Research International**, v. 111, p. 661-673, 2018.
- DOLL-BOSCARDIN P. M.; SARTORATTO A.; MAIA B. H. L. N. S.; PAULA J. P.; NAKASHIMA T.; FARAGO P. V.; KANUNFRE C. C. In vitro cytotoxic potential of essential oils of *Eucalyptus benthamii* and its related terpenes on tumor cell lines. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. V. 8, p. 1-8, 2012.
- DOMKE, H. Disponível em <http://pgtnaturegarden.org/2012/08/not-much-nectar/apis-mellifera_1860/>. Acesso em 21 ago. 2019.
- EL-SEEDI, H. R.; EL-SAID, A. M.; KHALIFA, S. A.; GÖRANSSON, U.; BOHLIN, L.; BORG-KARLSON, A. K.; VERPOORTE, R. Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 44, p. 10877–10895, 2012.
- FERNANDES, F.H.; GUTERRES, Z.R.; GARCEZ, W.S.; LOPES, S.M.; CORSINO, J.; GARCEZ, F.R. Assessment of the (anti)genotoxicity of brown propolis extracts from Brazilian Cerrado biome in a *Drosophila melanogaster* model. **Food Research International**, v. 62, p. 20–26, 2014.
- FREIRES I. A.; ALENCAR S. M.; ROSALEN P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.110, p. 267-279, 2016.
- FREITAS, M. O.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Compostos polifenólicos do kino de *Eucalyptus citriodora*. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1926-1929, 2007.
- FREITAS, M. O.; SILVEIRA, E.; LIMA, M. A. S. Flavonoids and triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 3, p. 532-535, 2008.
- GHANNOUM, M. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. **Clinical Microbiology review**, v. 13. n. 1, p. 122-143, 2000.
- GIBBONS, S. Phytochemicals for bacterial resistance – Strengths, weaknesses and opportunities. **Planta Medica**, v. 74, n. 6, p. 594-602, 2008.
- HAGOS, M.; SAMUELSSON, G.; KENNE, L.; MODAWI, B. M. Isolation of Smooth Muscle Relaxing 1, 3-Diarylpropan- 2-ol Derivatives from *Acacia tortilis*. **Planta medica**, v. 53, n. 1, p. 27-31, 1987.
- HEIMBACH, N. S.; ÍTAVO, C. C. B. F.; LEAL, C. R. B.; ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, J. A.; SILVA, P. C. G.; REZENDE, L. C.; GOMES, M. F. F. Resíduo da extração de própolis como inibidor bacteriano *in vitro*. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v.17, n.1, p.65-72, 2016

- HORI J. I.; ZAMBONI D. S.; CARRÃO D. B.; GOLDMAN G. H.; BERRETTA A. A. The Inhibition of Inflammasome by Brazilian Propolis (EPP-AF). **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013:418508, p. 1-11, 2013.
- KASHIWADA, Y.; NONAKA, G. I.; NISHIOKA, I.; YAMAGISHI, T. Galloyl and hydroxycinnamoylglucoses from rhubarb. **Phytochemistry**, v. 27, n. 5, p. 1473-1477, 1988.
- KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, I.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, n. 6, p. 740-742, 2003.
- KUO, P. T.; LIN, T. P.; LIU, L. C.; HUANG, C. H.; LIN, J. K.; KAO, J. Y.; WAY, T. D. Penta-O-galloyl-beta-D-glucose suppresses prostate cancer bone metastasis by transcriptionally repressing EGF-induced MMP-9 expression. **Journal of Agriculture and food chemistry**, v. 57, n. 8, p. 3331-3339, 2009.
- LAWAL T. O.; ADENIYI B. A.; OLALEYE S. B. Ulcer-healing promoting activities of methanol extracts of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh and *Eucalyptus torelliana* F. Muell in rat. **Archives of Basic and Applied Medicine**, v. 2, p. 147-152, 2014.
- LAXMINARAYAN R., SRIDHAR D., BLASER M., WANG M., WOOLHOUSE M. Achieving global targets for antimicrobial resistance. **Science**, v.5, p.358-874, 2016.
- LEE, G. Y.; CHO, J. Y.; KIM, C. M.; LEE, S. H.; KIM, W. S.; JEON, T. I.; PARK, K. H.; MOON, J. H. Coumaroyl Quinic Acid Derivatives and Flavonoids from Immature Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) Fruit. **Food Science Biotechnology**, v. 22, n. 3, p. 803-810, 2013.
- LEE, S. A.; JUNG, E. B.; LEE, S. H.; KIM, Y. J.; BANG, H.; SEO, S. J.; CHOI, Y. W.; KIM, M. H.; LEE, M. W.; LEE, C. S. 3,4,5-Tricaffeoylquinic Acid Inhibits the Lipopolysaccharide-Stimulated Production of Inflammatory Mediators in Keratinocytes. **Pharmacology**, v. 90, n. 3-4, p. 183-192, 2012.
- LEE, Y. N.; CHEN, C. R.; YANG, H. L.; LIN, C. C.; CHANG, C. M. J. Isolation and purification of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) in Brazilian propolis by supercritical fluid extractions. **Separation and Purification Technology**, v. 54, p. 130-138, 2007.
- LIU, H.; ZHANG, X.; WU, C.; WU, H.; GUO, P.; XU, X. Anti-hyperlipidemic caffeoylquinic acids from the fruits of *Pandanus tectorius* Soland. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 8, p. 16-19, 2013.

