Propolis jako protizánětlivý a antibakteriální prostředek

Karel Šmejkal

Ústav přírodních léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Propolis je polykomponentní produkt včel, obsahující celou řadu biologicky aktivních látek. Složení propolisu je velmi různorodé a záleží na sezónních podmínkách, době sběru a rostlinných zdrojích dostupných sbírajícím včelám. Obsahuje velké množství fenolických látek, jako jsou různé fenolické kyseliny a flavonoidy. Propolis je tradičně využíván pro léčení celé řady nemocí, ale největší zájem vzbuzují jeho antibakteriální, protizánětlivé a imunomodulační účinky. Pro praktické použití je nejběžnější zpracování propolisu promytím vodou a extrakcí ethanolem do podoby propolisového balzámu, který vykazuje díky odstranění hydrofilních látek a pylových zrn nižší výskyt alergických reakcí. Celkově je propolis bezpečný prostředek a může být používán jako doplněk ke klasické terapii.

Klíčová slova: propolis, fenoly, protizánětlivý účinek, antibakteriální účinek.

Propolis as an anti-inflammatory and antibacterial agent

Propolis is a multicomponent product of bees containing a number of biologically active substances. The composition of propolis varies a lot, depending on seasonal conditions, time of collection, and plant resources available to collecting bees. It contains a variety of phenolic substances, such as phenolic acids and flavonoids. Propolis has traditionally been used to treat a wide range of diseases; however, major interest is focused on its antibacterial, anti-inflammatory, and immunomodulatory effects. For practical use, the most common technique of processing propolis is washing with water and ethanol extraction in order to produce a propolis balm that, due to the removal of hydrophilic compounds and pollen grains, exhibits lower rates of allergic reactions. Overall, propolis is a safe product and can be used as a supplement to classic treatment.

Key words: propolis, phenols, anti-inflammatory effect, antibacterial effect.

Propolis

Propolis je pryskyřičný materiál sbíraný včelami (*Apis mellifica*) z různých rostlinných zdrojů (1–3). Slovo propolis pochází z řečtiny a znamená materiál využívaný k ochraně „města“, což je přesně to, jak včely propolis využívají k ochraně úlu. Včely sbírají přírodní balzámy a pryskyřice aktivně ze sekretů vytvářených zejména listovými pupeny a kůrou a míchají je se včelím voskem a výměšky žláz. Včely propolis používají jako těsnící prostředek během stavby pláství a k zúžení česna pro zabránění vstupu vetřelcům. Propolis pomáhá udržovat vnitřní teplotu úlu okolo 35 °C (4).

Díky antimikrobiálním vlastnostem propolis chrání včely před bakteriálními, houbovými a virovými infekcemi.

V tradiční a lidové medicíně je propolis široce používán již po tisíce let. Popularitu získal pro antimikrobiální, protizánětlivé, imunomodulační, protirakovinné a také antioxidační vlastnosti (5) (Obr. 1).

Obsahové látky

Chemické složení propolisu je velmi různorodé a záleží na sezónních podmínkách, době sběru, rostlinných zdrojích. Z těchto důvodů můžeme říci, že složení propolisu se může výrazně

lišit úl od úlu, oblast od oblasti i sezónu od sezóny. Přibližně 50 % obsahu propolisu tvoří pryskyřičná hmota s různými fenolickými látkami, jako jsou flavonoidy a fenolické kyseliny, 30 % tvoří vosky, 10 % těkavé (často) aromatické sloučeniny, 5 % pyl (proteiny pylu a volné aminokyseliny) a 5 % další organické látky a minerály. Vysoký je obsah vitaminů (zejména B1, B2, B6, C a E, nikotinové kyseliny, kyseliny listové), z minerálů jsou v propolisu přítomné vápník, hořčík, železo, měď, zinek, mangan, kobalt a vanad. Popisována je i přítomnost cukrů (fruktóza, glukóza), enzymů (adenosin-trifosfatázy, glukóza-6-fosfatázy, sukcinátdehydrogenázy) a steroidních látek (6–9).

