

A contribuição da própolis no tratamento da COVID-19 (SARS-COV-2): revisão integrativa

The contribution of propolis in the treatment of COVID-19 (SARS-COV-2): integrative review

La contribución del propóleo en el tratamiento de COVID-19 (SARS-COV-2): revisión integradora

Recebido: 14/05/2022 | Revisado: 22/05/2022 | Aceito: 29/05/2022 | Publicado: 04/06/2022

Mirele Alves Cassimiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6739-3193>

Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Brasil

E-mail: mirele_cassimiro@hotmail.com

Livia Maria Nunes Campelo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1169-3140>

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

E-mail: liviamic2@gmail.com

Igor José Gomes da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1219-7464>

Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Brasil

E-mail: igor.jg@gmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo foi identificar, na literatura, publicações sobre a contribuição da própolis no tratamento da COVID-19 (SARS-CoV-2). Para tal, foi realizada uma revisão integrativa da literatura com artigos publicados no período de 2020 a 2021, indexados nas bases de dados do CAPES, SciELO e Google Acadêmico a partir dos descritores: “própolis”, “coronavírus”, “fitoterapia” e “pandemia”. Foram incluídos oito artigos na revisão; destes, dois realizaram ensaios clínicos com pacientes suspeitos ou infectados por coronavírus e grupo placebo, cujos participantes, aqueles que receberam própolis, tiveram os sintomas da doença reduzidos, assim como o tempo de internação. Enquanto seis estudos trabalharam com uma abordagem de simulação computacional para testar a afinidade de ligação de compostos como terpenos e flavonoides do mel e da própolis como inibidores contra as enzimas essenciais da COVID-19. Destes, os seguintes compostos tiveram as mais fortes interações com as enzimas alvo: ácido p-cumárico, ácido elágico, kaempferol, quercetina, glicasperina A, brousoflavonol F, rutina, isorhamnetina, éster fenil do ácido cafeico e pentafluoropropionato de octatriacontil, sendo considerados inibidores eficazes e promissores para o tratamento contra a COVID-19. Os autores recomendam mais investigações, inclusive *in vivo* para avaliar a afinidade prevista dos compostos selecionados. Apesar dos resultados animadores, pode-se concluir que, ao avaliar os desfechos dos artigos incluídos nesta revisão, ainda não é recomendado o uso da própolis em protocolos, antes que novos estudos clínicos sejam realizados.

Palavras-chave: Própolis; Coronavírus; Fitoterapia; Pandemia; Ensino em saúde.

Abstract

The purpose of this study was to identify in the literature publications on the contribution of propolis in the treatment of COVID-19 (SARS-CoV-2). To this end, an integrative literature review was conducted with articles published from 2020 to 2021, indexed in the CAPES, SciELO, and Google Academic databases using the descriptors: "propolis," "coronavirus," "phytotherapy," and "pandemic." Eight articles were included in the review, of these, two conducted clinical trials with patients suspected or infected by coronavirus and placebo group, where participants who received propolis had reduced symptoms of the disease, as well as hospitalization time. While six studies worked with a computer simulation approach to test the binding affinity of compounds such as terpenes and flavonoids from honey and propolis as inhibitors against the essential enzymes of COVID-19. Of these, the following compounds had the strongest interactions with the target enzymes: p-coumaric acid, ellagic acid, kaempferol, quercetin, glicasperin A, brousoflavonol F, rutin, isorhamnetin, caffeic acid phenethyl ester, and octatriacontyl pentafluoropropionate. These are considered effective and promising inhibitors for the treatment against COVID-19. The authors recommend further investigations, including *in vivo* to evaluate the predicted affinity of the selected compounds. Despite the encouraging results, it can be concluded that when evaluating the outcomes of the articles included in this review, the use of propolis in protocols is not yet recommended, before further clinical studies are performed.

Keywords: Propolis; Coronavirus; Phytotherapy; Pandemic; Health teaching.

Resumen

El objetivo de este estudio era identificar en la literatura las publicaciones sobre la contribución del propóleo en el tratamiento de la COVID-19 (SARS-CoV-2). Para ello, se realizó una revisión bibliográfica integradora con artículos publicados en el período de 2020 a 2021, indexados en las bases de datos CAPES, SciELO y Google Académico utilizando los descriptores: "propolis", "coronavirus", "fitoterapia" y "pandemia". En la revisión se incluyeron ocho artículos, de los cuales dos realizaron ensayos clínicos con pacientes sospechosos o infectados por coronavirus y un grupo de placebo, en el que los participantes que recibieron propóleo vieron reducidos los síntomas de la enfermedad, así como la duración de la estancia hospitalaria. Mientras que seis estudios trabajaron con un enfoque de simulación por ordenador para probar la afinidad de unión de compuestos como los terpenos y los flavonoides de la miel y el propóleo como inhibidores contra las enzimas esenciales de COVID-19. De ellos, los siguientes compuestos presentaron las interacciones más fuertes con las enzimas objetivo: ácido p-cumárico, ácido elágico, kaempferol, quercetina, glasperina A, brousoflavonol F, rutina, isorhamnetina, éster fenílico del ácido cafeico y octatriacontil pentafluoropropionato. Se consideran inhibidores eficaces y prometedores para el tratamiento contra la COVID-19. Los autores recomiendan realizar más investigaciones, incluso in vivo para evaluar la afinidad prevista de los compuestos seleccionados. A pesar de los resultados alentadores, se puede concluir que al evaluar los resultados de los artículos incluidos en esta revisión, todavía no se recomienda el uso de propóleos en los protocolos, antes de que se realicen más estudios clínicos.

Palabras clave: Propóleo; Coronavirus; Fitoterapia; Pandemia; Enseñanza en salud.

1. Introdução

A Própolis é uma denominação genérica utilizada para descrever uma mistura complexa de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas obtidas de brotos, flores e exsudatos de plantas, por abelhas melíferas (*Apis mellífera*), que acrescentam secreções salivares, cera e pólen para a elaboração do produto final (Da Cruz et al., 2021). Exerce diferentes funções na colmeia: selar fissuras ou vedar espaços e embalsamar insetos invasores, evitando sua decomposição e o crescimento de micro-organismos que possam infectar a colônia (De Queiroz et al., 2021).

Os dois principais tipos de própolis brasileira são a vermelha e a verde, que possuem composições químicas diferentes devido à ecologia da flora de cada região visitada pelas abelhas, sendo formadas por mais de 150 compostos, destacando-se entre eles, os flavonoides, grupo de substâncias ao qual são atribuídas propriedades antibiótica, anestésica, analgésica, cicatrizante, anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, bioestimulante, dentre outras (Feitosa et al., 2020).

