Review Article

พรอพอลิส: ของขวัญจากธรรมชาติ

Propolis: A Gift from Nature

ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย*

สาขาวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

* Corresponding author: sirivan@swu.ac.th

บทคัดย่อ

พรอพอลิสเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากผึ้งโดยผึ้งเก็บยางเหนียวมาจากพืชแล้วนำมาสะสมไว้ที่รัง มีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นสมุนไพรสำหรับรักษาโรคต่างๆ มาตั้งแต่อดีตจนกระทั่งปัจจุบัน จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสพบว่าพรอพอลิสที่ได้จากบริเวณที่มีภูมิประเทศแตกต่างกันมักจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันด้วยซึ่งจะส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของพรอพอลิสแตกต่างกันไป ปัจจุบันประชาชนรู้จักพรอพอลิสมากขึ้นเนื่องจากมีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง สบู่ และยาสีฟัน เป็นต้น ทางด้านงานวิจัยพบว่าในทุกๆ ปีมีวารสารนานาชาติมากมายที่ตีพิมพ์เกี่ยวกับพรอพอลิส เนื่องจากพรอพอลิสมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายและน่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านเนื้องอก ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านจุลชีพ เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านเนื้องอกของพรอพอลิสนั้นอยู่ในความสนใจของนักวิจัยจำนวนมากจนกระทั่งปัจจุบันมีการศึกษาถึงระดับกลไกในการต้านเนื้องอกของสารสำคัญจากพรอพอลิส ดังนั้น พรอพอลิสเป็นสมุนไพรที่ยังคงอยู่ในความสนใจ และมีงานวิจัยออกมาอย่างต่อเนื่อง นับว่าพรอพอลิสเป็นความมหัศจรรย์ที่ได้จากธรรมชาติโดยแท้จริง

คำสำคัญ: พรอพอลิส, propolis, ผึ้ง, ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา, องค์ประกอบทางเคมี

Thai Pharm Health Sci J 2008;3(2):286-295[§]

บทนำ

พรอพอลิส (propolis) หรือกาวผึ้งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีการนำไปใช้มาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ประเทศในแถบยุโรปและแอฟริกามีการนำพรอพอลิสมาใช้ตั้งแต่อดีต โดยใช้สมานแผล ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวชาวกรีก โรมัน และอียิปต์รู้จักเป็นเวลานานแล้ว นอกจากนี้ ยังมีบันทึกเกี่ยวกับการนำพรอพอลิสไปใช้รักษาการติดเชื้อในช่องปากและลำคอด้วย[1]

ปัจจุบันมีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นสมุนไพร และในบางประเทศทำเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีการกล่าวอ้างว่าสามารถใช้สมานแผล และรักษาโรคผิวหนังต่าง ๆ ได้แก่ สิว (acne) เริม (herpes simplex) และโรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์เป็นยาชา (anaesthetic) และใช้รักษาโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) ได้ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เครื่องอุปโภค บริโภค ก็นำพรอพอลิสมาเป็นส่วนประกอบด้วย เช่น ผลิตภัณฑ์รักษาสิว สบู่ ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก หรือยาสระผม โดยมุ่งเน้นคุณสมบัติต้านจุลชีพของพรอพอลิสเป็นสำคัญ[2-3]

พรอพอลิสเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ได้จากผึ้ง ที่ไม่ใช่นมผึ้ง (royal jelly) เกสรผึ้ง (bee pollen) น้ำผึ้ง (honey) หรือไขผึ้ง (beewax) แต่อาจมีส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ ลักษณะโดยทั่วไปของพรอพอลิสเป็นยางเหนียว ซึ่งผึ้งเก็บมาจากส่วนต่าง ๆ ของพืชจากแหล่งที่แตกต่างกัน แล้วเก็บสะสมไว้ที่รังผึ้ง คำว่า "propolis" มาจากภาษากรีก โดย pro- หมายถึง ป้องกัน ส่วน -polis หมายถึง เมือง รวมแล้วหมายถึง ป้องกันเมือง ซึ่งคำว่าเมืองในที่นี้ ก็คือรังผึ้งนั่นเอง หน้าที่ของพรอพอลิส คือ ใช้อุดรูรั่วที่รัง และป้องกันไม่ให้ศัตรูหรือเชื้อโรคเข้ามารุกรานในรังได้ ผึ้งเก็บสะสมสารหลั่งจากส่วนที่เป็นแผล ส่วนที่แตกออกของเปลือกไม้ หรือส่วนใบอ่อน โดยสารดังกล่าวอาจเป็นเรซิน กัม หรือสารอื่น ๆ หลังจากที่ผึ้งนำส่วนที่ได้จากพืชแล้วนำมาผสมกับเอนไซม์ในน้ำลายผึ้งโดยอาจจะมีไขผึ้งและส่วนประกอบอื่น ๆ ปนเข้ามาเล็กน้อย

[§] 13th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science

ดังนั้นพรอพอลิสจึงประกอบไปด้วย 3 ส่วนใหญ่ ๆ คือ เรซินของพืช สารหลั่งจากผึ้ง และส่วนประกอบอื่น ๆ ระหว่างกระบวนการผลิตพรอพอลิส[1-3]

ผึ้งที่เป็นต้นกำเนิดของพรอพอลิสที่รู้จักกันดีจะเป็นผึ้งฝรั่ง (Western honeybee) ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Apis mellifera* จากการศึกษาพบว่าผึ้งในอันดับ *Apis* ที่เป็นสายพันธุ์ทางเอเชียจะไม่เก็บสะสมพรอพอลิส ส่วนพืชที่เป็นต้นกำเนิดของพรอพอลิสส่วนใหญ่เป็นพวก poplar ซึ่งเป็นพืชในอันดับ *Populus* วงศ์ Salicaceae ได้แก่ *P. nigra, P. tremula, P. italica, P. suaveolens* และ *P. fremontii* เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีพืชชนิดอื่นอีก ได้แก่ *Plumeria spp.*, *Clusia spp.*, *Prunus spp.* และ *Acacia spp.* เป็นต้น[1-4]

ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสโดยทั่วไปจะประกอบไปด้วยเรซินประมาณร้อยละ 50 ไขร้อยละ 10 น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 5 เกสรดอกไม้ร้อยละ 5 และส่วนประกอบอื่น ๆ รวมทั้งสิ่งเจือปนที่เป็นขยะอีกเล็กน้อย[5,6] โดยที่ขยะและไขจะถูกกำจัดไประหว่างกระบวนการเตรียมสารสกัดพรอพอลิส

วิธีการเตรียมสารสกัดพรอพอลิส ซึ่งเป็นรูปแบบที่นิยมใช้ในตำรับยาพื้นบ้าน มีขั้นตอนง่าย ๆ คือ ขั้นแรกกำจัดไขภายนอกออกด้วยการนำไปแช่น้ำเย็น จากนั้นนำมาผึ่งให้แห้ง หากมีไขภายนอกไม่มากนักก็ข้ามขั้นตอนแรกไปได้ ขั้นตอนที่สอง นำพรอพอลิสไปแช่ใน 70% เอทานอล ขั้นตอนสุดท้ายนำสารสกัดที่ได้ไปกรองเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนชิ้นเล็ก ๆ ออกไปให้หมด สารสกัดที่ได้อาจเรียกว่าบาลซัม (balsam)[7] นอกจาก 70% เอทานอลแล้ว อาจจะใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกายแทนเอทานอลก็ได้ พรอพอลิสรูปแบบที่ไม่ได้เปลี่ยนแปลงอะไรเลย (raw propolis) ก็เป็นอีกรูปแบบที่บริโภคได้สะดวก โดยนำพรอพอลิสที่ได้ไปทำให้แข็งตัวก่อน แล้วค่อยบดเป็นผงจากนั้นนำไปบรรจุแคปซูล หรือผสมกับอาหารและเครื่องดื่ม เพื่อให้บริโภคง่ายขึ้น[2]

ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสจะแตกต่างกันตามภูมิประเทศที่เป็นแหล่งกำเนิด เนื่องจากชนิดของพืชที่ผึ้งเก็บยางเหนียวมาสร้างพรอพอลิสแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิประเทศทำให้สารเคมีที่อยู่ในพรอพอลิสแตกต่างกันไปด้วย ฤดูที่ผึ้งเก็บพรอพอลิสก็มีส่วนทำให้องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของพรอพอลิสเปลี่ยนแปลงได้[8] ซึ่งลักษณะภายนอกที่สังเกตเห็นได้ชัดเจนคือสี โดยปกติแล้วสีของพรอพอลิสมีความแตกต่างกันไปตั้งแต่สีเหลืองออกเขียวไปจนถึงสีน้ำตาลดำ โดยแตกต่างกันไปตามแหล่งกำเนิดและองค์ประกอบทางเคมี เช่น พรอพอลิสที่ได้จากประเทศไทยมีลักษณะสีน้ำตาลดำ ส่วนพรอพอลิสที่ได้จากประเทศบราซิลมีหลายสีตั้งแต่สีน้ำตาล สีเขียว จนถึงสีแดง เป็นต้น ส่วนกลิ่นก็เป็นกลิ่นเฉพาะตัว เมื่อนำพรอพอลิสไปเก็บไว้ในที่เย็นจะแข็งและเปราะแตกง่าย หากเก็บในที่ร้อนจะนุ่มและหนืด[1]

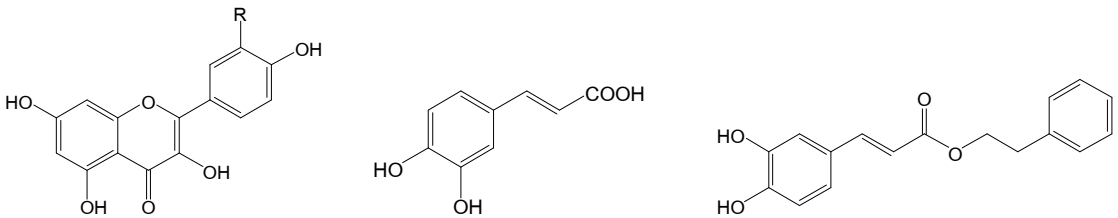
สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสนั้น ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ได้แก่ ฟลาโวนส์ (flavones) และฟลาวาโนนส์ (flavanones) เป็นต้น ซึ่งพบได้มากในพืช เนื่องจากพรอพอลิสได้จากพืชเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะพบสารที่พบในพืชแล้วมีอยู่ในพรอพอลิสด้วย นอกจากนี้ ยังพบอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ ด้วย บางชนิดพบได้ในพืชแต่บางชนิดพบเฉพาะในพรอพอลิส ซึ่งเป็นไปได้เพราะสารต่าง ๆ ที่ผึ้งเก็บมาจากพืชอาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีได้โดยอาศัยเอนไซม์จากน้ำลายของผึ้งระหว่างขั้นตอนการเก็บเรซินจากพืชนั่นเอง นอกจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์แล้ว ยังพบสารกลุ่มอื่น เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และเทอร์ปีน (terpenes) เป็นต้น[2,4]

