

MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA DEL PROPÓLEOS

MECHANISMS INVOLVED IN ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PROPOLIS

Vargas-Sánchez RD¹, Torrescano-Urrutia GR¹, Mendoza-Wilson AM¹, Vallejo-Galland B¹, Acedo-Félix E¹, Sánchez-Escalante JJ², Peñalba-Garmendia MC² y Sánchez-Escalante A^{1*}

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km 0.6. C.P. 83000. Hermosillo, Sonora, México. ²Universidad de Sonora, DICTUS. Rosales y Luis Encinas s/n. C.P. 83000. Hermosillo, Sonora, México. Hermosillo, Sonora, México, CP 83304. Teléfono/Fax: +52(662)280-0421.

RESUMEN

El propóleo es un producto elaborado por las abejas, que se caracteriza por poseer propiedades antioxidantes y antimicrobianas, las cuales son atribuidas a la presencia de compuestos polifenólicos, principalmente flavonoides. Estos compuestos son de bajo peso molecular y en su estructura química contienen un número variable de grupos hidroxilos. Varios investigadores han reportado que los mecanismos antioxidantes propuestos para estos grupos son mediante secuestro de radicales libres, o actuando como sustrato para radicales, tales como superóxido e hidroxilo, y quelación de iones metálicos. Mientras que el mecanismo antimicrobiano involucra la inhibición de ácidos nucleicos y degradación de la membrana citoplasmática.

Palabras clave: propóleos, mecanismo antioxidante, antibacteriano, flavonoides.

ABSTRACT

Propolis is a bee product characterized by possesses antioxidant and antimicrobial properties, which are attributed to the presence of polyphenolic compounds, mainly flavonoids. These compounds are low molecular weight and contain in their chemical structure a variable number of hydroxyl groups. Several researchers reported that antioxidant mechanisms proposed for these groups are free radical sequestration, or their acting as substrate for radicals such as superoxide and hydroxyl, and metallic ion chelation. While antimicrobial mechanism involves the inhibition of nucleic acids and degradation of cytoplasmic membrane.

Keywords: propolis, antioxidant mechanism, antibacterial, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

El propóleo es una sustancia de composición compleja elaborada por las abejas (*Apis mellifera*), a partir de resinas de ciertas plantas que las abejas modifican por glucólisis con enzimas de las glándulas de la hipofaringe. Posteriormente, la resina parcialmente digerida, es mezclada con cera y polen, y utilizada en la colmena como material de sellado durante el invierno. El propóleo además mantiene un ambiente aséptico en la colmena (Bankova *et al.*, 1999; Bankova, 2009). El propóleo es conocido por el hombre desde tiempos

remotos, siendo utilizado por los sacerdotes egipcios y más tarde por los griegos, quienes lo denominaron "propóleos", *pro* que significa delante y *polis*, que quiere decir ciudad. De acuerdo a un gran número de estudios, este producto apícola se caracteriza por poseer actividad antiviral, antifúngica, antiinflamatoria, cicatrizante, anestésica, anticancerígena, antioxidante y antibacteriana (Farré *et al.*, 2004).

A partir del propóleo se han identificado más de 300 compuestos, de los cuales un alto porcentaje son ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos aromáticos, cumarinas y flavonoides. En términos de actividad antioxidante y antimicrobiana los principales constituyentes del propóleo son compuestos fenólicos (Kumar *et al.*, 2008). Estos compuestos orgánicos se caracterizan por poseer en su estructura molecular al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo, además algunos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas. Los ácidos fenólicos y flavonoides tienen una variedad muy heterogénea de funciones en las plantas, muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos; otros proveen soporte mecánico a la planta; otros atraen polinizadores o dispersores de frutos, o actúan como agentes alelopáticos (reducen el crecimiento de plantas competidoras que estén cerca); mientras que algunos de ellos absorben radiación electromagnética en la zona UV-VIS (Kroon y Williamson, 1999; Martínez-Florez *et al.*, 2002), representando una protección natural para las plantas contra la radiación UV del sol, lo cual explica el efecto protector de la oxidación de la piel por ciertos preparados a base de extractos de propóleos; además de la barrera química de defensa contra microorganismos (hongos, bacterias y virus) en las colmenas (Cushnie y Lamb, 2005a). Choi *et al.* (2006), evaluaron la actividad antioxidante y antimicrobiana *in vitro* de extractos de propóleos, encontrando alta actividad antiradical (DPPH) y un efecto frente a *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos Gram positivos, lo cual fue correlacionado con la presencia de flavonoides. Por otro lado, se ha reportado que ciertos ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico, que están presentes en los extractos de propóleos, exhiben interesantes propiedades farmacológicas (Kroon y Williamson, 1999). Actualmente, existe mucha evidencia derivada de resultados de investigaciones que demuestran el potencial biológico de los extractos de propóleos. Sin embargo, debido a su compleja

