

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FÁCULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - Bacharelado

RAÍSSA CRISTINA DARROZ CORRÊA

**PROPRIEDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO  
ETANÓLICO DO CERUME DE ABELHAS SEM FERRÃO *Geotrigona* sp.**

DOURADOS - MS

2021

RAÍSSA CRISTINA DARROZ CORRÊA

**PROPRIEDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO  
ETANÓLICO DO CERUME DE ABELHAS SEM FERRÃO *Geotrigona* sp.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito do curso de Ciências Biológicas para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jaqueline Ferreira Campos.

Coorientador: Me. Alex dos Santos Oliveira

Área de concentração: Biologia Geral

DOURADOS- MS

2021

Raíssa Cristina Darroz Corrêa

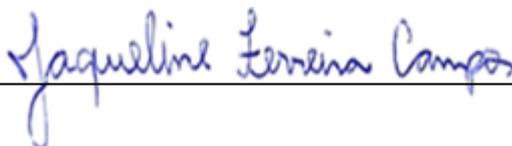
**Propriedades antioxidante e anti-inflamatória do extrato etanólico  
do cerume de abelhas sem ferrão *Geotrigona* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela  
Banca Examinadora como requisito parcial para a  
obtenção do título de Bacharel em Ciências  
Biológicas, da Universidade Federal da Grande  
Dourados.

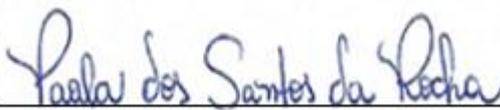
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jaqueline Ferreira Campos  
Área de concentração: Biologia Geral

Aprovado em: 22 de novembro de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**



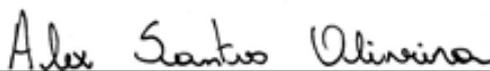
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Jaqueline Ferreira Campos  
Presidente



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola dos Santos da Rocha  
Membro



Prof. Dr. Caio Fernando Ramalho de Oliveira  
Membro



Me. Alex Santos Oliveira  
Suplente

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C824p Correa, Raíssa Cristina Darroz  
PROPRIEDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO  
ETANÓLICO DO CERUME DE ABELHAS SEM FERRÃO *Geotrigona* sp. [recurso  
eletrônico] / Raíssa Cristina Darroz Correa. -- 2021.  
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Jaqueline Ferreira Campos.  
TCC (Graduação em Ciências Biológicas)-Universidade Federal da Grande Dourados,  
2021.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:  
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Bioprospecção. 2. Espécies reativas. 3. Enzima hialuronidase. I. Campos, Jaqueline  
Ferreira. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

*Dedico este estudo primeiramente à minha mãe, bem como aos meus avós maternos Rosa e José Roberto Darroz, por acreditarem e confiarem no meu potencial, por todo apoio e incentivo quanto a minha graduação, à minha amiga Bruna Yasmin Ferreira Ramos que hoje é a minha estrela no céu e a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a minha formação profissional.*

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, quero agradecer minha mãe, Karina Lucy Darroz Ricardo, por todo o incentivo, apoio, pelo carinho e por todo esforço em me proporcionar um ensino de qualidade, acreditar em meus sonhos e vive-los comigo. Te amo muito.

Aos meus avós, Rosa Gobbi Darroz e José Roberto Darroz, por confiarem tanto no meu potencial e ao Maycon Leôncio Ricardo, pelo apoio financeiro e por acreditar em mim e em meus sonhos.

Ao meu irmão, Miguel Bessão Corrêa, que é o sentido da minha vida.

A minha tia Maria Gobbi, minha bióloga preferida, que sempre me incentivou a trilhar esse caminho tão lindo.

A Universidade Federal da Grande Dourados, bem como professores, coordenador e todos os amigos que compartilharam comigo esses 4 anos por todos os ensinamentos adquiridos e por contribuírem na minha formação acadêmica, bem como espaço físico para a realização deste estudo.

A minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jaqueline Ferreira Campos pela parceria, apoio, esforço e principalmente pela transmissão de conhecimentos. Obrigada pela orientação e por me permitir fazer parte do seu grupo de orientados.

Ao GEBBAM (Grupo de Estudos de Biotecnologia e Bioprospecção Aplicados ao Metabolismo) pela parceria e permissão em me deixarem fazer parte desta grande família.

As minhas amigas Barbara Akemi Tersariol Nagamatsu, Isamara Carvalho Ferreira, Marina Schibichewski e Sarah Lam Orué, bem como meus amigos Éverton Gustavo Miguel Neves e José Irlan dos Santos por todo o apoio e companhia nesses anos lindos que passamos juntos.

Ao CNPq, a FUNDECT e a CAPES pelo apoio financeiro.

Aos membros da banca, por avaliar e colaborar com este estudo e contribuir com minha formação.

A todos que me ajudaram, direta ou indiretamente, na realização deste estudo.

“O que faz de um sonho impossível é não acreditar nele. ”

(Dulce María)

## Sumário

LISTA DE FIGURAS .....	
ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	
RESUMO .....	
ABSTRACT .....	
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. Estresse oxidativo, inflamação e doenças .....	3
2.1.1. Peroxidação lipídica .....	4
2.1.2. Antioxidantes enzimáticos.....	6
2.1.3. Antioxantes não-enzimáticos .....	8
2.2. Potencial terapêutico dos produtos apícolas .....	9
2.2.1. Antioxidante .....	10
2.2.2. Anti-inflamatório .....	11
2.3. Abelhas sem ferrão.....	12
2.3.1. <i>Geotrigona</i> sp.....	13
2.4. Cerume .....	14
3.OBJETIVOS .....	17
4. JUSTIFICATIVA .....	18
5.MATERIAL E MÉTODOS.....	20
6. RESULTADOS .....	25
7. DISCUSSÃO .....	31
8. CONCLUSÕES .....	35
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação do processo de estresse oxidativo.....	3
<b>Figura 2.</b> Representação da neutralização de um radical livre pelo antioxidante.....	6
<b>Figura 3.</b> Ação da enzima superóxido dismutase.....	6
<b>Figura 4.</b> Ação da enzima catalase.....	7
<b>Figura 5.</b> Ciclo redutor da glutathiona peroxidase.....	7
<b>Figura 6.</b> Distribuição geográfica de abelhas sem ferrão.....	13
<b>Figura 7.</b> <i>Geotrigona mombuca</i> , popularmente conhecida como Guira.....	14
<b>Figura 8.</b> Arquitetura dos ninhos das abelhas sem ferrão.....	15
<b>Figura 9.</b> Atividade antioxidante a partir do ensaio de eliminação de radicais livres DPPH.....	25
<b>Figura 10.</b> Atividade antioxidante a partir do ensaio de eliminação de radicais ABTS <sup>•+</sup> .....	26
<b>Figura 11.</b> Efeitos de diferentes concentrações de ácido ascórbico e EECG (50-125 µg/mL) na hemólise de eritrócitos humanos em (A) 180 e (B) 240 min de incubação.....	27
<b>Figura 12.</b> Efeitos de diferentes concentrações de ácido ascórbico e EECG (50-125 µg/mL) na hemólise induzida por AAPH (50 mM) de eritrócitos humanos em (A) 180 e (B) 240 min de incubação.....	28
<b>Figura 13.</b> Efeitos de diferentes concentrações de ácido ascórbico (antioxidante padrão) e EECG (50-125 µg/mL) na formação de MDA.....	29
<b>Figura 14.</b> Atividade anti-inflamatória pela inibição da atividade da enzima hialuronidase pelo EECG em diferentes concentrações e seus respectivos controles solventes (etanol %)......	30

## ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**AA** - Ácido ascórbico

**AAPH** - 2,2'-azobis-2-amidinopropano

**ABTS** - 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

**AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O** - Cloreto de alumínio hexa-hidratado

**ANOVA** - Análise univariada de variância

**BHT** - Hidroxibutiltolueno

**CaCl<sub>2</sub>** - Cloreto de cálcio

**CAT** - Catalase

**CoQ** - Coenzima Q

**CoQH<sub>2</sub>** - Ubiquinol

**CuZnSOD** - Superóxido dismutase cobre-zinco

**DPPH** - 2,2-difenil-2-picril-hidrazil

**EAG** - Equivalente a ácido gálico

**EECG** - Extrato etanólico de cerume de *Geotrigona* sp.

**EPM** - Erro padrão da média

**EREs** - Espécies reativas de enxofre

**ERNs** - Espécies reativas de nitrogênio

**EROs** - Espécies reativas de oxigênio

**Fe<sup>2+</sup>** - Ferro

**g** - Gramas

**GPx** - Glutaciona peroxidase

**GR** - Glutaciona redutase

**GSH** - Glutathiona reduzida

**GSHPx** - Glutathiona peroxidase com selênio em seu sítio ativo

**GSSG** - Glutathiona oxidada

**H<sub>2</sub>O** - Água

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** - Peróxido de hidrogênio

**HO<sub>2</sub><sup>-</sup>** - Ânion peróxido

**IC<sub>50</sub>** - Concentração necessária para inibir 50 % dos radicais livres

**IL-1** - Interleucina-1

**iNOS** - Óxido nítrico sintase

**5-LOX** - 5-lipoxigenase

**LOO<sup>•</sup>** - Radical peroxila

**M** - Massa molar

**MDA** - Malondialdeído

**mg** - Miligrama

**mL** - Mililitro

**mM** - Milimolar

**MnSOD** - Superóxido dismutase manganês

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** - Carbonato de sódio

**NaCl** - Cloreto de sódio

**NADPH** - Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

**nm** - Nanômetros

**nM** - Nanomol

**•NO** - Óxido nítrico

**NO<sub>2</sub><sup>•</sup>** - Dióxido de nitrogênio

**NRF<sub>2</sub>** - Fator nuclear eritroide 2

**O<sub>2</sub>** - Oxigênio

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** - Radical superóxido

**OH<sup>-</sup>** - Radical hidroxila

**EQ** - Equivalente a quercetina

**ROO<sup>-</sup>** - Radical peroxil

**rpm** - Rotações por minuto

**Se** - Selênio

**SOD** - Superóxido dismutase

**TBA** - Ácido tiobarbitúrico

**TBARS** - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

**TNF- $\alpha$**  - Fator de necrose tumoral alfa

**$\mu$ g** - Microgramas

**$\mu$ L** - Microlitro

**XO** - Xantina oxidase

## RESUMO

Produtos apícolas são produtos naturais comumente usados na medicina popular em virtude de suas propriedades curativas. Entre esses está o cerume, uma mistura da cera produzida pelas abelhas, com a própolis que estas geram a partir de exsudatos vegetais e secreções mandibulares. O gênero *Geotrigona* inclui importantes polinizadores que utilizam o cerume para a construção de ninhos. Não há relatos científicos sob a capacidade antioxidante e anti-inflamatória do cerume produzido pela *Geotrigona*, que podem culminar na prevenção de doenças como o câncer. Por isso, o objetivo deste é avaliar a capacidade antioxidante e anti-inflamatória do extrato etanólico de cerume de *Geotrigona* sp. Para isto, o cerume obtido em Quimis, província de Manabí, Equador foi utilizado para o preparo do EECG, na proporção 1:4,5 m:v. A quantificação de compostos fenólicos foi realizada a partir do método do cloreto de alumínio e dos flavonoides a partir do método Follin-Cicauteau. Para avaliar a atividade antioxidante, foram analisadas a capacidade de captura de radicais livres, utilizando os radicais DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazil) e ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico). Para avaliar a inibição da hemólise oxidativa, o EECG (50-125 µg/mL) foi incubado com o agente oxidante AAPH (2,2'-azobis-2-amidinopropano) e a inibição da peroxidação lipídica foi avaliada pela redução do conteúdo de malondealdeído (MDA). O potencial anti-inflamatório do extrato foi avaliado pela sua capacidade em inibir a atividade da enzima hialuronidase sob ácido hialurônico. Como resultados, compostos fenólicos foram quantificados sendo  $7,08 \pm 0,05$  mg EAG/ g de cerume e flavonoides sendo  $1,42 \pm 0,29$  mg EQ/ g de cerume. O EECG inibiu os radicais DPPH e ABTS dependente da concentração, com IC<sub>50</sub> de 0,97 mg/mL e 0,48 mg/mL, respectivamente. Além disso, inibiu a hemólise oxidativa em 45,9% na concentração de 75 µg/mL. Ainda, inibiu a peroxidação lipídica induzida por AAPH em 36 % na concentração de 50 µg/mL após 180 min de incubação e em 41,7 e 28,7% nas concentrações de 50 e 75 µg/mL, respectivamente, após 240 min. O EECG demonstrou um potencial inibitório sobre a enzima hialuronidase na concentração de 5 mg/mL de aproximadamente 11,6% em relação ao controle solvente. Assim, destaca-se que o EECG apresenta atividade antioxidante e anti-inflamatória, demonstrando que produtos naturais como os apícolas são alternativas para estudos bioprospectivos e a conservação destas espécies é necessária.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bioprospecção | Espécies reativas | Enzima hialuronidase

## ABSTRACT

Bee products are natural products commonly used in folk medicine because of their healing properties. Among these is the cerumen, a mixture of the wax integrated by bees, with the propolis they generate from plant exudates and mandibular secretions. The genus *Geotrigona* includes important pollinators that use cerumen to build nests. There are no scientific reports on the antioxidant and anti-inflammatory capacity of cerumen produced by *Geotrigona*, which may lead to the prevention of cancer diseases. Therefore, the objective of this is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory capacity of the ethanolic extract of cerumen from *Geotrigona* sp. For this, the cerumen obtained in Quimís, Manabí province, Ecuador was used for the preparation of the EECG, in the proportion 1:4.5 m:v. The quantification of phenolic compounds was performed using the aluminum chloride method and the flavonoids using the Follin-Cicauteau method. To evaluate the antioxidant activity, the free radical scavenging capacity was analyzed using the DPPH (2,2-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) and ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-acid) radicals. To evaluate the inhibition of oxidative hemolysis, the EECG (50-125 µg/mL) was incubated with the oxidizing agent AAPH (2,2'-azobis-2-amidinopropane) and the inhibition of lipid peroxidation was evaluated by reduction. The anti-inflammatory potential of the extract was evaluated by its ability to inhibit the activity of the enzyme hyaluronidase under hyaluronic acid. As results, phenolic compounds were quantified being  $7.08 \pm 0.05$  mg EAG/g of earwax and flavonoids being  $1.42 \pm 0.29$  mg EQ/g of earwax. EECG inhibited concentration-dependent DPPH and ABTS radicals, with IC<sub>50</sub> of 0.97 mg/mL and 0.48 mg/mL, respectively. Furthermore, it inhibited oxidative hemolysis by 45.9% at a concentration of 75 µg/mL. Moreover, it inhibited the lipid peroxidation induced by AAPH by 36% at the concentration of 50 µg/mL after 180 min of incubation and by 41.7 and 28.7% at the concentrations of 50 and 75 µg/mL, respectively, after 240 min. The EECG demonstrated an inhibitory potential on the hyaluronidase enzyme at a concentration of 5 mg/mL of approximately 11.6% compared to the solvent control. Thus, it is highlighted that the EECG has antioxidant and anti-inflammatory activity, demonstrating that natural products such as beekeeping are alternatives for bioprospective studies and the conservation of these species is necessary.

**KEYWORDS:** Bioprospecting | Reactive species | Hyaluronidase Enzyme |

## 1. INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão pertencem a subfamília Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) e são encontradas em grande parte das regiões de clima tropical e algumas regiões de clima subtropical/temperado, como em todo o território Latino-Americano, desde o norte do México até o sul da Argentina e Uruguai, norte da África e Austrália e também no Sudoeste Asiático (NOGUEIRA-NETO, 1997). Nesses territórios, observa-se um grande incentivo à prática da meliponicultura, atividade de criação de abelhas sem ferrão (FERREIRA *et al.*, 2010), sendo uma alternativa de fonte de renda e para a conservação de espécies de abelhas nativas (LAZARINO *et al.*, 2021).

Nas comunidades quilombolas e indígenas, onde se pratica a meliponicultura, o mel e o pólen produzidos são bastante utilizados, com fins que variam de acordo com a cultura local (SANTO *et al.*, 2016). Além do mel e do pólen, outros produtos como própolis e cera, apresentam grande potencial para auxiliar na geração de renda em pequenas propriedades rurais (PEREIRA *et al.*, 2017). Os meliponíneos do gênero *Geotrigona* são insetos que vivem exclusivamente em regiões neotropicais, com ampla distribuição desde o sudoeste do México ao norte da Argentina (CAMARGO & MOURE 1996) e compreende 22 espécies (CAMARGO & PEDRO 2012; GONZALEZ & ENGEL, 2012).

Meliponíneos constroem seus ninhos com os mais diversos materiais (NOGUEIRA-NETO, 1997). O cerume, resultado da mistura de cera produzida por glândulas abdominais das abelhas, sendo adicionada à própolis elaborada a partir de exsudatos vegetais, é utilizado para a construção de pilares que ancoram as estruturas no interior do ninho, do invólucro, além da confecção de potes de estocagem de mel, pólen e células de cria (NOGUEIRA-NETO, 1997). Embora os termos cerume e própolis sejam usados indistintamente na literatura sobre abelhas sem ferrão (PATRICIO *et al.*, 2002), neste trabalho, cerume refere-se ao produto de abelhas sem ferrão e própolis como um componente adicionado a este produto.

