



ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ESTABILIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE PROPÓLEOS AL 5% POR EL MÉTODO CINÉTICO ISOTÉRMICO ACELERADO Y SU EFECTO ACELERADOR DE LA EPITELIZACIÓN.

Autores: Yudit Nuria Sartorio¹, Julio Cesar Bracho², Gisela Valdés², Aniuska Piloto¹, Gastón García¹, Giselle García¹ y Marisol López¹.

¹*Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL)*

²*Estación Experimental Apícola (EEA)*

Resumen

Dentro de los productos naturales que el hombre utiliza desde tiempos remotos con fines terapéuticos se encuentra el propóleo, el cual presenta composición química variada y una marcada actividad antimicrobiana.

En el presente trabajo tuvo como objetivo el estudio del Extracto Hidroalcohólico de Propóleos rojo al 5 % (EEP 5 %) orientado a su posterior evaluación clínica como cicatrizante y la determinación preliminar de su estabilidad a través del Método Cinético -Isotérmico y Acelerado para lo cual se sometió el extracto a las temperaturas de de: 8, 40, 50 y 60 °C a los tiempos de 7, 14, 30, 90 días. A todas las muestras se les determinaron los parámetros de control de la calidad establecidos por la NRAG 1129/1994 y la NRSP 312/1991, tamizaje fitoquímico y calidad sanitaria dando como resultado la presencia de estabilidad bajo las condiciones de estudio empleadas.

Además de un análisis preliminar mediante Cromatografía gaseosa - espectrometría de masa (CG-EM) determinando algunos de los constituyentes mayoritarios del EEP 5 %.

Por otra parte, se determinó que posee efecto acelerador de la epitelización, no irritante a la piel pero sí oftálmico encontrándose resultados que permiten avalar su aplicación como cicatrizantes.

Introducción

El interés del hombre por los productos apícolas es milenario y prueba de ello lo constituyen las innumerables pinturas rupestres que muestran el saqueo de la colmena para proveerse de miel en períodos tan remotos como el mesolítico, nueve mil años atrás. Después de tantos años el interés por estos no ha disminuido, por el contrario, se ha intensificado.

Formando parte de los productos apícolas se encuentra el propóleo, el cual presenta una composición química variada y se define como un producto recolectado por las abejas a partir de las resinas vegetales, empleado con fines terapéuticos desde siglos atrás por sus propiedades biológicas.

Debido a esta marcada actividad terapéutica, el propóleo se utiliza en nuestro país de diferentes formas farmacéuticas para combatir diversas enfermedades y aunque este producto puede resultar tóxico en ocasiones, aún no aparecen reportados estudios completos sobre el mismo que rechacen su empleo.

Con el objetivo de introducir o no el propóleo de forma definitiva en la terapéutica, en particular, como cicatrizante en forma de extracto hidroalcohólico, se requiere de la realización previa de estudios de estabilidad de esta forma farmacéutica así como estudios preclínicos que avalen su efectividad en este sentido para posteriormente realizar un ensayo clínico.

Teniendo en cuenta que el propóleo es un producto natural de fácil recolección y procesamiento, a partir del cual se pudieran extraer compuestos de gran valor terapéutico que puedan sustituir a productos sintéticos más perjudiciales al organismo, este trabajo tiene como objetivo realizar un estudio con el extracto hidroalcohólico de propóleo rojo 5 % orientado a su posterior uso como cicatrizante determinando los parámetros de control de la calidad, realizar un estudio de estabilidad preliminar por el método cinético-isotérmico y acelerado, la búsqueda de constituyentes mayoritarios que caractericen el EEP 5% mediante Cromatografía Gaseosa - Espectrometría de Masa. (CG-EM), evaluar la posible irritabilidad dérmica y oftálmica, así como evaluar su calidad microbiológica y antibacteriana.