composición química, muchos de los mecanismos no han sido esclarecidos. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es analizar algunos de los posibles mecanismos por los cuales en base a su composición química, el propóleo ejerce su acción antioxidante y antimicrobiana.

Composición Química del Propóleo

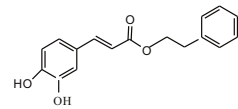
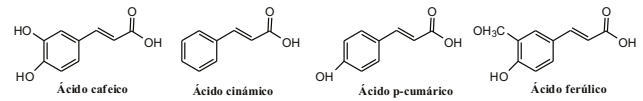
El propóleo es una mezcla compleja de resinas y bálsamos (50-55 %), ceras (25-35 %), aceites volátiles (10 %), polen (5 %), minerales y sustancias orgánicas (5 %). En las ceras de este se ha reportado la presencia de ácidos alifáticos (decanóico, dodecanóico, eicosanóico, esteárico, heptadecanóico, hexacosanóico, hidroxiacético, linoleico, málico, nanóico, oleico, palmítico, succínico, tetracosanóico) y algunos ésteres (benzil benzoato, benzil cafeato, etil palmitato, cafeato de cinamil, cafeato de fenetil, ftalato y metil palmitato). En aceites volátiles encontramos el α -copaeno, β -cariofileno, aromadendreno, α -humuleno, 9-epi- β -cariofileno, γ -muruleno, δ -amorfeno y óxido cariofileno. En el polen destaca la presencia de proteínas y aminoácidos (arginina y prolina comprenden el 46 %) y azúcares (2-O-gliceril galactosa, ácido galacturónico, ácido glucónico, galactitol, metilglucosa, inositol y xilitol). Además, se pueden encontrar minerales (Al, Ag, Ba, B, Cr, Co, Cu, Sn, Fe, Mg, Mn, Mb, Ni, Pb, Se, Si, Sr, Ti, V y Zn), vitaminas (A, B1, B2, B3 y B6) y sustancias orgánicas. Esta composición es dependiente del origen botánico e influye en las características generales del propóleo, como el color (amarillo, verde, pardo, castaño, rojizo o negro) y sabor (amargo, picante o insípido), principalmente (Abd El Hady y Hegazi, 2002; Peña, 2008).

Compuestos Fenólicos

En la mayoría de los estudios, la actividad antioxidante y antimicrobiana de este producto apícola se atribuye principalmente a los flavonoides: acetina, apigenina, crisina, galangina, kaempferol, naringenina, pinobanksina, pinocembrina y quercetina (Figura 1). Los flavonoides son compuestos que en su estructura química (básica) tienen un número variable de grupos hidroxilo fenólicos; además, poseen un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8 y los del anillo B desde el 2' al 6'. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en: flavanos (poseen un grupo OH en posición 3 del anillo C), flavonoles (contienen un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo OH en posición 3 del anillo C), flavonas (tienen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3) y antocianidinas, las cuales tienen unido el grupo OH en posición 3 y un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C (Havsteen, 2002; Martínez-Florez *et al.*, 2002).

