

*Magdalena Woźniak¹, Lucyna Mrówczyńska², Agnieszka Waśkiewicz¹,
Marta Babicka¹, Elżbieta Hołderna-Kędzia³, Izabela Ratajczak¹

Zawartość związków fenolowych w ekstrakcie z propolisu oraz ocena jego aktywności przeciwutleniającej i cytoochronnej względem erytrocytów ludzkich w warunkach stresu oksydacyjnego *in vitro*

The content of phenolic compounds in propolis extract and estimation of its antioxidant and *in vitro* cytoprotective activity in human erythrocytes under oxidative stress

¹Katedra Chemii, Wydział Technologii Drewna, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Kierownik Katedry: dr hab. n. leśn. Izabela Ratajczak

²Zakład Biologii Komórki, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Kierownik Zakładu: dr hab. n. biol. Andrzej Lesicki, prof. UAM

³Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu
Dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Małgorzata Zimmiewska, prof. IWNiRZ

SUMMARY

Introduction. Propolis (bee glue) is a natural product collected by honeybees from buds of various trees, shrubs and other plant species. Extracts of propolis possess numerous biological activities, including antioxidant, antibacterial, antifungal and anticancer. For this reason, propolis is currently used in many applications, such as preparations for cold syndrome, dermatological preparations or as a constituent of nutritional supplements and health food. The chemical composition of this natural material is very complex and depending on many factors, including method of extraction and selection of the solvent for the extraction process.

Aim. The aim of the study was to determine concentration of selected phenolic compounds (flavonoids and phenolic acids) in extract of Polish propolis and estimate its antioxidant activity and effect on human red blood cells.

Material and methods. In the propolis extract was determined concentration of 14 flavonoids and 9 phenolic acids using ultra-performance liquid chromatography equipped with a photodiode detector and a triple quadrupole mass spectrometer. The antioxidant potential of propolis extract was evaluated applying DPPH[•] free radical scavenging activity assay and Fe³⁺ reducing power assay. Moreover, the cytotoxicity and cytoprotective potential of propolis extract was estimated using human erythrocytes *in vitro*.

Results. The propolis extract contained high concentration of pinocembrin, galangin, chrysin, apigenin, kaempferol, coumaric acid and cinnamic acid. It exhibited also high antioxidant potential. The antiradical activity of examined propolis extract was equal to 75% approx. activity of both standard antioxidants used in the study, namely Trolox and BHT. The reducing power of extract was equal to 65% approx. of Trolox and 80% of BHT, respectively. The propolis extract had no hemolytic activity, moreover, effectively protected human erythrocytes against free radicals-induced damage *in vitro*.

Conclusions. The results of this study indicate that the propolis extract of national origin is a rich source of flavonoids and phenolic acids. Therefore, the propolis extract possesses a high antioxidant potential and can protect erythrocytes against free radicals-induced oxidative hemolysis.

Keywords: propolis extract, phenolic compounds, flavonoids, phenolic acids, antioxidant properties, human erythrocytes

STRESZCZENIE

Wstęp. Propolis (kit pszczeli) jest naturalnym produktem zbieranym przez pszczoły miodne z pączków różnych gatunków drzew, krzewów oraz innych gatunków roślin. Ekstrakty z propolisu wykazują liczne właściwości biologiczne, w tym właściwości przeciwutleniające, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwnowotworowe. Z tego powodu, propolis ma wiele zastosowań i wykorzystywany jest m.in. w preparatach na przeziębienie, w preparatach dermatologicznych lub jako składnik suplementów diety i zdrowej żywności. Skład chemiczny tego naturalnego produktu jest bardzo złożony i zależy od wielu czynników, w tym od metody ekstrakcji czy rozpuszczalnika wybranego do tego procesu.

Cel pracy. Celem pracy było określenie stężenia wybranych związków fenolowych (flawonoidów oraz kwasów fenolowych) w ekstrakcie z polskiego propolisu oraz ocena jego aktywności przeciwutleniającej i oddziaływania na ludzkie erytrocyty w warunkach *in vitro*.

Materiał i metody. W ekstrakcie z propolisu oznaczono stężenie 14 flawonoidów oraz 9 kwasów fenolowych z zastosowaniem ultrasprawnego chromatografii cieczowej z detekcją fotodiodową oraz masową. Aktywność przeciwutleniającą ekstraktu z propolisu oceniono, określając jego zdolność do neutralizacji kationorodnika DPPH[·] oraz redukcji jonów Fe³⁺ do Fe²⁺. Ponadto, oceniono aktywność hemolityczną ekstraktu oraz aktywność cytoprotekcyjną względem erytrocytów ludzkich poddanych działaniu wolnych rodników w warunkach *in vitro*.