Materiales y Métodos

A partir de un propóleo rojo de la zona de Pinar del Río fueron elaborados tres lotes (Lote 1, Lote 2, Lote 3) del Extracto Hidroalcohólico de Propóleo al 5 % (EEP-5 %) según la tecnología de preparación de extractos hidroalcohólicos desarrollada en la Estación Experimental Apícola (Bracho y col., 1998).

El estudio de estabilidad preliminar por el método cinético isotérmico y acelerado se realizó a los lotes de propóleo obtenidos que fueron sometidos a temperaturas de: 8, 40, 50 y 60 °C a los tiempos de 7, 14, 30, 90 días.

Los EEP-5 % y las muestras del estudio de estabilidad por el método cinético isotérmico y acelerado fueron sometidas a:

- Determinación de los parámetros de calidad según lo establecido por las normas ramales NRAG 1129/1994 y la NRSP 312/1991.
- Tamizaje fitoquímico de los diferentes lotes como parte del estudio integral de estabilidad según técnicas descritas en la literatura (Durand y col., 1986; Chabra y col., 1989).
- Calidad microbiológica por la norma cubana NC 26-121-1/1993 donde el ensayo preliminar (mayor del 30 % de alcohol) se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 muy sensible a la acción inhibitoria del propóleo. A partir de este resultado se tomó en cuenta el



procedimiento de trabajo donde quedaba descartada la posibilidad de inhibición de la multiplicación de los microorganismos que pudieran estar presentes. El análisis del EEP-5 % mediante Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masas (CG-EM) se realizó a partir del bálsamo total de propóleos según Greenaway y col. (1987).

Los constituyentes fueron identificados por comparación de sus espectros de masas con los de compuestos de referencia o datos de espectros de masas informados en la literatura.

El estudio para determinar el efecto acelerador de la cicatrización se realizó según lo establecido en Protocolo de Ensayo: Determinación de la actividad cicatrizante del extracto de propóleos al 5 % desarrollado por los Laboratorios LIORAD y El Departamento de Control e Investigaciones Biológicas CIEB-IFAL (García y Piloto, 1998) para lo cual se utilizó extracto de propóleos al 5 % en ratas albinas, adultas, jóvenes de ambos sexos a los que se les aplicaron cuatro tratamientos diferentes: EEP-5 %, Sulfadiacina de plata, Placebo y Control.

El ensayo de la determinación del potencial irritante dérmico se realizó según lo establecido en Protocolo de ensayo: Determinación del Potencial Irritante Dérmico del extracto de propóleos al 5 % desarrollado por los Laboratorios LIORAD y El Departamento de Control e Investigaciones Biológicas CIEB-IFAL (García y Piloto, 1998).

El ensayo de la determinación del potencial irritante oftálmico del extracto de propóleos se realizó según lo establecido en Protocolo de ensayo: Determinación del Potencial Irritante Oftálmico del extracto de propóleos al 5 % desarrollado por los Laboratorios LIORAD y El Departamento de Control e Investigaciones Biológicas CIEB-IFAL (García y Piloto, 1998).

Para el análisis estadístico se calcularon parámetros estadísticos básicos, tales como: media, desviación estándar y error estándar de la media y con el objetivo de analizar la incidencia de los factores (temperatura, tiempo y lotes) sobre las variables estudiadas se utilizó análisis de varianza con dos factores entre (temperatura y lote) y un factor dentro (tiempo). El nivel de significación empleado fue del 5%.

Resultados y Discusión

El valor medio de los parámetros de calidad obtenidos para el EEP-5 % y las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado se muestran en la Tabla I. como se observa los mismos cumplen con los parámetros establecidos por la NRAG 1129/1994, no encontrándose diferencias apreciables entre ellos, al igual que en el caso de los parámetros que establece la NRSP 312/1991 para extractos y tinturas, cuyas variables en las muestras de estudio aparecen marcadas.