การศึกษาพบว่าพรอพอลิสในภูมิประเทศที่แตกต่างกันมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันด้วย คือพรอพอลิสจากประเทศในเขตอบอุ่น (temperate zone) ได้แก่ประเทศในแถบเอเชีย ยุโรป แอฟริกาเหนือ และอเมริกาเหนือ เป็นต้น จะมีองค์ประกอบหลักเป็นสารประกอบฟีนอลิก และอนุพันธ์ เนื่องจากผึ้งจะเก็บยางเหนียวจากพืชพวก poplar ซึ่งจะมีองค์ประกอบหลักเป็นสารดังกล่าว ส่วนพรอพอลิสจากประเทศในเขตร้อน (tropical zone) ได้แก่ ประเทศในแถบอเมริกาใต้และแอฟริกาใต้ เป็นต้น จะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างจากพรอพอลิสจากประเทศในเขตอบอุ่น เนื่องจากผึ้งไม่สามารถไปเก็บยางเหนียวจากต้น poplar ได้ เพราะพืชดังกล่าวเป็นพืชในเขตอบอุ่น พรอพอลิสจากประเทศบราซิลเป็นพรอพอลิสที่มีต้นกำเนิดส่วนใหญ่มาจากเรซินจากใบของ *Baccharis dracunculifolia* วงศ์ Compositae ซึ่งไม่ใช่พืชพวก poplar ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีจึงไม่ใช่ฟลาโวนอยด์อย่างที่พบในพรอพอลิสที่ได้จากพืชพวก poplar แต่เป็นอนุพันธ์ของสารที่มีหมู่พรีนิลมาเกาะ (prenylated derivatives) ได้แก่ prenylated *p*-coumaric acid และ diterpene เป็นต้น อย่างไรก็ตาม สำหรับพรอพอลิสของบราซิล นอกจากจะมีต้นกำเนิดมาจาก *B. dracunculifolia* แล้วยังมีต้นกำเนิดจากพืชชนิดอื่นด้วย ทำให้องค์ประกอบทางเคมีค่อนข้างหลากหลาย[2,9-13] สำหรับพรอพอลิสจากประเทศคิวบาก็เป็นอีกตัวอย่างหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นพรอพอลิสที่ไม่ได้มาจากพืชพวก

poplar หรือ *B. dracunculifolia* แต่เป็นเรซินจากดอกของ *Clusia rosea* วงศ์ Guttiferae ทำให้สารเคมีจากพรอพอลิสของคิวบาแตกต่างจากที่กล่าวมา และสารที่สำคัญคือ สารพวก prenylated benzophenones[14]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าพรอพอลิสมีองค์ประกอบของสารเคมีที่แตกต่างกันหลายชนิด ดังนั้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพรอพอลิสที่มีรายงานจึงค่อนข้างหลากหลาย ตัวอย่างเช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (antitumor activity) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidative activity) ฤทธิ์ในการปกป้องตับ (hepatoprotective effect) และฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) เป็นต้น[15] หากสารใดเป็นองค์ประกอบหลักในพรอพอลิส ฤทธิ์หลักทางเภสัชวิทยาก็จะมาจากสารชนิดนั้น สำหรับพรอพอลิสส่วนใหญ่มีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารหลัก ดังนั้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาส่วนใหญ่ของพรอพอลิสก็น่าจะเป็นฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสารกลุ่มฟีนอลิกเป็นหลัก มีการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพรอพอลิสที่เก็บมาจากแหล่งต่าง ๆ เช่น งานวิจัยของKumazawa และคณะ ในปี ค.ศ. 2004[16] ที่รวบรวมพรอพอลิสจากประเทศในภูมิประเทศที่แตกต่างกันได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรีย บราซิล บัลแกเรีย ชิลี จีน ฮังการี นิวซีแลนด์ แอฟริกาใต้ ไทย ยูเครน อุรุกวัย สหรัฐอเมริกา และอุซเบกิซสถาน จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสแต่ละแหล่งด้วยเครื่อง HPLC ที่ใช้ photo-diode array และ mass spectrometry เป็น detector ควบคู่ไปกับการตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างพรอพอลิสทั้ง 16 ชนิด พบว่าพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแรงที่สุด คือ พรอพอลิสที่มีองค์ประกอบของสารต้านออกซิเดชัน เช่น quercetin (**1**), kaempferol (**2**), caffeic acid (**3**) และ caffeic acid phenethyl ester หรือเรียกย่อว่า CAPE (**4**) เป็นต้น (รูปที่ 1) จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพรอพอลิสย่อมเป็นไปตามองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสชนิดนั้น ๆ[16] ตัวอย่างของฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพรอพอลิสที่จะอธิบายรายละเอียดในบทความปริทรรศน์นี้ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านเนื้องอก ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ



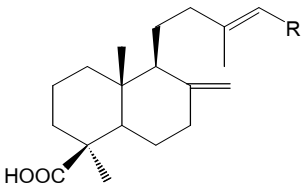
R = OH; (**1**)
R = H; (**2**)
(**3**)
(**4**)

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของตัวอย่างสารจากพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

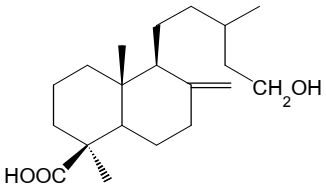
1) ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial activity)

เป็นฤทธิ์ที่จะต้องนึกถึงเมื่อกล่าวถึงพรอพอลิสเนื่องจากคุณสมบัติสำคัญของพรอพอลิสที่สะสมในรังผึ้ง คือการป้องกันการรุกรานของแมลงหรือเชื้อจุลชีพ ดังนั้นพรอพอลิสจึงน่าจะมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้ จากการศึกษาพบว่ามีรายงานจำนวนมากที่กล่าวถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของพรอพอลิสจากแหล่งต่าง ๆ และพรอพอลิสก็มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย รา โปรโตซัว และไวรัสได้ ตัวอย่างรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของพรอพอลิสดังแสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของพรอพอลิสค่อนข้างหลากหลาย ซึ่งตัวอย่างสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ ได้แก่ cupressic acid (**5**), acetylcupressic acid (**6**), imbricatoloic acid (**7**), communic acid (**8**) และ syringaldehyde (**9**) เป็นต้น ซึ่งสาร **5** - **8** เป็นสารในกลุ่ม labdane-type diterpenes ส่วนสาร **9** เป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารทั้งหมดแยกได้จากพรอพอลิสของประเทศบราซิล มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้[17,18] ส่วนสารสำคัญที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหาร ได้แก่ *p*-coumaric acid (**10**), 3-prenyl-4-