Wyniki. Ekstrakt z propolisu zawierał wysokie stężenie pinocembryny, galanginy, chryzyny, apigeniny, kemferolu, kwasu kumarowego oraz kwasu cynamonowego. Wykazano wysoką aktywność przeciwutleniającą ekstraktu. Aktywność przeciwrodnikowa ekstraktu odpowiadała około 75% aktywności standardowych przeciwutleniaczy: Troloksu oraz BHT, zaś siła redukcyjna była równa około 65% aktywności Troloksu i około 80% aktywności BHT. Ponadto nie odnotowano hemolitycznej aktywności ekstraktu oraz wykazano jego cytoochronne działanie wobec erytrocytów ludzkich eksponowanych na działanie wolnych rodników w warunkach *in vitro*.

Wnioski. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że ekstrakt z propolisu pochodzenia krajowego jest bogatym źródłem flawonoidów oraz kwasów fenolowych. Powyższy fakt tłumaczy jego wysoką aktywność przeciwutleniającą oraz efektywność ochraniającą erytrocyty przed hemolizą oksydacyjną.

Słowa kluczowe: ekstrakt z propolisu, związki fenolowe, flawonoidy, kwasy fenolowe, właściwości przeciwutleniające, ludzkie erytrocyty

Wstęp

Propolis (kit pszczeli) jest naturalnym produktem zbieranym przez pszczoły z różnych części drzew, krzewów i innych roślin zielonych. Pszczoły wykorzystują propolis jako materiał uszczelniający i tworzący barierę chroniącą wnętrze ula przed drobnoustrojami chorobotwórczymi (1, 2). W medycynie ludowej zastosowanie propolisu sięga czasów starożytnych, kiedy Rzymianie wykorzystywali jego właściwości do balsamowania ciał zmarłych (3). Obecnie propolis stosowany jest w różnej postaci (m.in. ekstrakty, kapsułki, maści i kremy) w wielu gałęziach gospodarki. Zastosowanie propolisu w farmacji, kosmetologii czy przemyśle spożywczym wynika z jego korzystnych właściwości biologicznych (1-3).

Dane piśmiennictwa wskazują, że ekstrakty z propolisu charakteryzują się m.in. właściwościami przeciwnowotworowymi, przeciwrzybiczymi, przeciwbakteryjnymi oraz przeciwutleniającymi (3-8). Aktywność biologiczna propolisu związana jest z jego złożonym składem chemicznym. Najczęściej wymienianą grupą związków warunkującą korzystne właściwości propolisu są związki fenolowe – flawonoidy oraz kwasy fenolowe i ich estry (2, 9). Dowiedziono, że związki te są najczęściej oznaczaną grupą substancji w propolisie pochodzącym z różnych regionów geograficznych, m.in. Słowenii, Włoch, Chin czy Hiszpanii (6, 8-10). Spośród fenoli, w propolisie pochodzenia krajowego najczęściej potwierdza się obecność chryzyny, galanginy, kemferolu, naryngeniny, kwercetyny, pinobanksyny, a także kwasów: kumarowego, ferulowego, cynamonowego i kawowego (4, 5, 11-14). Poza tym oprócz wspomnianych związków fenolowych w próbkach propolisu różnego pochodzenia zidentyfikowano także inne grupy związków, w tym kwasy tłuszczowe, ketony, węglowodany, terpeny, aldehydy oraz makro- i mikroelementy (4, 7, 16, 17).

Ważnym zagadnieniem związanym z badaniami dotyczącymi składu chemicznego propolisu jest wybór metody ekstrakcji, zwłaszcza dobór odpowiedniego rozpuszczalnika. Do procesu ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z propolisu stosowane są różne rozpuszczalniki chemiczne, w tym najczęściej alkohol etylowy o różnym udziale wody, alkohol metylowy, aceton, chloroform, a także woda (8, 18-21). Zgodnie z danymi piśmiennictwa, wybór rozpuszczalnika do ekstrakcji surowca wpływa nie tylko na jego skład chemiczny, ale także na aktywność biologiczną, w tym na właściwości przeciwutleniające, przeciwbakteryjne i przeciwrzybicze (21, 22).