- LUCIA A.; JUAN L. W.; ZERBA E. N.; HARRAND L.; MARCO M.; MASUH H. M. Validation of models to estimate the fumigant and larvicidal activity of *Eucalyptus* essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 110, n. 5, p. 1675-1686, 2012.
- LUX Q.; TANG F. D.; WANG Y.; ZHAO T.; BIAN R. L. Effect of *Eucalyptus globulus* oil on lipopolysaccharide-induced chronic bronchitis and mucin hypersecretion in rats. **Zhongguo Zhong Yao Za Zh**, v. 29, n.2, p. 168-171, 2004.
- MACHADO J. L.; ASSUNÇÃO A. K. M.; SILVA M. C. P.; REIS A. S.; COSTA G. C.; ARRUDA D. S.; ROCHA B. A.; VAZ M. M. O. L. L.; PAES A. M. A.; GUERRA R. N. M.; BERRETTA A. A.; DO NASCIMENTO F. R. F. Brazilian Green Propolis: Anti-Inflammatory Property by an Immunomodulatory Activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 157652, p. 1-10, 2012.
- MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v.19, n. 5, p. 529-536, 1996.
- MARQUELE F. D.; DI MAMBRO V. M.; GEORGETTI S. R.; CASAGRANDE R.; VALIM Y. M. L.; FONSECA M. J. V. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 3-4, p. 455–462, 2005.
- MARTINOTTI, S.; RANZATO, E. Propolis: a new frontier for wound healing? **Burns & Trauma**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2015.
- MARTIUS, S. V.; HAMMER, K. A.; LOCHER, C. Chemical characteristics and antimicrobial effects of some *Eucalyptus* kinos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 2, p. 293-299, 2012.
- MATHEW, J.; RAO, A. V. S. Propterol B, a further 1,3-diarylpropan-2-ol from *Pterocarpus marsupium*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 8, p. 1814-1815, 1984.
- MATOS, V. R.; ALENCAR, S. M.; SANTOS, F. A. R. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L. (Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p. 407-418, 2014.
- MATSUI, T.; EBUCHI, S.; FUJISE, T.; ABESUNDARA, K. J. M.; DOI, S.; YAMADA, H.; MATSUMOTO, K. Strong Antihyperglycemic Effects of Water-Soluble Fraction of Brazilian Propolis and Its Bioactive Constituent, 3,4,5-Tri-O-caffeoylquinic Acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 11, p. 1797-1803, 2004.
- MISHIMA, S.; INOH, Y.; NARITA, Y.; OHTA, S.; SAKAMOTO, T.; ARAKI, Y.; SUZUKI, K. M.; AKAO, Y.; NOZAWA, Y. Identification of caffeoylquinic acid derivatives from