O cerume não é descrito apenas por seu auxílio na construção dos ninhos destas abelhas, este material está incluso também entre os produtos naturais que demonstra potencial terapêutico. Produtos apícolas como mel, própolis, cera e veneno de abelha estão entre os produtos naturais utilizados na medicina popular devido suas

propriedades curativas e também pelo alto conteúdo de moléculas bioativas (MARTINELLO, 2021). Embora haja uma gama extensa de pesquisa sobre as propriedades terapêuticas da própolis, as propriedades do cerume de abelhas sem ferrão ainda estão sendo descobertas. Em pesquisas recentes, este produto, da espécie *Tetragonula carbonaria* já foi descrito por sua ação anti-inflamatória (MASSARO *et al.*, 2011), além de apresentar atividade antioxidante (HAMILTON *et al.*, 2017).

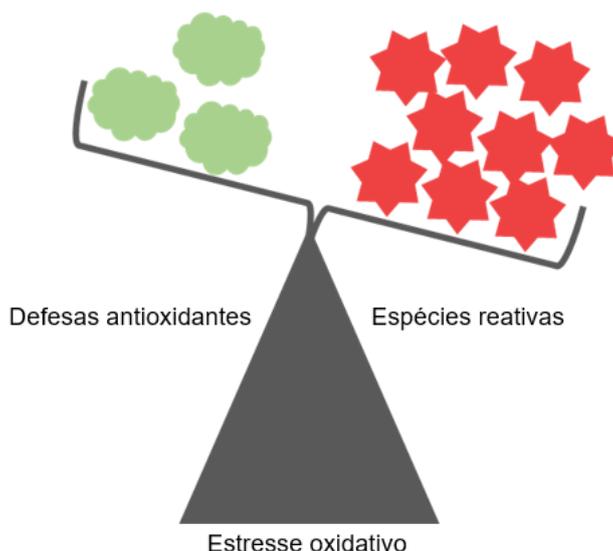
Na literatura, produtos apícolas são considerados uma fonte de antioxidantes naturais que podem neutralizar os efeitos do estresse oxidativo, que está relacionado a patogênese (NAYAN *et al.*, 2021). O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a quantidade de agentes antioxidantes para neutralização destas (BARBOSA *et al.*, 2010). A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) neste processo pode levar ao aparecimento e progressão de doenças inflamatórias como câncer, doenças cardiovasculares e neurológicas como Alzheimer, Huntington e Parkinson, além do envelhecimento precoce, visto que a ativação induzida por EROS de fatores de transcrição e genes pró-inflamatórios leva ao início da inflamação (CHATTERJEE, 2016; LIGUORI *et al.*, 2018).

Por existirem relatos sobre as propriedades terapêuticas dos apícolas na medicina popular, concomitante com o fato de abelhas sem ferrão serem de fácil criação e o Brasil ser um país com uma grande diversidade destes insetos, os produtos apícolas são ótimas alternativas para estudos destas propriedades. Neste sentido, o cerume da abelha sem ferrão *Geotrigona* sp será objeto de estudo nesta pesquisa para caracterização do seu potencial antioxidante e anti-inflamatório.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Estresse oxidativo, inflamação e doenças

O estresse oxidativo é o resultado do desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante (SIES & JONES, 2007), responsáveis por neutralizar estes compostos, chamados de espécies reativas (BURTON *et al.*, 2011). A produção de espécies reativas, principalmente as espécies reativas de oxigênio, são geradas durante processos fisiológicos, visto que, em proporções adequadas, possibilita a geração de ATP, além de constituir novos vasos sanguíneos (angiogênese) e participar de mecanismos de defesa no processo inflamatório (ANDRÉ-LEVIGNE *et al.*, 2017). No entanto, a produção excessiva desses radicais pode causar lesões e danos oxidativos nas biomoléculas celulares (BARBOSA *et al.*, 2010; ANDRÉ-LEVIGNE *et al.*, 2017).



**Figura 1.** Representação do processo de estresse oxidativo, onde a geração de espécies reativas é maior que a quantidade de defesas antioxidantes.

São exemplos de EROs: radicais superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxila ( $OH^\bullet$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e ânion peróxido ( $HO_2^-$ ) (ANDRÉ-LEVIGNE *et al.*, 2017). Em um contexto fisiológico, onde espécies reativas são produzidas em excesso, danos oxidativos em macromoléculas podem ser observados, como o DNA, proteínas e lipídeos (SIMÕES *et al.*, 2014), neste último causando um processo conhecido como peroxidação lipídica. Podem atuar na modificação estrutural de proteínas e DNA de modo a desencadear cascatas de sinalização que podem levar ao aparecimento e progressão de doenças inflamatórias (CHARTTEJEE, 2016), que por sua vez pode

induzir estresse oxidativo (SITI, KAMISAH & KAMSIAH, 2015). A inflamação crônica é acometida através da constante geração de EROs pelas células do sistema imunológico no local da inflamação, causando novamente estresse oxidativo e lesão tecidual (REUTER *et al.*, 2010; CHARTTEJEE, 2016), podendo causar doenças como o câncer (REUTER *et al.*, 2010), doenças cardiovasculares (SITI, KAMISAH & KAMSIAH, 2015) e doenças neurodegenerativas (SANCHO-LOPEZ *et al.*, 2012).

No mecanismo de acometimento de um câncer, o estresse oxidativo ativa uma variedade de vias inflamatórias e fatores de transcrição, como NF- $\kappa$ B, e AP-1, podendo levar à expressão de muitos genes diferentes, como os responsáveis pelos fatores de crescimento, citocinas inflamatórias, quimiocinas e moléculas reguladoras do ciclo celular, transformando uma célula normal em célula tumoral (REUTER *et al.*, 2010). Em relação às doenças cardiovasculares, o estresse oxidativo e o processo inflamatório provocam disfunção endotelial, que promovem um ambiente pró-inflamatório, sendo determinante no desenvolvimento da hipertensão (SITI, KAMISAH & KAMSIAH, 2015). O dano oxidativo nos lipídios constituintes do cérebro humano, o processo inflamatório e a disfunção mitocondrial estão extremamente relacionados no acometimento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson e Huntington (SANCHO-LOPEZ *et al.*, 2012).

Como o foco deste estudo foi avaliar o efeito sobre a peroxidação lipídica, detalhes acerca deste fenômeno serão descritos a seguir.

### **2.1.1. Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica, um processo comum a várias doenças (RAMANA *et al.*, 2017) é uma das reações bioquímicas mais básicas que afeta adversamente a segurança dos sistemas lipídicos (FARHOOSH *et al.*, 2021). Este fenômeno é o resultado da deterioração oxidativa de lipídios poli-insaturados presentes na membrana celular por meio da ação do radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ) (LUZ *et al.*, 2011). As membranas celulares são formadas por grande quantidade de fosfolipídeos, um ácido graxo particular, constituindo o que se chama de bicamada lipídica (NELSON & COX, 2018) e a fluidez desta está relacionada à presença de cadeias insaturadas destes fosfolipídios e colesterol, assim, danos causados nesta estrutura tendem a diminuir a fluidez da membrana (MAFRA *et al.*, 1999). A diminuição da fluidez da membrana pode ser causada a partir do ataque de algumas espécies reativas que, por sua vez,

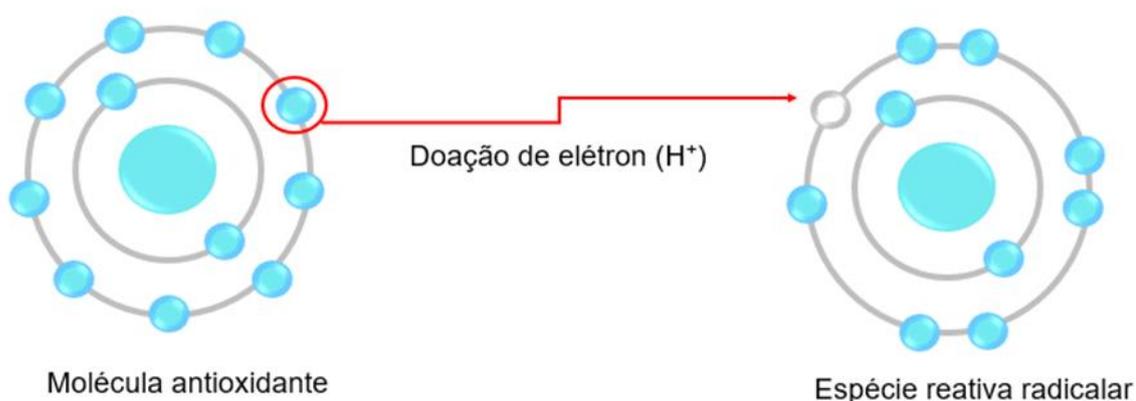
abstraem um átomo de hidrogênio das cadeias de ácidos graxos poli-insaturados, no qual contêm várias ligações duplas entre as quais se encontram pontes de metileno, iniciando o processo de peroxidação lipídica (APAK, 2019). Esta reação em cadeia possui três etapas: iniciação, propagação e terminação (ALTOMARE *et al.*, 2021).

A reação inicia-se com o sequestro do hidrogênio do ácido graxo poli-insaturado da membrana celular, por uma variedade de oxidantes, incluindo  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  e os radicais  $OH^\cdot$ , formando o radical lipídico (RAMANA *et al.*, 2017). Na primeira reação de propagação, este radical reage com o oxigênio ( $O_2$ ), formando o radical peroxila ( $LOO^\cdot$ ), que, por sua vez, sequestra um novo hidrogênio dos ácidos graxos, formando novamente o radical lipídico que se propaga até que dois radicais livres se choquem, interrompendo a reação em cadeia (LUZ *et al.*, 2011). O resultado da reação em cadeia da peroxidação lipídica é o acúmulo de malondialdeído (MDA) e 4-Hidroxinonenal (HNE), através da decomposição dos hidroperóxidos lipídicos (LIMA & ABDALLA, 2001; TSIKAS, 2017). O acúmulo de MDA pode causar danos oxidativos às proteínas através da ligação covalente e espontânea a essas, modificando-as e gerando adutos fluorescentes, participando do dano ao tecido durante o processo de envelhecimento (TRAVERSO *et al.*, 2004), bem como no DNA, visto que MDA é um produto natural também da biossíntese de prostaglandinas, amplamente mutagênico, podendo formar adutos à desoxiguanosina e à desoxiadenosina (MARNETT, 1999).

A concentração de MDA tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, em células e tecidos, podendo ser medidos pela reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) (AYALA *et al.*, 2017). Assim, o processo de peroxidação lipídica e, conseqüentemente, a formação de MDA podem ser inibidos por antioxidantes que interrompem a cadeia de peroxidação a partir da doação de um átomo de  $H^\cdot$ . (MAFRA *et al.*, 1999).

### 2.1.2. Antioxidantes enzimáticos

Os antioxidantes são substâncias que inibem ou retardam reações de oxidação indesejadas (APAK, 2019). Como necessita se proteger, o organismo assim faz por meio da síntese de antioxidantes endógenos (enzimáticos e não-enzimáticos) e exógenos (não-enzimáticos) (BARREIROS, DAVID & DAVID, 2015). Os antioxidantes enzimáticos são também conhecidos como antioxidantes naturais e é o primeiro sistema a agir, onde inclui as enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx) (BARBOSA *et al.*, 2010).



**Figura 2.** Representação da neutralização de um radical livre pelo antioxidante.

A SOD está presente no grupo das metaloenzimas, cuja função é proteger as células aeróbicas contra a ação do radical superóxido  $O_2^-$  e, em meio aquoso, catalisa a reação de dismutação do radical  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$  com extrema rapidez (SILVA & GONÇALVES, 2010). Nos mamíferos, são conhecidos três tipos distintos de SOD: a cobre-zinco (CuZnSOD) – no citoplasma e nos peroxissomos -, a manganês (MnSOD) – mitocondrial-, e a SOD extracelular (WANG *et al.*, 2018)



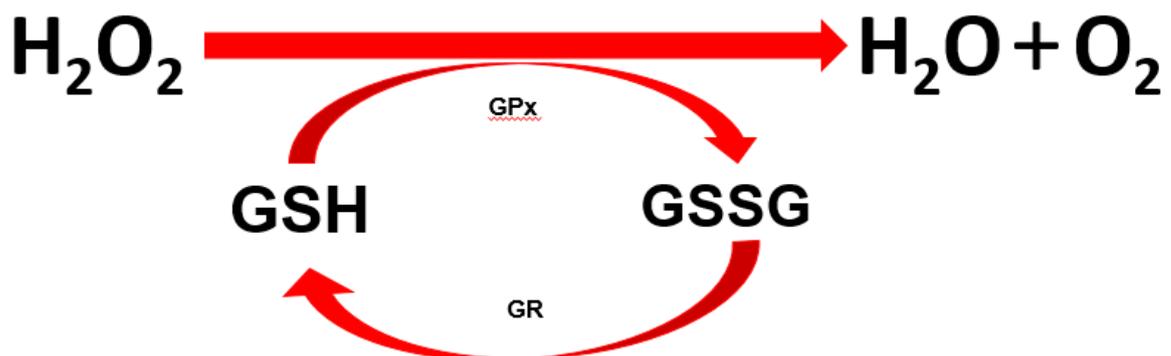
**Figura 3.** Ação da superóxido dismutase. O radical superóxido ( $O_2^-$ ) é gerado a partir da adição de um elétron (-e) à molécula de oxigênio ( $O_2$ ) e por meio do processo de dismutação pela enzima superóxido dismutase (SOD), recebe íons de hidrogênio ( $H^+$ ) e gera peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ).

A CAT é uma hemoproteína presente nos peroxissomos que catalisa a redução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{O}_2$  e atua na destoxificação de diferentes substratos como fenóis e álcoois (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Além disso, a CAT reduz o risco de formação do radical  $\text{OH}^\cdot$  via reação de Fenton, reações de íons de metais de transição, como o ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) com  $\text{H}_2\text{O}_2$  (LUZ *et al.*, 2011).



**Figura 4.** Ação da enzima catalase. A CAT catalisa a redução de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) em água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e oxigênio ( $\text{O}_2$ ).

A GPx participa de um ciclo com a glutatona redutase (GR), sendo esse o principal mecanismo de remoção de hidroperóxidos, lipoperóxidos e, assim como a catalase, do  $\text{H}_2\text{O}_2$  (TAN *et al.*, 2018). A GPx contém selênio em seu sítio ativo e, quando dependente dele, forma a GSHPx. Além disso, é responsável pela redução dos peróxidos, utilizando glutatona reduzida (GSH) como substrato capaz de doar elétrons. Transforma-a em glutatona oxidada (GSSG), que será convertida em GSH pela GR (AYALA *et al.*, 2017). Estas enzimas estão presentes no citoplasma e nas mitocôndrias das células de vegetais e animais (TAN *et al.*, 2018).



**Figura 5.** Ciclo redutor da glutatona peroxidase. A glutatona peroxidase (GPx) utiliza a glutatona reduzida (GSH) como substrato e a oxida, formando glutatona oxidada (GSSG), reduzida novamente a partir da ação da glutatona redutase. Esse ciclo é utilizado para catalisar a redução de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) em água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e oxigênio ( $\text{O}_2$ ).

### 2.1.3. Antioxidantes não-enzimáticos

O sistema não enzimático é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética, incluindo vários compostos hidrofílicos e lipofílicos como o ácido úrico, a glutathiona e a ubiquinona, e em compostos provenientes diretamente da dieta tais como vitaminas A ( $\beta$ -caroteno) e C (ácido ascórbico ou ascorbato) e vitamina E, como também compostos fenólicos, e compostos que apresentem selênio em sua composição (LUZ *et al.*, 2011).

O tripeptídeo glutathiona (GSH) exerce funções essenciais, principalmente por ser o cofator da enzima GPx (TAN *et al.*, 2018). É também um tampão com função redox da hemoglobina (redox sulfidrílico que mantém os resíduos cisteína da hemoglobina no estado reduzido) e a falha nesta função resulta na formação de meta-hemoglobina incapacitando o eritrócito (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

As ubiquinonas (coenzima Q) são substâncias lipofílicas envolvidas em processos celulares essenciais, como um carregador de elétrons lipofílico e também apresentam papel antioxidante (PARK *et al.*, 2020). O ubiquinol (CoQH<sub>2</sub>), produto da redução de CoQ, inibe a iniciação e peroxidação lipídica, impedindo a formação de ROO<sup>•</sup> e, além disso, regenera a vitamina E do radical tocoferila (VASCONCELOS *et al.*, 2007). O ácido úrico também é um potencial antioxidante, visto que é o principal antioxidante endógeno no plasma, contribuindo para até 2/3 da capacidade de controle sobre os radicais livres (NARANJO *et al.*, 2021), pois, em condições normais, o ácido úrico é dissociado a urato, quelando metais e impedindo a penetração de radicais na membrana celular (VASCONCELOS *et al.*, 2007). O ácido lipoico também é um importante antioxidante em doenças induzidas pelo estresse oxidativo (LIU *et al.*, 2020).

A vitamina A, mais precisamente o  $\beta$ -caroteno, um precursor hidrofílico, se acumula em grandes concentrações nas membranas. Sua atividade antioxidante está relacionada à remoção de O<sub>2</sub><sup>-</sup> e outros radicais formados durante a peroxidação lipídica (SILVA & GONÇALVES, 2010).

A vitamina C, por sua vez, é um antioxidante hidrossolúvel, por isso bastante difundida nos meios intra e extracelular (TAN *et al.*, 2018). Além de participar da remoção direta de radicais superóxido e hidroxila mediante a formação de um radical denominado semidehidroascorbato, contribui para a regeneração da vitamina E

oxidada, além de se tornar capaz de produzir espécies radicalares ( $\text{OH}^\cdot$ ) e não-radicalares ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) na presença de metais de transição (BARBOSA *et al.*, 2010). No entanto, em proporções inadequadas, pode assumir uma atividade pró-oxidante (SILVA & GONÇALVES, 2010).