Sin embargo, recientemente se ha incrementado el estudio de ácidos fenólicos presentes en extractos de propóleos, entre ellos ácido benzoico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido cinámico, ácido *p*-cumárico y el éster fenilético del áci-

Ácidos fenólicos



Ester fenilético del ácido cafeico (CAPE)

Flavonoides

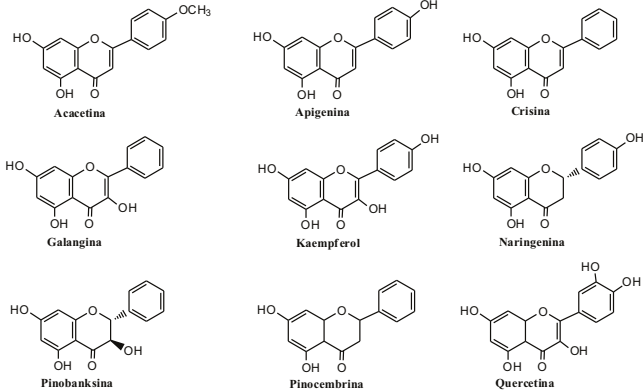


Figura 1. Estructura química de los compuestos con actividad biológica más importantes del propóleo.

Figure 1. Chemical structure of compounds with important biological activities of propolis

do cafeico (CAPE). Los ácidos fenólicos son divididos en dos grupos, en base a dos marcos de carbono distintivos: el hidroxibenzoico y las estructuras hidroxicinámicos. Los ácidos hidroxicinámicos o fenilproponides (C₆-C₃) están formados básicamente por un anillo aromático, un grupo alifático y un ácido carboxílico en el extremo. Son denominados hidroxicinámicos por poseer un grupo -OH en el anillo aromático, el cual es un grupo muy relacionado con su actividad en sistemas biológicos (Cos *et al.*, 2002; Shaidi y Chandrasekara, 2010).

Estos compuestos difieren en concentración y actividad biológica, dependiendo del origen botánico del propóleo (Hamazaka *et al.*, 2004; Lou *et al.*, 2012). Sin embargo, para establecer algún mecanismo de acción de los compuestos presentes en los propóleos, es necesario conocer su estructura y el posible comportamiento, simulando condiciones fisiológicas parecidas a las de organismos vivos.

Actividad Antioxidante del Propóleo

En los últimos años diversas investigaciones han destacado al propóleo como un antioxidante de origen natural, para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades de origen oxidativo (Farré *et al.*, 2004). Chopra *et al.* (1995), estudiaron el efecto protector del propóleo y el efecto individual de algunos flavonoides como la rutina, en ratas con miocardiopatía, enfermedad producida por el estrés oxidativo; Irmak *et al.* (2003), determinaron el efecto del CAPE y el α -tocoferol, en ratas con lesiones cerebrales (isquemia

cerebral), generadas por la liberación de radicales libres. Los resultados mostraron que la administración aguda de CAPE y α -tocoferol suprimió la isquemia inducida por la peroxidación lipídica y el daño cerebral, encontrándose que CAPE ofrece una mayor ventaja terapéutica que el α -tocoferol; Moraes *et al.* (2010), evaluaron muestras de propóleos brasileños para conocer el efecto antiproliferativo sobre tumores malignos primarios (RC-58T/h/SA#4), derivados de células de cáncer prostático humano. Por otra lado, Li-Chang *et al.* (2003), estudiaron la actividad antiradical DPPH de extractos etanólicos de propóleos (EEP) recolectados en las regiones de Mingchien, Fangliao y Taipie (Taiwán). En este trabajo los EEP (100 $\mu\text{g/mL}$) mostraron valores superiores a 80 % de actividad antiradical, probando que el propóleos presenta fuerte inhibición de este tipo de células y alta actividad antioxidante en los extractos evaluados.

Inhibición de Radicales Libres y Quelación de Iones Metálicos

Las reacciones oxido-reductoras constituyen una parte esencial del metabolismo aeróbico en los organismos vivos y ocurren principalmente entre moléculas orgánicas. Durante el desarrollo de este tipo de reacciones en sistemas biológicos normales, como la producción de energía, fagocitosis, regulación del crecimiento celular, señalización intercelular y síntesis de compuestos biológicos importantes como el ATP, es común que se formen sustancias reactivas al oxígeno (ROS) a manera de intermediarios: oxígeno (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Sin embargo, el organismo puede sufrir ciertos desequilibrios que conducen a la formación de ROS con actividad de radicales libres por la transferencia de electrones desapareados, atacando los lípidos de las membranas celulares, modificando proteínas estructurales, así como carbohidratos y ADN (Erkoc *et al.*, 2003; Lenhninger *et al.*, 1995), asociándose la formación de este tipo de ROS con la aparición de ciertas enfermedades; por lo que, el organismo a manera de defensa utiliza su sistema endógeno y exógeno de antioxidantes. Este último involucra a los flavonoides y ácidos fenólicos, que son adquiridos por medio de la dieta (Kroon y Williamson, 1999; Martínez-Florez *et al.*, 2002). En los alimentos la inhibición de radicales libres está asociada al incremento de la vida de anaquel, ya que muchos de estos productos contienen cierto porcentaje de lípidos, los cuales pueden presentarse en forma saturada, mono-insaturada y poli-insaturadas, siendo los ácidos grasos poli-insaturados los más susceptibles al proceso de oxidación; por lo que para detener o retardar este tipo de reacciones, en las últimas décadas se hace uso de fuentes sintéticas o naturales (Loliger, 1991).