Cel pracy

Celem pracy było określenie stężenia wybranych związków fenolowych (flawonoidów i kwasów fenolowych) w ekstrakcie z krajowego propolisu oraz ocena jego aktywności przeciwutleniającej i cytoochronnej względem erytrocytów ludzkich poddanych działaniu wolnych rodników w warunkach *in vitro*.

Materiał i metody

Ekstrakcja propolisu

W badaniach wykorzystano ekstrakt z propolisu otrzymany w wyniku ekstrakcji surowca pochodzenia krajowego acetonem (Avantor Performance Materials Poland SA) w stosunku 1:10 (m/v). Proces ekstrakcji prowadzono przez okres 5 dni w temperaturze pokojowej z wykorzystaniem wytrząsarki (Biosan). Następnie ekstrakt przesączone i odparowano rozpuszczalnik z wykorzystaniem wyparki próżniowej (Buchi Labortechnik AG). Suchą pozostałość rozpuszczono w alkoholu metylowym o czystości HPLC (Sigma-Aldrich) do analiz chemicznych oraz w dimetylosulfotlenku (Avantor Performance

Materials Poland SA) do określenia aktywności przeciwutleniającej oraz wpływu ekstraktu z propolisu na erytrocyty.

Oznaczenie stężenia związków fenolowych

W ekstrakcie z propolisu oznaczono stężenie wybranych związków fenolowych za pomocą ultrasprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fotodiodową ($\lambda = 280$ oraz 309 nm) oraz masową (Aquity UPLC/PDA/TQD, Waters Company). W badanym materiale analizowano stężenie flawonoidów (apigenina, chryzyna, epikatechina, galangina, genisteina, kwercetyna, mirycetyna, naryngenina, pinobanksyna, pinocembryna, katechina, kemferol, pinostrobin, rutyna) oraz kwasów fenolowych (chlorogenowy, ferulowy, *p*-hydroksybenzoesowy, kawowy, *p*-kumarowy, syringowy, synapinowy, wanilinowy, cynamonowy), których standardy pochodziły z firmy Sigma-Aldrich. Identyfikację jakościową i ilościową związków fenolowych przeprowadzono z użyciem kolumny chromatograficznej (Acquity UPLC HSS T3 firmy Waters, $1,8 \mu\text{m}$, $2,1 \times 150$ mm), stosując jako fazę nośną roztwory: linia A – 0,1% wodny roztwór kwasu mrówkowego; linia B – 0,1% roztwór kwasu mrówkowego w acetonitrylu (Sigma-Aldrich) w trybie gradientowym. Identyfikacji jonów macierzystych dokonywano, stosując jonizację typu Elektrospray. Oznaczenia stężenia poszczególnych związków fenolowych dla badanego ekstraktu z propolisu wykonano w trzech powtórzeniach, a prezentowane wyniki są wartością średnią.

Aktywność przeciwutleniająca

Ocena aktywności przeciwutleniającej w teście DPPH

Do 0,2 ml ekstraktu z propolisu o stężeniu 0,1 mg/ml dodano 0,2 ml świeżo przygotowanego etanolewego roztworu 0,1 M DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazol) (Sigma-Aldrich) i inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Następnie mierzono absorbancję roztworów z wykorzystaniem spektrofotometru Epoll 2000 ECO (PZ Emco) przy długości fali $\lambda = 517$ nm. Jako związki referencyjne zastosowano BHT (butyloowany hydroksytoluen) oraz Troloks (Sigma-Aldrich) w identycznych stężeniach jak próba badana. Na podstawie wartości absorbancji obliczono aktywność przeciwrodnikową (AP), stosując następujące równanie:

$$AP (\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100,$$

gdzie: A_0 – absorbancja próby kontrolnej, A_1 – absorbancja ekstraktu z propolisu.

Analizę aktywności przeciwrodnikowej ekstraktu z propolisu w teście z kationrodnikiem DPPH wykonano trzykrotnie w trzech powtórzeniach każdej próby, a przedstawione wyniki są wartością średnią.

Ocena aktywności przeciwutleniającej w teście redukcji jonów Fe^{3+}

Do 0,06 ml ekstraktu z propolisu o stężeniu 0,1 mg/ml dodano 0,1 ml 0,2 M PBS (bufor fosforanowy) (Avantor Performance Materials Poland SA) o $\text{pH} = 6,6$ oraz 0,1 ml 1% roztworu $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Avantor Performance Materials Poland SA). Troloks i BHT wykorzystano w badaniach jako związki referencyjne. Następnie badane roztwory inkubowano przez 20 minut w temperaturze 50°C . Po inkubacji do każdej z prób dodano 0,1 ml 10% roztworu kwasu trichlorooctowego oraz 0,04 ml 0,1% roztworu FeCl_3 (Avantor Performance Materials Poland SA). Próby wytrząsano i po upływie 10 minut zmierzono absorbancję przy $\lambda = 700$ nm z wykorzystaniem spektrofotometru Epoll 2000 ECO (Emco). Każdą analizę wykonano trzykrotnie w trzech powtórzeniach każdej próby, a przedstawione wyniki są wartością średnią.