O  $\alpha$ -tocoferol, a vitamina E, é um antioxidante lipofílico, logo, encontra-se presente no interior das membranas celulares (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Durante a peroxidação lipídica, fornece  $\text{H}^+$  do seu grupo hidroxila ao radical lipídico, impedindo a reação de propagação, sendo possível pois, durante a reação, a vitamina E torna-se um radical tocoferila, menos reativo que o radical lipídico, que migra para a superfície da membrana para ser novamente transformado em tocoferol, por ação do ácido ascórbico (BARBOSA *et al.*, 2010). Entretanto, em altas concentrações, o radical tocoferila também pode atuar como pró-oxidante (SILVA & GONÇALVES, 2010).

O selênio (Se), por sua vez, é um micronutriente essencial presente em alimentos de origem animal e vegetal, atuando associado às selenoproteínas, como as glutatonas, e sobre a integridade das membranas e na proteção contra degeneração oxidativa dos tecidos (MARKOPOULOS *et al.*, 1996). Além deste, ainda há os compostos fenólicos que apresentam capacidade antioxidante aumentada de acordo com a quantidade de hidroxilas ( $\text{OH}^-$ ) na molécula, como os flavonoides (KUREK-GÓRECKA *et al.*, 2014). Os compostos fenólicos são moléculas que possuem diversos anéis fenólicos em sua estrutura e podem ser divididos em classes de acordo com o número de anéis fenólicos e os elementos estruturais que ligam estes, como ácidos fenólicos (ácidos benzoicos, cinâmicos e derivados) e flavonoides (flavonois, flavonas, flavanonas, flavanois e isoflavonas) (ARCHELA & DALL'ANTONIA, 2013).

## **2.2. Potencial terapêutico dos produtos apícolas**

Desde a antiguidade, produtos naturais têm sido aplicados no tratamento de doenças humanas (LAHLOU, 2013). Até hoje, muitos remédios amplamente conhecidos são derivados destes produtos. Produtos apícolas como o mel, a própolis e a cera estão entre os produtos naturais mais comumente utilizados na medicina popular por conta do alto conteúdo de moléculas bioativas e, junto a isso, suas propriedades curativas (MARTINELLO, 2021). Com a extensa diversidade de

espécies de abelhas encontrada no Brasil e no mundo, os estudos que investigam a composição química e as propriedades terapêuticas, como as atividades antioxidante e anti-inflamatória, de seus produtos naturais estão aumentando nos últimos anos.

Para melhorar a conscientização e a conservação de abelhas sem ferrão, seus produtos, propriedades, benefícios e oportunidades futuras, aqui estão descritas atualizações sobre as propriedades medicinais dos produtos das abelhas sem ferrão.

### 2.2.1. Antioxidante

O desequilíbrio entre a quantidade de geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a neutralização destes por compostos antioxidantes culmina no processo de estresse oxidativo (BURTON *et al.*, 2011). A produção excessiva de espécies reativas, principalmente as espécies reativas de oxigênio, pode causar lesões e danos oxidativos nas biomoléculas celulares (BARBOSA *et al.*, 2010; ANDRÉ-LEVIGNE *et al.*, 2017), como no DNA, proteínas e lipídeos (SIMÕES *et al.*, 2014), modificando a estrutura das proteínas, conformação do DNA e culminar na deterioração dos fosfolipídeos da membrana celular, podendo provocar ou agravar doenças.

Nos últimos anos houve um aumento expressivo sobre a capacidade antioxidante de produtos apícolas como a própolis. Manrique & Santana (2008) descreveram o potencial antioxidante da própolis das espécies *Melipona quadrifasciata*, *Tetragonisca angustula*, *Melipona compressipes* e *Nannotrigona*. O gênero *Trigona* (Choudhari *et al.*, 2013) e a espécie *Trigona incisa* (Kustiawan *et al.*, 2014) também. Própolis de *Melipona orbignyi* (Campos *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2017), *Melipona fasciculata* (Dutra *et al.*, 2014; Lopes *et al.*, 2019) e *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Bonamigo *et al.*, 2017) também já foram descritas pela mesma capacidade. Outras espécies como *Tetragonisca fiebrigi* (Campos *et al.*, 2015; Brodkiewicz *et al.*, 2018), *Scaptotrigona depilis* (Bonamigo *et al.*, 2017) e *Scaptotrigona jujuyensis* (Brodkiewicz *et al.*, 2018) também já tiveram este material descrito.

Além disso, o pólen de *Scaptotrigona affinis postiga* (Lopes *et al.*, 2020), *Tetragonula biroi* Friese (Belina-Aldemita *et al.*, 2020), *Melipona fasciculata* (Lopes *et al.*, 2019) e *Lepidotrigona terminata* (Omar *et al.*, 2016)

### 2.2.2. Anti-inflamatório

A inflamação é definida como uma progressão de mudanças que ocorrem em um determinado tecido quando há lesão, desde que essa não destrua imediatamente sua estrutura e vitalidade (PUNCHARD *et al.*, 2004). É o processo onde há o recrutamento de leucócitos e proteínas plasmáticas do sangue, que se inicia a partir da liberação de citocinas e quimiocinas por macrófagos (DELVES *et al.*, 2018). A resposta inflamatória distribui as células e moléculas de defesa do hospedeiro para os locais onde os agentes agressores necessitam ser combatidos (MURPHY, 2014). Porém, o mesmo processo, quando prolongado, é responsável por causar dano tecidual e a ele são atribuídas muitas doenças importantes (ABBAS, *et al.*, 2015), como o câncer (REUTER *et al.*, 2010), doenças cardiovasculares (SITI, KAMISAH & KAMISIAH, 2015) e doenças neurodegenerativas (SANCHO-LOPEZ *et al.*, 2012).

A principal maneira pela qual o sistema imune lida com as infecções é estimulando a inflamação aguda, acumulando leucócitos, proteínas plasmáticas e fluidos derivados do sangue em tecido extravascular no local, que pode se desenvolver rapidamente (em minutos ou horas) e durar por dias (ABBAS *et al.*, 2015). A inflamação crônica, por sua vez, é um processo mais demorado, e ocorre se a infecção não for eliminada ou se a lesão tecidual for prolongada, envolvendo o recrutamento e ativação de monócitos e linfócitos, fazendo com que os locais passem por um remodelamento tecidual, com angiogênese e fibrose (ABBAS *et al.*, 2015).

Enzimas também estão envolvidas no processo inflamatório, sendo uma delas a enzima hialuronidase (PRADO *et al.*, 2016). As hialuronidases foram descobertas de início em bactérias, no entanto, são encontradas em muitas classes, incluindo insetos, cobras, peixes e mamíferos (WEBER *et al.*, 2019). Nos humanos, já são conhecidos seis diferentes tipos de hialuronidases, como a HYAL1-4, HYAL-P1 e PH-20 (WEBER *et al.*, 2019). Estas enzimas são responsáveis pela hidrólise do ácido hialurônico, composto que garante que as células permaneçam aderidas umas às outras, diminuindo a viscosidade intracelular e facilitando a proliferação dessas células a partir dos tecidos (PRATO *et al.*, 2016). Essa hidrólise leva a uma consequente degradação da matriz extracelular que promove inflamação, podendo ser inibidas através de produtos químicos ou por métodos imunológicos usando inibidores naturais (PRADO *et al.*, 2016).

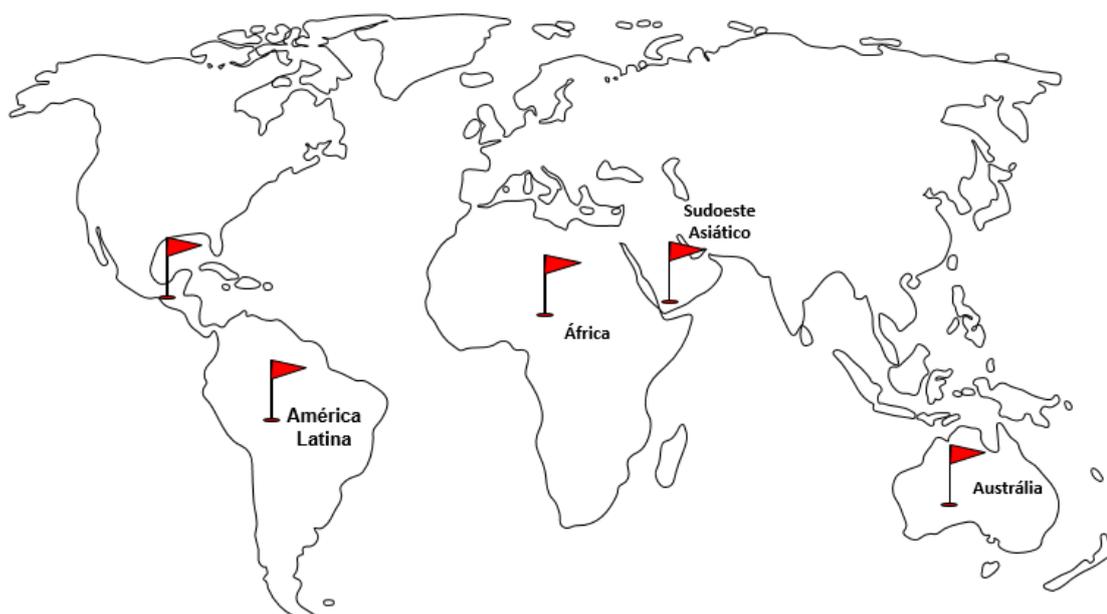
Para que isso não ocorra, são necessários compostos que atuem na inibição destas enzimas e consequente inflamação, como os anti-inflamatórios. Os anti-inflamatórios são compostos que impedem ou amenizam a inflamação, podendo ser classificados em glicocorticoides (COUTINHO, MUZITANO & COSTA, 2009) e não-esteroides (SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014). As propriedades farmacológicas dos anti-inflamatórios glicocorticoides devem-se, majoritariamente, à inibição da transcrição do gene da enzima ciclo-oxigenase-2 e à indução da proteína lipocortina, inibidora da enzima fosfolipase A2, o que resulta em redução da expressão de prostaglandinas e proteínas ligadas ao processo inflamatório (COUTINHO, MUZITANO & COSTA, 2009). As propriedades dos não-esteroides, por sua vez, decorrem principalmente da ação inibitória sobre a ciclo-oxigenase-2, enquanto as reações adversas são resultantes da inibição da ciclo-oxigenase-1 (SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014).

Logo, a busca por compostos e medicamentos, principalmente de origem natural como o cerume, mas também como os glicocorticoides e anti-inflamatórios não esteroidais (ELY *et al.*, 2015), que demonstrem mínimos efeitos colaterais e que inibam a ação desta enzima está em ascensão, visto que esta inibição pode evidenciar a ação anti-inflamatória indireta (ZENG *et al.*, 2015). Produtos apícolas como a própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca fiebrigi* (Campos *et al.*, 2015), *Scaptotrigona jujuyensis* (Brodkiewicz *et al.*, 2018), *Scaptotrigona postica* (De Farias *et al.*, 2014) e *Melipona scutellaris* (Franchin *et al.*, 2012) já foram descritas por seu potencial anti-inflamatório. O gênero *Trigona* por um estudo em 2017 também apresentou atividade anti-inflamatória (Sabir *et al.*, 2017). Outros produtos como o pólen de *Scaptotrigona affinis postica* (Lopes *et al.*, 2020) também apresentaram capacidade anti-inflamatória.

### **2.3. Abelhas sem ferrão**

As abelhas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae) são insetos sociais que pertencem a subfamília Meliponinae (NOGUEIRA-NETO, 1997), distribuídas em duas tribos: Meliponini e Trigonini, que se diferenciam. A tribo Meliponini contém células de cria de onde emergirão todas as castas e a tribo Trigonini confecciona células reais específicas, de onde irão emergir as futuras rainhas (VILLAS-BOAS, 2012).

Estas abelhas estão distribuídas em grande parte das regiões tropicais do planeta, ocupando grande porção da América Latina e África, além do sudeste asiático e norte da Austrália (MICHENER, 2007). No entanto, é na América onde há o maior registro de espécies de abelhas sem ferrão, sendo encontradas aproximadamente 400 espécies e, por isso, a meliponicultura, é mais intensa nessa parte do globo (VILLAS-BOAS, 2012).



**Figura 6.** Distribuição geográfica de abelhas sem ferrão.

A Meliponicultura é o nome do processo de criação e manejo de espécies de abelhas sem ferrão, cuja finalidade é principalmente a comercialização de uma ampla gama de produtos (VENTURIERI, 2008). As abelhas utilizam esses produtos para construção e sustentação dos ninhos, como a própolis, geoprópolis, cera e o cerume (NOGUEIRA-NETO, 1997). Esses produtos são utilizados na medicina popular como remédio, mas também pela polinização, visto que estima-se que um terço da alimentação humana dependa direta ou indiretamente da polinização realizada por abelhas (NOGUEIRA-NETO, 1997).

### **2.3.1. *Geotrigona* sp.**

Dentre os gêneros de abelhas sem ferrão já descritas, o gênero *Geotrigona* (Moure, 1943) é amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais, desde o

sudoeste do México ao norte da Argentina (CAMARGO & MOURE 1996). No Brasil, é encontrada em diversos estados, como por exemplo, por toda a região sudeste do país (MOURE & CAMARGO, 1991).

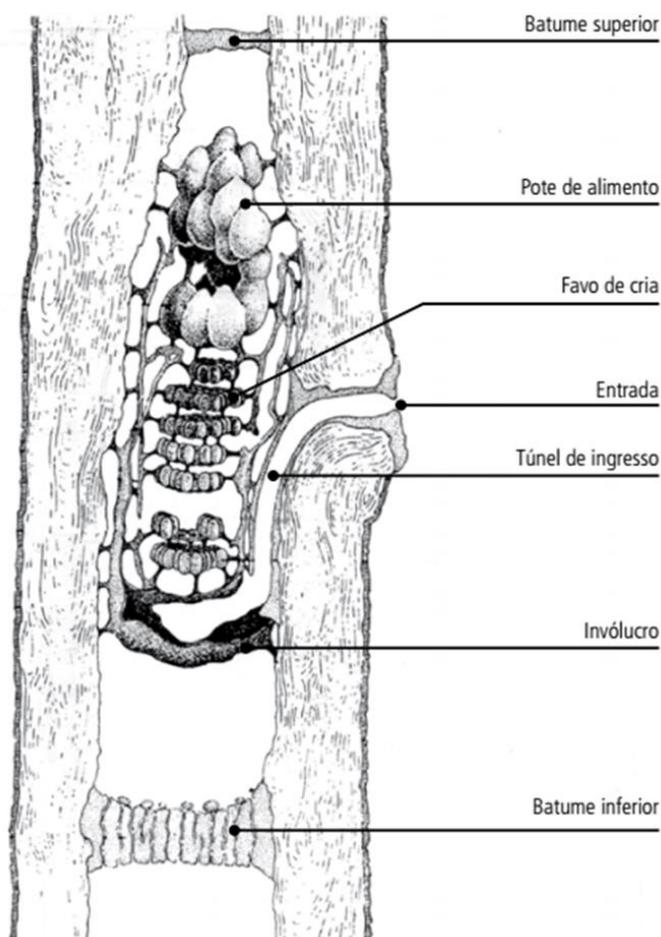
O gênero *Geotrigona* foi revisado, onde foram reconhecidas 22 espécies (CAMARGO & PEDRO 2012). Dentre estas espécies, muitas são conhecidas por sua capacidade de nidificação, construindo ninhos subterrâneos, além de serem boas produtoras de mel e própolis e, também de cerume, que são altamente apreciados na medicina popular e indígena por suas propriedades nutricionais ou terapêuticas (GONZALEZ & ENGEL, 2012).



**Figura 7.** *Geotrigona mombuca*, popularmente conhecida como Guira. Fonte: GONZAGA, V. (2015).

#### **2.4. Cerume**

O cerume é uma mistura da cera secretada pelas abelhas sem ferrão com a própolis, um material com consistência resinosa produzido pelas abelhas a partir de materiais vegetais (AL-HATAMLEH *et al.*, 2020). As abelhas utilizam este cerume para construção de pilares que sustentam as estruturas no interior do ninho, às vezes apenas para engrossar as paredes de potes ou de cabos de cerume ou, ainda, guardá-lo sob a forma de placas espessas, postas sob a madeira (NOGUEIRA-NETO, 1997).



**Figura 8.** Arquitetura dos ninhos das abelhas sem ferrão. Fonte: Desenho de P. NOGUEIRA-NETO (1970) p.50.

Os produtos dos meliponíneos como o mel, cerume e pólen são explorados há séculos no Brasil, Venezuela, México e países fora das Américas como Austrália e Uganda (SOUZA, 2008). No Brasil, os colonizadores exploravam os produtos apícolas de diferentes espécies de meliponíneos, como a *Melipona quadrifasciata*, popularmente conhecida como Mandaçaia, *Tetragonisca friebriigi* (Jataí), e a *Melipona marginata* (Manduri) no sul do país, enquanto que no Nordeste e Norte eram criadas as espécies *Melipona scutellaris* (Uruçu), e *Melipona interrupta* (Jandaíra), principalmente para alimentação e obtenção de remédios, por conta da composição química dos produtos obtidos (SILVA, 2014).