Las características organolépticas se comportaron similares tanto entre los EEP-5 % como para las muestras del estudio cinético acelerado correspondiéndose con las siguientes características:

Aspecto:	pardo-rojizo, oscuro, líquido transparente sin sedimentos.
Olor:	resinoso, alcohólico, característico al propóleos.
Sabor:	resinoso, amargo, alcohólico.

Los sólidos totales alcanzaron un valor medio de 5.37 % para el EEP-5 % y para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado resultó 5.11, 5.17 y 5.30 para los Lotes 1, 2 y 3 respectivamente. donde los valores oscilaron de 3.7-6.1. A través del análisis estadístico realizado se detectó que no existen diferencias significativas en el comportamiento del porciento de sólidos totales de los tres lotes bajo condiciones de temperatura en el tiempo, con un nivel de significación de $p < 0.05$. En todos los casos se encontró concordancia con lo establecido por la NRAG 1129/1994 para ese parámetro.

Las impurezas mecánicas fue de 0.0 % para EEP-5 % y en el caso de las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado en la mayoría de los casos resultó nulo aunque se detectaron impurezas en las muestras que se mantuvieron a temperatura 8 °C durante 90 días, obteniéndose valores entre 0.0052-0.0096 %, al igual que a los 30 días a las temperaturas de 40, 50 y 60°C en los tres lotes, el valor de este parámetro puede considerarse despreciable, no solamente por el valor tan bajo de este parámetro sino también si tenemos en cuenta que el papel utilizado para el ensayo, aunque se somete a calentamiento para eliminar la humedad puede absorberla de la atmósfera durante la manipulación y al realizar las pesadas el resultado sea diferente de cero por esta causa y no por la existencia de impurezas mecánicas.

El contenido alcohólico como se observa en la Tabla I, resultó ser para cada uno de los lotes de EEP-5 % del 70 %, el cual coincide con lo establecido por la NRAG 1129/1994 mientras que para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado disminuyó en el tiempo de manera significativa ($p < 0.05$). Estos resultados pueden considerarse lógicos por la volatilidad a temperatura ambiente que presenta el alcohol etílico al 70% empleado. Por otra parte puede deberse a la no hermeticidad de los frascos facilitándose la evaporación por lo que debe realizarse un estudio del correcto envase a emplear en este producto.

.El pH del EEP-5 % fue de 5.3 ligeramente ácido posiblemente a la presencia compuestos fenólicos y ácidos carboxílicos no saturados que entre otros pueden aportar características ácidas al extracto hidroalcohólico. Para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado se comportó de forma regular para los tres lotes durante los 3 meses en cada una de las temperaturas, lo cual se corroboró a través del diseño estadístico utilizado en el cual se observó que no hubo diferencias significativas. El análisis de estos resultados nos permiten deducir que durante el período de estudio no han ocurrido reacciones que alteren el valor de pH del EEP 5 % denotando su estabilidad, evidencia de ello lo constituye el estrecho margen de variación de este parámetro que osciló entre valores de 4.7-5.4.

La densidad relativa resultó ser de 0.8987 g/cm^3 para cada uno de los lotes del EEP-5 % y en el caso de las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado tuvieron un comportamiento bastante estable en el período de estudio para los tres lotes y en cada una de las temperaturas. En el lote 1 el valor estuvo entre $0.897\text{-}0.909 \text{ g/cm}^3$, en el lote 2 entre $0.899\text{-}0.910 \text{ g/cm}^3$ y en el caso del lote 3 entre $0.897\text{-}0.909 \text{ g/cm}^3$. Como se observa, los valores son muy similares lo cual indica posible estabilidad del producto. Estos resultados se analizaron estadísticamente, no encontrándose diferencias significativas para un nivel de significación de $p < 0.05$.

El índice de refracción fue de 1.371 igual para los tres lotes del EEP-5 % y para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado se puede encontrar que este parámetro mantuvo un comportamiento similar, ya que en los tres lotes no se detectaron diferencias apreciables en los valores de dicho parámetro en el tiempo y en ocasiones el valor fue el mismo, incluso para varias temperaturas. De manera general el valor de este parámetro osciló entre 1.367-1.374. no encontrándose variación significativa para un valor de $p < 0.05$.