A própolis, mais conhecida e estudada é a própolis verde, produzida dos ápices vegetativos de uma planta conhecida popularmente como “alecrim-do-campo”, “alecrim selvagem” e/ou “vassourinha do campo” (*Baccharis dracunculifolia*), que pode ser encontrada em diversas regiões do Brasil, sendo produzida no sul, leste, centro e zona da mata de Minas Gerais, leste de São Paulo, norte do Paraná e em regiões serranas do Rio de Janeiro e Espírito Santo (Silva, 2018).

O uso da própolis destaca-se na Região Nordeste (principalmente na medicina popular), justificado pelo seu auxílio no tratamento de doenças respiratórias, cardiovasculares, diabetes, câncer e processos inflamatórios (Pereira et al., 2015).

Comercialmente, a própolis tem ocupado lugar de destaque no mercado nacional e internacional de produtos apícolas. O Brasil é um dos principais produtores mundiais de própolis, com uma produção estimada em torno de 50 a 150 toneladas por ano, sendo que cerca de 80% desse total é exportado para o Japão (Silva, 2018).

Por apresentar propriedades terapêuticas e por ser um aditivo em produtos alimentares de modo a promover a saúde e a prevenir diversas doenças, a própolis tem despertado além do interesse comercial, o de pesquisadores em relação à terapia profilática e paliativa na perspectiva de reduzir possíveis sintomas leves ou severos pela COVID-19 (SARS-CoV-2) (Fiorini et al., 2021).

O Coronavírus trata-se de um vírus da família *Coronaviridae* e tem como característica causar infecções respiratórias. O SARS-CoV-2 é o novo tipo de coronavírus, sendo ele descrito no final de 2019 com primeiros casos registrados em Wuhan na China (Araújo et al., 2021). Em março de 2020 a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a doença como uma ameaça global à saúde pública e marcou o início de uma pandemia, desde então diversos estudos se dedicam a compreender a

epidemiologia da infecção, terapias, vacinas e investigações sobre as diferentes variáveis (Matoso & Matoso, 2021).

Considerando que a própolis e seus constituintes químicos apresentam um arsenal farmacológico com atividades anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral, dentre outros, teve-se como objetivo deste estudo identificar na literatura publicações sobre a contribuição da própolis no tratamento da COVID-19 (SARS-CoV-2).

2. Metodologia

Trata-se de um estudo de Revisão Integrativa (RI) da literatura, que tem como função reunir e sintetizar resultados de pesquisas sobre um delimitado tema ou questão, de maneira sistemática e ordenada, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento do tema investigado (Whittemore & Knaf, 2005).

As etapas adotadas na elaboração desta revisão foram: estabelecimento da questão da pesquisa, busca na literatura, avaliação dos dados, análise dos estudos incluídos, interpretação dos resultados e apresentação da revisão (Mendes et al., 2008). A questão norteadora deste estudo foi “O que tem sido publicado e discutido sobre a contribuição da própolis no tratamento da COVID-19 (SARS-CoV-2)?”.

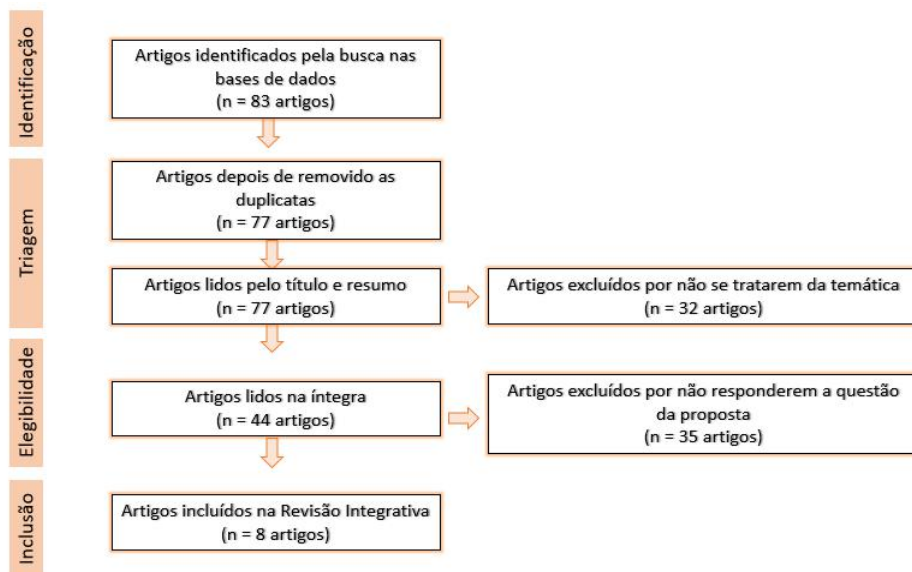
A busca foi realizada em junho de 2021, nas seguintes bases de dados: Scielo, CAPES e Google Acadêmico utilizando-se os seguintes descritores: “Própolis”, “Coronavírus”, “Fitoterapia” e “Pandemia”. Sendo estabelecido um recorte temporal dos últimos dois anos (2020 e 2021).

A seleção dos artigos foi executada por dois pesquisadores, de forma independente, cujos critérios de inclusão foram: estudos originais publicados na íntegra que abordassem a contribuição da própolis no tratamento da COVID-19; revisões de literatura; teses e dissertações; estudos publicados nos idiomas Português, Inglês ou Espanhol. Foram excluídos estudos-piloto, relatos de caso/experiência, cartas, editoriais e publicações em que o método não foi claramente descrito.

Considerando os critérios de inclusão, os pesquisadores foram responsáveis pela leitura do título e resumo dos trabalhos para definição de quais seriam lidos na íntegra. Essa etapa foi realizada de forma independente para que os autores pudessem comparar ao final quais artigos tinham incluído. Em caso de discordância, um terceiro autor foi acionado para o consenso. O processo de seleção dos estudos está apresentado na Figura 1, conforme as recomendações do PRISMA (Moher et al., 2015). Para a coleta dos dados, foi elaborado um formulário contemplando os seguintes itens: referência bibliográfica, idioma, país de origem do estudo, base de dados em que foi localizado o artigo, objetivo do estudo, desenho do estudo, tamanho amostral, resultados, conclusão e nível de evidência.