Fenolické sloučeniny

Propolis je jednou z nejbohatších přírodních směsí fenolických látek. Obsahuje zejména flavonoidy, fenolické kyseliny a jejich estery. Přítomné jsou aglykony, obsah glykosidů je významně nižší. Hlavní třídy flavonoidů propolisu jsou flavony, flavonoly a flavanony (Obr. 2). Flavony jsou sloučeniny se skeletem 2-fenylchromen-4-onu, v propolisu představované zejména chrysinem, apigeninem, akacetinem a luteolinem. Flavonoly jsou v základu tvořeny 3-hydroxy-2-fenylchromen-4-onem a v propolisu zastoupené galanginem, kvercetinem a kaempferolem. Třetí třídou flavonoidů bohatě zastoupených v propolisu jsou flavanony, které na rozdíl od flavonů postrádají 2,3 dvojnou vazbu. Tato třída látek zahrnuje zejména pinostrobin, pinocembrin a pinobanksin. V některých druzích propolisu (např. z Tchajwanu) byly nalezeny také prenylované a geranylované flavonoidy.

Propolis ve vysokém množství také obsahuje další fenoly, jako jsou vanilin, skořicový alkohol, a také kyselinu chinovou, ferulovou, isoferulovou, skořicovou a kyselinu kávovou, spolu s jejich estery (Obr. 2) (5, 6, 8).

Mechanismus účinku propolisu

Propolis se celosvětově používá jako doplněk stravy k vylepšení zdravotního stavu. V současnosti

je na trhu celá řada přípravků s propolisem k terapii infekcí, alergií, zánětlivých onemocnění, astma, diabetu, hypertenze a dalších patologických stavů. Propolis je často součástí řady mastí, krémů, roztoků, ústních vod a také kosmetických prostředků, ale jestli je koncentrace propolisu ve všech takových přípravcích dostatečná pro klinický efekt, je neisté (8). Ačkoliv velká většina publikací týkajících se biologické aktivity propolisu je jednotná a ukazuje potenciál propolisu, klinická efektivita a také bezpečnost by měla být důkladně potvrzena. Zejména klinické zkoušky s vyšším počtem účastníků, odpovídajícím designem a dávkováním jsou nutné pro plné potvrzení léčebného efektu propolisu. V současnosti se propolis nejčastěji používá pro protizánětlivé a antibakteriální účely.

Protizánětlivý efekt a imunomodulační efekt

Protizánětlivý účinek propolisu je spojován zejména s obsahovými látkami typu fenolů (flavonoidy, estery fenolických kyselin), terpenoidů, steroidů a aminokyselin. Efekt flavonoidů a esterů kyseliny kávové je studovaný do největší hloubky. Hlavním mechanismem protizánětlivé aktivity propolisu je inhibice cyklooxygenázy a následná inhibice tvorby prostaglandinů, vychytávání volných radikálů, inhibice syntézy oxidu dusna-

tého, snížení produkce prozánětlivých cytokinů a imunosuprese. Propolis vykazuje protizánětlivou aktivitu jak *in vitro*, tak *in vivo* modelech různých akutních i chronických zánětlivých onemocnění.