La actividad antioxidante se lleva a cabo mediante una transición redox, a través de la cual la molécula antioxidante libera un átomo de hidrógeno que puede ser captado por un radical libre, o permitiendo la formación de ligandos que faciliten la quelación de iones metálicos (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) y la interacción con enzimas. Los flavonoides y ácidos fenólicos tienen la propiedad de interceptar y reaccionar con agentes

oxidantes como enzimas, metales y radicales libres (Tabla 1). Velázquez *et al.* (2007), evaluaron la actividad antiradical (DPPH) de propóleos Sonorenses de diversos compuestos fenólicos (CAPE, galangina y rutina), encontrando que estos tienen alta afinidad por atrapar radicales libres, en comparación con otros aditivos de origen sintéticos como el butilhidroxitolueno (BHT). Geckil *et al.* (2005), estudiaron las características antioxidantes del propóleos, es decir su capacidad para atrapar radicales libres y quelar iones metálicos, así como la capacidad para retardar la peroxidación lipídica, reportando suficiente evidencia científica que sugiere que el alto potencial antioxidante del propóleos, es debido a su rica fuente de compuestos polifenólicos. De acuerdo a lo anterior, se establece que el mecanismo antioxidante más común para flavonoides y ácidos fenólicos presentes en los propóleos, es su capacidad de inhibir radicales libres y de quelación de iones metálicos. Ambos mecanismos son totalmente dependientes de la capacidad para donar electrones de los grupos que forman parte de la estructura química del compuesto (Jovanovic *et al.*, 1994; Yao *et al.*, 2004). Al respecto aún existe controversia; sin embargo, se plantean tres vías para explicar el mecanismo mediante el cual los compuestos fenólicos (ArOH) inhiben radicales: 1) abstracción del H-átomo (HAT), 2) transferencia secuencial de la pérdida del protón y del electrón (SPLET), y 3) transferencia secuencial de la pérdida del electrón seguido del protón (SET-PT) (Mendoza-Wilson y Glossman-Mitnik, 2004).

Actividad Antibacteriana del Propóleos

Además de la actividad antioxidante, otra propiedad funcional del propóleos es su capacidad antimicrobiana (Tabla 1), una de las primeras propiedades constatadas, lo cual ha sido probado por la existencia de múltiples estudios bacteriológicos *in vivo* e *in vitro*, donde se ha confirmado su acción bacteriostática y bactericida (FAO, 1996; Tosi *et al.*, 1996). Velázquez *et al.* (2007), evaluaron la actividad antimicrobiana de muestras de propóleos colectadas en diferentes áreas del desierto de Sonora (Noroeste de México). Los microorganismos utilizados para este estudio fueron bacterias Gram positivas (*S. aureus*, *E. faecalis* y *L. monocytogenes*) y Gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*), utilizando extractos metanólicos de propóleos (400, 200, 100 y 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$). En todas las concentraciones de propóleos evaluadas, no se presentó efecto alguno sobre bacterias Gram negativas. Mientras que en las bacterias Gram positivas, *S. aureus* fue el microorganismo sobre el que se encontró la más alta efectividad. Esta actividad fue correlacionada con la presencia de algunos compuestos fenólicos: acetina, CAPE, crisina, galangina, pinocembrina, pinobanksina y naringenina. Sagdic *et al.* (2007), evaluaron el efecto de un extracto de propóleos (1, 2 y 5 %), sobre la descomposición de jugo de manzana y el crecimiento de bacterias Gram negativas, como *Escherichia coli* y *E. coli* O157:H7, encontrando un efecto inhibitorio a altas concentraciones de propóleos. En estos estudios la actividad antioxidante y antimicrobiana demostró una fuerte dependencia al origen botánico, periodo de colecta, con-