Para a classificação do nível de evidência, foram considerados sete níveis: nível 1, revisão sistemática, ou meta-análise de ensaios clínicos controlados; nível 2, ensaio clínico controlado randomizado bem delineado; nível 3, ensaio clínico controlado sem randomização; nível 4, estudos de coorte ou caso-controle bem delineados; nível 5, revisão sistemática de estudos quantitativos e descritivos; nível 6, estudos descritivos ou qualitativos e nível 7, opinião de autoridades ou especialistas (Galvão, 2006). Os resultados foram analisados e apresentados de forma descritiva. Por se tratar de uma revisão integrativa, não foi necessário solicitar aprovação do Comitê de Ética. Desse modo, declara-se não haver conflito de interesses.

Figura 1. Fluxograma do processo de identificação, seleção e inclusão dos estudos, elaborado a partir da recomendação PRISMA.



Fonte: Autores (2021).

3. Resultados e Discussão

Após as etapas de identificação, triagem e elegibilidade, a amostra final foi composta por oito estudos, todos foram publicados em inglês (100%). O Quadro 1 descreve a caracterização dos artigos segundo autoria, revista, título, ano e país. A Figura 2 mostra o mapa de incidência dos artigos selecionados, destacando um único artigo realizado em solo brasileiro.

Quadro 1. Caracterização dos oito artigos incluídos na revisão integrativa, segundo autoria, revista, título, ano e país. Ouricuri, Pernambuco, Brasil, 2021.

Estudo/Autoria	Periódico	Título	Ano	País
E1/ SILVEIRA, Marcelo AD et al.	Biomedicine & Pharmacotherapy	<i>Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial</i>	2021	Brasil
E2/ KOSARI, Morteza et al.	Phytotherapy Research	<i>The effect of propolis plus Hyoscyamus niger L. methanolic extract on clinical symptoms in patients with acute respiratory syndrome suspected to COVID-19: A clinical trial</i>	2021	Irã
E3/ SHALDAM, Moataz A et al.	Environmental Science and Pollution Research International	<i>In silico screening of potent bioactive compounds from honeybee products against COVID-19 target enzymes</i>	2021	Alemanha
E4/ SAHLAN, Muhamad et al.	Journal of King Saud University- Science	<i>Molecular interaction analysis of Sulawesi propolis compounds with SARS-CoV-2 main protease as preliminary study for COVID-19 drug Discovery</i>	2021	Indonésia
E5/ GULER, Halil I et al.	Archives of Microbiology	<i>An investigation of ethanolic propolis extracts: Their potential inhibitor properties against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by Molecular Docking Study</i>	2020	Turquia
E6/ KHAYRANI, Apriliana C et al.	Journal of King Saud University- Science	<i>Evaluating the potency of Sulawesi propolis compounds as ACE-2 inhibitors through molecular docking for COVID-19 drug Discovery preliminary study</i>	2021	Indonésia
E7/ REFAAT, Hesham et al.	International Journal of Pharmaceutics	<i>Optimization and evaluation of propolis liposomes as a promising therapeutic approach for COVID-19</i>	2021	Egito
E8/ H ELWAKIL, Bassma et al.	Future Virology	<i>Potential anti-COVID-19 activity of Egyptian propolis using computational modeling</i>	2021	Egito

Fonte: Autores.

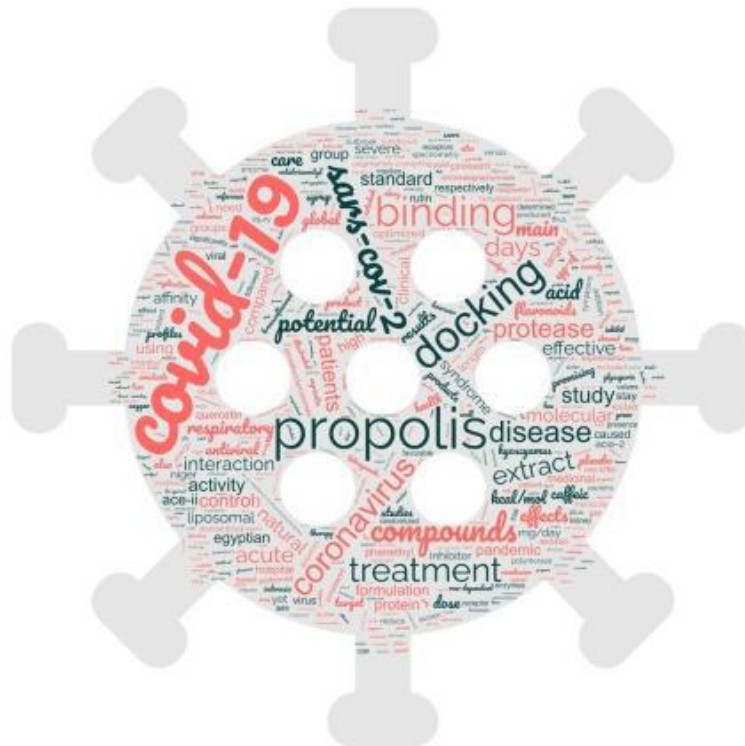
Figura 2. Distribuição dos artigos incluídos na revisão por país. Alemanha (1 artigo), Brasil (1 artigo), Irã (1 artigo), Indonésia (2 artigos), Egito (2 artigos) e Turquia (1 artigo).



Fonte: Autores (2021).

O mapa dos locais de estudo foi elaborado utilizando um gerador de mapas interativo gratuito (www.mapinseconds.com). Já a Figura 3 mostra uma nuvem de palavras (elaborada no site www.wordclouds.com) no formato de um vírus caracterizando as palavras mais citadas nos resumos dos artigos relacionados nesta revisão integrativa. Pode-se observar uma incidência forte em relação a palavras como “*covid-19*”, “*própolis*”, “*docking*”, “*sars-cov-2*”, “*disease*”, “*coronavírus*”, “*treatment*” dentre outras.

Figura 3. Nuvem de palavras produzida com os resumos dos artigos selecionados na revisão.



Fonte: Autores (2021).

O Quadro 2 apresenta o nível de evidência, objetivo, desenho, resultados e conclusão dos artigos incluídos.

Quadro 2. Apresentação do nível de evidência, objetivo, desenho/amostra, resultados e conclusão dos artigos incluídos na revisão integrativa. Ouricuri, Pernambuco, Brasil, 2021.