Různé složky propolisu byly hodnoceny s cílem stanovit jejich potenciální terapeutickou hodnotu. Zejména flavonoidy, fenolické kyseliny a také jejich estery byly vyhodnoceny jako aktivní složky propolisu s potenciálem ovlivnit celou řadu onemocnění. Právě tyto látky vykazují paletu efektů na bakterie, houby a viry, a také se ukazují jako protizánětlivé a imunomodulační, což je důležité v souvislosti s aplikací na katary horních cest dýchacích. Protizánětlivá aktivita propolisu se zdá být spojená zejména s flavonoidy galanginem a kvercetinem, které inhibují cyklooxygenázu a lipooxygenázu, snižují hladinu PGE_2 , a snižují expresi COX-2 (10). Chrysin působí potlačení exprese COX-2 inhibicí jaderného faktoru pro IL-6 (11). *In vivo* studie ukázaly protizánětlivou aktivitu fenylethylesteru kyseliny kávové s podobným mechanismem – inhibice syntézy kyseliny arachidonové a inhibice COX-1 a COX-2 (12). Fenylethylester kyseliny kávové inhibuje genovou expresi COX-2 a iNOS (13) a snižuje aktivaci T-buněk snížením aktivace jaderných faktorů se snížením uvolnění IL-2 (14). Mechanismus jeho působení je spojen s ovlivněním signální cesty

Obr. 1. Účinky propolisu

Obr. 2. Běžně se vyskytující fenolické látky evropského propolisu

NF- κ B, na jehož konci je snížení produkce prostaglandinu, snížení produkce NO, a potlačení zánětlivé reakce (15).

Antimikrobiální efekt

Data velkého počtu studií hodnotících antimikrobiální aktivitu propolisu ukazují, že je propolis aktivní hlavně proti Gram-pozitivním bakteriím, proti Gram-negativním ve vyšších koncentracích. Z Gram-pozitivních bakterií nechybějí ve spektru běžné patogeny, jako jsou *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *S. auricularis*, *S. haemolyticus*, *Streptococcus faecalis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. β -haemolyticus*; z Gram-negativních bakterií *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli*. Porovnávání in vitro experimentů ale může být komplikované z důvodů rozdílných výsledků získaných difúzní diskovou nebo mikrodiluční metodou a také z důvodů porovnávání různých propolisů. Mechanismus aktivity propolisu je komplexní a je pravděpodobně spojený se synergickým účinkem celé řady hlavně fenolických látek, jako jsou pinocembrin, galangin, a pinobanksin (16, 17). I jiné lipofilní flavonoidy, jako chrysin, akacetin ne-

bo thymonin, jsou antimikrobiálně aktivní (18, 19). Antibakteriální aktivita flavonoidů je spojená spíše s více buněčnými cíli než jen s jedním specifickým místem účinku. Jedním z efektů na molekulární úrovni je tvorba komplexů s proteiny, nejprve vodíkovými vazbami a hydrofobními interakcemi, později tvorbou kovalentních vazeb. Takovým způsobem mohou flavonoidy inaktivovat bakteriální adheziny, enzymy, transportní proteiny a jiné. Lipofilní flavonoidy mohou mikroby zabít i porušením membrán (20).

Praktické použití propolisu

Z hodnocení bioaktivity a spektra obsahových látek je jasné, že tak komplexní směs nemůže být používána přímo, ale jako extrakt. Nejobvyklejší rozpouštědla pro extrakci propolisu jsou voda a ethanol. Pro praktické použití je běžné pracovat s vodou a ethanolem v různých poměrech, které extrahují např. antimikrobiálně aktivní látky. Správná volba rozpouštědla může aktivní látky zkoncentrovat a odstranit balast (21, 22).

Nejběžnější je příprava propolisového balzámu nebo propolisového extraktu. Pomocí promytí propolisu vodou jsou odstraněny

hydrofilní součásti propolisu a do vysoké míry odstraněny i možné alergeny v podobě pylových zrn a proteinů. Propolis je pak dobře snášený a výskyt možných alergických reakcí se snižuje. Alergické reakce na propolis se však přesto mohou vyskytnout, protože alergenní mohou být i další propolisové komponenty, včetně malých molekul, jako jsou 3-methyl-2-butenylester kyseliny kávové, fenylethyl ester kyseliny kávové, benzylester kyseliny kávové, geranylester kyseliny kávové, ester benzylalkoholu a kyseliny skořicové a další. Před používáním propolisu je proto nutné vždy provést test aplikací na pokožku a pozorovat možný vznik nežádoucí reakce (zčervenání, otok, tvorbu puchýřků).