Por ser uma mistura com a própolis, acredita-se que as atividades biológicas apresentadas pelo cerume estão correlacionadas à sua composição química, fortemente influenciada pela diversidade da flora local, época de colheita, além da genética das abelhas (MENDONÇA *et al.*, 2020). Visto que mais de 50% da

composição da própolis presente no cerume são resinas vegetais (BARLAK *et al.*, 2011), é possível avaliar a composição química do cerume quanto à presença de fenóis e flavonoides. No Brasil, já foram descritos aproximadamente 13 tipos de própolis (DANTAS SILVA *et al.*, 2017), com amplas propriedades terapêuticas.

Nas últimas décadas, houve um aumento expressivo de publicações científicas referente as propriedades biológicas do cerume, sendo descritas as propriedades antimicrobianas (PALUDO *et al.*, 2019), anticâncer (NUGITRANGSON *et al.*, 2016) e anti-inflamatória (MASSARO *et al.*, 2011).

Recentemente, Massaro *et al.* (2011) relataram que extratos de cerume de abelha sem ferrão *Tetragonula carbonaria* têm potencial anti-inflamatório, pois são capazes de inibir a enzima 5-lipoxigenase ( $IC_{50}=19.97 \pm 2.78 \mu\text{g/mL}$ ), que ocorreu pela supressão do catabolismo do ácido linoléico pela via da lipoxigenase, sugerindo, portanto, um potencial para prevenir a oxidação lipídica do ácido linoléico, protegendo assim a integridade das membranas celulares.

O cerume de *Tetragonula laeviceps*, solubilizado em metanol, hexano e diclorometano, também tem sido investigado como potencial agente anticâncer contra linhagens de câncer de mama, pulmão, fígado, estômago e colon por apresentar um mecanismo de morte baseado na apoptose contra as linhas celulares BT474, Chago, Hep-G2, KATO-III e SW620, apresentando um  $IC_{50} = 1,22 \pm 0,03$ ;  $2,25 \pm 0,20$ ;  $0,94 \pm 0,01$ ;  $0,88 \pm 0,16$  e  $1,50 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente, além de induzir citotoxicidade in vivo contra embriões de peixe-zebra (NUGITRANGSON, 2016; AL-HATAMLEH *et al.*, 2020).

Em estudo publicado no Brasil por Paludo *et al.* (2019), foi demonstrado que o cerume das abelhas *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) apresentou grande potencial antimicrobiano. O cerume foi coletado e banhado assepticamente com ágar. Essa abelha requer o fungo *Zygosaccharomyces* sp. associado às células de cria como fonte de esteróide para metamorfose, além de outros fungos como *Candida* sp. e *Monascus ruber*, que foram isolados do cerume e demonstraram serem capazes de interagir com *Zygosaccharomyces* sp. e modular seu crescimento. Por esse motivo, acredita-se que este material apresenta grandes propriedades terapêuticas e faz com que este seja um forte candidato a pesquisas científicas, que estão continuamente aumentando nos últimos anos.

### **3. OBJETIVOS**

#### 3.1. Objetivo geral:

Avaliar a capacidade antioxidante e anti-inflamatória do extrato etanólico de cerume de *Geotrigona sp.*

#### 3.2. Objetivos Específicos:

- Quantificar a concentração de compostos fenólicos e flavonoides presentes no EECG;
- Avaliar o efeito do EECG sob os radicais livres DPPH e ABTS;
- Estimar o efeito do EECG sob a hemólise induzida por AAPH;
- Avaliar o efeito do EECG sob a peroxidação lipídica em eritrócitos humanos;
- Analisar a atividade do EECG sob a enzima hialuronidase;

#### 4. JUSTIFICATIVA

Desde tempos imemoriais, produtos naturais têm sido a base do tratamento de doenças humanas (LAHLOU, 2013). Estima-se que, atualmente, aproximadamente 80% dos pacientes utilizam produtos naturais como parte de seus cuidados primários de saúde (RIVERA-YAÑEZ *et al.*, 2021). Dentre estes, estão os produtos apícolas. As abelhas são essenciais para a manutenção da vida no planeta, visto que são responsáveis pela polinização de ecossistemas agrícolas e naturais. As abelhas sem ferrão são encarregadas pela polinização de até 90% das árvores nativas (SANTOS, 2010). No entanto, elas estão em declínio e medidas que auxiliem na conservação destas espécies são necessárias.

Uma alternativa é o estudo dos produtos produzidos pelas abelhas com o intuito de agregar valor para a conservação destas espécies. Dentre estes está o cerume, uma mistura da cera pura e branca, secretada pelas abelhas, adicionada à própolis que, por sua vez, é elaborada a partir de exsudatos vegetais e secreções mandibulares apícolas (NOGUEIRA-NETO, 1997). O cerume é utilizado para diversas finalidades dentro das colmeias. Além disso, recentemente é um importante material para pesquisas científicas quanto a sua capacidade terapêutica como, por exemplo, suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatória.

A busca por produtos naturais que auxiliem na prevenção e tratamento de doenças que apresentam como etiologia e processos de agravamento do quadro a associação do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e inflamação está em ascensão nos últimos anos. Os produtos naturais apresentam em sua composição química moléculas bioativas que são capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio (MARTINELLO, 2021). Doenças como o câncer, cardiovasculares e degenerativas estão relacionadas ao processo de estresse oxidativo e também ao acometimento de uma inflamação do tipo crônica (LIGUORI *et al.*, 2018). Câncer e doenças cardiovasculares estão entre as principais causas de morte no mundo (MARTINS, 2020). A relação entre doenças neurodegenerativas (BURGOS *et al.*, 2021) e o aumento da expectativa de vida associado a maus hábitos (físicos e alimentares), reduzem a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Neste sentido, produtos naturais que apresentem capacidade antioxidante e anti-inflamatória são muito importantes, visto que podem atuar na prevenção dessas doenças.

A produção exacerbada de EROs culmina na oxidação de biomoléculas, podendo modificá-las estruturalmente, desencadeando cascatas sinalizadoras que podem levar ao aparecimento ou progressão de doenças inflamatórias (CHATTERJEE, 2016). O processo inflamatório garante que as células do sistema imune secretem citocinas e quimiocinas para recrutamento de outras células para o local do estresse oxidativo (REUTER *et al.*, 2010). Desta maneira, estratégias terapêuticas alternativas que abordam maneiras de aumentar as defesas antioxidantes e inibir a formação de espécies reativas de oxigênio.

Pesquisas em ascensão sugerem que antioxidantes podem controlar a autooxidação, reduzindo o estresse oxidativo e melhorando a função imunológica saudável (TAN *et al.*, 2018). Além disso, a autooxidação pode agravar quadros de reações inflamatórias graves, como doenças cardiovasculares (CHALTON *et al.*, 2021), bem como doenças crônicas comuns, como diversos tipos de câncer e doenças degenerativas (TAN *et al.*, 2018; LIGUORI *et al.*, 2018). Deste modo, medicamentos anti-inflamatórios são utilizados para controlar os danos promovidos pela inflamação (DINARELLO, 2010).

O cerume elaborado por espécies de abelhas sem ferrão, vem sendo reconhecido por seu potencial terapêutico. Visto que não há relatos científicos sobre a proteção do cerume de *Geotrigona* contra danos oxidativos em macromoléculas, como no processo de peroxidação lipídica, além de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, empregando o extrato de cerume destas abelhas, este estudo tem o intuito de avaliar essas propriedades.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Preparo do extrato etanólico de cerume

Para realização dos ensaios foi preparado o extrato etanólico do cerume de *Geotrigona* sp., previamente coletado em Quimís, província de Manabí, Equador. O extrato foi preparado na proporção de 4,5 mL de etanol 80% para cada grama de cerume. Estes foram mantidos em banho-maria a 70 °C em recipiente fechado até total dissolução e em seguida o material foi devidamente filtrado para obter o extrato etanólico de cerume de *Geotrigona* sp. (EECG) (ALENCAR *et al.*, 2007).

### 5.2. Determinação dos níveis de polifenóis e flavonoides totais

A concentração total de polifenóis no EECG foi determinada de acordo com o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Meda *et al.*, 2005). Para tanto, 0,5 mL de EECG (1.000 µg/mL) foram misturados com 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio 14% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). A absorvância foi determinada a 760 nm após incubação de 2h à temperatura ambiente no escuro. Diferentes concentrações de ácido gálico (0,2-21,7 µg/mL) foram utilizadas para produzir uma curva de calibração. A média de 3 leituras foi utilizada para determinar o teor de polifenóis totais, expresso em mg de ácido gálico equivalente (EAG) / g de cerume.

O conteúdo de flavonoides no EECG foi determinado de acordo com o método descrito por Liberio *et al.* (2011), com pequenas modificações. Para tanto, 0,5 mL de EECG (1.000 µg/mL) foram misturados com 4,5 mL de cloreto de alumínio hexahidratado a 2% (AlCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O) em metanol PA. A absorvância foi determinada a 415 nm após 30 min de incubação à temperatura ambiente no escuro. Diferentes concentrações de quercetina (0,2-21,7 µg/mL) foi utilizada para produzir uma curva de calibração. A média de 3 leituras foi utilizada para determinar o teor de flavonoides, que foi expresso em mg de quercetina equivalente (QE) / g de cerume.

### 5.3. Atividade antioxidante

#### 5.3.1. Captura do radical livre DPPH

A atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi avaliada conforme descrito por Gupta e Gupta (2011), com algumas modificações. Para isto, 200 µL de EECG (0,1 – 3.000 µg/mL), foram adicionados à 1.800 µL de DPPH 0,11 mM e então incubado no escuro à temperatura ambiente por 30 min. Logo após, a absorbância foi determinada a 517 nm em espectrofotômetro. Foram realizados três experimentos independentes em duplicata. O ácido ascórbico e hidroxibutiltolueno (BHT) foram utilizados como antioxidantes de referência e o controle negativo da atividade antioxidante foi preparado com 200 µL do solvente (etanol 80%) em 1.800 µL de DPPH. Este ensaio baseia-se na alteração da coloração roxa para amarela, a partir da estabilização do radical DPPH. Assim, quanto mais este radical for reduzido para DPPH-H, menor será o valor da absorbância a 517 nm e maior a atividade antioxidante da substância avaliada. A porcentagem de captura do DPPH foi calculada de acordo com a seguinte equação (1):

$$\text{Atividade de captura de DPPH (\%)} = (1 - \text{Abs}_{\text{amostra}}/\text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100 \quad (1)$$

### 5.3.2. Captura do radical livre ABTS<sup>•+</sup>

O ensaio de descoloração do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>), foi realizado de acordo com o método descrito por Re *et al.* (1999). O ABTS é uma substância que vem sendo utilizada para estimar o potencial antioxidante de misturas, compostos e outras substâncias. Neste ensaio, o ABTS reage com o persulfato de potássio e forma o radical ABTS<sup>•+</sup>, de coloração verde. A neutralização do radical ABTS<sup>•+</sup> é comparada com a neutralização do mesmo por antioxidantes, indicada pela mudança de coloração para o verde claro. A diminuição na absorbância é detectada utilizando um espectrofotômetro no comprimento de onda de 734 nm, demonstrando que quanto menor é a absorbância após a reação, ou mais clara a coloração da reação, maior é o potencial antioxidante do composto avaliado. O radical ABTS<sup>•+</sup> foi preparado com 5 mL da solução aquosa de ABTS (7 mM) e 88 µL da solução de persulfato de potássio (140 mM). Após 12 h de incubação, essa solução foi diluída em etanol PA a 734 nm até obter uma absorbância de 0,700 ± 0,05. Em seguida, 20 µL do EECG (0,1 – 2.000 µg/mL) foram adicionados a 1.980 µL de solução do radical ABTS<sup>•+</sup> e incubados durante 6 min, seguido de leitura da absorbância a 734 nm. Foram realizados três experimentos independentes em

duplicata. O ácido ascórbico e BHT foram utilizados como antioxidantes de referência, o controle negativo continha 20 µL do solvente em 1.980 µL da solução do radical ABTS<sup>•+</sup> e a porcentagem de inibição do ABTS<sup>•+</sup> foi calculada de acordo com a seguinte equação (2):

$$\text{Inibição do radical ABTS (\%)} = ((\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}})/\text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100 \quad (2)$$

#### 5.4. Ensaio com eritrócitos humanos

##### 5.4.1. Preparação da suspensão de eritrócitos

Para realização dos ensaios, foi coletado 15 mL de sangue periférico de doadores saudáveis em tubos com citrato de sódio e subsequentemente centrifugados a 2.000 rpm por 5 min. Após centrifugação, o plasma sanguíneo e as camadas de leucócitos foram descartados, e os eritrócitos foram lavados 3 vezes com solução salina e centrifugados a 3.000 rpm por 5 min. Assim, foi preparada suspensão de eritrócitos (10%) em solução salina (NaCl 0,9%).

##### 5.4.2. Ensaio da capacidade hemolítica e inibição da hemólise oxidativa

O efeito hemolítico e também o protetor do EECG foram avaliados de acordo com o método descrito por Campos *et al.* (2015b), com pequenas modificações. Duzentos e cinquenta microlitros de suspensão de eritrócitos foram pré-incubados a 37 °C por 30 min na presença de diferentes concentrações de EECG (50-125 µg/mL). Em seguida, foi adicionada uma solução de 2,2'-azobis-2-amidinopropano (AAPH) 50 mM. Para verificar a ação hemolítica do EECG, eritrócitos foram incubados apenas com as diferentes concentrações do EECG e solução salina. Esta mistura foi incubada a 37 °C durante 4 h com agitação periódica. Eritrócitos incubados com etanol a 1% ou ácido ascórbico (50-125 µg/mL) foram usados como controles solvente e positivo, respectivamente. A porcentagem de hemólise foi determinada espectrofotometricamente com 180 e 240 min de incubação da amostra. Os tubos foram centrifugados a 2.000 rpm por 5 min e uma alíquota de 200 µL do sobrenadante foi diluída em 1.800 µL de solução salina, analisada a 540 nm. A porcentagem de hemólise nos sobrenadantes foi determinada através da equação  $A/B \times 100$  (3), onde

(A) é a absorvância da amostra e (B) é a hemólise total (eritrócitos incubados com água destilada). Dois experimentos independentes foram realizados em duplicata.

#### 5.4.3. Ensaio de inibição da peroxidação lipídica

O efeito protetor do EECG contra a peroxidação lipídica em eritrócitos humanos, foi avaliado de acordo com o método descrito por Campos *et al.* (2015b). O MDA é um produto secundário da peroxidação lipídica reativo ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a detecção deste produto pode refletir o nível de peroxidação lipídica nas células e de dano celular de forma indireta. Os eritrócitos foram pré-incubados a 37 °C por 30 min com diferentes concentrações de EECG (50-125 µg/mL). Eritrócitos incubados com etanol a 1% ou ácido ascórbico ((50-125 µg/mL) foram usados como controles solvente e positivo, respectivamente. A seguir, uma solução de AAPH (50 mM) foi adicionada à suspensão de eritrócitos, que foram então incubadas a 37 °C com agitação periódica durante 4 h. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm por 5 min, e alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram transferidas para tubos com 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 10 nM. A fim de comparar a formação de MDA no ensaio, 500 µL de solução de malondialdeído (MDA) 20 mM foram adicionados a 1 mL de TBA. As amostras foram incubadas a 96 °C por 45 min. As amostras foram resfriadas a 10 °C por 10 min, 4 mL de álcool n-butílico foram adicionados e as amostras centrifugadas a 3.000 rpm por 5 min. Os sobrenadantes foram removidos e a absorvância mensurada a 532 nm. Dois experimentos independentes foram realizados em duplicata. Os teores de MDA nas amostras foram expressos em nmol/ mL, obtidos com a seguinte equação (4):

$$\text{MDA (nmol/mL)} = \text{Abs}_{\text{amostra}} \times (20 \times 220,32 / \text{Abs}_{\text{padrãoMDA}}) \quad (4)$$

### 5.5. Atividade anti-inflamatória

#### 5.5.1 Inibição da hialuronidase

A inibição da atividade da enzima hialuronidase foi determinada utilizando o método descrito por Silva *et al.* (2012). Este método é uma avaliação indireta da ação anti-inflamatória. A mistura de reação foi constituída por 50 µL de EECG (0,1 – 15 mg/mL) e 50 µL (350 unidades) da enzima hialuronidase (tipo IV-S: testículos

bovinos), incubada a 37 °C por 20 min. Em seguida, foi adicionado 50 µL cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) para ativar a enzima. A mistura foi incubada a 37 °C durante 20 min. Para iniciar a reação, foi adicionado 0,5 mL do sal de sódio do ácido hialurônico (100 µL), incubada a 37 °C por 40 min. Em seguida, foi adicionado 0,1 mL de tetraborato de potássio 0,8 M, e então incubado em banho maria a 100 °C por 3 min. A mistura foi resfriada a 10 °C por 15 min. Em seguida, 3 mL de p-dimetilaminobenzaldeído foi adicionado e a solução incubada a 37 °C por 20 min. Ao final, a absorvância foi lida a 585 nm, utilizando água como controle. Foram realizados dois experimentos independentes em triplicata. A porcentagem de inibição da enzima hialuronidase foi calculada de acordo com a seguinte equação (5):

$$\text{Inibição (\%)} = ((\text{Abs}_{\text{controle água}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}) / \text{Abs}_{\text{controle água}}) \times 100 \quad (5)$$

#### 5.6. Análises estatísticas

Os dados foram expressos como a média ± erro padrão da média (EPM). As concentrações inibitórias de 50% (IC<sub>50</sub>) com limites de confiança de 95% foram determinadas por regressão não linear. A análise univariada de variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Dunnett foi usada para comparar dois ou mais grupos. Todas as análises foram realizadas com o software GraphPad Prism 8.0. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando  $p \leq 0,05$ .