Estudo/Nível de evidência	Objetivos	Desenho/Amostra	Resultados	Conclusão
E1/N2	Avaliar a eficiência e segurança do uso de própolis (EPP-AF®) em pacientes hospitalizados com diagnóstico de SARS-COV-2, como terapia adjunta.	Ensaio clínico, randomizado, controlado e de centro único. Amostra: os participantes foram alocados para receber cuidados padrões, mais uma dose oral de 400 mg ou 800 mg/dia de própolis verde por sete dias. Total de 124 participantes, sendo 40 pacientes que receberam EPP-AF® 400 mg/dia, 42 pacientes que receberam EPP-AF® 800 mg/dia e 42 pacientes para o grupo controle.	O tempo de hospitalização pós-intervenção foi menor nos dois grupos que receberam a própolis, comparado ao grupo controle. No grupo de alta dose de própolis (800mg/dia), houve uma taxa menor de lesão renal aguda, comparada ao grupo controle. Nenhum paciente teve o tratamento de própolis interrompido devido a eventos adversos.	A adição da própolis ao tratamento padrão resultou em benefícios clínicos para os pacientes, evidenciado por uma redução no tempo de internação. Concluindo que a própolis pode reduzir o impacto da COVID-19.
E2/N2	Avaliar os efeitos terapêuticos do extrato de própolis e <i>Hyoscyamus niger L.</i> nos sintomas clínicos em pacientes com suspeita de COVID-19.	Ensaio clínico randomizado. Amostra: total de 50 participantes com síndrome respiratória (suspeita de covid-19), com idade entre 18 e 75 anos. Os pacientes foram divididos em dois grupos (25 intervenções e 25 placebos). Foi feito um xarope contendo 1,6mg de extrato metanólico com 450 mg de própolis, administrado três vezes ao dia a cada paciente durante 6 dias.	Os sintomas da COVID-19 (tosse seca, falta de ar, dor de estômago, dor de garganta, dor no peito, febre, tonturas, dor de cabeça, dor abdominal e diarreia) foram reduzidos com o grupo que tomou o xarope, comparado ao grupo placebo. E esta tendência decrescente foi mais percebida com o aumento de dias do tratamento, no entanto, a administração de xarope não foi eficaz no controle das náuseas e vômitos.	Os participantes que tomaram o xarope contendo própolis + extrato de <i>Hyoscyamus niger L.</i> tiveram os sintomas da COVID-19 reduzidos, em comparação com o grupo de placebo. Os dados contidos neste ensaio preliminar não são suficientes para se chegar a quaisquer conclusões apropriadas, devendo ser realizados ensaios controlados de maior dimensão para confirmar a eficácia e a ausência de efeitos secundários em doentes com COVID-19.
E3/N2	Realizar uma triagem através de ancoragem molecular para testar a afinidade de ligação de vários compostos bioativos selecionados, tais como terpenos e flavonoides de mel e própolis como inibidores contra as enzimas essenciais da	Estudo <i>in silico</i> (docking molecular). Amostra: este estudo de docagem foi realizado em 14 compostos de mel e própolis para o local receptor ativo do vírus, utilizando o software AutoDock Vina.	Através da docagem molecular, observou-se a afinidade de 14 fenóis e terpenos presentes no mel e na própolis contra as principais enzimas do novo vírus SARS-CoV-2 (o agente causador da COVID-19). Destes compostos, o ácido p-cumárico, ácido elágico, kaempferol e quercetina têm as mais fortes interações com as enzimas alvo	Recomendam-se mais investigações, inclusive <i>in vivo</i> para avaliar a afinidade prevista dos compostos selecionados contra as novas enzimas alvo do coronavírus.

	COVID-19: RNA polimerase dependente de RNA e a protease principal.		do SARS-CoV-2, e pode ser considerado um inibidor eficaz do COVID-19.	
E4/N2	Realizar uma docagem molecular para analisar a interação molecular entre a protease principal do SARS-CoV-2 e os compostos presentes na própolis de Sulawesi, Indonésia.	Estudo <i>in silico</i> (docking molecular). Amostra: este estudo de docagem foi realizado entre 20 compostos de própolis (Sulawesi) contra a protease principal do SARS-CoV-2, utilizando o Autodock Tools 1.5.6	Os resultados ilustraram que dois compostos, a glicasperina A e o brousoflavonol F são candidatos potenciais a drogas para COVID-19, com base em sua afinidade de ligação de -7,8 kcal/mol e na sua capacidade de interagir com os sítios catalíticos His ⁴¹ e Cys ¹⁴⁵ .	Ambos os compostos (glicasperina A e o brousoflavonol F) apresentaram perfis de interação favoráveis com a protease principal, quando comparados com o inibidor 13b (controle positivo), com semelhança de ligação em torno de 63% e 75%, respectivamente. Outras pesquisas devem ser conduzidas para verificar a potência e segurança do brousoflavonol F e da glicasperina A para o tratamento da COVID-19.
E5/N2	Analisar o potencial de alguns flavonoides presentes na própolis para se ligarem a enzima conversora da angiotensina-ACE II (receptor do SARS-CoV-2), através de estudo <i>in silico</i> .	Estudo <i>in silico</i> (docking molecular). Amostra: Constantes de ligação de dez flavonoides (ácido cafeico, éster fenetílico do ácido cafeico, crisina, galangina, miricetina, rutina, hesperetina, pinocembrina, luteolina e quercetina). Foram medidas utilizando o software de acoplamento molecular AutoDock 4.2. Estas constantes de ligação foram também comparadas ao ligante de referência (MLN-4760).	Os resultados mostram que a rutina tem o melhor potencial de inibição entre as moléculas estudadas, com alta energia de ligação (- 8,04 kcal/mol), e é seguida pela miricetina, quercetina, éster fenetílico do ácido cafeico e hesperetina. Contudo, a molécula de referência tem uma energia de ligação de - 7,24 kcal/mol.	O elevado potencial dos flavonoides em extratos de própolis para se ligarem aos receptores ACE-II indica que este produto natural de abelhas é relevante para o tratamento contra a COVID-19, mas isso precisa ser apoiado por estudos experimentais.
E6/N2	Avaliar a eficácia da própolis (<i>Sulawesi</i>) na inibição da atividade da enzima de conversão da Angiotensina-2 (ACE-2), um receptor do SARS-CoV-2 no corpo humano.	Estudo <i>in silico</i> (docking molecular). Amostra: este estudo de docagem foi realizado entre 13 compostos de própolis (Sulawesi) contra a enzima de conversão da Angiotensina-2 (ACE-2), utilizando o software Autodock Tools 1.5.6, Autodock Vina e Visual Molecular Dynamics.	Os resultados ilustraram que, considerando a pontuação de docagem e a presença de interação com locais alvo, cinco compostos (glicasperina A, brousoflavonol F, sulabiroinas A, (2S) -5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavanona e isorhamnetina) se destacaram para inibir a ligação de ACE-2 e SARS-CoV-2, com energias de ligação de -10,8; -9,9; -9,5; -9,3 e -9,2 kcal/mol, respectivamente.	Cinco compostos de própolis (glicasperina A, brousoflavonol F, sulabiroinas A, (2S) -5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavanona, e isorhamnetina) se mostraram como potenciais inibidores da ligação de ACE-2 e SARS-CoV-2. No entanto, tendo em vista o valor da semelhança de ligação, dois compostos são considerados como sendo os mais promissores: a isorhamnetina e a glicasperina A, com os valores de similaridade