El índice de oxidación constituye un parámetro de vital importancia para la evaluación de los extractos hidroalcohólicos del propóleo al encontrarse directamente relacionado con la presencia en el producto de constituyentes fenólicos y antioxidantes en general. Es por ello, que en general se relaciona el índice de oxidación con la autenticidad, calidad del producto y en lo específico su poder antioxidante (Vakhonina y col., 1975).

Los resultados obtenidos tanto para los lotes del EEP-5 % como para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado analizaron oscilaron entre 1-2, evidenciando esos bajos valores la elevada capacidad antioxidante que posee (Tabla I). Estos resultados evidencian la calidad del producto y permiten colocarlos a la par de los propóleos de zonas templadas en lo que respecta a ese parámetro (Vakhonina y col., 1975).

El análisis estadístico mostró que no existen cambios significativos en el tiempo ni cambios motivados por el factor temperatura para un valor de $p < 0.05$.

Tabla 1. Resultados obtenidos del estudio realizado al EEP-5 % y las muestras correspondientes al estudio isotérmico acelerado

Parámetros	EEP-5 %	Muestras del estudio isotérmico acelerado
<i>Análisis Organoléptico</i>	cumple	cumple
<i>Densidad Relativa (g/cm^3)</i>	0.8987	0.897- 0.909 (n.s para $p < 0.5$)
<i>Índice de Refracción</i>	1.371	1.367-1.374 (n.s para $p < 0.5$)
<i>pH</i>	5.3	5.2- 5.35 (n.s para $p < 0.5$)
<i>Sólidos Totales(%)</i>	5.37	3.7 6.1 n.s para $p < 0.5$) (n.s p

<i>Impurezas Mecánicas(%)</i>	0.00	0.0052-0.0096 n.s para p<0.5)
<i>Contenido Alcohólico</i>	70.0	Disminuye en el tiempo de manera significativa
<i>Índice de Oxidación</i>	1-2	1-2 (n.s para p<0.5).
<i>Tamizaje Fitoquímico</i>		
Resinas	+	+
Liebermann-Burchard (Triterpenos y/o esteroides)	+	+
Espuma (Saponina)	-	-
Ninhidrina (Aminoácidos)	-	-
Dragendorff (Alcaloides)	-	-
Kedde (Cardiotónicos)	-	-
Fehling (Carbohidratos reductores)	+	+
Baljet (Coumarinas)	+	+
Tricloruro de Hierro (Fenoles y/o taninos)	+	+
Borntrager (Quinonas)	+	+
Shinoda (Flavonoides)	+	+
Antocianidinas (Estructuras de flavonoides de secuencia C6-C3-C6)	+	+
<i>Actividad Antibacteriana</i>	21	15 – 21 (n.s para p<0.5)
<i>Control Sanitario</i>		
Conteo total microorganismos aerobios mesófilos viables. (u.f.c./mL)	< 10	< 10
Conteo de hongos filamentosos (u.f.c./mL)	< 10	< 10
Conteo de levaduras viables (u.f.c./mL)	< 10	< 10
Determinación de <i>S. aureus</i> en 0.1 g	ausencia	ausencia
Determinación de <i>P aeruginosa</i> en 0.1 g	ausencia	ausencia
Crecimiento de microorganismos anaerobios en 0.1 g	ausencia	ausencia
Determinación de <i>Salmonella</i> y <i>E coli</i> en 0.1 g	ausencia	ausencia

Los resultados del análisis capilar realizado en todos los casos arrojó las siguientes características:

- imagen vivamente coloreada.
- altura de la imagen de 9, 7.3 y 7.5 cm. para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.
- franja casi lineal.
- subfranja incolora.



- banda amarilla y pardo-rojiza.
- subbanda anaranjada.