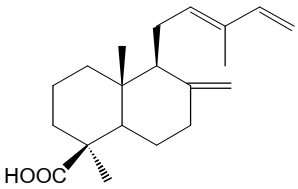
dihydrocinnamolyoxycinnamic acid (**11**), และ artepillin C (**12**) เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่แยกได้จากพรอพอลิสของประเทศบราซิล[19] (รูปที่ 2)



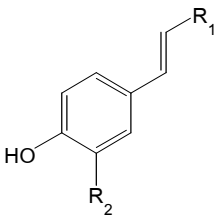
R = CH_2OH; (**5**)
R = CH_2OAc; (**6**)



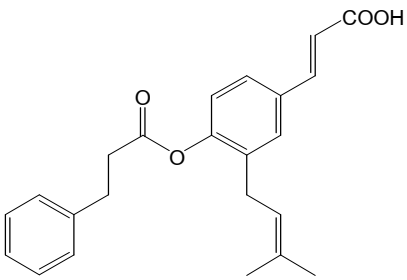
(**7**)



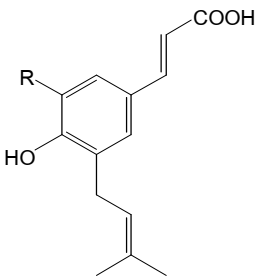
(**8**)



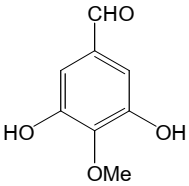
R_1 = COH, R_2 = OCH_3; (**14**)
R_1 = COOH, R_2 = H; (**10**)



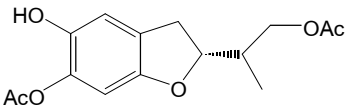
(**11**)



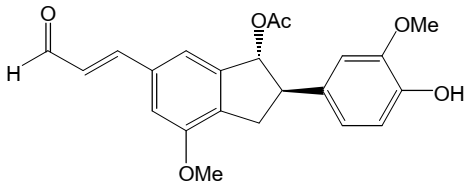
R = $CH_2CHC(CH_3)_2$; (**12**)
R = H; (**17**)



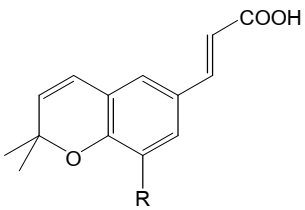
(**9**)



(**13**)



(**15**)



R = $CH_2CHC(CH_3)_2$; (**16**)
R = H; (**18**)

รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของตัวอย่างสารจากพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ

ตารางที่ 1 ตัวอย่างรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของพรอพอลิส

แหล่งกำเนิดพรอพอลิส	กลุ่มสารที่ออกฤทธิ์	เชื้อจุลชีพที่ยับยั้งได้	คณะผู้วิจัย
บราซิล	Phenolic compounds	*Staphylococcus aureus*	Bankova et al. (1995)
	Labdane-type diterpenes	*Staphylococcus aureus*	Bankova et al. (1996)
	Phenolic compounds	*Helicobacter pylori*	Hashimoto et al. (1998)
	Phenolic compounds	*Trypanosoma cruzi*	Macucci et al. (2001)
ชิลี	Phenolic compounds	*Mycobacterium spp.*	Valcic et al. (1999)
บัลแกเรีย	Ester of substituted cinnamic acid	A/H1N1, A/H3N2 (influenza virus)	Serkedjieva et al. (1992)

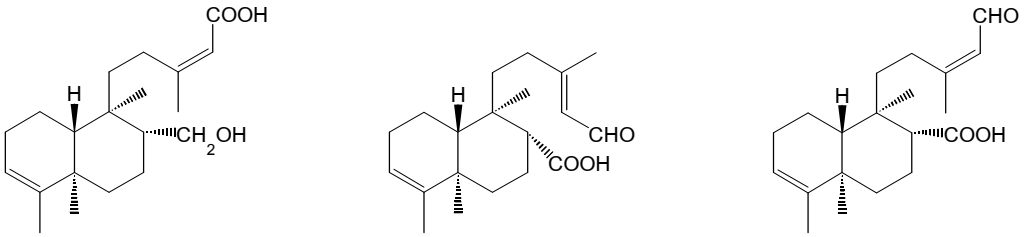
ส่วนสารที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium spp.* ได้เป็นสารกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ acetylviscidone (**13**), coniferyl aldehyde (**14**) และ dihydrobenzofuran lignan aldehyde (**15**) เป็นต้น โดยแยกได้จากพรอพอลิสของประเทศชิลี[20] สารจากพรอพอลิสของประเทศบราซิลที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Trypanosoma cruzi* ซึ่งเป็นโปรโตซัวในกลุ่มแฟลกเจลเลตที่เป็นปรสิตในเนื้อเยื่อและระบบหมุนเวียนโลหิต ทำให้เกิดโรคอเมริกันทริพพาโนโซมิเอสิส (American trypanosomiasis หรือ Chagas disease) โดยมีแมลงเป็นพาหะ เป็นสารกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ 3-(2,2-dimethyl-8-prenylbenzopyran-6-yl) propenoic acid (**16**), 3-prenyl-4-hydroxycinnamic acid (**17**), artepillin C (**12**) และ 2,2-dimethyl-6-carboxyethenyl-*2H*-1-benzopyran (**18**) เป็นต้น[21] (รูปที่ 2)