Tabla 1. Actividad antioxidante y antibacteriana (relación estructura actividad) de algunos compuestos polifenólicos.
Table 1. Antioxidant and antibacterial activity (structure-activity relationships) of some polyphenolic compounds.

| Compuesto | Actividad antioxidante (comentarios) | Referencias |
|--|---|---|
| Apigenina y Naringenina; Kaempferol y Quercetina | Hidroxilación en los grupos 5, 7 y 4', presentan propiedades anti-radicales; hidroxilación en carbono 3, presenta mayor actividad que en los sustituyentes 5, 7 y 4' hidroxilación. | Das y Pereira, 1990 |
| Ácidos cafeico y ferúlico | La presencia de grupos -CH = CH-COOH en ambos compuestos, pueden ser responsables de la actividad antioxidante; La presencia de grupos donadores de electrones en el anillo de benceno (3-metoxi y en mayor importancia 4-hidroxil), inhibe la formación de radicales libres; el grupo carboxilo con una insaturación adyacente (C-C), provee un sitio para ataques de radicales y posee cierta protección contra la peroxidación lipídica | Kumar-Maurya D, y Asir-Devasagayam TP, 2010; Ergün <i>et al.</i> , 2011; Kanaski <i>et al.</i> , 2002 |
| Microorganismo | Actividad antimicrobiana (comentarios) | |
| <i>S. aureus</i> resistente a metacilina (MRSA) | 2', 4' o 2',6'- dihidroxilación (anillo B) y 5, 7 -dihidroxilación del anillo A de la estructura de las flavanonas, presenta mayor actividad anti-MRSA; Sustitución en la posición 6 u 8 con una larga cadena de grupos alifáticos tales como lavandulilo (5-metil-2-isopropenil-hex-4-enil) o geranil (trans-3,7-dimetil-2,6-octadienil) también presentan actividad antibacteriana; 3, 5, 7-trihidroxiflavona (Galangina), acción por actividad lipofílica. | Tsuchiya <i>et al.</i> , 1996; Pepeljnjak y Kosalec, 2004. |
| <i>St. mutans</i> y <i>St. sobrinus</i> ; <i>St. species</i> | Sustitución de 1, 2 o 3 grupos hidroxilos en los grupos 7, 2', y 4' del 5-hidroxiflavanonas; Isoflavonas con grupos hidroxilos en posición 5, 2' y 4', presentan actividad, sugiriendo que la hidroxilación 2' es importante para la actividad. | Osawa <i>et al.</i> , 1992; Sato <i>et al.</i> , 1996. |
| Bacterias orales | Hidroxilación en el grupo 2' del flavonoide es efectiva para su actividad antimicrobiana. | Sato <i>et al.</i> , 1997 |
| <i>P. vulgaris</i> y <i>S. aureus</i> . | Enlaces de hidrógeno de los ácidos nucleicos con el anillo B del flavonoide, son indispensables para inhibir la síntesis de ácidos nucleicos (ADN y ARN) | Mori <i>et al.</i> , 1987. |
| <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> y <i>S. maltophilia</i> ; <i>St. pneumoniae</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. dysenteriae</i> y <i>S. typhimurium</i> ; <i>E. faecalis</i> y <i>E. faecalis</i> resistente a vancomicina | DNA girasa fue inhibida en <i>E. coli</i> por los flavonoides quercetina, apigenina y 3, 6, 7, 3', 4'-pentahidroxiflavona, la enzima se limitó a compuestos con B-hidroxilación del anillo; El ácido p-cumárico, posee alta permeabilidad en la membrana bacteriana e interacciona con los pares de bases del ADN, lo que resulta en una mayor actividad antimicrobiana; Ésteres de ácido ferúlico (6b y 6c), presentaron actividad antibacteriana. | Hilliard <i>et al.</i> , 1995; Ohemeng <i>et al.</i> , 1993; Lou <i>et al.</i> , 2012; Ergün <i>et al.</i> , 2011 |

centración y tipo de compuestos presentes; sin embargo, en los resultados no mencionan los mecanismos que pudieran estar involucrados.