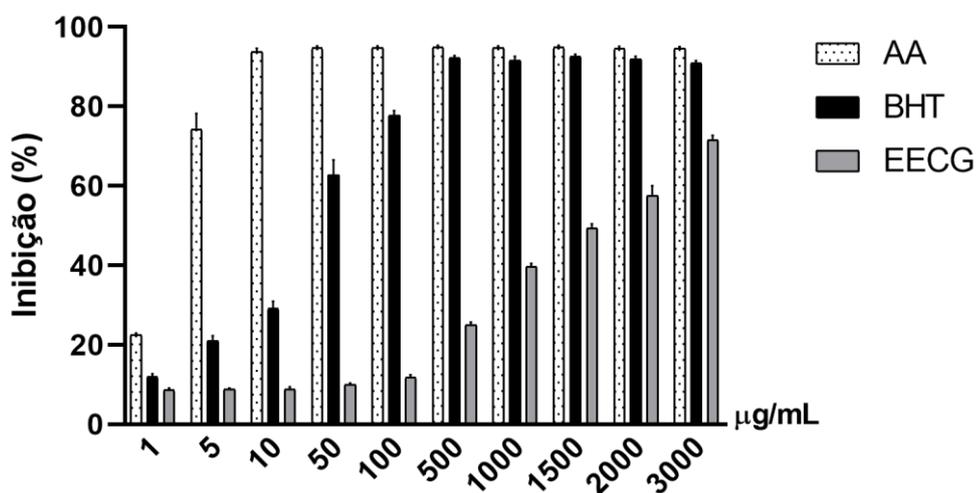
## 6. RESULTADOS

### 6.1. Composição química

As concentrações totais de compostos fenólicos e flavonoides presentes no EECG foram  $7,08 \pm 0,05$  mg EAG/ g de cerume e  $1,42 \pm 0,29$  mg EG/ g de cerume, respectivamente.

### 6.2. Capacidade de captura direta de radicais DPPH

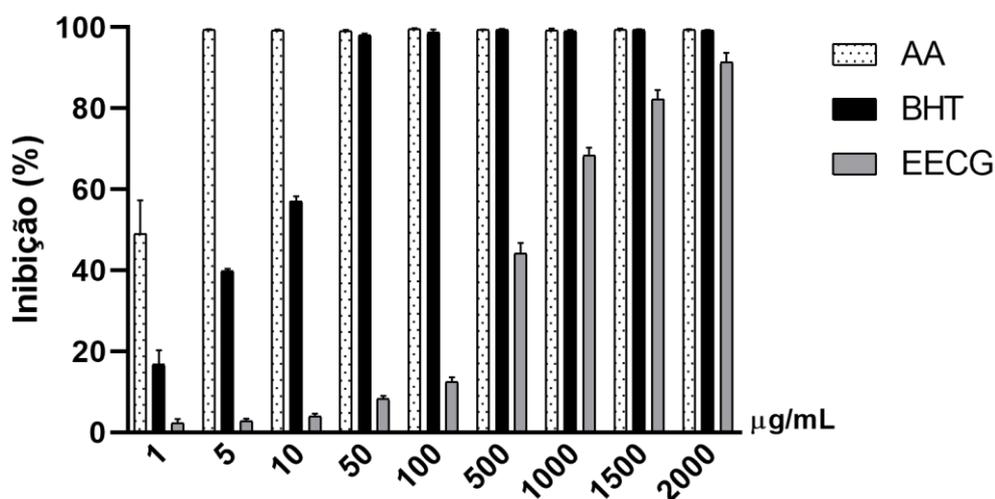
Conforme demonstra a **Figura 9**, o EECG mostrou um aumento na porcentagem de captura dos radicais DPPH dose-dependente. O EECG apresentou um  $IC_{50}$  de  $970,6 \mu\text{g/mL}$ , em comparação aos controles positivos (ácido ascórbico e BHT), que apresentaram um  $IC_{50}$  de  $4,10 \mu\text{g/mL}$  e  $30,37 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. A inibição máxima foi alcançada pelo EECG na concentração de  $3.000 \mu\text{g/mL}$ , em torno de 70% de inibição. O ácido ascórbico e o BHT demonstraram inibição máxima de 95% e 90% nas concentrações de 10 e  $500 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente.



**Figura 9.** Atividade antioxidante ensaio de eliminação de radicais livres DPPH. Inibição do extrato etanólico de cerume de *Geotrigona* sp. (EECG) comparado aos controles ácido ascórbico (AA) e hidroxibutiltolueno (BHT). O percentual de inibição foi expresso como o média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

### 6.3. Neutralização de radicais ABTS<sup>•+</sup>

Conforme demonstrado na **Figura 10**, o extrato etanólico do cerume de *Geotrigona* sp. mostrou ser capaz de neutralizar radicais ABTS de forma dose-dependente, apresentando IC<sub>50</sub> de 488,9 µg/mL, comparado aos controles positivos, ácido ascórbico e BHT, que apresentaram um IC<sub>50</sub> de 2,60 µg/mL e 8,36 µg/mL, respectivamente. O EECG apresentou inibição máxima na concentração de 2.000 µg/mL, em torno de 95%. O ácido ascórbico e o BHT apresentaram inibição máxima em torno de 99% e 98% nas concentrações de 5 e 50 µg/mL.

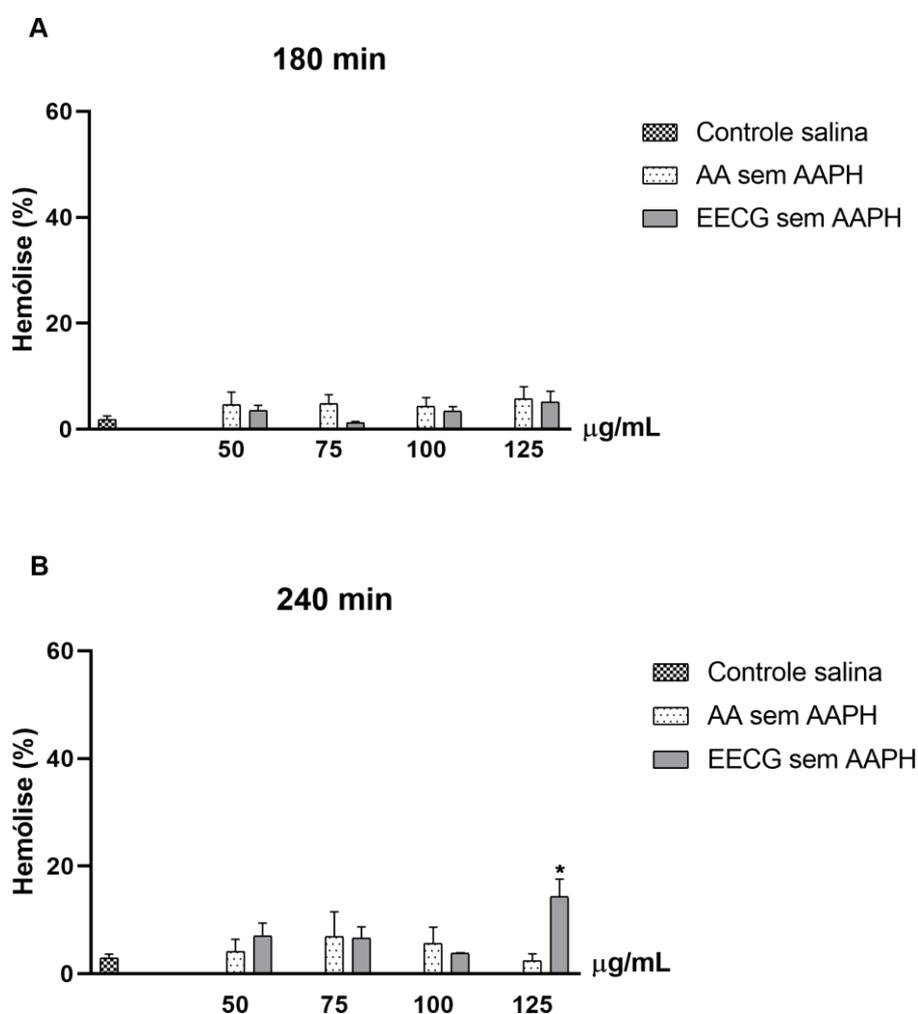


**Figura 10.** Atividade antioxidante a partir do ensaio de eliminação de radicais ABTS<sup>•+</sup>. Porcentagem de inibição do radical ABTS<sup>•+</sup> do extrato etanólico de cerume de *Geotrigona* sp. em comparação com os controles positivos: ácido ascórbico (AA) e hidroxibutiltolueno (BHT). O percentual de inibição foi expresso como o média ± erro padrão da média (EPM).

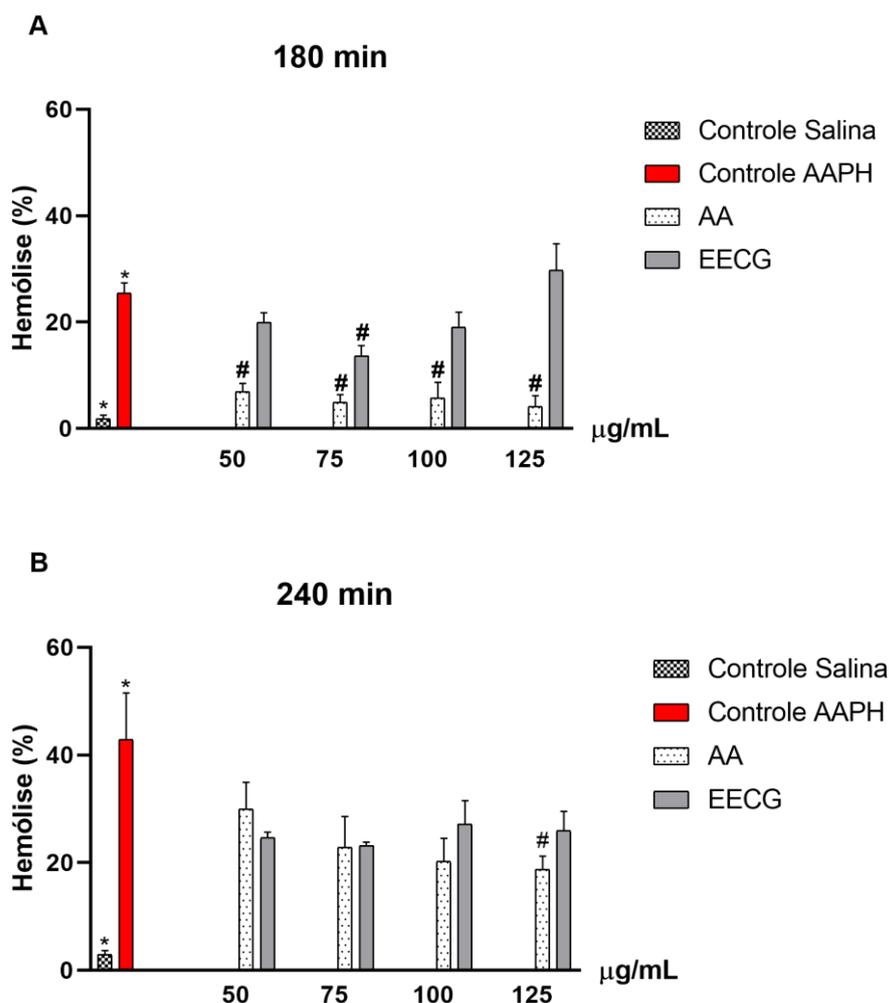
### 6.4. Ensaio com eritrócitos humanos

O EECG também foi avaliado quanto à sua propriedade hemolítica e sua capacidade de proteger os eritrócitos humanos contra hemólise oxidativa após indução de danos oxidativos. Na **Figura 11**, são apresentados os efeitos hemolíticos do EECG quando incubados apenas com solução salina, apresentando taxa significativa de hemólise na concentração de 125 µg/mL após 240 minutos. Como apresentado na **Figura 12**, o EECG inibiu a hemólise oxidativa induzida por AAPH em 45,9% na concentração de 75 µg/mL, durante o período de 180 min e, o ácido

ascórbico, em todas as concentrações avaliadas. No período de incubação de 240 min, o ácido ascórbico inibiu significativamente em relação ao controle na maior concentração avaliada.



**Figura 11.** Efeitos de diferentes concentrações de ácido ascórbico (antioxidante controle) e EECG (50-125  $\mu\text{g/mL}$ ) na indução da hemólise de eritrócitos humanos. Os eritrócitos foram avaliados em (A) 180 e (B) 240 min de incubação, sem o agente oxidante AAPH. O controle salina representa eritrócitos incubados apenas com solução fisiológica. Os valores são expressos como a média  $\pm$  EPM de 2 experimentos independentes conduzidos em duplicata. \*Representa resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) da comparação entre o grupo tratado e o controle salina nos respectivos tempos.

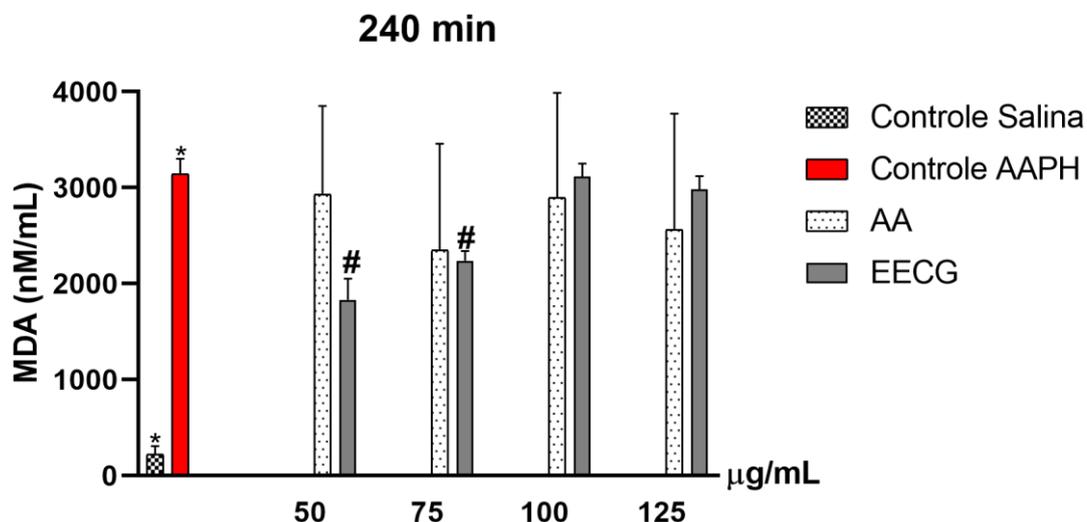


**Figura 12.** Efeitos protetor de diferentes concentrações de ácido ascórbico (antioxidante controle) e EECG (50-125 µg/mL) na hemólise induzida por AAPH (50 mM) de eritrócitos humanos. Os eritrócitos foram avaliados em (A) 180 e (B) 240 min de incubação, com o agente oxidante AAPH. O controle salina representa eritrócitos incubados apenas com solução fisiológica. O controle AAPH representa eritrócitos incubados apenas com AAPH. Os valores são expressos como a média  $\pm$  EPM de 2 experimentos independentes conduzidos em duplicata. \*Representa resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) da comparação entre o controle AAPH com o controle salina nos respectivos tempos. #Representa resultados estatisticamente significativos ( $p > 0,05$ ) da comparação entre o grupo tratado com o controle AAPH nos respectivos tempos.

### 6.5. Eficiência do EECG na inibição da peroxidação lipídica induzida por AAPH

A capacidade do EECG em inibir a peroxidação lipídica em eritrócitos humanos induzidas por AAPH foi confirmada pela quantificação de malondialdeído (MDA). Como observado na **Figura 13**, o EECG inibiu a peroxidação lipídica induzida por

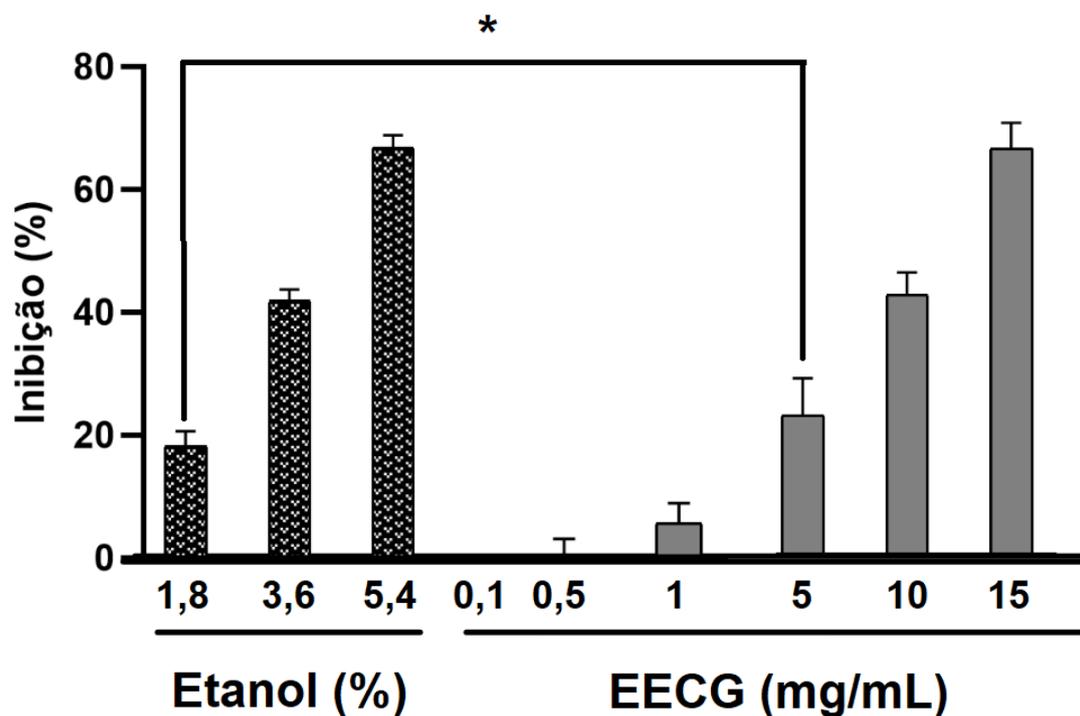
AAPH como indicado pela redução nos níveis de MDA em 41,7 e 28,7 % nas concentrações de 50 e 75  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, comparado ao grupo AAPH após 240 min de incubação.