Estos resultados indican la presencia de compuestos ácidos y la existencia de compuestos con insaturaciones, coincidiendo con Marcucci, 1995 y Avila en 1997, al realizar el estudio de una tintura de propóleos al 5 % de sólidos solubles.

El estudio de tamizaje fitoquímico evidenció un comportamiento similar para los tres lotes del EEP-5 % y para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado resultando negativo los ensayos para detectar saponinas, aminoácidos, alcaloides y compuestos cardiotónicos y positivo los ensayos de resina, compuestos reductores, fenoles totales, flavonoides, quinonas, coumarinas y compuestos triterpénicos. Estos resultados reproducen lo obtenido en el control de la calidad y coincide por lo reportado por Monferrer (1995), Casanova (1995), Avila (1997), Cuesta y col. (1996 a y b) y Cuesta (1996 c).

Resulta interesante que los resultados negativos para aminoácidos ha sido corroborado por otros estudios de propóleos cubanos. Sin embargo no coincide con lo reportado en la literatura hasta el momento y si evidencia el carácter suigeneris de la composición química del propóleos cubanos todavía en fase inicial de investigación (Marcucci, 1995 y Cuesta, 1996 c)

Respecto al control microbiológico tanto en el EEP-5 % como para las muestras del estudio cinético isotérmico acelerado no hubo crecimiento de ningún microorganismo en ninguna de las determinaciones (Tabla I) cumpliendo con los parámetros de calidad establecidos por las NRSP 312/1991 y NRAG 1129/1994 tanto desde el punto de vista fisico-químico, como microbiológico.

Es decir se partió de un extracto de propóleos libre de microorganismos que durante el proceso al que fue sometido de diferentes temperaturas y tiempo de almacenamiento no sufrió cambios con respecto a su calidad sanitaria en ninguna de las muestras estudiadas.

Por los resultados encontrados en estas determinaciones microbiológicas realizadas se puede considerar que las muestras estudiadas según la NC 26-121-1/1993 Están incluidas dentro de la clasificación como producto con la ausencia de microorganismos viables en 1 g o 1 ml, por lo tanto pudiera ser considerado como medicamento para aplicar sobre quemaduras o ulceraciones y en cavidades corporales normalmente libre de gérmenes.

La calidad microbiológica obtenida en este estudio es similar a la descrita en el registro sanitario del extracto hidroalcohólico de propóleos al 5 % como suplemento nutricional a pesar de que las mismas se realizaron a través de procedimientos microbiológicos diferentes (Bracho y col., 1998).

Los resultados encontrados en las determinaciones microbiológicas realizadas a las diferentes condiciones de temperatura y tiempo permiten considerar que el extracto hidroalcohólico de

propóleos posee estabilidad sanitaria.

Durante la evaluación de la actividad antibacteriana se detectó para todos los casos un halo de inhibición transparente en perfecta concordancia con lo establecido por la NRAG 1129/1994 (Tabla I) cuyos valores oscilaron entre 15 -21 mm de diámetro, no encontrándose diferencias significativas entre los valores obtenidos para cada uno de los extractos hidroalcohólicos estudiados.

Los valores de diámetro de los halos de inhibición bacteriano encontrados coinciden con otros estudios realizados por otros autores al enfrentar extractos hidroalcohólicos de propóleos al *S. aureus* (Valdés y col., 1989; Rojas, 1987; Stark, 1993), infiriéndose la presencia de una garantizada actividad antibacteriana del producto según lo establecido en la NRAG 1129/1994, así como el establecimiento del microorganismo más comúnmente empleado para esta determinación. Es evidente la presencia de actividad antibacteriana, la cual no es afectada a pesar de las diferentes condiciones a las que fueron sometidas las muestras, estos resultados coinciden con los obtenidos por Rojas (1997), quién determinó que esta actividad no fue afectada cuando se sometieron extractos hidroalcohólicos de propóleos a temperaturas entre 50-100°C.