Wpływ ekstraktu z propolisu na erytrocyty

Aktywność hemolityczna oraz modyfikacja kształtu erytrocytów

Do mieszaniny buforu fosforanowego (PBS) i ekstraktu z propolisu o objętości 0,09 ml dodano 0,01 ml zawiesiny erytrocytów ludzkich o hematokrycie równym 15% zakupionych z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu. Końcowy hematokryt badanej próby wynosił 1,5%, co odpowiada $1,65 \times 10^8$ komórek w 1 ml. Całkowita objętość badanych prób każdorazowo wynosiła 0,1 ml. Próba kontrolna negatywna (0% hemolizy) zawierała 0,09 ml PBS i 0,01 ml zawiesiny erytrocytów, próba kontrolna pozytywna (100% hemolizy) – 0,09 ml wody demineralizowanej oraz 0,01 ml zawiesiny erytrocytów. W badanych próbach zastosowano stężenie ekstraktu równe 0,05 mg/ml. Erytrocyty inkubowano wobec ekstraktu przez 60 minut w łaźni wodnej z termostatem w temperaturze 37°C w trzech powtórzeniach. Próby wytrząsano co 15 minut na wytrząsarce (Biosan). Po inkubacji do każdej próby dodano 0,4 ml PBS i wirowano (Sigma 3-30K Sartorius AG) przy 3000 rpm przez 10 minut w temperaturze 4°C . Wartość absorbancji (A) supernatantów w objętości 0,45 ml mierzono spektrofotometrycznie (spektrofotometr Epoll 2000 ECO; Emco) przy długości fali $\lambda = 540$ nm wobec PBS jako kontroli. Procent hemolizy wyliczono ze wzoru:

hemoliza (%) = $[(A_1 - A_2)/(A_3 - A_2)] \times 100\%$,

gdzie: A_1 – absorbancja próby badanej, A_2 – absorbancja próby kontrolnej, A_3 – absorbancja próby z hemolizą całkowitą.

Kształty komórek analizowano po zakończeniu inkubacji w mikroskopie świetlnym (Zeiss LSM 510 Axiovert Zoom) przy powiększeniu okularu 10 x i obiektywu 63 x. Przed analizą mikroskopową komórki utrwalono w mieszaninie 5% roztworu paraformaldehydu (Sigma-Aldrich) i 0,01% roztworu aldehydu glutarowego (Sigma-Aldrich) przez 60 minut i w temperaturze 37°C, po czym trzykrotnie płukano PBS. Każde doświadczenie wykonano trzykrotnie w trzech powtórzeniach każdej próby, a przedstawione wyniki są wartością średnią.

Działanie ochronne przed hemolizą oksydacyjną erytrocytów

Erytrocyty o końcowym hematokrycie równym 1,5% preinkubowano przez 20 minut w temperaturze 37°C w PBS w obecności ekstraktu z propolisu, Troloksu oraz BHT, o stężeniu 0,05 mg/ml. Po preinkubacji do prób dodano AAPH (dichlorek 2,2'-azobis(2-amidinopropanu)) (Sigma-Aldrich) o końcowym stężeniu 60 mM. Całkowita objętość każdej próby wynosiła 0,1 ml. Kontrolę ujemną stanowiła zawiesina erytrocytów w PBS, zaś kontrolę pozytywną zawiesina erytrocytów w PBS z dodatkiem AAPH. Próby inkubowano przez 4 godziny w łaźni wodnej w temperaturze 37°C, a następnie wszystkie odwirowywano przy 4000 rpm przez 10 min w temperaturze 4°C. Wartość absorbancji (A) supernatantów

mierzone spektrofotometrycznie (spektrofotometr Epoll 2000 ECO; Emco) przy $\lambda = 540$ nm względem buforu fosforanowego (PBS). Procent protekcji przed hemolizą oksydacyjną indukowaną wolnymi rodnikami generowanymi podczas termolizy AAPH, wyliczono ze wzoru:

$$AP (\%) = 100 - [(A_{\text{próby}}/A_{\text{AAPH}}) \times 100\%],$$

gdzie: $A_{\text{próby}}$ – absorbancja próby badanej, A_{AAPH} – absorbancja próby kontrolnej z AAPH.