ในปี ค.ศ. 1997 Harish และคณะพบว่าสารสกัดจากพรอพอลิสสามารถยับยั้งการเกิด replication ของ HIV-1 ได้[22] ต่อมาในปี ค.ศ. 1998 ยังมีรายงานเพิ่มเติมของ Artico และคณะ เกี่ยวกับ CAPE (**4**) ที่สกัดได้จากพรอพอลิสว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 integrase[23] นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 2005 Gekker และคณะ พบว่า พรอพอลิสจากประเทศสหรัฐอเมริกา อียิปต์ และจีน มีฤทธิ์ค่อนข้างแรงไม่แตกต่างกันในการยับยั้งเชื้อ HIV-1 สายพันธุ์ X4 และ R5 สำหรับการรักษาโรคเอดส์ (AIDS) นั้น ส่วนมากจะใช้ยาสูตรผสม ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทดลองใช้สารสกัดพรอพอลิสร่วมกับยาต้านไวรัส AZT และ indinavir แบบ *in vitro* โดยทำการทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยง $CD4^+$ lymphocyte และ microglial cell พบว่าประสิทธิภาพในการต้านไวรัสของพรอพอลิสเมื่อให้ร่วมกับยา AZT เท่ากับผลบวกของยา AZT รวมกับพรอพอลิสหรือที่เรียกว่า additive effect แต่เมื่อให้พรอพอลิสร่วมกับยา indinavir พบว่าไม่มีผลเพิ่มฤทธิ์ของยา indinavir[24] นอกจากฤทธิ์ของพรอพอลิสในการยับยั้งเชื้อไวรัส HIV ที่เป็นสาเหตุของโรคเอดส์แล้ว พรอพอลิสยังมีฤทธิ์ยับยั้งไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคเริม (herpes simplex virus)[25] ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (influenza virus)[26] และไวรัสไข้หวัดนก (avian influenza virus)[27] ในการทดลองแบบ *in vitro* ได้ด้วย

2) ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (Antitumor activity)

ในที่นี้จะกล่าวรวมถึงคุณสมบัติในด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) ด้วย นักวิจัยสนใจศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อเซลล์ของพรอพอลิส เนื่องจากมีการค้นพบสารสำคัญจากพรอพอลิสที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ค่อนข้างมากนั่นก็คือ CAPE (**4**) สารดังกล่าวมีสูตรโครงสร้างไม่ซับซ้อนและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ดี ดังรายงานวิจัยต่อไปนี้ ในปี ค.ศ. 1988 Grunberger และคณะ ได้สกัดแยก CAPE (**4**) จากพรอพอลิสของประเทศอิสราเอล พบว่าสาร CAPE ที่ได้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด[28] หลังจากงานวิจัยนี้ ก็มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของ CAPE ต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ รวมทั้งศึกษากลไกในการออกฤทธิ์ด้วย ดังเช่นรายงานในปี ค.ศ. 1996 ของ Nataranja และคณะ ที่ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ CAPE (**4**) ต่อ nuclear factor ที่ชื่อ nuclear factor kappa beta (NF-ĸB) พบว่า CAPE (**4**) จะกระตุ้นการทำงานของ NF-ĸB ได้โดยการยับยั้ง tumor necrosis factor (TNF) อย่างสมบูรณ์ ซึ่งจะยับยั้งแบบ dose dependent และ time dependent[29] ต่อมาในปี ค.ศ. 2000 Weyant และคณะ ค้นพบว่า CAPE (**4**) มีผลต่อการเกิด expression ของเอนไซม์ focal adhesion kinase (FAK) โดยมีผลลดการเกิดขบวนการ tyrosine phosphoryl-ation ของเซลล์มะเร็งลำไส้ของมนุษย์[30] เป็นที่ทราบกันดีว่า FAK เป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อการเคลื่อนไหวและอยู่รอดของเซลล์ การที่เอนไซม์ชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งทำงานได้ดีมีผลทำให้เซลล์มะเร็งมีขนาดใหญ่ขึ้น และแบ่งตัวได้เร็วขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการดีที่ CAPE (**4**) ไปลดการทำงานของเอนไซม์นี้ นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมในปีเดียวกันโดย Na และคณะ พบว่า CAPE (**4**) สามารถต้านมะเร็งได้โดยการทำให้ gap junctional intercellular communication (GJIC) เป็นปกติ[31] นอกจาก

CAPE (**4**) แล้ว ยังมีรายงานของสารชนิดอื่นที่แยกได้จากพรอพอลิสและมีคุณสมบัติที่เป็นพิษต่อเซลล์ได้แก่ สาร PMS-1 (**19**)[32], 13Z-symphyoreticulic acid (**20**), 13E-symphyoreticulic acid (**21**)[33] และ artepillin C (**12**)[34] เป็นต้น (รูปที่ 3)

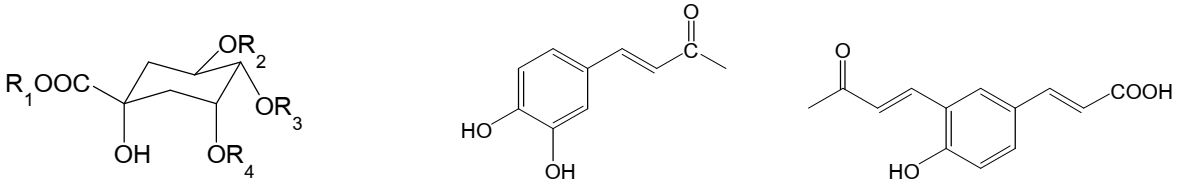


(**19**) (**20**) (**21**)

รูปที่ 3 สูตรโครงสร้างของตัวอย่างสารจากพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านเนื้องอก

3) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidative activity)