Tanto los resultados de la calidad microbiológica, como de la actividad antibacteriana permiten sugerir la utilización de este producto como cicatrizante, donde los valores obtenidos de actividad antibacteriana son comparables a los alcanzados por Valdés y col (1985), quienes compararon esta acción con antibióticos y desinfectantes convencionales, donde su uso en forma de extractos hidroalcohólicos podría constituir un sustituto eficaz de desinfectante o antibiótico para el tratamiento de heridas o afecciones originadas por gérmenes gram (+) para los cuales el propóleos es más efectivo (Valdés y col., 1985; Rojas y col., 1987).

Teniendo en cuenta el análisis y comportamiento de todos los parámetros físico-químicos y microbiológicos en el tiempo a diferentes temperaturas, se puede inferir que el extracto hidroalcohólico de propóleos rojo al 5 % puede catalogarse como un producto estable, aunque consideramos que un análisis más profundo sería posible si se conocieran él o los principios activos responsables de la actividad cicatrizante del propóleos, puesto que esto facilitaría la aplicación de una técnica analítica específica para el estudio de este producto.

En la Tabla 2 se observan los resultados del CG-EM donde se relacionan la presencia de algunos de los componentes mayoritarios identificados satisfactoriamente.

Tabla 2. Constituyentes mayoritarios identificados en el EEP 5 % mediante CG-EM

No.	Componente	t _R (min)
1	1,2,3-propanotriol (glicerol)	14.651
2	2,3,4-trihidroxibutanal	22.702
3	d-fructosa	31.703

4	ácido hexadecanoico	36.670
5	1,3,5-trihidroxibenceno	48.471
6	ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxipropanoico	49.638
7	4-hidroxi-fenilacetato de etilo	52.671
8	3,4-dihidroxicinamato de metilo	53.121

La identificación de los constituyentes es de gran importancia ya que los mismos son mayoritarios en el producto y reproduce el resultado obtenido por otros investigadores acerca de la presencia de los mismos o derivados relacionados en el propóleo de otras latitudes (Greenaway y col., 1990; Bankova y col.1994; Marcucci, 1995).

Resulta interesante la identificación de 3,4-dihidroxicinamato de metilo, ya que se ha demostrado que diferentes ésteres del ácido cinámico entre otros componentes constituyen los responsables de la actividad biológica del propóleo. Por todo ello, este constituyente podría ser empleado como estándar para el seguimiento de la estabilidad con el empleo de una técnica específica (Bankova, 1988).

En el estudio de cicatrización los resultados obtenidos para la determinación morfométrica fueron procesados estadísticamente mediante un Análisis de Varianza de una vía de clasificación ($p < 0.05$), con la posterior aplicación de la prueba de Student-Newman Keuls (Hayes, 1984) y se encontró para el primer corte experimental (a los 5 días de tratamiento) que las medias de los cuatros tratamientos en cada uno de los parámetros analizados difieren significativamente no siendo así para el segundo corte realizado a los 7 días de tratamiento donde solo se observaron diferencias significativas para todos los grupos en el parámetro de crecimiento lineal. Los otros dos parámetros tuvieron un comportamiento similar entre grupos excepto los tratados con EEP 5 % y Sulfadiacina de plata donde si hubo diferencias significativas, esto está dado a que a partir de los 7 días la cicatrización es normal en todos los animales quedando finalmente demostrados que las heridas tratadas con EEP 5 % presentan los mejores resultados en cada uno de los parámetros evaluados, así como que estos difieren significativamente del resto de los grupos de tratamiento a los 5 días de evaluación, lo cual evidencia que el EEP 5 % tiene efecto acelerador de la cicatrización.

Para la evaluación del índice de irritabilidad dérmica se empleó el sistema de evaluación, según lo reportado por Draize y col (1944) donde se encontró que los parámetros analizados fueron la formación de eritemas, edemas y escaras en la piel y en ninguna de las lecturas efectuadas se detectaron alteraciones, por lo que el cálculo del índice de irritación primario fue de 0.0, lo cual cataloga la sustancia como no irritante para la piel.