Każdą analizę wykonano trzykrotnie w trzech powtórzeniach każdej próby, a przedstawione wyniki są wartością średnią.

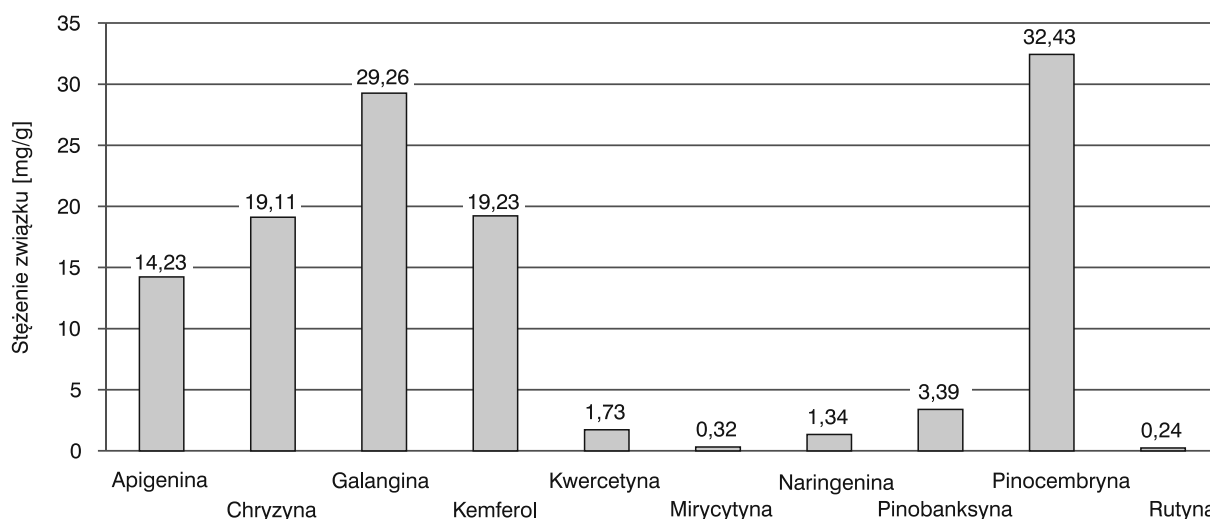
Wyniki i ich omówienie

Analiza stężenia związków fenolowych

W wyniku ekstrakcji propolisu i odparowania rozpuszczalnika otrzymano suchą pozostałość, którą wykorzystano do oznaczeń stężenia wybranych związków fenolowych oraz do oceny jego aktywności przeciwutleniającej i wpływu na erytrocyty, również poddane działaniu wolnych rodników. Wydajność procesu ekstrakcji, w odniesieniu do początkowej masy surowca, wynosiła 67,7%.

W pierwszej kolejności, w badanym ekstrakcie z propolisu oznaczono stężenie 14 flawonoidów oraz 9 kwasów fenolowych. Stężenia powyższych związków w przeliczeniu na suchą masę ekstraktu przedstawiono na rycinie 1.

Najwyższe stężenie spośród analizowanych flawonoidów w ekstrakcie z propolisu odnotowano dla pinocebryny, a nieznacznie niższe dla galanginy. Wysokie



Ryc. 1. Stężenie flawonoidów w ekstrakcie z propolisu

stężenia obu flawonoidów odnotowano już wcześniej w próbkach propolisu z terenów Polski (4, 12, 13, 15). Ponadto analizowany ekstrakt charakteryzował się wysoką zawartością chryzyny i kemferolu (powyżej 19 mg/g) oraz apigeniny (powyżej 14 mg/g). Obecność tych flawonoidów została potwierdzona w ekstraktach z propolisu pochodzących z różnych regionów kraju (4, 5, 11, 12), jak również w ekstraktach z surowca pochodzącego m.in. z Włoch, Słowenii i Ukrainy (8, 19, 23). Spośród analizowanych flawonoidów w badanym ekstrakcie oznaczono niewielkie stężenie naryngeniny, kwercetyny i pinobanksyny, a także śladowe ilości rutyny i mirycetyny. Natomiast stężenia epikatechiny, genisteiny, katechiny oraz pinostrobinu były poniżej granicy oznaczalności przy zastosowaniu techniki UPLC/PDA/TQD.