- Brazilian propolis as constituents involved in induction of granulocytic differentiation of HL-60 cells. **Bioorganic and medicinal chemistry**, v. 13, n. 20, p. 5814-5818, 2005.
- MEKONNEN A.; YITAYEW B.; TESEMA A.; TADDESE S. *In Vitro* Antimicrobial Activity Of Essential Oil Of *Thymus Schimperi*, *Matricaria Chamomilla*, *Eucalyptus Globulus* and *Rosmarinus Officinalis*. **International Journal Of Microbiology**, v. 9545693, p. 1-8, 2016.
- MESSERLI, S. M.; AHN, M.-R.; KUNIMASA, K.; YANAGIHARA, M.; TATEFUJI, T.; HASHIMOTO, K.; KUMAZAWA, S. Artepillin C (ARC) in Brazilian green propolis selectively blocks oncogenic PAK1 signaling and suppresses the growth of NF tumors in mice. **Phytotherapy Research**, v. 23, n. 3, p. 423–427, 2009.
- MILHAUA G.; VALENTINA A.; BENOITA F.; MALLIÉA M.; BASTIDEA J. M.; PÉLISSIERB Y.; BESSIÈREC J. M. *In vitro* antimalarial activity of eight essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, n. 3, p. 329-333, 1997.
- MISHIMA S.; ONO Y.; ARAKI Y.; NOZAWA Y. Two related cinnamic acid derivatives from Brazilian honey propolis, baccharin and drupanin, induce growth inhibition in allografted sarcoma S-180 in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 6, p. 1025–1030, 2005.
- NARENDER, T. Recent advances in the natural products drug discovery. **Jornal of Pharmacognosy**, v. 3, n. 2, p. 108-111, 2012.
- NEUKIRCH, A. Dependence of the life span of honeybee (*Apis mellifica*) upon flight performance and energy consumption. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 146, n. 1, p. 35-40, 1982.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim Biophys Acta**, v.1830, n.6, p. 3670-3695, 2013.
- NOBAKHT, M.; TRUEMAN, S. J.; WALLACE, H. M.; BROOKS, P. R.; STREETER, K. J.; KATOULI, M. Antibacterial Properties of Flavonoids from kino of the Eucalypt Tree, *Corymbia torelliana*. **Plants**, v. 6, n. 3, p. 39, 2017.
- NOUMI, E.; SNOUSSI, M.; SAGHROUNI, F.; BEN SAID, M.; DEL CASTILLO, L.; VALENTIN, E.; BAKHROUF, A. Molecular typing of clinical *Candida* strains using random amplified polymorphic DNA and contour-clamped homogenous electric fields electrophoresis. **Journal of applied Microbiology**, v. 107, n. 6, p. 1991-2000, 2009.
- ORSATTI C. L.; MISSIMA F.; PAGLIARONE A. C.; BACHIEGA T. F.; BÚFALO M. C.; ARAÚJO J. P. JR.; SFORCIN J. M. Propolis immunomodulatory action *in vivo* on Toll-like receptors 2 and 4 expression and on pro-inflammatory cytokines production in mice. **Phytotherapy Research**, v. 24, n.8, p. 1141-1146, 2010.