Propolis je dobře tolerován i v několika-gramových dávkách a předávkování propolisem nehrozí. Propolis je dobře snášen i dětmi, jeho užívání je možné od tří let věku, a propolis mohou užívat i těhotné ženy (23). Dávkování propolisu je bezpečné, doporučené jsou dávky až 1 g propolisu denně, některé zdroje ale popisují nežádoucí účinky až okolo 15 g propolisu denně (24, 25).

LITERATURA

1. Bratter C, Tregel M, Liebenthal C, Volk H.D. Prophylactic effectiveness of propolis for immunostimulation: a clinical pilot study. *Forschende Komplementärmedizin* (1999) 6(5), 256–260.

2. Szmaja Z, Kulczyński B, Sosnowski Z, Konopacki K. Therapeutic value of flavonoids in Rhinovirus infections. *The Po-*

- lish Otolaryngology (1989), 43(3), 180–184.
3. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis) Food and Chemical Toxicology (1998) 36, 347–363.
4. Molan P. Why honey is effective as a medicine. Part 2. The scientific explanation of its effects. Bee World (2001), 82, 22–40.
5. Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. Phytotherapy Research (2001) 15, 561–571.
6. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie (1995) 26, 83–99.
7. Farooqui T, Farooqui AA. Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: a critical review. Current Nutrition and Food Science (2010), 6, 186–199.
8. Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. Journal of Ethnopharmacology (2005) 100, 114–117.
9. Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. eCAM (2005) 2, 29–32.
10. Raso GM, Meli R, Di Carlo G, Pacilio M, Di Carlo R. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A.1. Life Science (2001) 68, 921–931.
11. Woo KJ, Jeong YJ, Inoue H, Park JW Chrysin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression through the inhibition of nuclear factor for IL-6 (NF-IL6) DNA-binding activity. FEBS Letters (2005) 579, 705–711.
12. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. Fitoterapia (2002) 73, S53–S63.
13. Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, Subbaramiah K, Zweifel BS, Koboldt C, Mestre JR, Grumberger D, Sacks PG, Tanabe T, Danemberger AJ. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. Cancer Research (1999) 59, 2347–2352.
14. Marquez N, Sancho R, Macho A, Calzado MA, Fiebich BL, Muñoz E. Caffeic acid phenethyl Ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF-B transcription factors. Journal of Pharmacology and Experimental Therapy (2004) 308, 993–1001.
15. Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). Experimental and Therapeutic Medicine (2015) 9, 1582–1588.
16. Krol W, Scheller S, Shani J, Pietsz G, Czuba Z. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of Staphylococcus aureus. Drug Research (1993) 43, 607–609.
17. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia (2002) 73, S1–S6.
18. Liu Y, Song X, He J, Zheng X, Wu H. Synthetic derivatives of chrysin and their biological activities. Medicinal Chemistry Research (2014) 23(2), 555–563.
19. Cha J, Choi S, Park J. Combination of Acacetin with Antibiotics against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Isolated from Clinical Specimens. Advances in Bioscience and Biotechnology (2014) 5, 398–408.
20. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. Current Medicinal Chemistry (2015) 22, 132–149.
21. Marcucci M. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie (1995) 26, 83–99.
22. Wagh VD. Propolis: A Wonder Bees Product and Its Pharmacological Potentials. Advances in Pharmacological Sciences (2013) Article ID 308249, 11 pages.
23. Kotolová H, Kollár P. Doporučený postup – bolest v krku. Česká lékárnická komora, 25. 4. 2018 / Verze RR 2018.
24. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). Food and Chemical Toxicology (1998) 36, 347–363.
25. Santos VR. Propolis: Alternative Medicine for the Treatment of Oral Microbial Diseases. In: Alternative Medicine, ed. Sakagami H. (2013). DOI: 10.5772/54003.