**Figura 13.** Efeitos de diferentes concentrações de ácido ascórbico (antioxidante padrão) e EECG (50-125  $\mu\text{g/mL}$ ) na formação de MDA. O controle salina representa eritrócitos incubados apenas com solução fisiológica. O controle AAPH representa eritrócitos incubados apenas com AAPH. Os valores são expressos como a média  $\pm$  EPM de 2 experimentos independentes em duplicata. \*Representa resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) da comparação entre o controle AAPH com o controle salina nos respectivos tempos. #Representa resultados estatisticamente significativos ( $p > 0,05$ ) da comparação entre o grupo tratado com o controle AAPH nos respectivos tempos.

#### 6.6. Atividade anti-inflamatória.

A atividade anti-inflamatória foi analisada a partir da inibição da enzima hialuronidase. Conforme a **Figura 14**, foi observado que, o extrato etanólico do cerume de *Geotrigona* sp. inibiu a atividade da enzima hialuronidase na concentração de 5 mg/mL em aproximadamente 11,6 %, comparado ao controle solvente 1,8%.



**Figura 14.** Atividade anti-inflamatória pela inibição da atividade da enzima hialuronidase pelo EECG em diferentes concentrações e seus respectivos controles solventes. O percentual de inibição enzima hialuridase foi expressa como o média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). \*  $p < 0,05$  em comparação com o etanol. Foram realizados dois experimentos independentes em triplicata.

## 7. DISCUSSÃO

O uso de produtos naturais é a base para o tratamento de diversas doenças (PEREIRA *et al.*, 2021), visto que muitos medicamentos amplamente conhecidos são derivados destes produtos. Recentemente, o número de estudos de terapias alternativas para várias doenças vem aumentando. Produtos apícolas estão entre os produtos naturais investigados por conta de suas propriedades curativas e também pelo alto conteúdo de moléculas bioativas (MARTINELLO, 2021).

Estes são os primeiros resultados que evidenciam a composição química e as capacidades antioxidante e anti-inflamatória do cerume de *Geotrigona*. O cerume é um produto apícola promissor por apresentar uma composição química complexa, atribuída à própolis a ele misturada, sendo este segundo produto composto por compostos fenólicos, ácidos aromáticos, álcoois, terpenos, açúcares, dentre outros (CAMPOS *et al.*, 2015b). Nas últimas décadas houve um aumento expressivo nas publicações referente as propriedades biológicas do cerume de abelhas sem ferrão, sendo descritas a propriedade anticâncer de outro gênero, a espécie *Tetragonula laeviceps* (NUGITRANGSON, 2016).

O cerume de *Geotrigona* sp., neste estudo, apresentou em sua composição química a presença de compostos fenólicos e uma pequena parcela de flavonoides. O cerume de abelhas africanas sem ferrão *Meliponula ferruginea* também já foram estudados pela presença desses compostos em sua composição química (POPOVA *et al.*, 2021).

A composição química do cerume é responsável por suas atividades biológicas, isto porque apresenta compostos fenólicos em sua estruturação. Compostos fenólicos são moléculas com grupos hidroxila (OH) em sua estrutura e estes atuam na neutralização de espécies reativas de oxigênio (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004), auxiliando na prevenção de doenças culminadas pelo estresse oxidativo e o acometimento de inflamação crônica. A inflamação crônica é, muitas vezes, iniciada a partir da grande quantidade destas espécies reativas no local da inflamação (GERALDO & ALFENAS, 2008).

A partir da presença de compostos fenólicos, as propriedades antioxidantes do EEG foram avaliadas pela sua capacidade de eliminar os radicais livres e proteger contra danos oxidativos causados por espécies reativas. A atuação dos sistemas

antioxidantes e o consumo de produtos com potencial antioxidante é essencial para a neutralização de radicais livres e, entre esses compostos, estão os compostos fenólicos (SANTOS *et al.*, 2016). Assim, foram realizadas avaliações *in vitro* da atividade antioxidante contra radicais livres DPPH e ABTS em diferentes concentrações, além da avaliação da inibição da hemólise oxidativa e da peroxidação lipídica do EECG em eritrócitos humanos.

O EECG exibiu atividade antioxidante, ação anti-hemolítica em baixas concentrações e ação protetora contra peroxidação lipídica na presença de um agente oxidante, o AAPH. Esse resultado se deve pela presença de compostos fenólicos em sua composição, no qual já foram relatados como capazes de neutralizar contra o radical  $\text{OH}^\cdot$  a partir da doação de um átomo de  $\text{H}^+$  de um de seus grupos hidroxila (KUREK-GÓRECKA *et al.*, 2014). Além disso, esses compostos agem como inibidores da hemólise em situações de estresse oxidativo, visto que, ao neutralizarem radicais livres, estes não atuam sobre os lipídios da membrana das hemácias e inibem então a sua lise (VALENTE *et al.*, 2011). A ação antioxidante de compostos fenólicos depende do número presente de grupos hidroxila em suas moléculas químicas (CERQUEIRA *et al.*, 2007). Outro possível mecanismo de ação, descrito por Silva *et al.* (2011), relata que compostos fenólicos são capazes de neutralizar os radicais peroxila, principais radicais que culminam no início da peroxidação lipídica, produzidos pela decomposição térmica do AAPH. Estes radicais atuam antes da ação sobre os compostos lipídicos das membranas dos eritrócitos, interrompendo a reação em cadeia dos radicais livres, inibindo a peroxidação lipídica e consequentemente a hemólise (SILVA *et al.*, 2011). Os flavonoides, uma classe de compostos fenólicos, no qual foram quantificados no cerume de *Geotrigona*, já foram descritos como capazes de reduzir a hemólise e peroxidação lipídica induzida por AAPH, através da doação de elétrons e anular a ação de radicais livres (PASQUINI-NETTO *et al.*, 2012).

Além disso, a proteção contra danos aos sistemas lipídicos e a membrana dos eritrócitos pode se relacionar com o aumento da atividade de enzimas antioxidantes presentes, como a glutathione peroxidase, que atua contra peróxidos de origem orgânica através de uma reação de oxidação da molécula de glutathione (COTINGUIBA *et al.*, 2013), que é sintetizada em grande quantidade pelos eritrócitos em condições de alta concentração de oxigênio (PINTO, 2010). Compostos fenólicos já foram descritos como capazes de atuar na eliminação de radicais livres e também aumentam

a atividade da superóxido dismutase e da glutathione peroxidase, além de poderem atuar neutralizando os radicais livres de forma isolada (XIA *et al.*, 2017).

A propriedade antioxidante de um produto pode auxiliar na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (BARBOSA, *et al.*, 2010). A produção excessiva desses radicais pode causar lesões e danos nas macromoléculas, como a oxidação de ácidos graxos, DNA e proteínas (COTINGUIBA, *et al.*, 2013; PREVEDELLO & COMACHIO, 2021). A partir desta afirmação, os resultados expressos pelo EECG em sua capacidade de inibir a hemólise oxidativa e diminuir a formação de MDA foram expressivos neste sentido, visto que esta inibição pode prevenir o aparecimento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como o câncer, doenças cardiovasculares e distúrbios neurológicos (doença de Alzheimer, Parkinson e Huntington).

Ainda, analisamos a ação do cerume de inibir o processo inflamatório iniciado a partir da degradação do ácido hialurônico pela enzima hialuronidase, visto que este substrato em baixo peso molecular possibilita o início de um processo inflamatório. Nos últimos anos, as hialuronidases permitiram o aumento da preocupação científica por sua capacidade de alterar abruptamente a homeostase do ácido hialurônico. As hialuronidases degradam o ácido hialurônico, em fragmentos através da hidrólise das ligações da molécula (SILVA, 2007). Quando os fragmentos se manifestam em forma de polímero, exibem propriedades anti-inflamatórias (LITWINIUK *et al.*, 2016), no entanto, quando são de baixo peso molecular, podem estimular a expressão de genes pró-inflamatórios e citocinas (RAYAHIN *et al.*, 2015), acometendo muitas condições fisiopatológicas (GIRISH *et al.*, 2009), dentre elas o câncer (KAUL *et al.*, 2021). O metabolismo de ácido hialurônico é um fator crítico na tumorigênese, invasão e metástase de células cancerosas (KAUL *et al.*, 2021).

A inflamação é o processo no qual ocorre o recrutamento de leucócitos e proteínas plasmáticas do sangue, no qual se acumulam nos tecidos e são ativados para a destruição de agentes invasores (ABBAS *et al.*, 2015). É uma resposta biológica que, quando ativada, atua na restauração da lesão de tecido, como células e moléculas afetadas por radicais livres (CRUNIVEL *et al.*, 2010). Hialuronidases, como a 1 e 2 são superexpressas em tumores de pacientes com câncer de próstata, câncer de bexiga e melanoma, contudo, a subexpressão destas enzimas pode levar a pior mortalidade em cânceres de pâncreas, ovário e endometrial, indicando que os

efeitos desadaptativos das hialuronidasas no câncer podem variar dependendo do tecido específico em que o câncer surge (KAUL *et al.*, 2021).

Por esse motivo, produtos naturais têm sido objeto de estudos para o desenvolvimento de novos anti-inflamatórios. A própolis adicionada ao cerume tem sido utilizada na medicina popular em prevenção de doenças inflamatórias, mesmo sendo desconhecidos os componentes que exibem esta atividade (CAMPOS *et al.*, 2015b). Neste estudo, foi observado que o cerume de *Geotrigona* sp. possui atividade anti-inflamatória através do método indireto de inibição da enzima hialuronidase.

Atualmente, terapias alternativas utilizam hialuronidasas como ingrediente principal ou secundário para o tratamento de diversas doenças, no entanto, os estudos da utilização desta enzima como uma terapia para o câncer ainda estão em andamento (KAUL *et al.*, 2021). Além disso, existem os inibidores de hialuronidase, que são reguladores potentes que mantêm a homeostase do ácido hialurônico e podem servir como agentes anti-inflamatórios (GIRISH *et al.*, 2009). A partir de estudos recentes, sabe-se que compostos fenólicos são importantes agentes anti-inflamatórios porque modulam a expressão de enzimas pró-inflamatórias como a óxido nítrico sintase (COSTA, *et al.*, 2012) e citocinas (MACHADO *et al.*, 2012).

Compostos fenólicos podem atuar diretamente sobre as espécies reativas de oxigênio, inibindo sua formação e sua ação, logo, inibindo o processo inflamatório e o acometimento da inflamação crônica induzida pela grande quantidade destas espécies reativas no local da inflamação (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004). Além disso, flavonoides já foram descritos por sua capacidade de reduzir a atividade da hialuronidase ao se ligar a ela, modulando a estrutura enzimática por meio de ligações hidrofóbicas e forças de caráter eletroestático (ZENG *et al.*, 2015).

Esses resultados mostraram que o cerume de abelhas sem ferrão do gênero *Geotrigona* sp. possui potencial atividade biológica. Isso indica que este produto apícola natural pode ser promissor para a prevenção, e até tratamento, de diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como já mencionadas anteriormente, câncer, doenças neurológicas e também cardiovasculares.

## 8. CONCLUSÕES

Este estudo abordou os primeiros resultados sobre a atividade antioxidante e anti-inflamatória do extrato etanólico de cerume de *Geotrigona* sp. Foi verificado que o EECG apresentou atividade antioxidante. Além disso, foi observado um potencial anti-inflamatório apresentado pelo extrato. Estes resultados afirmam que o cerume de *Geotrigona* sp. é um agente terapêutico promissor em doenças causadas pelo estresse oxidativo e inflamatórias, como câncer, doenças cardiovasculares e também degenerativas. Portanto, é importante ressaltar que estudos bioprospectivos que aproveitem a biodiversidade são amplamente necessários, visto que produtos naturais são alternativas muito utilizadas no tratamento de diversas doenças, destacando a importância da conservação destas espécies.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A. K.; Lichtman, A. H.; Pillai, S., 2015. **Imunologia Básica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier.

Al- Hatamleh, M.; Boer, J. C.; Wilson, K. L.; Plebanski, M.; Mohamud, R.; Mustafa, M. Z., 2020. Antioxidant-Based Medicinal Properties of Stingless Bee Products: Recent Progress and Future Directions. **Biomolecules**, 10. 923. DOI:10.3390/biom10060923

Alencar, S.M.; Oldoni, T. L. C.; Castro, M. L.; Cabral, I. S. R.; Costa-Neto, C. M.; Cury, J. A.; Rosalen, P. L.; Ikegaki, M. M., 2007. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, 113. 278–283. DOI: 10.1016/j.jep.2007.06.005

Altamore, A.; Baron, G.; Gianazza, E.; Banfi, C.; Carini, M., 2021. Lipid peroxidation derived reactive carbonyl species in free and conjugated forms as an index of lipid peroxidation: limits and perspectives. **Redox Biology**. 42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101899>

André-Lévigne, D.; Modarressi, A.; Pepper, M.S.; Pittet-Cuénod, B., 2017. Reactive Oxygen Species and NOX Enzymes Are Emerging as Key Players in Cutaneous Wound Repair. **International Journal Molecular Science**, 18. 1-28. DOI: 10.3390/ijms18102149

Andrisic, L.; Dudzika, D.; Barbasa, C.; Milkovic, L.; Grune, T.; Zarkovic, N., 2018. Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. **Redox Biology**, 10. 47-58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.08.009>

Apak, R., 2019. Current Issues in Antioxidant Measurement. **J. Agric. Food Chem**, 67. 9187–9202. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b03657

Archela, E.; Dall'Antonia, L. H., 2013. Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**. Londrina, v. 34, n. 2. 193-210. DOI: 10.5433/1679-0375.2013v34n2p193

Ashokkumar, P.; Sudhandiran, G., 2008. Protective role of luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. Vol.62(9), 590-597. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2008.06.031>

Ayala, A.; Muñoz, M. F.; Arguelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. Hindawi, **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 31p. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>

Barbosa, K. B. F.; Costa, N. M. B.; Alfenas, R. de C. G.; De Paula, S. O.; Minim, V. P. R.; Bressan, J., 2010. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Rev. Nutr.**, 23 no.4. Campinas: July/Aug. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>

Barлак, Y.; Değer, O.; Çolak, M.; Karatay, S. C.; Bozday, A. M.; Yucesan, F., 2011. Effect of Turkish propolis extracts on proteome of prostate cancer cell line. **Proteome Science**, 9. 1 – 11.

Barreiros, A. S. B.; David, J. M.; David J. P., 2015. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29(1), 113-123.

Belina-Aldemita, M. D.; Schreiner, M.; D'Amico, S., 2020. Characterization of phenolic compounds and antioxidative potential of pot-pollen produced by stingless bees (*Tetragonula biroi* Friese) from the Philippines. *J Food Biochem*. Vol. 4(1). DOI: 10.1111/jfbc.13102. Epub 2019 Nov 24.

Bonamigo, T.; Campos, J. F.; Alfredo, T. M.; Balestieri, J. B.; Cardoso, C. A.; Paredes-Gamero, E. J.; de Picoli Souza, K.; Dos Santos, E. L., 2017. Atividades antioxidantes, citotóxicas e tóxicas da própolis de duas abelhas nativas no Brasil: *Scaptotrigona depilis* e *Melipona quadrifasciata anthidioides*. *Oxid. Med. Célula. Longev.*

Brodkiewicz, Y.; Marcinkevicius, K.; Reynoso, M.; Salomon, V.; Maldonado, L.; Vera, N., 2018. Estudos dos efeitos biológicos e terapêuticos da própolis de abelha sem ferrão argentina. *J. Drug Deliv. Ther.* Vol.8 , 382–392.

Burgos, R. A.; Alarcón, P.; Quiroga, J.; Manosalva, C.; Hancke, J., 2021. Andrographolide, an Anti-Inflammatory Multitarget Drug: All Roads Lead to Cellular Metabolism. *Molecules*, 26. 5. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26010005>.

Burton, G. J.; Jauniaux, E., 2011. Oxidative Stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, 25. 3, June, 287-299. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016>

Camargo, J. M. F.; Moure, J. S., 1996. Meliponini neotropicais: o gênero *Geotrigona* Moure. *Arq. Zool.* 33(3):95-161.

Camargo, J. M. F.; Pedro, S. R. M., 2007. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure J. S.; Urban, D.; Melo, G. A. R. (Eds). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Sociedade Brasileira de Entomologia, Curitiba, Brazil, 272–578. <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>

Camargo, J. M. F.; Pedro, S. R. M.; 2012. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S.; Urban, D.; Melo, G. A. R., (Orgs). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**, URL <http://moure.cria.org.br/catalogue>

Campos, J. F., *et al.*, 2015 (a). Atividade antioxidante e citotóxica do cerume de *Geotrigona* sp. (Hymenoptera, Apidae) da província de Manabí, Equador. **II ENEPEX - Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Dourados – MS

Campos, J. F.; dos Santos, U. P.; Macorini, L. F. B; Mestriner, A. M.; Balestieri, J. B. P.; Paredes-Gamero, E. J.; Cardoso, C. A. L.; de Picoli Souza, K.; dos Santos, E. L., 2014. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). *Food and Chemical Toxicology*. 65, 374- 380.