- ORSOLIĆ N.; KNEZEVIĆ A.H.; SVER L.; TERZIĆ S.; BASIĆ I. Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 307-15, 2004.
- PARK Y. K.; ALENCAR S. M.; AGUIAR C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.
- PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; FUJIWARA, F. Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v 52, n. 5, p. 1100-1103, 2004.
- PAULINO N.; ABREU S. R.; UTO Y.; KOYAMA D.; NAGASAWA H.; HORI H.; DIRSCH V. M.; VOLLMAR A. M.; SCREMIN A.; BRETZ W.A. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, n. 1-3, p. 296-301, 2008.
- PEI, K.; OU, J.; HUANG, J.; OU, S. p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. **Journal of the Science of food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 2952-2962, 2016.
- PEREIRA, A. dos S.; SEIXAS, F. R. M. S.; NETO, F. R. DE A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n.2, p.321-326, 2002.
- POPOVA, M.; DIMITROVA, R.; AL-LAWATI, H. T.; TSVETKOVA, I.; NAJDENSKI, H.; BANKOVA, V. Omani propolis: chemical profiling, antibacterial activity and new propolis plant sources. **Chemistry Central Journal**, v. 7, n. 1, p. 158, 2013.
- PORTAL BRASIL, 2015. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2015/03/codevasf-investe-r-41-milhoes-para-fortalecer-a-apicultura-no-brasil>>. Acesso em: 24 de jul. 2019.
- REVISTA DA MADEIRA (REMADE) – Edição nº59 – Setembro 2001. Disponível em:<http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=2&subject=Apicultura&title=O%20Eucalipto%20e%20a%20Apicultura>. Acesso em: 27 de jul. 2017.
- RIBAS, A. D. R.; SPOLTI, P.; DEL PONTE, E. M.; DONATO, K. Z.; SCHREKKER, H.; FUENTEFRIA, A. M. Is the emergence of fungal resistance to medical triazoles related to their use in the agroecosystems? A mini review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 793-799, 2016.
- RIOS, J. L., RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.

ROCHA B. A.; BUENO P. C. P.; VAZ M. M. O. L. L.; NASCIMENTO A. P.; FERREIRA N. U.; MORENO G.P.; RODRIGUES M. R.; COSTA-MACHADO A. R. M.; BARIZON E. A.; CAMPOS J. C. L.; DE OLIVEIRA P. F.; ACÉSIO N. O.; MARTINS S. P. L.; TAVARES D. C.; BERRETTA, A. A. Evaluation of a Propolis Water Extract Using a Reliable RP-HPLC Methodology and *In Vitro* and *In Vivo* Efficacy and Safety Characterisation. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 670451, p. 1-11, 2013.

RODRIGUES, D. M. ***Baccharis dracunculifolia*: Formação de pasto apícola, estudo das interações com Apis mellifera e insetos galhadores na produção de própolis verde.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 100 p., Ribeirão Preto, 2017.

SALATINO A.; FERNANDES SILVA C. C.; RIGHI A. A.; SALATINO M. L. F. Propolis research and the chemistry of plant products. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 5, p. 928-925, 2011.

SANTANA, L. C. L. R.; CARNEIRO, S. M. P.; CALAND-NETO, L. B.; ARCANJO, D. D. R.; MOITA-NETO, J. M.; CITÓ, A. M. G. L.; CARVALHO, F. A. A. Brazilian brown propolis elicits antileishmanial effect against promastigote and amastigote forms of *Leishmania amazonenses*. **Natural Product Research: Formerly Natural Products Letters**, v. 28, n. 5., p. 340-343, 2013.

SANTOS, A. R.; BARROS, M. P.; SANTIN, S. M. O.; SARRAGIOTTO, M. H.; SOUZA, M. C.; EBERLIN, M. N.; MEURER, E. D. Constituintes polares da folha de *Machaonia brasiliensis* (RUBIACEAE). **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 525-527, 2004.

SANTOS, M. D.; GOBBO-NETO, L.; ALBARELLA, L.; DE SOUZA, G. E.; LOPES, N. P. Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da serra). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 545-549, 2004.

SARTORI, G.; PESARICO, A. P.; PINTON, S.; DOBRACHINSKI, F.; ROMAN, S. S.; PAULETTO, F.; JUNIOR, L. C. R.; PRIGOL, M. Protective effect of brown Brazilian propolis against acute vaginal lesions caused by herpes simplex virus type 2 in mice: involvement of antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. **Cell Biochemistry and Function**, v. 30, n.1, p. 1–10, 2012.

SEBRAE AGRONEGÓCIO, 2014. O Aquecido Mercado da Própolis. Disponível em: <<http://www.sebraemercados.com.br/o-aquecido-mercado-da-propolis/>>. Acesso em: 06 de ago. de 2019.

SFORCIN, J. M.; SOUSA, J. P. B.; DA SILVA FILHO, A. A.; BASTOS, J. K.; BÚFALO, M. C.; TONUCCI, L. R. S. ***Baccharis dracunculifolia*: Uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira.** São Paulo: Editora UNESP, p. 38, 2012.

- SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.5, n.3, p.313-316, 2007.
- SILVA, R. P. D.; MACHADO, B. A. S.; BARRETO, G. de A.; COSTA., S. S.; ANDRADE, L. N.; AMARAL, R. G.; CARVALHO, A. A.; PADILHA, F. F.; BARBOSA, J. D. V.; UMSZA-GUEZ, M. A. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, e0172585, 2017.
- SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; GESSER, J. C.; SÁ, M. M. Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. **Quimica Nova**, v. 29, n.4, p. 844-855, 2006.
- SIMONE-FINSTROM, M.; BORBA, R. S.; WILSON, M.; SPIVAK, M. Propolis Counteracts Some Threats to Honey Bee Health. **Insects**, v. 8, n. 2, p. 46, 2017.
- SISAY F.; GIL L.; TADESSE W.; TOLOSANA E.; LOPEZ R. *Eucalyptus* species management, history, status and trends in Ethiopia. Proceedings from the Congress held in Addis Ababa, 15-17 September, 2010.
- SOUZA, H. R.; ORSI, R. O.; FUNARI, S. R. C.; BARRETO, L. M. R. C.; DIB, A. P. S. Produção de Própolis em Colmeias de *Apis Mellifera* Africanizadas Submetidas à Diferentes Condições de Sombreamento. **Biblioteca virtual em saúde**, v. 63, n. 4, p. 189-192, 2006.
- SOUZA, S. A.; SILVA, T. M. G.; SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Characterisation of phenolic compounds by UPLC-QTOF-MS/MS of geopropolis from the stingless bee *Melipona subnitida* (jandaíra). **Phytochemical Analysis**, v. 29, n. 6, p. 1-10, 2018.
- SZLISZKA, E.; ZYDOWICZ, G.; MIZGALA, E.; KROL, W. Artepellin C (3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) sensitizes LNCaP prostate cancer cells to TRAIL-induce apoptosis. **International Journal of Oncology**, v. 41, n. 3, p. 818-828, 2012.
- TAUR D. J., KULKARNI V. B., PATIL R. Y. Chromatographic evaluation and anthelmintic activity of Eucalyptus globulus oil. **Pharmacognosy Research**, v. 2, p. 125-127, 2010.
- TUME. Tese de Uso Múltiplo de *Eucalyptus*. Departamento de Ciências Florestais - ESALQ/USP. Disponível em: <<http://www.tume.esalq.usp.br/brasil.htm>>. Acesso em: 23 de jul. 2017.
- URUSHISAKI T.; TAKEMURA T.; TAZAWA S.; FUKUOKA M.; HOSOKAWA-MUTO J.; ARAKI Y.; KUWATA K.. Caffeoylquinic acids are major constituents with potent anti-influenza effects in Brazilian green propolis water extract. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 254914, p. 1-7, 2011.

- VEIGA, R. S.; DE MENDONCA, S.; MENDES, P. B.; PAULINO, N.; MIMICA, M. J.; LAGAREIRO NETTO, A. A.; MARCUCCI, M. C. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 4, p. 911–920, 2017.
- WALLER, S. B.; PETER, C. M.; HOFFMANN, J. F.; PICOLI, T.; OSÓRIO, L. D.; CHAVES, F.; ZANI, J. L.; DE FARIA, R. O.; DE MELLO, J. R.; MEIRELES, M. C. Chemical and cytotoxic analyses of brown Brazilian propolis (*Apis mellifera*) and its in vitro activity against itraconazole resistant *Sporothrix brasiliensis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p. 117-121, 2017.
- WREGUE, M. S. Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Cultivo-e-pesquisa-de-Eucalyptus-benthamii-na-Embrapa-Florestas_fig1_316977133>. Acesso em 21 Ago. 19.
- ZHANG, Y.; LIU, C.; YU, M.; ZHANG, Z.; QI, Y.; WANG, J.; WU, G.; LI, S.; YU, J.; HU, Y. Application of accelerated solvent extraction coupled with high-performance counter-current chromatography to extraction and online isolation of chemical constituents from *Hypericum perforatum* L. **Journal of Chromatography**, v. 1218, p. 2827-2834, 2011.