Los resultados de la evaluación del potencial irritante oftálmico del EEP 5 % según la tabla de Draize se da a cada una de las estructuras a diferentes horas y la sumatoria de dicha puntuación de acuerdo a las afectaciones observadas y el valor obtenido fue de 44.41 por lo que el EEP 5 % fue

clasificado como irritante severo según clasificación establecida en la literatura (García y col.,1988). Teniendo en cuenta estos resultados; es aconsejable que en el caso de emplearse el EEP 5 % como cicatrizante en heridas cercanas a los ojos debe mantenerse extremo cuidado e incluir la advertencia de la irritabilidad oftálmico demostrada.

Conclusiones

El EEP 5 %:

- Cumple con los parámetros de calidad establecidos por la NRAG/1129/1994.
- Presentó las siguientes características: pH de 5.3, densidad relativa de 0.8987g/cm³, índice de refracción de 1.371 y cumple además con las características organolépticas y el análisis capilar
- Indica ser un producto estable durante el período analizado según los resultados obtenidos del estudio de estabilidad por el Método Cinético Isotérmico y Acelerado mediante el análisis estadístico de los resultados de los parámetros físico-químicos, calidad microbiana y actividad antibacteriana.
- Se establece la presencia de algunos de los constituyentes mayoritarios que caracterizan el EEP 5 % como son: glicerol; 2,3,4-trihidroxiбутanal; D-fructosa; ácido hexadecanoico; 1,3,5-trihidroxiбenceno; ácido 3-(3-hidroxiбencil)-3-hidroxiпропаноico; 4-hidroxi-бencilacetato de etilo y 3,4-dihidroxicinamato de metilo.
- Tiene efecto acelerador de la cicatrización.
- Se cataloga como un producto no irritante para la piel
- Se considera como un producto irritante severo oftálmico.

Bibliografía

- 1 Avila, Y; Cabrera, B. “Tintura de propóleos 5 %: Posible opción para tratamientos de infecciones vaginales”. Tesis de Diploma. IFAL. Ciudad de La Habana, 1997.
- 2 Bankova, V.; Christov, R.; Popov, S.; Pureb O.; Bocari G. “Volátiles constituents of propolis”. *Z. Naturforsch.* 49c: 6, 1994.
- 3 Bankova, V.; Popov, S.; Marekov, N. L. “On the chemical composition of some propolis fractions with antiviral action. *Acta Microbiol Bulg.* 23: 52-57, 1988.
- 4 Bracho, J.C.; Tabío, T.C.; Valdés, G.G.; Giral, R.T.; Rodríguez, A.C.; Domínguez, A.A.; Mendoza, C.L. “Expediente de producto apícola terminado: Extracto Hidroalcohólico de Propóleo (5 % de sólidos totales)”. Instituto Nacional de Higiene y Nutrición (INHA). Ciudad Habana, 1998.
- 5 Casanova, V. E. “Estudio químico, microbiológico y toxicológico de una del propóleos venezolano”. Trabajo de Diploma. IFAL. t-I, 1995.
- 6 Cuesta O., Cuéllar C. A., Vazquez Cano A., Ferraz I. B., Rodríguez G. J., Agüero A. J. y Alemán A. Estudio químico y microbiológico de dos muestras de propóleos pardo de origen cubano. Sesión Plenaria, IV Simposio de Propóleos y III de Apiterapia. Ciudad Habana, 1996a.