Inhibición de la Síntesis de Ácidos Nucleicos y Degradación de la Membrana Citoplasmática

La amplia gama de funciones de las células en sistemas eucarióticos pueden ser afectadas por los flavonoides y ácidos fenólicos. Sin embargo, es poca la información publicada en referencia a la relación existente entre la estructura de estos compuestos y su actividad antimicrobiana (Tabla 1). Simuth *et al.* (1986), demostraron que los compuestos presentes en el propóleo que absorben en la región UV inhibían el ADN dependiente de la ARN polimerasa de *E. coli* y *Streptomyces aureofaciens*. Sin embargo, el mecanismo de acción

del propóleo sobre estos microorganismos en aquel entonces parecía ser muy complejo. Mori *et al.* (1987), realizaron un estudio con precursores radiactivos y encontraron que los flavonoides robinetina, miricentina y (-)-epigallocatequina, inhibieron la síntesis de ADN en *P. vulgaris*, mientras que para *S. aureus* se inhibió la síntesis de ARN, aunque la síntesis de proteínas y lípidos también fueron afectadas, pero en menor grado. Posteriormente, Ohemeng *et al.* (1993), evidenciaron la actividad inhibitoria de la estructura de 14 flavonoides contra la ADN girasa (enzima participante en la replicación del ADN) de *E. coli*, *S. epidermis*, *S. aureus*, *S. typhimurium* y *S. maltophilia*. La ADN girasa de *E. coli* fue inhibida por sólo siete de los compuestos, entre ellos quercetina, apigenina y 3, 6, 7, 3, 4-pentahidroxiflavona. Sin embargo, ésta no siempre fue correlacionada, por lo que sugirieron otros mecanismos de

participación.

Ikigai *et al.* (1993), investigaron el efecto antibacteriano de (-)-galato de epigallocatequina, utilizando un modelo de membrana de liposomas, encontrándose que este compuesto perturbó la bicapa lipídica, alterando la función de barrera y en algunos casos, se redujo el espacio intraliposomal causando la fusión de membranas, y provocando fuga y agregación de material intramembranoso. Mirzoeva *et al.* (1997), demostraron que quercetina y naringenina incrementan la permeabilidad y disipan el potencial de la membrana bacteriana (fuerza motriz de protones), disminuyendo la resistencia bacteriana a los antibióticos. Estos flavonoides también inhibieron la motilidad bacteriana, factor importante en la virulencia. Posteriormente, Takaisi-Kikuni y Schilcher (1994), evaluaron mediante microcalorimetría y microscopía electrónica el modo de acción antibacterial del propóleo y encontraron que, pinocembrina, galangina y CAPE causan bacteriólisis parcial (*Streptococcus agalactiae*), previniendo la división celular, desorganizando el citoplasma y la pared celular, y por inhibición de síntesis de proteínas y ARN polimerasa.

En estudios más recientes, Cushnie y Lamb (2005b), reportaron que la galangina incrementa la pérdida de potasio en *Staphylococcus aureus*, degradando la membrana citoplasmática de las bacterias por lisis osmótica. Lou *et al.* (2012), encontraron que el ácido p-cumárico (10-80 µg/mL) inhibe el crecimiento bacteriano, lo cual fue correlacionado con un aumento en la permeabilidad de la membrana bacteriana e inhibición del ADN. Orsi *et al.* (2006), reportaron que los EEP tienen marcados efectos sinérgicos con algunos antibióticos (amoxicilina y cefalaxina) frente *S. typhi*, por su acción sobre la pared celular, resultado que es de gran importancia en la medicina, ya que el costo de los antibióticos puede ser reducido. Eumkeb *et al.* (2012), evaluaron la actividad sinérgica de luteolina y amoxicilina contra *E. coli* resistente a amoxicilina (AREC, por sus siglas en inglés), así como su posible mecanismo de acción; encontrando que existe un efecto sinérgico debido a la combinación del propóleo y amoxicilina, al reducir el número de células de AREC. Además, esta combinación alteró la permeabilidad de la membrana, tanto en el interior como el exterior. De acuerdo a estas investigaciones, se puede establecer que algunos de los mecanismos de acción antimicrobiana de los flavonoides y ácidos fenólicos presentes en el propóleo están estrechamente relacionados al tipo de compuesto, efecto sinérgico y a su estructura. Sin embargo, también es posible establecer que cada compuesto posee un punto de acción diferente en las bacterias (Cushnie y Lamb, 2005a).