				de ligação de 85% e 77%, respectivamente.
E7/N2	Desenvolver uma formulação lipossomal otimizada para melhorar a atividade antiviral da própolis contra a COVID-19.	Estudo <i>in silico</i> (docking molecular). Amostra: foram efetuados estudos de docagem molecular para 13 compostos da própolis egípcia utilizando (Avigan, Hidroxicloroquina e Remdesivir) como antivirais padrões contra a COVID-19, junto à 3CL-protease e a proteína spike S1.	Os estudos de docagem revelaram que a Rutina e o éster fenetil do ácido cafeico tiveram a maior afinidade com ambos os alvos (3CL-protease e spike S1). Os resultados mostraram um efeito inibitório significativo da fórmula lipossomal otimizada de Própolis contra COVID-3CL protease (IC50 = 1,183 ± 0,06) em comparação com o extrato de própolis egípcia (IC50 = 2,452 ± 0,11), P < 0,001. Curiosamente, a inibição da replicação viral da COVID-19 determinada por RT_PCR foi significativamente aumentada através do encapsulamento do extrato de própolis dentro da formulação lipossomal (P < 0,0001) e foi comparável ao efeito inibidor viral do antiviral remdesivir.	Os resultados alcançados identificaram o potencial do extrato lipossomal de própolis como uma abordagem de tratamento promissora contra a COVID-19.
E8/N2	Investigar a possível atividade anti COVID-19 da Própolis egípcia.	Estudo <i>in silico</i> /prognóstico Amostra: foram coletadas amostras de própolis em diferentes áreas geográficas egípcias (Alexandria, Tanta e Menoufia), caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, juntamente com modelagem computacional (docking molecular) para prever a atividade anti-COVID-19.	A análise por cromatografia gasosa/espectrometria de massa revelou 26 compostos. Em relação à própolis de Menoufia provou-se a presença de pentafluoropropionato de octatriacontil (4,2%). As análises de docagem mostraram que esse composto está bem orientado dentro das bolsas enzimáticas, além de evidenciar uma excelente ligação com os sítios ativo das macromoléculas alvo (RNA polimerase dependente de RNA, proteína Spike S1 e protease principal) em relação a alguns agentes antivirais de largo espectro.	As amostras de própolis egípcias provaram ter composição química variável de acordo com a origem botânica e distribuição geográfica. A própolis de Menoufia se mostrou uma candidata promissora no combate à COVID-19.

Fonte: Autores.

Os resultados do estudo foram divididos em duas categorias. A primeira abordou ensaios clínicos, e a segunda estudos *in silico*, distribuídos de acordo com o Quadro 3.

Quadro 3. Categorização dos artigos de acordo com a similaridade de conteúdo. Ouricuri, Pernambuco, Brasil, 2021.

Categoria	Estudos							
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
Ensaios Clínicos	X	X						
Estudos <i>in silico</i>			X	X	X	X	X	X

Fonte: Autores.

3.1 Ensaios Clínicos

Dentre os estudos incluídos, dois (E1 e E2) realizaram ensaio clínico, sendo o E1 realizado por pesquisadores brasileiros. No estudo E1, Silveira et al. (2021) avaliaram o efeito da própolis em 124 pacientes diagnosticados com coronavírus, entre junho e agosto de 2020. Os voluntários tinham em torno de 50 anos, com comorbidades, estavam com sintomas há mais de oito dias e com o mesmo grau de problemas pulmonares aproximadamente, em torno de 50% de comprometimento. Os participantes foram divididos em três grupos, o primeiro foi submetido ao tratamento hospitalar convencional e os outros receberam doses diferentes de extrato de própolis, aliando ao tratamento padrão.

Como resultados preliminares, os autores mostraram que os pacientes que usaram extrato de própolis de 400 mg e 800 mg por dia, aliando ao tratamento convencional, se recuperaram mais rápido em todos os aspectos, com redução do período de internação de até 50% menor do que aqueles submetidos apenas ao tratamento padrão. Isso devido aos benefícios medicinais como antiviral, anti-inflamatório e imunorreguladora da própolis. No entanto, a pesquisa apresenta uma limitação considerável, uma vez que não havia um grupo placebo para comparar, e os pacientes e os médicos sabiam quem recebia o adicional de própolis, o que aumenta o risco de vieses.

Outra pesquisa (E2), realizada no Irã, avaliou os efeitos terapêuticos da própolis com extrato metanólico de *Hyoscyamus niger L* em pacientes com síndrome respiratória (suspeita de covid-19). Este ensaio clínico randomizado foi realizado em 50 casos encaminhados às Clínicas de Akhavan e Sepehri, na Universidade de Ciências Médicas de Kashan, Irã (Kosari et al., 2021). Os pacientes foram divididos em dois grupos (intervenção e placebo). O xarope (contendo 1,6 mg de extrato metanólico junto com 450 mg de própolis) foi administrado três vezes ao dia a cada paciente durante 6 dias e os sintomas clínicos de COVID-19, tais como: tosse seca, falta de ar, dor de garganta, dor no peito, febre, tontura, dor de cabeça, dor abdominal e diarreia foram reduzidos nos pacientes que de fato tomaram o xarope. Porém, não foi eficaz no controle de náuseas e vômitos. Não houve histórico de interações medicamentosas e um efeito colateral (ondas de calor) foi observado em apenas um paciente. Assim, os autores, concluíram que o xarope contendo própolis e extrato de *Hyoscyamus niger L*, auxiliou no combate dos sintomas da doença COVID-19, em comparação com os grupos placebo.

Cabe ressaltar que, considerando os resultados que obtiveram demonstrando a eficácia deste produto natural no tratamento da COVID-19, os próprios autores sugerem que novos ensaios clínicos sejam realizados. As limitações deste estudo incluem o período até o início dos sintomas da doença não ser controlado, e a velocidade de sua progressão pode ser variável. Portanto, os dados contidos neste estudo preliminar não são suficientes para chegar a quaisquer conclusões apropriadas, e maiores estudos controlados devem ser conduzidos para confirmar a eficácia e a ausência de efeitos colaterais em pacientes com COVID-19.