- 7 Cuesta O., Cuéllar C. A., Vazquez Cano A., Ferraz I. B., Rodríguez G. J., Agüero A. J. y Alemán A. Estudio químico y microbiológico de dos muestras de propóleos rojo de origen cubano. IV Simposio de Propóleos y III de Apiterapia. Ciudad Habana, 1996b.
- 8 Cuesta. O. Estudios sobre propóleos. Tesis en opción al grado de M.Sc. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), Universidad de la Habana. Ciudad de la Habana, 1996c.
- 9 Chabra, Sc. y col. "Phytochemical screening of tanzanian medicinal plants I". J. of Ethnopharmacol. 11: 157-79, 1989.
- 10 Draize, J. H. y col. J. Pharmacol. Expt. Ther. 82: 337, 1944.
- 11 Durand, E.; Miranda, M.; Cuéllar, A. C. Manual de Práctica de Laboratorio de Farmacognosia. Edit. Pueblo y Educ.: 157-164, 1986.
- 12 García, G. y col. Rev. Cub. Farm. 24 (5), 1988.
- 13 García, G; Piloto, A. "Protocolo de ensayo: Determinación del potencial irritante dérmico del extracto de propóleos al 5 %". CIEB-IFAL, 1998.
- 14 García, G; Piloto, A.. "Protocolo de ensayo: Determinación de la actividad cicatrizante del extracto de propóleos al 5 %". CIEB-IFAL, 1998.
- 15 García, G; Piloto, A.. "Protocolo de ensayo: Determinación del potencial irritante oftálmico del extracto de propóleos al 5 %". CIEB-IFAL, 1998.
- 16 Greenaway, W.; Scaysbrook, T.; Whatley, F.R. "The composition and plant origins of propolis: a report of work". Bee World 71: 107, 1990.
- 17 Greenaway, W; Saysbrook, T.; Whatley, F.R. "The analysis of bud exudate of *Populus x euramericana*, and of propolis, by gas chromatography-mass spectrometry". Proc. R. Soc. Lond. B 232: 249-72, 1987.
- 18 Hayes, W. "Principles and methods for toxicology statistic". 1984
- 19 Marcucci, M.C. "Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity". Apidologie 26: 83-99, 1995.
- 20 Monferrer, R. "Estudio químico del propóleos de origen ruso. Fracción A₁. Tesis de Diploma: 2, 11-12, 26-27, 1995.
- 21 NC 26-121-1-93. "Medicamentos. Características metodológicas".
- 22 NC 26-121-93. "Medicamentos. Medicamentos no estériles. Determinaciones microbiológicas".
- 23 NC 83-02. "Rones. Métodos de ensayo. Determinación del grado alcohólico".
- 24 NRAG 1129-94. Apicultura. "Extractos de propóleos. Especificaciones".
- 25 NRAG 932-88. Apicultura. "Propóleo. Métodos de ensayo"
- 26 NRSP 312-91. "Medicamentos de origen vegetal. Métodos de ensayos".
- 27 Rojas, N. "Actividad antimicrobiana de propóleos cubanos. Tesis de doctorado. Facultad de Biología. Universidad de La Habana, 1997.
- 28 Rojas, N.; Valdés, G.; Morales, C. "Actividad antibacteriana de extractos acuosos y alcohólicos de propóleos". Rev. Biol. 1 (3): 41-50, 1997.
- 29 Stark, J. A. "Ensayo de estandarización de la actividad antibacteriana del propóleos". En XXXIII Congreso Int. de Apicultura. China. Ed. Apimondia: 480-483, 1993.
- 30 Vakhonina, T.V.; Dushkova, E.S.; Bodrova, R.N. "SSSR. Opisanie izobreteniya Kavtorskomu Svidetelstvu 474 325", 1975.



-
- 31 Valdés, G.; Rojas, N.; Morales, C. “Estudio comparativo de la acción antimicrobiana del propóleo con antibióticos y desinfectantes convencionales”. Cienc. Tec. Agric. Apic. 1: 23-36, 1985.
- 32 Valdés, G.; Ruiz, M.; Martín, M. “Caracterización antibacteriana del propóleo de los municipios de Madruga y Mariel de la Provincia La Habana”. Cienc. Tec. Agric. Apic. 5: 25-34, 1989.