Wśród związków flawonoidowych, których stężenie w badanym ekstrakcie znajdowało się poniżej granicy oznaczalności, najczęściej w próbkach propolisu pozyskiwanego z terenu kraju stwierdzano obecność pinostrobinu, co potwierdzają dane piśmiennictwa (4, 12). Występowanie pinostrobinu potwierdzono także w ekstraktach z propolisu pochodzącego z Grecji, Włoch oraz Iranu (7, 16).

W ekstrakcie z propolisu oznaczono stężenie 9 kwasów fenolowych, spośród których stężenie kwasów wanilinowego, syringowego oraz synapinowego występowało poniżej granicy oznaczalności, natomiast stężenia pozostałych związków przedstawiono na rycinie 2.

Kwas kumarowy występował w najwyższym stężeniu spośród wszystkich oznaczonych kwasów fenolowych, jednak niższym w porównaniu z surowcem pochodzącym z Włoch i Stanów Zjednoczonych oraz wyższym od uzyskanego dla próbek propolisu z Hiszpanii czy

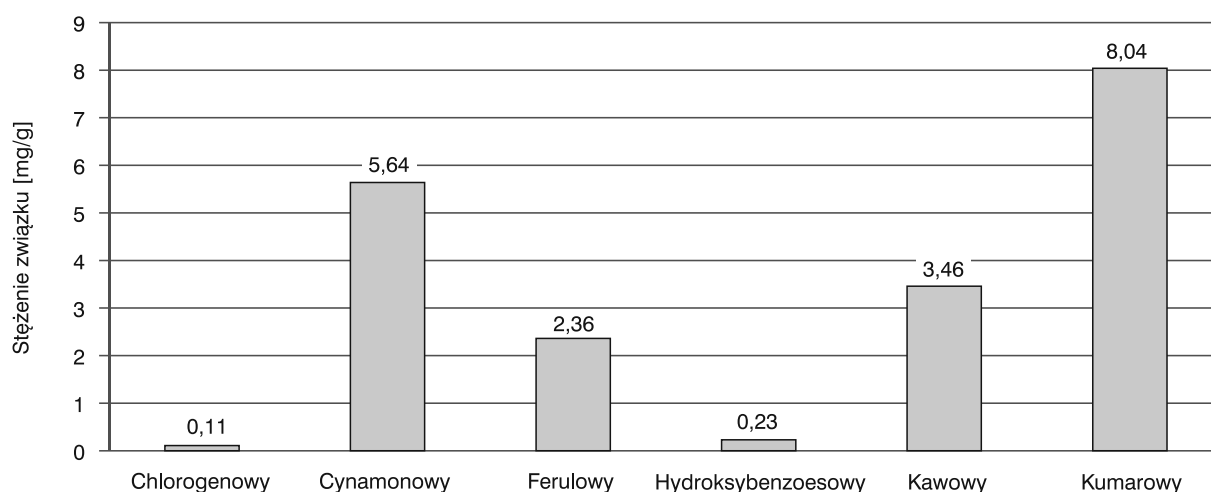
Argentyny (10, 19, 23). Poza kwasem kumarowym w badanym ekstrakcie odnotowano wysokie stężenia kwasów cynamonowego, ferulowego oraz kawowego, które wraz z kwasem kumarowym są najczęściej identyfikowanymi kwasami fenolowymi w ekstraktach z propolisu pochodzenia krajowego (4, 5, 11, 12). Dodatkowo, w badanym surowcu odnotowano śladowe ilości kwasu chlorogenowego oraz hydroksybenzoesowego.