Paralelo a isso, um ensaio clínico randomizado foi conduzido na China para avaliar a eficácia e os efeitos colaterais de medicamentos fitoterápicos para o tratamento de COVID-19 em 855 indivíduos. Neste estudo, o tratamento combinado de diferentes medicamentos fitoterápicos foi comparado com medicamentos ocidentais. Os resultados mostraram que a terapia

combinada melhorou significativamente os sintomas gerais, como: tosse seca, dor de garganta, febre e fadiga (Ang et al., 2020). Acrescenta-se, também, que outros estudos relataram propriedades antivirais de extratos de ervas contra bronquite e mostraram que plantas como: *Justicia adhatoda*, *Hyoscyamus niger L.* e *Verbascum thapsus* reduziram as infecções causadas pelo vírus da gripe (Gilani et al., 2008). O mecanismo molecular pelo qual essas plantas têm como alvo o vírus influenza deve ser mais estudado para entender se eles interferem com quaisquer vias de sobreposição entre os vírus influenza e o SARS-CoV-2 (Gilani et al., 2008).

Corroborando ainda com a temática, um estudo revelou que a administração de extrato aquoso de própolis por dois meses a pacientes asmáticos pode ser usada no tratamento de pacientes com doença pulmonar leve a moderada, pois a própolis aumenta a taxa de circulação expiratória e está associada a uma maior capacidade vital e reduz os fatores inflamatórios, como fator de necrose tumoral alfa, interleucina 6, 8 e 10 em humanos (Khayyal et al., 2003). Forte et al. (2018), mostraram que a própolis pode atuar como um antioxidante natural em adultos obesos com asma, além de aumentar significativamente o VEF1 (Volume expiratório forçado no primeiro segundo) e melhorar o estado respiratório e o volume de oxigênio no sangue. Ophori e Wemabu (2010) mostraram que o extrato de própolis demonstrou uma atividade antimicrobiana *in vitro* contra *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* e *Moraxella catarrhalis*. Os estudos sugeriram que a própolis é um agente antimicrobiano muito eficaz para o manejo e tratamento de infecções do trato respiratório superiores causadas por espécies bacterianas.

3.2 Estudos *in silico*

Após o advento da COVID-19, um grande número de drogas aprovadas pelo FDA (*Food and Drug Administration*) foi reaproveitado para o tratamento do coronavírus com base na ancoragem molecular¹ (*docking* molecular) contra alvos proteicos selecionados, que desempenham papéis fundamentais no ciclo de replicação do vírus. Os produtos da abelha melífera são bem conhecidos por seus efeitos medicinais e eles contêm compostos bioativos na forma de uma coleção de ácidos fenólicos, flavonoides e terpenos de origem natural que apresentam efeitos antivirais de amplo espectro.

Nesse sentido, o estudo E3, demonstrou por *docking* molecular a afinidade de ligação de 14 grupos fenólicos e terpenos presentes no mel e na própolis contra a protease principal (Mpro) e a enzima RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) do novo vírus SARS-CoV-2 usando o *software AutoDock VINA* (Shaldam et al., 2021). A protease principal (Mpro) e a RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) são responsáveis pelo processo proteolítico da poliproteína viral, bem como pela replicação e transcrição do genoma viral, portanto são dois alvos promissores de drogas para doenças relacionadas ao SARS-CoV (Gao, 2020). Dos compostos estudados, o ácido p-cumárico, o ácido elágico, o kaempferol e a quercetina têm a interação mais forte com as enzimas alvo da SARS-CoV-2 e podem ser considerados inibidores eficazes da COVID-19.

Considerando esse resultado, Kwon et al. (2020) também estudaram alguns compostos, como o ácido p-cumárico, ácido elágico, kaempferol e quercetina, que demonstraram ter atividade antiviral contra o rinovírus humano do resfriado comum, que é um vírus RNA como o SARS-CoV-2. Além disso, os compostos bioativos mencionados foram sugeridos no mesmo estudo para bloquear ou reduzir a entrada viral nas células, protegendo dos efeitos citopáticos do vírus e diminuindo sua replicação como previsto por *docking* molecular.

A quercetina e seus derivados também foram previamente confirmados para inibir as proteases SARS-CoV de outros coronavírus, incluindo proteases SARS-CoV (3CLpro e PLpro) que compartilham 97% de homologia com a protease principal COVID-19 (Bafna et al., 2020), bem como a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (Nguyen et al., 2012).

O estudo E4 verificou se os compostos da própolis de Sulawesi, Ilha da Indonésia, produzidos pela *Tetragonula sapiens* inibia a atividade enzimática da protease principal (Mpro) da SARS-CoV-2 através de *docking* molecular. Os

¹ Método que prevê a orientação preferencial de uma molécula a uma segunda, quando ligados entre si para formar um complexo estável.

resultados destacaram que dois compostos, a gliasperina A e o brousoflavonol F, são candidatos a fármacos para COVID-19, com base na sua afinidade de ligação de $-7,8$ kcal/mol e na sua capacidade de interagir com a díade catalítica representada pelos resíduos (His⁴¹ e Cys¹⁴⁵). Ambos os compostos também exibiram perfis de interação favoráveis com a protease principal da SARS-CoV-2, com semelhanças de ligação em comparação com o inibidor 13b como controle positivo de 63% e 75%, respectivamente. Os autores sugerem que uma simulação de dinâmica molecular deve ser conduzida para o brousoflavonol F e a gliasperina A.

No estudo E5, Güler et al. (2020) avaliaram o potencial de alguns flavonoides presentes na própolis para se ligarem aos receptores da enzima conversora da angiotensina - ACE-II (um receptor da SARS-CoV-2 no corpo humano) em um estudo *in silico*. As constantes de ligação de dez flavonoides, ácido cafeico, éster fenetílico do ácido cafeico, crisina, galangina, miricetina, rutina, hesperetina, pinocembrina, luteolina e quercetina foram medidas usando o programa de *docking* molecular *AutoDock 4.2*. Além disso, essas constantes de ligação foram comparadas ao ligante de referência MLN-4760.

Os resultados mostraram que a rutina apresentou os melhores potenciais de inibição entre as moléculas estudadas com alta energia de ligação ($-8,04$ kcal/mol), sendo seguida pela miricetina, quercetina, éster fenetílico do ácido cafeico e hesperetina, porém, a molécula de referência tem energia de ligação de aproximadamente $-7,24$ kcal/mol. Os autores concluíram que os flavonoides dos extratos etanoicos da própolis apresentam alto potencial para se ligarem aos receptores ACE-II, o que indica que este produto natural da apicultura tem relevância para o tratamento contra a COVID-19, porém necessita ser apoiado por estudos experimentais.