CONCLUSIONES

La capacidad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de propóleos se atribuye a la presencia de un alto contenido de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides y ácidos fenólicos, y a la posible interacción individual o sinérgica de cada una de las estructuras que los conforman. El mecanismo de acción antioxidante y antimicrobiana del

propóleos es muy complejo; en el caso del primero, la principal ruta puede operar a través de la inhibición de radicales libres en etapas tempranas o tardías de la oxidación, mientras que para el segundo mecanismo, pueden ser un conjunto de variables que impidan a la bacteria llevar a cabo su desarrollo normal.

REFERENCIAS

- Abd El Hady, F.K. y Hegazi, A.G. 2002. Egyptian propolis; 2 – Chemical composition, antiviral and antimicrobial activity of East Nile Delta propolis. *Z. Zeitschrift für Naturforschung*. 57: 386-391.
- Bankova, V., Boudourova-Krasteva, G., Sforcin, M.J., Frete, X., Kujumgiev, A. y Maimoni-Rodella, R. 1999. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from Sao Paulo state. *Zeitschrift für Naturforschung*. 54: 401-405.
- Bankova V. 2009. Review: chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 1(2): 23–28.
- Choi YM, Noh DO, Cho SY, Suh HJ, Kim KM, y Kim JM. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT- Food Science and Technology*. 39: 756-761.
- Chopra, S., Pillai, K.K., Husain, S.Z. y Giri, D.K. 1995. Propolis protects against doxorubicin-induced myocardial pathology in rats. *Experimental and Molecular Pathology*. 62: 190-198.
- Cos, P., Rajan, P., Vedernikova, I., Calomme, M., Pieters, L., Vlietinck, A.J., Augustyns, K., Haemers, A. y Berghe, D.V. 2002. In vitro antioxidant profile of phenolic acid derivatives. *Free Radical Research*. 36:711–716.
- Cushnie, T.P.T. y Lamb, A.J. 2005a. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343-356.
- Cushnie, T.P. y Lamb, A.J. 2005b. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *Journal of Ethnopharmacology*. 101: 243–248.
- Das, N.P. y Pereira, T.A. 1990. Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil: structure-activity relationships. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 76(4): 255-258.
- Ergün, B.Ç., Çoban, T., Onurdag, F.K. y Banoglu, E. 2011. Synthesis, Antioxidant and Antimicrobial Evaluation of Simple Aromatic Esters of Ferulic Acid. *Archives of Pharmacal Research*. 34(8): 1251-1261.
- Erkoc, S., Erkoc, F. y Keskin, N. 2003. Theoretical investigation of quercetin and its radicals isomers. *Journal of Molecular Structure*. TEOCHEM. 631:141-146.
- Eumkeb, G., Siri Wong, S. y Thumanu, K. 2012. Synergistic activity of luteolin and amoxicillin combination against resistant *Escherichia coli* and mode of action. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 117: 247-253.
- FAO. 1996. Value-added products from beekeeping. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Bulletin no. 124. Roma.
- Farré, R., Frasquet, I., y Sánchez, A. 2004. El propolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*. 45(1): 23-43.
- Geckil, H., Ates, B., Durmaz, G., Erdogan, S. y Yilmaz, I. 2005. Antioxidant, free radical scavenging and metal chelating characteristics of propolis. *American Journal of Biochemis-*