Ocena aktywności przeciwutleniającej i wpływ na erytrocyty

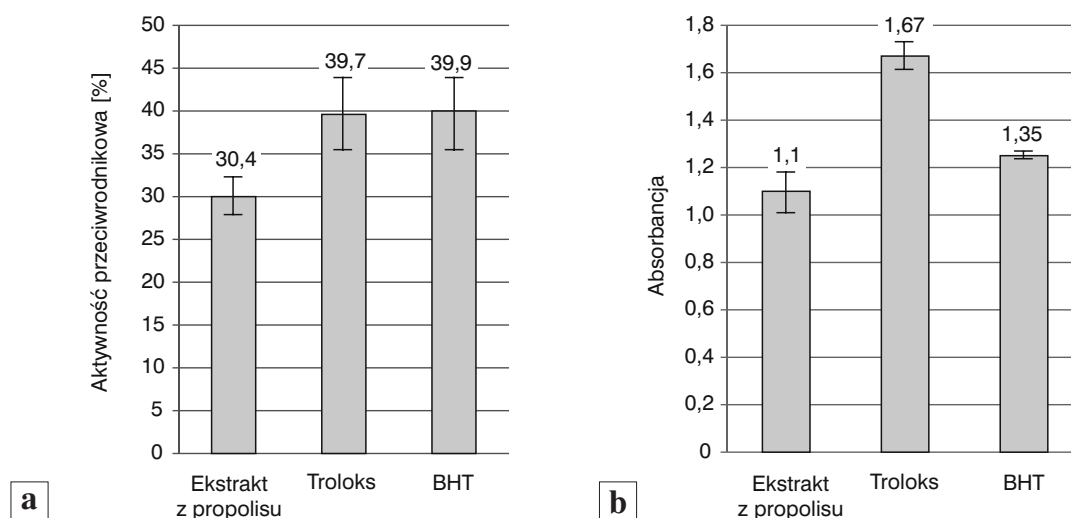
W drugim etapie badań określono aktywność przeciwutleniającą ekstraktu z propolisu krajowego na drodze oceny jego aktywności przeciwrodnikowej oraz zdolność do redukcji jonów Fe^{3+} do Fe^{2+} . Uzyskane wyniki przedstawiono na rycinie 3a, b.

Badany ekstrakt z propolisu charakteryzowała wysoka aktywność przeciwrodnikowa, odpowiadająca ponad 75% aktywności standardowych substancji przeciwutleniających BHT i Troloksu. Odnotowano również wysoką efektywność ekstraktu w redukcji jonów żelaza Fe^{3+} do Fe^{2+} , na poziomie odpowiadającym ponad 65% aktywności Troloksu i ponad 80% aktywności BHT. Równie wysoką aktywność przeciwutleniającą wykazano dla surowca pochodzącego z Portugalii, Hiszpanii, Chin, Nowej Zelandii, Brazylii oraz różnych regionów Polski (10, 11, 18, 24, 25).

W pracy analizowano również wpływ ekstraktu z propolisu na przepuszczalność błon erytrocytów ludzkich. Zarówno po standardowej inkubacji komórek wobec ekstraktu z propolisu (60 minut $37^{\circ}C$), jak i po wydłużeniu inkubacji do 4 godzin nie odnotowano wzrostu przepuszczalności ich błon, jak również nie stwierdzono istotnych zmian w prawidłowym dyskooidalnym kształcie



Ryc. 2. Stężenie kwasów fenolowych w ekstrakcie z propolisu



Ryc. 3a, b. Aktywność przeciwrodnikowa ekstraktu z propolisu w teście DPPH[·] (a) oraz redukcji Fe³⁺ (b)

erytrocytów. Powyższe rezultaty dowodzą braku aktywności hemolitycznej ekstraktu z propolisu.

W kolejnych badaniach wykazano cytoochronne działanie ekstraktu z propolisu względem erytrocytów poddanych niekorzystnemu działaniu wolnych rodników powstałych pod wpływem termolizy AAPH, odpowiadające $54,15 \pm 8,97\%$ aktywności Troloksu oraz $36,83 \pm 3,00\%$ aktywności BHT. Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że związki zawarte w ekstrakcie z propolisu skutecznie chronią erytrocyty przed uszkodzeniami wywołanymi reaktywnymi formami tlenu, nie tylko dzięki wysokiemu potencjałowi przeciwutleniającemu, ale również poprzez ich wbudowywanie się do endoplazmatycznej warstwy ich błon (26).

Wnioski

1. W ekstrakcie z propolisu pochodzenia krajowego stwierdzono obecność 14 flawonoidów oraz 9 kwasów fenolowych.

2. Badany ekstrakt z propolisu charakteryzował się wysoką zawartością pinocembryny, apigeniny, chryzyny, galanginy, kemferolu, kwasu kumarowego oraz kwasu cynamonowego.

3. Analiza właściwości przeciwutleniających ekstraktu z propolisu wykazała jego wysoką aktywność przeciwrodnikową w teście DPPH[·] oraz skuteczną redukcję jonów Fe³⁺ do Fe²⁺.

4. Nie stwierdzono aktywności hemolitycznej ekstraktu z propolisu względem ludzkich erytrocytów, odnotowano natomiast jego wysoką aktywność cytoochronną przed hemolitycznym działaniem wolnych rodników. Na tej podstawie można wnioskować o korzystnym działaniu propolisu w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym i wieku starczego wywoływanych przez stres oksydacyjny.