Nos últimos anos, os flavonoides têm repercutido no que diz respeito ao seu potencial de proteção cardiovascular. Muitos estudos epidemiológicos associam um aumento do consumo de alimentos e bebidas ricos em flavonoides com um risco reduzido de morte por doenças cardiovasculares (Joshi et al., 2001; Kris-etherton et al., 2002). Além disso, vários desses flavonoides ou seus derivados (ou seja, diosmina, rutina e quercetina) são usados como agentes farmacêuticos por suas propriedades vasoprotetoras (Muhammad et al., 2015). Portanto, a rutina e outros flavonoides podem ser aplicados para fins profiláticos como inibidores e competidores da ACE-II (Mishima et al., 2005; Maruyama et al., 2009).

Corroborando com essa temática, no trabalho E6, Khayrani et al. (2021) examinaram a eficácia de um medicamento natural, a partir dos compostos da própolis de Sulawesi, na Indonésia, produzidos pela abelha *Tetragonula sapiens*, inibindo a atividade da enzima conversora da angiotensina-2 (ACE-2). Neste estudo, os autores fizeram *docking* molecular para analisar os escores de ancoragem como a representação da afinidade de ligação e os perfis de interação dos compostos da própolis com a ACE-2.

Os resultados ilustraram que, considerando a pontuação de *docking* e a presença de interação com os locais-alvo, cinco compostos (gliasperina A, brousoflavonol F, sulabiroinas A, (2S) -5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavanona e isorhamnetinas) são promissores para inibir a ligação da ACE-2 e SARS-CoV-2, com a energia de ligação de $-10,8$, $-9,9$, $-9,5$, $-9,3$ e $-9,2$ kcal/mol, respectivamente. No entanto, levando em consideração o valor da similaridade de ligação, dois compostos são considerados os de maior potencial, a isorhamnetina e gliasperina A, com os valores de semelhança de ligação de 85% e 77%.

Já no estudo E7 de Refaast et al. (2021), foi desenvolvido uma formulação lipossomal otimizada para potencializar a atividade antiviral da própolis contra a COVID-19. Os estudos de *docking* foram realizados para certos componentes da Própolis Egípcia usando Avigan, Hidroxicloroquina e Remdesivir como antiviral padrão contra a protease 3CL COVID-19 e a proteína spike S1.

Os estudos de docagem revelaram que a rutina e o éster fenetílico do ácido cafeico tiveram a maior afinidade com ambos os alvos (3CL-protease e spike S1). Os resultados apresentaram um efeito inibitório significativo da fórmula lipossomal otimizada de própolis contra COVID-3CL protease ($IC_{50} = 1,183 \pm 0,06$) em comparação com o extrato da própolis egípcia

(IC₅₀ = 2,452 ± 0,11), P < 0,001. Curiosamente, a inibição da replicação viral da COVID-19 determinada por RT_PCR foi significativamente aumentada através do encapsulamento do extrato da própolis dentro da formulação lipossomal (P < 0,0001) e foi comparável ao efeito inibidor viral do antiviral remdesivir. Esses resultados mostraram uma nova abordagem de tratamento promissora contra a COVID-19, considerando uma forma farmacêutica nanocarreadora para fazer o melhor uso da própolis.

Ainda estudando a própolis egípcia (E8), Heelwakil et al. (2021), caracterizaram amostras de própolis de diferentes áreas geográficas do Egito (Alexandria, Tanta e Menoufia), e realizaram *docking* molecular para prever a afinidade de ligação dos compostos com as enzimas alvo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), proteína Spike S1 e protease principal (3CLpro ou protease semelhante a 3-quimiotripsina). A pesquisa descreveu o modo de ligação de compostos selecionados ao sítio ativo de macromoléculas alvo e o tipo de interação de diferentes conformações. A modelagem computacional das frações da própolis foi avaliada em relação a alguns antivirais conhecidos, a saber: remdesivir, lopinavir e umifenovir.

A maioria dos compostos testados mostrou uma pontuação de ligação promissora e a análise de *docking* evidenciou que o octatriacontil pentafluoropropionato está bem orientado com os sítios ativos das macromoléculas alvo (RNA polimerase dependente de RNA, proteína Spike S1 e protease principal) em relação a alguns agentes antivirais de amplo espectro.

Portanto, foi comprovada a eficiência de alguns compostos da própolis para uma futura formulação de fármacos contra a COVID-19, por meio de estudos *in silico*. Cabe ressaltar que os modelos computacionais são ferramentas úteis para o processo de descoberta de novos fármacos, mas ainda assim é indispensável à integração do modelo *in silico* com estudos *in vitro* (em células), *in vivo* (animais) e com os ensaios clínicos (humanos) para maximizar o sucesso no desenvolvimento de um novo medicamento (Vavougiou et al., 2018).

4. Considerações Finais

Os achados na presente revisão encorajam futuras pesquisas com a própolis como um tratamento complementar em pacientes com coronavírus, já que os desfechos dos estudos demonstraram uma ação terapêutica do composto no organismo, estimulando a imunidade com a sua capacidade antiviral, anti-inflamatória e antimicrobiana. Apesar dos resultados animadores e de toda plausibilidade biológica, podemos concluir que ao explorar a literatura científica selecionada para este artigo, ainda não se pode orientar o uso de própolis em protocolos, antes que sejam realizados novos ensaios clínicos randomizados, controlados, com tempo de acompanhamento adequado e com os métodos divulgados e sujeitos à revisão científica por pares.

Nesse sentido, é importante salientar a necessidade de novos estudos que possam melhor integrar as informações obtidas através de modelos *in silico*s com os estudos *in vitro*, *in vivo* e ensaio clínicos.

A segurança, os efeitos à saúde, o baixo custo e a facilidade de uso fazem da própolis um método de tratamento alternativo interessante para o fortalecimento do organismo humano, no entanto, a imunização através da vacinação populacional continua sendo o método mais eficaz para combater a COVID-19.

Referências

- Ang, L., Song, E., Lee, H. W., Lee, M. S. Lee (2020) Herbal Medicine for the Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of clinical medicine*, 9 (5), 1583.
- Araújo, M. L. V., da Silva, A. C. F. N., Dias, P. H. P., de Souza, D. R., Daltro, D. C. T., & Souza, M. S. P. L. (2021). Solução computacional de apoio à vigilância epidemiológica no enfrentamento à pandemia da covid-19 na bahia. *Revista Baiana de Saúde Pública*, 45(Especial_1), 204-217.
- Bafna, K., Krug, R. M., & Montelione, G. T. (2020). Structural similarity of SARS-CoV2 Mpro and HCV NS3/4A proteases suggests new approaches for identifying existing drugs useful as COVID-19 therapeutics. *ChemRxiv*. 10.26434.
- da Cruz, F. B., de Freitas Ferreira, J., Silveira, D., & Fonseca-Bazzo, Y. M. (2021). Avaliação da atividade anti-inflamatória de própolis de abelha *Apis mellifera*: uma revisão. *Research, Society and Development*, 10(14), e250101421817-e250101421817.