จากองค์ประกอบทางเคมีจะเห็นว่าพรอพอลิสมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิก ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าสารกลุ่มดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แรง ดังนั้นพรอพอลิสย่อมมีคุณสมบัติดังกล่าวด้วยเช่นกัน จากการศึกษาโดย Mirzoeva และคณะ ในปี ค.ศ. 1995 พบว่า CAPE (**4**) นอกจากจะมีฤทธิ์ต้านเนื้องอกแล้วยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ด้วย โดยสามารถยับยั้งการเกิด reactive oxygen species (ROS) ได้อย่างสมบูรณ์ด้วยความเข้มข้นเท่ากับ 10 ไมโครโมลาร์ จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน่าจะมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านเนื้องอก เนื่องจาก ROS มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดมะเร็งได้ โดยทำหน้าที่เป็นตัวนำรหัสลำดับที่สอง (secondary messenger) สำหรับวิถี signal transduction ในการเกิด proliferation ของเซลล์มะเร็ง ซึ่งสารต้านออกซิเดชันจะไปลดปริมาณ ROS ลง นอกจากนี้ ยังมีรายงานถึงสารชนิดอื่น ๆ ในพรอพอลิส ได้แก่ ในปี ค.ศ. 1995 ถึง 1996 Matsushige และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากพรอพอลิสของประเทศบราซิลโดยใช้ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical และ superoxide anion radical ในปฏิกิริยา xanthine / xanthine oxidase (XOD) และ α-nicotinamide adenine dinucleotide (NADPH) / phenazyne (PMS) โดยเทียบกันระหว่างสารสกัดเมทานอลและน้ำ พบว่าสารสกัดน้ำแสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดเมทานอล จากนั้นจึงนำสารสกัดน้ำไปแยกสารสำคัญได้สารที่เป็นอนุพันธ์ของ dicaffeoylquinic acid (**22-25**) ซึ่งสารเหล่านี้ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้แรงกว่าสารต้านออกซิเดชัน เช่น วิตามินซี วิตามินอี และ caffeic acid เป็นต้น เมื่อทดสอบกับ DPPH และ superoxide anion radical จาก xanthine / XOD นอกจากนี้ ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง nitrite ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำเซลล์ murine macrophages (J774.1) ด้วย lipopolysaccharide (LPS)[35-37] ต่อมาในปี ค.ศ. 1997 ได้มีรายงานการแยกสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แรงกว่าวิตามินซี และวิตามินอี จากสารสกัดชั้นน้ำของพรอพอลิสของประเทศบราซิล โดย Basnet และคณะ สารดังกล่าวมีชื่อว่า propol (**26**) เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก โดย propol สามารถยับยั้ง Cu^{2+} ที่กระตุ้นให้เกิด low density lipoprotein (LDL) oxidation ได้ นอกจากการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพรอพอลิสแบบ *in vitro*[38] แล้วยังมีรายงานการทดสอบแบบ *in vivo* ด้วย โดย Sun และคณะ ในปี ค.ศ. 2000 ได้ทดลองในหนูขาวใหญ่ (rat) พบว่าความเข้มข้นของวิตามินซีในเนื้อเยื่อ เช่น ไต กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ ของหนูขาวใหญ่ที่ทำให้ขาดวิตามินอีแล้วให้พรอพอลิสมีค่ามากกว่าหนูขาวใหญ่ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้พรอพอลิส จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมีในพรอพอลิสสามารถดูดซึมได้ในกระแสเลือด แสดงฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) และสามารถรักษาระดับของวิตามินซีในเนื้อเยื่อได้[39] (รูปที่ 4)



$R_1 = CH_3$, $R_2 = R_3$ = Caffeoyl, R_4 = H; (**22**) **Caffeoyl** (**26**)

R_1 = H, R_2 = R3 = Caffeoyl, R_4 = H; (**23**)

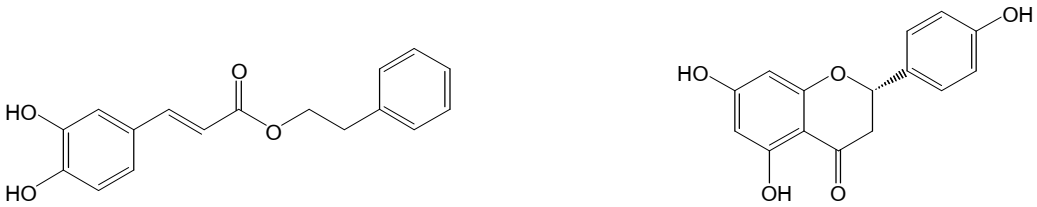
$R_1 = CH_3$, R_2 = H, $R_3 = R_4$ = Caffeoyl; (**24**)

R_1 = H, $R_2 = R_4$ = Caffeoyl, R_3 = H; (**25**)

รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างของตัวอย่างสารจากพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

4) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านการอักเสบของพรอพอลิสอย่างต่อเนื่อง ทั้งแบบ *in vitro* และแบบ *in vivo* ดังตัวอย่างรายงานการวิจัย ในปี ค.ศ. 1996 ของ Park และคณะ ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยอาศัยแบบจำลองการบวมน้ำของอุ้งเท้าหนูขาวใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยคาราจีแนน พบว่าสารสกัดพรอพอลิสสามารถยับยั้งการบวมน้ำของอุ้งเท้าหนูขาวใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยคาราจีแนนได้ที่ปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[40] ต่อมาในปี ค.ศ. 1997 Sosa และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดพรอพอลิส โดยใช้แบบจำลองการทำให้หูหนูขาวเล็ก (mice) บวมน้ำจากการเหนี่ยวนำด้วย croton oil ซึ่งเป็นน้ำมันที่สกัดจาก *Croton tiglium* พบว่าสารสกัดพรอพอลิสสามารถออกฤทธิ์ได้เทียบเท่ากับยา indomethacin[41] สำหรับการศึกษาแบบ *in vivo* นั้น ในปี ค.ศ. 1996 Mirzoeva และ Calder ได้นำสารสกัดเอทานอลและสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์เสริมอาหารพรอพอลิส ได้แก่ CAPE (**4**), caffeic acid (**3**), quercetin (**1**) และ naringenin (**27**) มาทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยดูจากเมแทบอลิซึมของ arachidonic acid พบว่าสารสกัดเอทานอลของพรอพอลิสสามารถยับยั้ง เมแทบอลิซึมของ arachidonic acid ในวิถี lipoxygenase ระหว่างกระบวนการอักเสบได้ ส่วนสารสำคัญนั้น พบว่า CAPE (**4**) ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารอื่นที่นำมาทดลอง[42] (รูปที่ 5)



(**4**) (**27**)

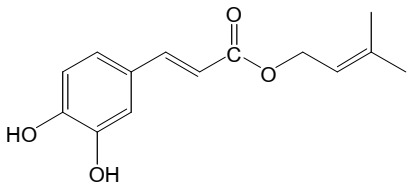
รูปที่ 5 สูตรโครงสร้างของตัวอย่างสารจากพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ

การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัย

พรอพอลิสมีโอกาสปนเปื้อนสิ่งต่าง ๆ จากสิ่งแวดล้อมได้ในระหว่างการสะสมพรอพอลิสของผึ้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปนเปื้อนด้วยโลหะหนัก[43] ดังนั้นการตรวจสอบการปนเปื้อนของพรอพอลิสจึงจำเป็นมากเช่นเดียวกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ในประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดมาตรฐานของพรอพอลิสไว้อย่างชัดเจน แต่อาจจะอาศัยหลักการเบื้องต้นเช่นเดียวกับสมุนไพรอื่น ที่ระบุไว้ในเภสัชตำรับ เช่น เกณฑ์การปนเปื้อนของโลหะหนัก หรือการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพ

สำหรับรายงานด้านความปลอดภัยของพรอพอลิส มีทั้งการทดลองเกี่ยวกับความเป็นพิษและอาการแพ้ที่อาจเกิดขึ้นได้ เช่น ในปี ค.ศ. 1996 Park และคณะได้ทดลองโดยให้หนูขาวเล็ก (mice) กินพรอพอลิสของประเทศเกาหลี พบว่าค่า

LD_{50} ที่ได้มากกว่า 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ ยังมีรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษในปี ค.ศ. 1998 ที่เรียบเรียงโดย Burdock ซึ่งสรุปไว้ว่าพรอพอลิสไม่ค่อยเป็นพิษในปริมาณ 1,440 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันในหนูขาวเล็ก ซึ่งการทดลองนี้ทำการทดสอบกับหนูขาวเล็กจำนวน 90 ตัว[44] สำหรับการแพ้นั้นก็มีรายงานเช่นกัน จากการศึกษาพบว่าการแพ้พรอพอลิสน่าจะเกิดจากสาร 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester (3-methyl-2-butenyl caffeate) (**28**) (รูปที่ 6) และโลหะหนักที่ปนเปื้อนเป็นสำคัญ[5,6,45]



(**28**)

รูปที่ 6 สูตรโครงสร้างของ 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester (3-methyl-2-butenyl caffeate)

มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์จากการใช้พรอพอลิสในประเทศอิตาลี โดยรวบรวมตั้งแต่เดือนเมษายน ปี ค.ศ. 2002 จนถึงสิงหาคม ปี ค.ศ. 2007 พบว่ามีรายงานอาการที่คาดว่าเป็นปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์จากพรอพอลิสที่รายงานมายังศูนย์เฝ้าระวังเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของประเทศอิตาลีจำนวน 18 ราย โดยมีอาการแพ้ที่ผิวหนัง และระบบทางเดินหายใจจำนวน 16 ราย ส่วนอีก 2 รายเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร เห็นได้ว่าการใช้พรอพอลิสควรใช้ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากอาจทำให้เกิดอาการแพ้ได้ โดยเฉพาะผู้ที่มีประวัติแพ้ละอองเกสร อย่างไรก็ตาม นอกจากพรอพอลิสแล้ว ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่ได้จากผึ้ง เช่น นมผึ้งและเกสรผึ้ง ก็ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากในบางครั้งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวอาจไม่ได้ระบุคำเตือนเกี่ยวกับการแพ้ไว้ที่ฉลาก ดังนั้นผู้บริโภคหรือบุคลากรสาธารณสุขต้องระวังความเสี่ยงของอาการแพ้เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากผึ้งด้วย[46]

บทสรุป

พรอพอลิสเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาค่อนข้างหลากหลาย เนื่องจากความแตกต่างด้านองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสจากภูมิประเทศที่แตกต่างกัน ซึ่งสารที่มีบทบาทสำคัญในพรอพอลิสมีหลายกลุ่ม แต่สารที่ได้รับการวิจัยเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างต่อเนื่องคือ CAPE เนื่องจากมีสูตรโครงสร้างทางเคมีไม่ซับซ้อน และยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่โดดเด่น เช่น ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (รวมถึงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วย) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เป็นต้น สำหรับฤทธิ์ต้านเนื้องอกนั้นมีรายงานวิจัยถึงกลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งนับว่าเป็นสารที่มีรายงานการวิจัยออกมาอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน ในการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของพรอพอลิสนั้น การกำหนดเกณฑ์มาตรฐานอาจทำได้ไม่ง่ายนัก เนื่องจากความแตกต่างด้านองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตัวอย่างพรอพอลิสที่เก็บจากแหล่งที่แตกต่างกัน ดังนั้นการนำพรอพอลิสไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทั้งยา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง หรือเครื่องอุปโภคบริโภค ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่างของวัตถุดิบพรอพอลิสที่นำมาใช้ในแต่ละครั้ง รวมทั้งการเฝ้าระวังการแพ้ที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้บริโภคได้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Ghisalberti EL. Propolis: a review. *Bee World* 1979;60: 59-84.
2. Macucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26:83-99.
3. Dobrowolski JW, Vohara SB, Sharma K, et al. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991;35:77-82.
4. Bankova VS, Popov SS, Marekov NL. A study on flavonoids of propolis. *J Nat Prod* 1983;46:471-474.
5. Cirasino L, Pisati A, Fasani F. Contact dermatitis from propolis. *Contact Dermat* 1987;16:110-111.
6. Monti M, Berti E, Carminati G, Cusini M. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermat* 1983; 9:163.
7. Greenaway W, May J, Scaybrook T, Whatley FR. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Z Naturforsch* 1991; 46c:111-121.
8. Bankova V, Boudourova KB, Popov S, Sforcin M, Funari SRC. Seasonal variations of the chemical composition of Brazillian propolis. *Apidologie* 1998;29:361-367.
9. Bankova VS, de Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 2000;31:3-15.