Campos, J. F.; Santos, U. P. dos.; Rocha, P. dos. S.; Damião, M. J.; Balestieri, J. B. P.; Cardoso, C. A. L.; Paredes-Gamero, E. J.; Estevinho, L. M.; De Picoli Souza, K.; Santos, E. L. dos., 2015 (b). Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigii* (Jataí). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 11 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/296186>

- Cerqueira, F. M.; Medeiros, M. H. G. de.; Augusto, O., 2007. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quím. Nova**. Vol. 30(2). DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200036>.
- Chalton. A.; Garzarella, J.; Jandeleit-Dahm, K. A. M.; Jha, J. C., 2021. Estresse oxidativo e inflamação nas complicações renais e cardiovasculares do diabetes. **Biology**, 10(1), 18. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10010018>
- Chatterjee, S., 2016. Chapter Two - Oxidative Stress, Inflammation, and Disease. **Oxidative Stress and Biomaterials**. Vol.2016. 35-58. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803269-5.00002-4>
- Choudhari, M. K.; Haghniaz, R.; Rajwade, J. M.; Paknikar, K. M., 2013. Atividade anticâncer da própolis de abelha sem ferrão da Índia: um estudo in vitro. Evid. Complemento baseado. **Altern. Med.**
- Costa, G.; Francisco, V.; Lopes, M. C.; Cruz, M. T.; Batista, M. T., 2012. Intracellular signaling pathways modulated by phenolic compounds: application for new anti-inflammatory drugs discovery. **Curr Med Chem**. Vol.19(18), 2876-900. DOI: 10.2174/092986712800672049.
- Cotinguiba, G. G.; Silva, J. R. do N.; Azevedo, R. R. de S.; Rocha, T. J. M.; Santos, A. F. dos., 2013. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**. Vol. 15(3), 231-7.
- Coutinho, M. A. S.; Muzitano, M. F.; Costa, S. S., 2009. Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório. **Rev. Virtual Quim**. Vol 1(3).241-256.
- Cruvinel, W. de. M.; Júnior, D. M.; Araújo, J. A. P.; Catelan, T. T. T.; Souza, A. W. S. de.; Silva, N. P.; Andrade, L. E. C., 2010. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Rev. Bras. Reumatol**. Vol. 50 (4). DOI: <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>
- Dantas Silva R. P.; Machado, B. A. S.; Barreto, G. de A.; Costa, S. S.; Andrade, L. N.; Amaral, R. G.; Carvalho, A. A.; Padilha, F. F.; Barbosa, J. D. V.; Umsza-Guez, M. A., 2017. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis. **Plos One**, 12. n.3. DOI: 10.1371/journal.pone.0172585
- Day, B. J., 2009. Catalase and glutathione peroxidase mimics. **Biochem Pharmacol**. Vol. 77(3), 285–296. DOI: [doi:10.1016/j.bcp.2008.09.029](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.09.029)
- de Farias, J. H.; Reis, A. S.; Araujo, M. A.; Araujo, M. J.; Assuncao, A. K.; de Farias, J. C.; Fialho, E. M.; Silva, L. A.; Costa, G. C.; Guerra, R. N.; *et al.*, 2014. Efeitos da própolis de abelha sem ferrão na asma experimental. Evid. Complemento baseado. **Altern. Med.**
- Degáspari, C. h.; Waszczynskyj, N., 2004. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**. Vol. 5 (1). 33-40.
- Del Prado-Audelo, M. L.; Cortés, H.; Caballero-Florán, I.; Gonzáles-Torres, M.; Escutia-Guadarrama, L.; Bernal- Chávez, S. A.; Giraldo-Gomez, D. M.; Magaña, J. J., Levya-Gómez, G., 2021. Therapeutic Applications of Terpenes on Inflammatory Diseases. **Front Pharmacol**. Vol. 12: 704197. DOI: 10.3389/fphar.2021.704197.

Del Ré, P. V.; Jorge, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. bras. plantas med.** Vol. 14 (2). DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000200021>

Delves, P. J.; Martin, S. J.; Burton, D. R.; Roitt, I. M., 2018. **Fundamentos de Imunologia**. 13ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA.

Dinarello, C. A., 2010. Anti-inflammatory agents: present and future. **Cell**, 140. 935–950. DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.043

Dutra, R. P.; Abreu, B. V.; Cunha, M. S.; Batista, M. C.; Torres, L. M.; Nascimento, F. R.; Ribeiro, M. N.; Guerra, R. N., 2014. Ácidos fenólicos, taninos hidrolisáveis e atividade antioxidante da geoprópolis da abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* Smith. **J. Agric. Food Chem.** Vol.62 , 2549–2557.

Ely, L. S.; Engroff, P.; Guiselli, S. R.; Cardoso, G. C.; Morrone, F. B.; Carli, G. A. de., 2015. Uso de anti-inflamatórios e analgésicos por uma população de idosos atendida na Estratégia Saúde da Família. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.**, Rio de Janeiro. 18(3): 475-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-9823.2015.14141>

Farhoosh, R., 2021. Critical kinetic parameters and rate constants representing lipid peroxidation as affected by temperature. **Food Chemistry**, 340. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128137>

Ferreira, M. N.; Ballester, W. C.; Dorval, A.; Costa, R. B., 2010. Conhecimento tradicional dos Kaiabi sobre abelhas sem ferrão no Parque Indígena do Xingu, Mato Grosso, Brasil. **Tellus**, 10(19): 129–144. DOI: <https://doi.org/10.20435/tellus.v0i19.212>

Franchin, M.; da Cunha, M. G.; Denny, C.; Napimoga, M. H.; Cunha, T. M.; Koo, H.; de Alencar, S. M.; Ikegaki, M.; Rosalen, P. L., 2012. Geopropolis de *Melipona scutellaris* diminui a hipernocicepção inflamatória mecânica ao inibir a produção de IL-1beta e TNF-alfa. **J. Ethnopharmacol.** Vol.142. 709–715.

Frankenberger, L. Terpenos de oleoresina de *Cola nitida* (vent.) Schott & Endl. (Malvaceae): Caracterização, semissíntese, avaliação antiprotozoária e anti-inflamatória in vitro. 2017. 136p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

Geraldo, J. M.; Alfenas, R. de C. G., 2008. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica: evidências atuais. **Arq Bras Endocrinol Metab.** Vol. 52 (6).

Giovannini, C.; Filesi, C.; D'Archivio, M.; Scazzochio, B.; Santangelo, C.; Masella, R., 2006. [Polyphenols and endogenous antioxidant defences: effects on glutathione and glutathione related enzymes]. **Ann Ist Super Sanita.** Vol. 42(3), 336-47.

Girish, S. K.; Kemparaju, K.; Nagaraju, S., Vishwanath S. B., 2009. Hyaluronidase Inhibitors: A Biological and Therapeutic Perspective. **Current Medicinal Chemistry.** Vol.16 (18). DOI: <https://doi.org/10.2174/092986709788453078>

Gonzalez, V. H.; Engel, M. S., 2012. A new species of *Geotrigona* Moure from the Caribbean coast of Colombia (Hymenoptera, Apidae). **ZooKeys**, 172.77-87. DOI: <http://dx.doi.org/10.3897/zookeys.172.2735>

Gonzalez-Burgos, E.; Gomez-Serranillos, M. P., 2012. Compostos de terpeno na natureza: uma revisão de sua atividade antioxidante potencial. **Curr. Med. Chem.** Vol.19, 5319–5341. DOI: 10.2174 / 092986712803833335

Grossman, S. C.; Porth, C. M., 2019. **Fisiopatologia**. 9ª edição – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Gupta, D.; Gupta, R., 2011. Bioprotective properties of Dragon's blood resin: in vitro evaluation of antioxidante activity and antimicrobial activity. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 11. 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-13>

Hamilton, K. D.; Brooks, P. R.; Ogbourne, S. M., Russell, F. D., 2017. Natural products isolated from *Tetragonula carbonaria* cerumen modulate free radicalscavenging and 5-lipoxygenase activities in vitro. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 17. 232, 1-8. DOI: 10.1186/s12906-017-1748-6

Huo, M.; Cui, X.; Xue, J.; Chi, G.; Gao, R.; Deng, X., 2013. Efeitos anti-inflamatórios do linalol em macrófagos RAW 264.7 e modelo de lesão pulmonar induzida por lipopolissacarídeo. **J. Surg. Res.** Vol. 180, e47 – e54. DOI: 10.1016 / j.jss.2012.10.050

Inui, S; Hosoya, T.; Sato, H.; Kumazawa, S., 2021. Phytochemical and anti-inflammatory properties of Senegalese própolis and isolated compounds. **Fitoterapia**, 151. 104861. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.104861>

Jhundoo, H. D.; Siefen, T.; Liang, A.; Schmidt, C.; Lokhnauth, J.; Moulari, B.; Béduneau, A.; Pellequer, Y.; Larsen, C. C.; Lamprecht, A., 2021. Anti-inflammatory effects of acacia and guar gum in 5-amino salicylic acid formulations in experimental colitis. **International Journal of Pharmaceutics**: X, Vol.3, 100080. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2021.100080>.

Jomova, K.; Valko, M., 2011. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology** 10. Vol. 283(2-3). 65-87. DOI: 10.1016/j.tox.2011.03.001.

Kaul, A.; Short, W. D.; Wang, X.; Keswani, S. G., 2021. Hyaluronidases in Human Diseases. **Int. J. Mol. Sci.** Vol.22. 3204. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22063204>

Kim, T.; Song, B.; Cho, K. S.; Lee, I. S., 2020. Potencial terapêutico de terpenos voláteis e terpenóides de florestas para doenças inflamatórias. **Int. J. Mol. Sci.** Vol. 21, 2187. DOI: 10.3390 / ijms21062187

Kucuksezer, U. C.; Cetin, E. A.; Esen, F.; Tahralli, I.; Akdeniz, N.; Gelmez, M. Y.; Deniz, G., 2021. O papel das células assassinas naturais nas doenças autoimunes. **Front Immunol.**2021.12: 622306. DOI: 10.3389 / fimmu.2021.622306

Kurek-Gorecka, A.; Rzepecka-Stojko, A.; Gorecki, M.; Stojko, J.; Sosada, M.; Swierczek-Zieba, G., 2014. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. **Molecules**. 19, 78 – 101. DOI: [10.3390/molecules19010078](https://doi.org/10.3390/molecules19010078)

Kustiawan, P. M.; Puthong, S.; Arung, E. T.; Chanchao, C., 2014. Citotoxicidade in vitro de produtos de abelhas sem ferrão da Indonésia contra linhas de células de câncer humano. **Asian Pac. J. Trop. Biomédico**. Vol.4, 549–556

Lahlou, M., 2013. The Success of Natural Products in Drug Discovery. **Pharmacology & Pharmacy**. 4, 17-31. DOI: 10.4236 / pp.2013.43A003

- Lazarino, L. da. C.; Brito, M. G.; Affonso, P. R. A. de. M.; Carmo, I. E. do.; Sá Neto, R. J. de.; Waldschmidt, A. M., 2021. Meliponicultura: potencialidades e limitações para a conservação de abelhas nativas e redução da pobreza. **Diversitas Journal**. Vol. 6 (2). 2217-2236. DOI: 10.17648/diversitas-journal-v6i2-1312
- Leja, M.; Mareczek, A.; Wyzgolik, G.; Klepacz-Baniak, J.; Czekonka, K., 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**. Vol. 100, 237–240. DOI: doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.047
- Li, F.; Zhang, J.; Lin, M.; Su, X.; Li, C.; Wang, H., 2019) Terpenos antiinflamatórios de *Schefflera Rubriflora* CJ Tseng & G. Hoo com suas atividades inibitórias de TNF- $\alpha$  e IL-6. **Phytochemistry**. Vol. 163, 23-32. DOI: 10.1016 / j.phytochem.2019.03.021
- Liberio, S. A.; Pereira, A. L. A.; Dutra, R. P.; Reis, A. S.; Araújo, M. J. A. M.; Mattar, N. S.; Silva, L. A.; Ribeiro, M. N.; Nascimento, F. R.; Guerra, R. N.; Monteiro-Neto, V., 2011. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by stingless bees *Melipona fasciculata* Smith. **BMC Complementary Altern. Med**. Vol 11. 1-10.
- Liguori, I.; Russo, G.; Curcio, F.; Bulli, G.; Aran, L.; Della-Morte, D.; Gargiulo, G.; Testa, G.; Cacciatore, F.; Bonaduce, D.; Abete, P., 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**. 13: 757–772. DOI: 10.2147/CIA.S158513
- Lima, E. S.; Abdalla, D. S. P., 2001. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol. 37(3).
- Litwiniuk, M.; Krejner, A.; Speyrer, M. S.; Gauto, A. R.; Grzela, T., 2016. Hyaluronic acid in inflammation and tissue regeneration. **Wounds**. Vol. 28 (3), 78- 88.
- Liu, W.; Shi, L.; Li, S.. 2019. The Immunomodulatory Effect of Alpha-Lipoic Acid in Autoimmune Diseases. **BioMed Research International**. 11p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/8086257>
- Lopes, A. J. O.; Vasconcelos, C. C.; Pereira, F. A. N.; Silva, R. H. M.; Queiroz, P.; Fernandes, C. V.; Garcia, J. B. S.; Ramos, R. M.; Rocha, C. Q. D.; Lima, S.; *et al.*, 2019. Atividade antiinflamatória e antinociceptiva do extrato de pólen coletado por *Melipona fasciculata* de abelha sem ferrão. **Int. J. Mol. Sci**. Vol.20 , 4512.
- Lopes, A. J. O.; Vasconcelos, C. C.; Garcia, J. B. S.; Doria Pinheiro, M. S.; Pereira, F. A. N; Camelo, D. S.; Moraes, S. V.; Freitas, J. R. B.; Rocha, C. Q. D.; de Sousa Ribeiro, M. N.; *et al.*, 2020. Atividade antiinflamatória e antioxidante do extrato de pólen coletado por *Scaptotrigona affinis postica*: estudos in silico, in vitro e in vivo. **Antioxidants**. Vol. 9. p103.
- Luz, H. K. M.; Wanderley, L. S.; Faustino, L. R.; Manoel, C., 2011. Papel de agentes antioxidantes na criopreservação de células germinativas e embriões. **Acta Scientiae Veterinariae**. 39(2): 956.
- Ma, Y.; Chen, H.; He, X.; Nie, H.; Hong, Y.; Sheng, C.; Wang, Q. Xia, W.; Wing, W., 2012. NAD<sup>+</sup> Metabolism and NAD<sup>+</sup> -Dependent Enzymes: Promising Therapeutic Targets for Neurological Diseases. **Current Drug Targets**. Vol.13. 222-229
- Machado, J. L.; Assunção, A. K. M.; Silva, M. C. P. da.; Reis, A. S. dos.; Costa, G. C.; Arruda, D. de. S.; Rocha, B. A.; Vaz, M. M. de O. L. L., Paes, A. M. de A.; Guerra,

R. N. M.; Berretta, A. A.; Nascimento, F. R. F. do., 2012. Brazilian Green Propolis: Anti-Inflammatory Property by an Immunomodulatory Activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 10p. DOI: doi:10.1155/2012/157652

Mafra, D.; Abdalla, D. S. P.; Cozzolino, S. M. F., 1999. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. **Rev. Nutr.**: Campinas, 12(3): 205-212, set./dez.

Manrique, A. J.; Santana, W. C., 2008. Flavonóides, atividades antibacteriana e antioxidante da própolis de abelhas sem ferrão, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* e *Nannotrigona* sp. do Brasil e da Venezuela. **Zootec. Trop**. Vol. 26. 157-166.

Marcopoulos, V.; Bruning, T.; Schulze-Osthoff, K., 1996. Selenium-mediated inhibition of transcription factor NF- $\kappa$ B and HIV-1 LTR promoter activity. **Archives of Toxicology**. 70, 277–283.

Marnett, L. J., 1999. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**. Vol. 424 (1-2). 83-95. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00010-X](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00010-X)

Martelli, F.; Nunes, F. M. F., 2014. Radicais livres: em busca do equilíbrio. *Cienc. Cult.* vol.66 no.3 São Paulo Sept. DOI: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>

Martins, S. M., 2020. Morte por Câncer e Doença Cardiovascular entre Dois Brasis. *Arq. Bras. Cardiol*. Vol.114 (2). DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20200017>

Martinello, M.; Mutinelli, F., 2021. Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. **Antioxidants** 10 (1): 71. DOI: 10.3390 / antiox10010071

Massaro, C. F.; Brooks, P. R.; Wallace, H. M.; Russell, F. D., 2011. Cerumen of Australian stingless bees (*Tetragonula carbonaria*): gas chromatography-mass spectrometry fingerprints and potential anti-inflammatory properties. **Naturwissenschaften**. 98, 329– 337. DOI: 10.1007/s00114-011-0770-7

Meda, A.; Lamien, C.E.; Romito, M.; Millogo, J.; Nacoulma, O.G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chem**. Vol. 91, 571–577.