5. Powyższe badania sugerują skuteczne działanie ekstraktu z propolisu w obronie komórek organizmu ludzkiego przed reaktywnymi formami tlenu.

Piśmiennictwo

1. Toreti VC, Sato HH, Pastore GM i wsp. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid Based Compl Alt* 2013; 2013:697390.
2. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002; suppl. 1:S1-S6.
3. Wagh VD. Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Evid Based Compl Alt* 2013; 2013:308249.
4. Popova M, Giannopoulou E, Skalicka-Woźniak K i wsp. Characterization and biological evaluation of propolis from Poland. *Molecules* 2017; 22:1159.
5. Szliszka E, Sokół-Łętowska A, Kucharska AZ i wsp. Ethanol extract of Polish propolis: chemical composition and TRAIL-R2 death receptor targeting apoptotic activity against prostate cancer cells. *Evid Based Compl Alt* 2013; 2013:757628.
6. Ahn MR, Kumazawa S, Usui Y i wsp. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem* 2007; 101:1383-92.
7. Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E i wsp. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chem* 2009; 116:452-61.
8. Mavri A, Abramovic H, Polak T i wsp. Chemical properties and antioxidant and antimicrobial activities of Slovenian propolis. *Chem Biodivers* 2012; 9:1545-57.

9. Pellati F, Orlandini G, Pinetti D i wsp. HPLC-DAD and HPLC-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. *J Pharm Biomed Anal* 2011; 55:934-48.
10. Kumazawa S, Bonvehi JS, Torres C i wsp. Chemical and functional characterization of propolis collected from East Andalusia (Southern Spain). *Phytochem Anal* 2013; 24:608-15.
11. Socha R, Gałkowska D, Bugaj M i wsp. Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Nat Prod Res* 2015; 29(5):416-22.
12. Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. I. Początkowy okres badań. *Post Fitoter* 2009; (1):39-44.
13. Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. II. Nowe badania. *Post Fitoter* 2009; (2):122-8.
14. Kędzia B. Skład chemiczny i aktywność biologiczna propolisu pochodzącego z różnych regionów świata. *Post Fitoter* 2006; (1):23-35.
15. Woźniak M, Kwaśniewska-Sip P, Babicka M i wsp. Skład chemiczny etanolowego ekstraktu z propolisu i jego aktywność biologiczna wobec grzybów pleśniowych. *Post Fitoter* 2018; 19(2):86-91.
16. Mohammadzeh S, Shariatpanahi M, Hamed M i wsp. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chem* 2007; 103:1097-103.
17. Woźniak M, Babicka M, Rissmann I i wsp. Etanolowe ekstrakty z propolisu jako źródło biopierwiastków. *Post Fitoter* 2018; 19(2):81-5.
18. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA i wsp. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. *Food Sci Technol* 2014; 34(1):16-23.
19. Papotti G, Bertelli D, Bortolotti L i wsp. Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. *J Agric Food Chem* 2012; 60:2852-62.
20. Narimane S, Demircan E, Salah A i wsp. Correlation between antioxidant activity and phenolic acids profile and content of Algerian propolis: Influence of solvent. *Pak J Pharm Sci* 2017; 30(4):1417-23.
21. Cottica SM, Sawaya ACHF, Eberlin MN i wsp. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *J Braz Chem Soc* 2011; 22(5):929-35.
22. Kacaniova M, Vukovic N, Chlebo R i wsp. The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. *Arch Biol Sci* 2012; 64(3):927-34.
23. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem* 2004; 84:329-39.
24. Majewska E, Trzaneek J. Właściwości przeciwutleniające miodów wielokwiatowych i innych produktów pszczelich. *Brom Chem Toksykol* 2009; 4:1089-94.
25. Righi AA, Alves TR, Negri G i wsp. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *J Sci Agric* 2011; 91:2363-70.
26. Jasiewicz B, Mrówczyńska L, Malczewska-Jaskóła K. Synthesis and haemolytic activity of novel salts made of nicotine alkaloids and bile acids. *Bioorg Med Chem Lett* 2014; 24:1104-7.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 02.01.2019

zaakceptowano/accepted: 05.02.2019

Adres/address:

*dr n. leśn. Magdalena Woźniak

Katedra Chemii

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

tel.: +48 (61) 848-78-38

e-mail: magdalena.wozniak@up.poznan.pl