10. Marcucci MC, Bankova VS. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazillian propolis. *Curr Top Phytochem* 1999;2:115-123.
11. Kumazawa SH, Yoned M, Shibata I, Kanaeda J, Hamasaka T, Nakayama T. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Chem Pharm Bull* 2003;51:740- 742.
12. Park YK, Alencar SM, Aguiar CL. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *J Agric Food Chem* 2002;50:2502-2506.
13. Sawaya ACHF, Tomazela DM, Cunha IBS, et al. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of propolis. *Analyst* 2004;129:739-744.
14. Cuesta RO, Frontana UBA, Ramirez AT, Cardenas J. Polyisoprenylated benzophenones in Cuban propolis; biological activity of nemorosone. *Z Naturforsch* 2002; 57c:372-378.
15. Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res* 2000;15:561-571.
16. Kumazawa SH, Hamasaka T, Nakayama TS. Antioxidant activity of propolis pf various geographic origins. *Food Chem* 2004;84;329-339.
17. Bankova V, Christov R, Kujumgiev A, Macucci MC, Popov S. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Z Naturforsch* 1995;50:167-172.
18. Bankova V, Marcucci MC, Simova S, Nikolova N, Kujumgiev A, Popov S. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis. *Z Naturforsch* 1996;50:277-280.
19. Hashimoto T, Aga H, Tabuchi A, et al. Anti-*Helicobacter pylori* compounds in Brazilian propolis. *Nat Med* 1998; 52:518-520.
20. Valcic MJ, Carothers AM, Bertagnolli ME, et al. Phytochemical, morphological, and biological investigations of propolis from Central Chile. *Z Naturforsch* 1999;54:406-416.
21. Marcucci MC, Ferreres F, Gaecia VC, et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 2001;74:105-112.
22. Harish Z, Rubinstein A, Golodner M, Elmaliah M, Mizrachi Y. Suppression of HIV-1 replication by propolis and its immunoregulatory effect. *Drug Exp Clin Res* 1997;23:89-96.
23. Artico M, di Santo R, Costi R, et al. Geometrically and conformationally restrained cinnamoyl compounds as inhibitors of HIV-1 integrase: synthesis, biological evaluation, and molecular modeling. *J Med Chem* 1998; 41:3948-3960.
24. Gekker G, Hu S, Spivak M. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microgial cell cultures. *J Ethnopharmacol* 2005;102:158-163.
25. Amoros M, Lurton E, Boustie J, Girre L, Sauvager F, Cormier M. Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-2-enyl caffeate. *J Nat Prod* 1994;57:644-647.
26. Serkedjieva J, Manolova N, Bankova V. Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). *J Nat Prod* 1992;55:294-302.
27. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol* 1999; 64:235-240.
28. Grunberger D, Bannerjee R, Eisinger K, et al. Referential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 1988;44:230-232.
29. Natarajan K, Singh S, Burke TR, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation on nuclear transcription factor NF-κB. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:9090-9095.
30. Weyant MJ, Carothers AM, Bertagnolli ME, Bertagnolli MM. Colon cancer chemopreventive drugs modulate integrin-mediated signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2000;6:949-956.
31. Na HK, Wilson MR, Kang KS, Chang CC, Grunberger D, Trosko JE. Restoration of gap junctional intercellular communication by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in a ras-transformed rat liver epithelial cell line. *Cancer Lett* 2000;157:31-38.
32. Matsuno T. A new clerodane diterpenoid isolated from propolis. *Z Naturforsch* 1995;50:93-97.
33. Matsuno T, Jung SK, Matsumoto Y, Saito M, Morikawa J. Preferential cytotoxicity to tumor cells of 3,5-diprenyl-4-hydroxy-cinnamic acid (artepillin C) isolated from propolis. *Anticancer Res* 1997;17:3565-3568.
34. Hirota M, Matsuno T, Fujiwara T, Sukiyama H, Mineshita S. Enhanced cytotoxicity in a Z-photoisomer of a

benzopyran derivative of propolis. *J Nat Prod* 2000;63: 366-370.

35. Matsushige K, Kusumoto IT, Yamomoto Y, Kadota S, Namba T. Quality evaluation of propolis. 1A comparative study on radical scavenging effects of propolis and vespae nidus. *J Trad Med* 1995;12:45-53.
36. Matsushige K, Basnet P, Kadota S, Namba T. Potent free radical scavenging activity of dicaffeoyl quinic acid derivatives from propolis. *J Trad Med* 1996;13:217-228.
37. Matsushige K, Basnet P, Hase K, Kadota S, Tanaka K, Namba T. Propolis protects pancreatic β-cells against toxicity of streptozotocin (STZ). *Phytomedicine* 1996b; 3:203-209.
38. Basnet P, Matsuno M, Neidlein R. Potent free radical scavenging activity of propol isolated from Brazilian propolis. *Z Naturforsch* 1997;52:828-833.
39. Sun F, Hayami S, Haruna S, et al. In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamin C and E and the level of lipid hydroperoxides in rats. *J Agri Food Chem* 2000;48:1462-1465.
40. Park EH, Kim SH, Park SS. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch Pharmaco*l 1996;19:337-341.
41. Sosa S, Baricevis D, Cinco M, Padovan D, Tubaro A, Della LR. Preliminary investigation on the anti-inflammatory and anti-microbial activities of propolis. *Pharmaceut Pharmacol Lett* 1997;7:168-171.
42. Mirzoeva OK, Calder PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during inflammatory response. *Prostaglandins, Leukotrienes Essent Fatty Acids* 1996;55:441-449.
43. Alcici NMF. Heavy metals in propolis: practical and simple procedures to reduce the lead in the Brazilian propolis. *Chem Abstr* (CA) 1996;127:23631.
44. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol* 1998;36: 347-363.
45. Heusen BM, Wollenweber E, Senff H, Post B. Propolis allergy. (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Contact Dermat* 1987;17:171-177.
46. Menniti-Ippolito F, Mazzanti G, Vitalone A, Firenzuoli F, Santuccio C. Surveillance of suspected adverse reactions to natural health products: the case of propolis. *Drug Saf* 2008;31(5):419-423.