Mendonça, M. A. A.; Ribeiro, A. R. S.; De Lima, A. K.; Bezerra, G. B.; Pinheiro, M. S.; De Albuquerque-Junior, R, L. C.; Gomes, M. Z.; Padilha, F. F.; Thomazzi, S. M.; Novellino, E.; Santini, A.; Severino, P. Souto, E. B.; Cardoso, J. C., 2020. Red Propolis and Its Dyslipidemic Regulator Formononetin: Evaluation of Antioxidant Activity and Gastroprotective Effects in Rat Model of Gastric Ulcer. **Nutrients**. 12: 2951; doi:10.3390/nu12102951.

Michener, C. D., 2007. *The Bees of the World*. Baltimore, The Johns Hopkins.

Miyata, Y.; Matsuo, T.; Sagara, Y.; Ohba, K.; Ohyama, K.; Sakai, H., 2017. A Mini-view of Reactive Oxygen Species in Urological Cancer: Correlation with NADPH Oxidases, Angiogenesis, and Apoptosis. **International Journal Molecular Science**. 18, 1-21. DOI: 10.3390/ijms18102214

- Moure, J. S. Camargo, J. M. F., 1991. *Geotrigona inusitata*, uma nova espécie de Meliponinae do Sudeste do Brasil (Hymenoptera: Apidae). **Acta Biol.Par.**, Curitiba, 20 (1,2,3,4): 53-59.
- Murphy, K., 2014. **Imunobiologia de Janeway**. 8ª ed. Artmed: Porto Alegre.
- Naranjo, F. H. C.; Santana, P. S.; González Hernandez, A.; Fabre Pi, O.; Sosa-Henríquez, M., 202. Uricemia como factor pronóstico de ictus isquêmico agudo. **Neurologia**. 36, 279-284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2018.01.012>
- Nayan, N. S.; Yazid, M. A. M.; Nallapan, K.; Amran, A. A.; Zaidi, N. S.; Zakaria, F.; Hassan, H.; Karim, N. A., 2020. In Vitro Modulation of Endogenous Antioxidant Enzyme Activities and Oxidative Stress in Autism Lymphoblastoid Cell Line (ALCL) by Stingless Bee Honey Treatment. **Hindawi. Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 7p.
- Nelson, D. L.; Cox, M. M., 2018. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Saraiva Pereira. Porto Alegre: Artmed.
- Nogueira-Neto, P., 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Editora Nogueirapis. 1 – 445.
- Nugitrangson, P.; Puthong, S.; Iempridee, T.; Pimtong, W.; Pornpakakul, S.; Chanchao, C., 2016. In vitro and in vivo characterization of the anticancer activity of Thai stingless bee (*Tetragonula laeviceps*) cerumen. **Exp. Biol. Med.** 241, 166–176. DOI: <https://doi.org/10.1177/1535370215600102>
- Omar, W. A. W.; Azhar, N. A.; Fadzilah, N. H.; Kamal, N. N. S. N. M., 2016. O extrato de pólen de abelha da abelha sem ferrão da Malásia aumenta o efeito da cisplatina em linhas de células de câncer de mama. **Asian Pac. J. Trop. Biomédico**. Vol. 6, 265–269.
- Paludo, C. R.; Pishchany, G.; Andrade-Dominguez, A.; Silva-Junior, E. A.; Menezes, C.; Nascimento, F. S.; Currie, C. R.; Kolter, R.; Clardy, J.; Pupo, M. T., 2019. Microbial community modulates growth of symbiotic fungus required for stingless bee metamorphosis. **PLoS ONE**. 14. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219696>
- Park, H. W.; Park, C. G.; Park, M.; Lee, S. H.; Park, H. R., 2020. Intrastratial administration of coenzyme Q10 enhances neuroprotection in a Parkinson's disease rat model. *Sci Rep*. 10, 9572. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66493-w>
- Pasquini-Netto, H.; Manente, F. A.; Moura, E.L.; Regasini, L. O.; Pinto, M. E. F.; Bolzani, V. S.; Oliveira, O. M. M. F.; Velloso, J. C. R., 2012. Avaliação das atividades antioxidante, anti e pró-hemolítica do extrato etanólico das folhas de *Pterogyne nitens* Tul. (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Rev. Bras. Pl. Med.** Vol.14, n.4, p.666-672, 2012.
- Pascoal, A.; Rodrigues, S.; Teixeira, A.; Féas, X.; Estevinho, L. M., 2014. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. **Food and Chemical Toxicol.** Vol. 63. 233-239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.010>
- Patricio E. F.; Cruz-Lopez, L.; Maile, R.; Tentschert, J.; Jones, G. R.; Morgan, E. D., 2002. The propolis of stingless bees: terpenes from the tibia of three *Frieseomelitta* species. **J Insect Physiol.** 48:249–254. DOI: 10.1016 / s0022-1910 (01) 00170-6

Pereira, F. de M.; Souza, B. de A.; Lopes, M. T. do R., 2017. **Criação de abelhas-sem-ferrão**. EMBRAPA.

Pereira, J. C.; Martins, A. B.; Rocha, M. C. F.; Júnior, S. M. C.; Feitosa, C. M., 2021. Espécies medicinais do Brasil com potencial anti-inflamatório ou antioxidante: Uma revisão. **Research, Society and Development**. Vol. 10, n. 7. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16196>

PINTO, C. F. **Avaliação do estado oxidante/antioxidante e defesa eritrocitária antioxidante em felinos com linfoma**. Orientador: Silvia Regina Ricci Lucas. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Popova, M.; Gerginova, D.; Trusheva, B.; Simova, S.; Tamfu, A. N.; Ceylan, O.; Clark, K.; Bankova, V., 2021. A Preliminary Study of Chemical Profiles of Honey, Cerumen, and Propolis of the African Stingless Bee *Meliponula ferrugínea*. **Foods** **2021**. Vol. 10(5), 997. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10050997>

Poulsen, H. E. 2016. Are there oxidative stress diseases? **Free Radical Biology and Medicine**. 96 S21–S31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.179>

Prado, M. R. M.; Boller, C.; Zibetti, R. G. M.; Souza, D. de.; Pedroso, L. L.; Soccol, C. R., 2016. Anti-inflammatory and angiogenic activity of polysaccharide extract obtained from Tibetan kefir. **Microvascular Research**. 108, 29-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2016.07.004>.

Prevedello, M. T.; Comachio, G., 2021. Antioxidantes e sua relação com os radicais livres, e Doenças Crônicas Não Transmissíveis: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**. Vol. 7 (6). 55244-55285. DOI: 10.34117/bjdv7n6-096

Punchard, N. A.; Whelan, C. J.; Adcock, I., 2004. The Journal of Inflammation. Journal of Inflammation: **BioMed Central**. DOI: :10.1186/1476-9255-1-1

Ramana, K. V.; Srivastava, S.; Singhal, S. S., 2017. Lipid Peroxidation Products in Human Health and Disease 2016. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2017/2163285>

Rayahin, J. E.; Buhrman, J. S.; Zhang, Y.; Koh, T. J.; Gemeinhart, R. A., 2015 High and low molecular weight hyaluronic acid differentially influence macrophage activation. **ACS Biomaterials Science & Engineering**. Vol.1 (7), 481-493

Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231–1237. DOI: 10.1016 / s0891-5849 (98) 00315-3

Reuter, S.; Gupta, S. C.; Chaturvedi, M. M.; Aggarwal, B. B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**. Vol.49 (11). 1603-1616. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>

Rivera-Yañez, N.; Rivera-Yañez, R.; Pozo-Molina, G.; Méndez-Catalá, C. F.; Méndez-Cruz, A. R.; Nieto-Yañez, O., 2021. Biomedical Properties of Propolis on

Diverse Chronic Diseases and Its Potential Applications and Health Benefits. **Nutrients**, 13, n 78, p 78. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13010078>

Rufino, A. T.; Ribeiro, M.; Sousa, C.; Judas, F.; Salgueiro, L.; Cavaleiro, C., 2015. Avaliação dos efeitos anti-inflamatórios, anti-catabólicos e pró-anabólicos do E-cariofileno, mirceno e limoneno em um modelo celular de osteoartrite. **EUR. J. Pharmacol.** Vol. 750, 141-150. DOI: 10.1016 / j.ejphar.2015.01.018

Sabir, A.; Sumidarti, A., 2017. Expressão de interleucina-6 em tecido pulpar dentário inflamado de rato após cobertura com *Trigona* sp. própolis do sul de Sulawesi, Indonésia. **Saudi J. Biol. Sci.** Vol.24. 1034–1037.

Sánchez-López, F.; Tasset, I.; Agüera, E.; Feijóo, M.; Fernández-Bolaños, R.; Sánchez, F. M.; Ruiz, M. C.; Cruz, A. H.; Gascón, F.; Tunísia, I., 2012. Estresse oxidativo e biomarcadores de inflamação no sangue de pacientes com doença de Huntington. **Neurological research** (New York). Vol.34 (7).721-724

Santo, R. M. de S.; Santos, J. O. dos.; Medeiros, A. C. de.; Pimenta, T. A.; Lima, T. S.; Santos, J. L., 2016. A meliponicultura como atividade produtiva: Uma análise em comunidade quilombola do Sertão paraibano. **ACTA APICOLA BRASILICA**. v. 4 n. 1. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/aab.v4i1.4622>

Santos, A. B., 2010. Abelhas nativas: polinizadores em declínio. **Natureza on line**. Vol. 8 (3). 103-106.

Santos, H. F. D; Campos, J. F.; Santos, C. M. D.; Balestieri, J. B. P.; Silva, D. B.; Carollo, C. A.; de Picoli Souza, K.; Estevinho, L. M.; Dos Santos, E. L., 2017. Perfil químico e atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas e antimicrobianas de geoprópolis da abelha sem ferrão *Melipona orbignyi*. **Int. J. Mol. Sci.** Vol.18 , 953.

Santos, L. de O. dos.; Reis, M. R.; Ogava, L. E.; Leão, K. V.; Machado, L. L.; Lira, S. P. de., 2016. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes na Amburana cearenses. **The Electronic Journal of Chemistry**. Vol 8 (1), 44-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v1i1.706>

Sies, H.; Jones, D., 2007. Oxidative stress. **Encyclopedia of Stress (Second Edition)**. 45-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-012373947-6.00285-3>

Silva, A. A. da.; Gonçalves, R. C., 2010. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**: Santa Maria. 40, n.4, 994-1002.

Silva, B. M.; Santos, R. P.; Mendes, L. S.; De Pinho, P. G.; Valentão, P.; Andrade, P. B.; Pereira, J. A.; Carvalho, M., 2011. *Dracaena draco* L. fruit: Phytochemical and antioxidant activity assessment. **Food Research International**. Vol 44(7). 2182-2189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.031>

Silva, G. P. da.; **Determinação da sequência de cDNA da enzima hialuronidase do veneno de *Polybia paulista* (Hymenoptera: Vespidae)**. 2007. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências Biológicas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro – São Paulo.

Silva, J. C.; Rodrigues, S.; Feas, X.; Estevinho, L. M., 2012. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. **Food and Chemical Toxicology**. 50, 1790 – 1795. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.097>

- Silva, J. M. da; Mendonça, P. P.; Partata, A. K., 2014. Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais. **Revista Científica do ITPAC**. Vol.7 (4).
- Silva, L., 2014. Por uma leitura sociotécnica da história da criação de abelhas no Brasil: análise à luz da Social Construction of Technology (SCOT). Mosaico Social - **Revista do Curso de Ciências Sociais da UFSC**: Santa Catarina, Ano XII, n. 07.
- Simões, K.; Magosso, R. F.; Lagoeiro, C. G.; Castellan, V. T.; Silva, N. S.; Scrivante, B. F.; Qualhato, G.; Figueiredo, A. C. R.; Benetti, E. J.; Rebelo, A. C. S., 2014. Ação do licopeno nos músculos esquelético e cardíaco sob estresse oxidativo por exercícios. **Rev Bras Med Esporte**. Vol. 20 (2). DOI: <https://doi.org/10.1590/1517-86922014200201518>
- Simpson, M. A.; De la Motte, C.; Sherman, L. S.; Weigel, P. H., 2015. Advances in hyaluronan biology: Signaling, regulation, and disease mechanisms. **International Journal of Cell Biology**. Vol. 2015, 1-2.
- Singh, J. P. V.; Selvendiran, K.; Mumtaz Banu, S.; Padmavathi, R.; Sakthisekaran, D., 2004. Protective role of Apigenin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against hepatocarcinogenesis in Wistar albino rats. **Phytomedicine**. Vol 11, 309–314.
- Siti, H. N.; Kamisah, Y.; Kamsiah, J., 2015. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascular Pharmacology**. Vol.71. 40-56.
- Skrzydłewska, E.; Rusak, M.; Moniuszko, A.; Sierakowski, S.; Pancewicz, S.; Augustyniak, A., 2012. Consequences of lipid peroxidation in arthritis diseases. **Free Radical Biology and Medicine**. 53: S246. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.034](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.034)
- Souza, B. de A., 2008. Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de 115 abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) do Estado da Bahia, com ênfase na *Melipona* Illiger, 1806. Tese de Doutorado em Entomologia. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo.
- Sultan, S., 2014. Reviewing the protective role of antioxidants in oxidative stress caused by free radicals. **Asian Pacific Journal of Health Science**. 1, 401 – 406. DOI: [10.21276 / apjhs.2014.1.4.15](https://doi.org/10.21276/apjhs.2014.1.4.15)
- Tan, B. L.; Norhaizan, M. E.; Liew, W.; Rahman, H. S., 2018. Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. **Frontiers in Pharmacology**. 9, 1-28. DOI: [10.3389/fphar.2018.01162](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162)
- Terra, X.; Montagut, G.; Bustos, M.; Llopiz, N.; Ardévol, A.; Bladé, C.; Fernández-Larrea, J.; Pujadas, G.; Salvadó, J.; Arola, L.; Blay, M., 2009. Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. **J Nutr Biochem**. Vol.20(3), 210-8. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2008.02.005](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.02.005).
- Tirloni, C. A. S.; Macorini, L. F. B.; Santos, U. P. dos S.; Rocha, P. dos. S.; Barros, V. S.; Melo, A. M. M. F. de. M.; Vieira, M. do. C.; De Picoli Souza, K.; Santos, E. L. dos., 2015. Evaluation of the antioxidant activity, antimicrobial effect and acute toxicity of leaves from *Allophylus edulis* (A. St-Hil., A. Juss. Cambess &) Hieron. Ex Niederl.

**African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Vol.9. 353-362. DOI: 10.5897/AJPP2015.4270

Tourki, B.; Black, L. M.; Kain, V.; Halade, G. V., 2021. Lipoxygenase inhibitor ML351 dysregulated an innate inflammatory response leading to impaired cardiac repair in acute heart failure. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 139. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111574>

Traverso, N.; Menini, S.; Maineri, E. P.; Patriarca, S.; Odetti, P.; Cottalasso, D.; Marinari, U. M.; Pronzato, M. A, 2004. Malondialdehyde, a Lipoperoxidation-Derived Aldehyde, Can Bring About Secondary Oxidative Damage To Proteins. **The Journals of Gerontology: Series A**. Vol. 59 (9). B890–B895. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/59.9.B890>.

Tsikas, D., 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. **Analytical Biochemistry**. 524, 13-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>

Valente, M. J.; Baltazar, A. F.; Henrique, R.; Estevinho, L.; Carvalho, M., 2011. Biological activities of Portuguese propolis: Protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. **Food Chem. Toxicol.** 49, 86–92.

Vasconcelos, S. M. L.; Goulart, M. O. F.; Moura, J. B. F.; Manfredini, V.; Benfato, M. S.; Kubota, L. T., 2007. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**. 30, 1323 – 1338. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000500046>

Vechia, L. D.; Gnoatto, S. C. B.; Gosmann, G., 2009. Derivados oleananos e ursanos e sua importância na descoberta de novos fármacos com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. **Quim. Nova**. Vol. 35 (5). 1245-1252.

Venturieri, G. C., 2008. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. 2ª ed. Embrapa Amazônia Oriental: Belém, PA.

Villas-Bôas, J., 2012. **Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

Wang, Y.; Branicky, R.; Noë, A.; Hemiki, S., 2018. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **J Cell Biol.** Vol. 217(6). 1915–1928. DOI: 10.1083/jcb.201708007

Weber G. C.; Buhren, B. A.; Schrupf, H.; Wohlrab, J.; Gerber. P. A., 2019. Clinical Applications of Hyaluronidase. In: Labrou N. (eds) **Therapeutic Enzymes: Function and Clinical Implications. Advances in Experimental Medicine and Biology**. 1148. Springer, Cingapura. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-981-13-7709-9\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-13-7709-9_12)

Xia, N.; Daiber, A.; Förstermann, U.; Li, H., 2017. Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. **Br J Pharmacol.** Vol. 174(12), 1633–1646. DOI: 10.1111/bph.13492

Yan, J.; Zhang, G.; Hu, Y.; Ma, Y., 2013. Effect of luteolin on xanthine oxidase: Inhibition kinetics and interaction mechanism merging with docking simulation. **Food**

**Chemistry.** Vol. 141(4), 3766-3773. DOI:  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.092>

Yoon, W.J.; Lee, N. H.; Hyun, C. G., 2010. Limoneno suprime a produção induzida por lipopolissacarídeo de óxido nítrico, prostaglandina E2 e citocinas pró-inflamatórias em macrófagos RAW 264,7. **J. Oleo Sci.** Vol. 59, 415–421. DOI: 10.5650 / jos.59.415

Zeng, H.; Ma, J.; Yang, R.; Jing, Y.; Qu, L., 2015. Molecular interactions of flavonoids to hyaluronidase: insights from spectroscopic and molecular modeling studies. **Journal of Fluorescence.** 25, 941 – 959. DOI: 10.1007/s10895-015-1576-3