- try and Biotechnology. 1(1): 27-31.
- Kumazawa, S., Fujimoto, T. y Nakayama, T. 2004. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Japan. *Food Science and Technology Research*. 10 (1): 86-92.
- Havsteen, B.H. 2002. The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*. 96: 67-202.
- Hilliard, J.J., Krause, H.M. y Bernstein, J.I. 1995. A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 390:59-69.
- Ikgai, H., Nakae, T., Hara, Y. y Shimamura, T. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochemical and Biophysical Acta*. 1147: 132-6.
- Irmak, M.K., Fadillioglu, E. y Sogut, S. 2003. Effects of caffeic acid phenethyl ester and alpha-tocopherol on reperfusion injury in rat brain. *Cell Biochemistry and Function*. 21: 283-289.
- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B. y Simic, M.G. 1994. Flavonoids as antioxidants. *Journal of American Chemistry Society*. 116: 4846-4851.
- Kanaski, J., Aksenova, M., Stoyanova, A. y Butterfield D.A. 2002. Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: Structure activity studies. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 273-281.
- Kroon, P.A. y Williamson, G. 1999. Hidroxycinnamates in plants and food: current and future perspective. *Journal of Food Science and Agriculture*. 79: 355-361.
- Kumar-Maurya, D. y Asir-Devasagayam, T.P. 2010. Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 3369-3373.
- Kumar, N., Anmad, K.K.M., Dang, R. y Husain, A. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of propolis from Tamil Nadu zone. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2(12): 361-364.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L. y Michael. M.C. 1995. *Principios de Bioquímica*. Segunda edición. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España. pp. 1-1013.
- Li-Chang, L., Yue-Wen, C. y Cheng-Chun, C. 2003. Antibacterial and DPPH free radical-scavenging activities of the ethanol extract of propolis collected in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*. 11(4): 277-282.
- Loliger, J. 1991. The use of antioxidants in foods. In: free radicals and food additives. Aruoma, O.I. y Halliwell, B., Eds. Taylor and Francis, London, UK. pp. 121-150.
- Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma C, y Li J. 2012. p-coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control*. 25: 550-554.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M. y Tuñón, M.J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Revisión. *Nutrición Hospitalaria*. 8(6): 271-278.
- Mendoza-Wilson, A.M. y Glossman-Mitnik, D. 2004. CHIH-DFT determination of the molecular structure, infrared and ultraviolet spectra of the flavonoid quercetin. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* 681:71-76.
- Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. y Calder, P.C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiology Research*. 152: 239-46.
- Moraes, C.S., Dausch, A., Li, H., Rhim, J.S. y Park, Y.K. 2010. Comparative antiproliferation of human prostate cancer cells by ethanolic extracts of two groups of Brazilian propolis. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. Campinas. 30(2): 539-543.
- Mori, A., Nishio, C., Enoki, N., y Tawata, S. 1987. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 26: 2231-2234.
- Ohemeng, K.A., Schwender, C.F., Fu, K.P. y Barrett, J.F. 1993. DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones (1). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 3:225-30.
- Orsi, R.O., Sforzin, J.M., Funari, S.R., Junior A.F. y Bankova, V. 2006. Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *S. typhi*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37: 108-112.
- Osawa, K., Yasuda, H., Maruyama, T., Morita, H., Takeya, K., y Itokawa, H. 1992. Isoflavonones from the heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 40: 2970-2974.
- Peña, R.C. 2008. Literature review: Propolis standardization: a chemical and biological review. *Ciencia e Investigación Agraria*. 35(1): 11-20.
- Pepeljnjak, S. y Kosalec, I. 2004. Galangin expresses bactericidal activity against multiple-resistant bacteria: MRSA, *Enterococcus* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters*. 240: 111-116.
- Sagdic, O., Silici, S. y Yetim, H. 2007. Fate of *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in apple juice treated with propolis extract. *Annals of Microbiology*. 57(3): 345-348.
- Sato, M., Fujiwara, E. y Tsuchiya. 1996. Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 54: 171-176.
- Sato, M., Tsuchiya, H., Akagiri, M., Takagi, N. y Inuma, M. 1997. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. *Australian Dental J*. 42: 343-346.
- Shaidi, F. y Chandrasekara, A. 2010. Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Phytochemistry Reviews*. 9:147-170.
- Simúth, J., Trnovský, J. y Jeloková, J. 1986. Inhibition of bacterial DNA-dependent RNA polymerases and restriction endonuclease by UV-absorbing components from propolis. *Pharmazie*. 41(2), 131-132.
- Takaisi-Kikuni, N.B. y Schilcher, H. 1994. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Medica*. 60: 222-227.
- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C. y Bruni, A. 1996. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytotherapy Research*. 10: 335-336.
- Tsuchiya, H., Sato, M. y Miyazaki, T. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 50:27-34.
- 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.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomás-Barreran, F.A., Datta, N., Sunganusong, R. y Chen, S.S. 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*. 59: 113-122.