- de Queiroz, A. P. M., Rocha, E. L., dos Reis Rocha, L., & Dias, R. M. F. (2021). Atividade antimicrobiana do extrato de própolis: uma revisão. *Revista Ciência (In) Cena*, 1(13).
- Feitosa, A. D. N. A., Freires, M. A. L., Sarmento, T. D. A. B., de Brito, L. M., de Alencar Neta, R. L., & Maracajá, P. B. (2020). Produtos apícolas e saúde humana: uma revisão integrativa: bee products and human health: an integrative review. *Brazilian Journal of Production Engineering-BJPE*, 34-44.
- Fiorini, A. C., Scorza, C. A., de Almeida, A. C. G., Fonseca, M., Finsterer, J., Fonseca, F. L., & Scorza, F. A. (2021). Antiviral activity of brazilian green propolis extract against sars-cov-2 (Severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2) infection: Case report and review. *Clinics*, 76. e2357.
- Forte, G. C., Hennemann, M. L., & Dalcin, P. D. T. R. (2018). Controle da asma, função pulmonar, estado nutricional e qualidade de vida relacionada à saúde: diferenças entre homens e mulheres adultos com asma. *Jornal brasileiro de pneumologia*, 44, 273-278.
- Galvão, C. M. (2006). Níveis de evidência. *Acta Paulista de Enfermagem [online]*. 19 (2), 5.
- Gao, Y., Yan, L., Huang, Y., Liu, F., Zhao, Y., & Cao, L. (2020). Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *In Science*, 368(6492), 779-782.
- Gilani, A. H., Mehmood, M. H., Janbaz, K. H., Khan, A. U., & Saeed, S. A. (2008). Ethnopharmacological studies on antispasmodic and antiplatelet activities of *Ficus carica*. *Journal of ethnopharmacology*, 119(1), 1-5.
- Güler, H. I., Tatar, G., Yildiz, O., Belduz, A. O., & Kolayli, S. (2020). An investigation of ethanolic propolis extracts: Their potential inhibitor properties against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by Molecular Docking Study. *ScienceOpen Preprints*, 10.
- H Elwakil, B., Shaaban, M. M., Bekhit, A. A., El-Naggar, M. Y., & Olama, Z. A. (2021). Potential anti-COVID-19 activity of Egyptian propolis using computational modeling. *Future Virology*, 16(2), 107-116.
- Joshipura, K. J., Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Speizer, F. E., & Willett, W. C. (2001). The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Annals of internal medicine*, 134(12), 1106-1114.
- Khayrani, A. C., Irdiani, R., Aditama, R., Pratami, D. K., Lischer, K., Ansari, M. J., & Sahlan, M. (2021). Evaluating the potency of Sulawesi propolis compounds as ACE-2 inhibitors through molecular docking for COVID-19 drug discovery preliminary study. *Journal of King Saud University-Science*, 33(2), 101297.
- Khayyal, M. T., El-Ghazaly, M.A., El-Khatib, A. S., Hatem, A. M., De Vries, P. J. F., El-Shafei, S. (2003) A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. *Fundamental & clinical pharmacology*, 17(1), 93-102.
- Kosari, M., Nouredini, M., Khamechi, S. P., Najafi, A., Ghaderi A., Sehat, M., & Banafshe, H. R. (2021). The effect of propolis plus *Hyoscyamus niger* L. methanolic extract on clinical symptoms in patients with acute respiratory syndrome suspected to COVID-19: A clinical trial. *Phytotherapy Research*, 35(7), 4000-4006.
- Kris-Etherton, P. M., & Keen, C. L. (2002). Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Current opinion in lipidology*, 13(1), 41-49.
- Kwon, M. J., Shin, H. M., Perumalsamy, H., Wang, X., & Ahn, Y. J. (2020). Antiviral effects and possible mechanisms of action of constituents from Brazilian propolis and related compounds. *Journal of Apicultural Research*, 59(4), 413-425.
- Maruyama, H., Sumitou, Y., Sakamoto, T., Araki, Y., & Hara, H. (2009). Antihypertensive effects of flavonoids isolated from brazilian green propolis in spontaneously hypertensive rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(7), 1244-1250.
- Matoso, L. M. L., & Matoso, M. B. L. (2021). Extrato de Própolis no Combate ao COVID-19: um Relato de Experiência em Nível da Atenção Básica em Saúde. *Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, 25(1), 85-94.
- Mendes, K. D. S., Silveira, R. C. D. C. P., & Galvão, C. M. (2008). Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto & contexto-enfermagem*, 17, 758-764.
- Mishima, S., Yoshida, C., Akino, S., & Sakamoto, T. (2005). Antihypertensive effects of Brazilian propolis: identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(10), 1909-1914.
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., ... & Stewart, L. A. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews*, 4(1), 1-9.
- Muhammad, M., Wallerstein, N., Sussman, A. L., Avila, M., Belone, L., & Duran, B. (2015). Reflections on researcher identity and power: The impact of positionality on community based participatory research (CBPR) processes and outcomes. *Critical sociology*, 41(7-8), 1045-1063.
- Nguyen, T. T. H., Woo, H. J., Kang, H. K., Nguyen, V. D., Kim, Y. M., Kim, D. W., ... & Kim, D. (2012). Flavonoid-mediated inhibition of SARS coronavirus 3C-like protease expressed in *Pichia pastoris*. *Biotechnology letters*, 34(5), 831-838.
- Ophori, E. A., Eriagbonye, B. N., & Ugboaga, P. (2010). Antimicrobial activity of propolis against *Streptococcus mutans*. *African Journal of Biotechnology*, 9(31), 4966-4969.
- Pereira, D. S., Freitas, C. I. A., Freitas, M. O., Maracajpa, P., da Silva, J. B. A., da Silva, R. A., & da Silveira, D. C. (2015). Histórico e principal uso da própolis apícola. *Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.
- Refaat, H., Mady, F. M., Sarhan, H. A., Rateb, H. S., & Alaaeldin, E. (2021). Optimization and evaluation of propolis liposomes as a promising therapeutic approach for COVID-19. *International journal of pharmaceutics*, 592, 120028.

- Sahlan, M., Irdiani, R., Flamandita, D., Aditama, R., Alfarraj, S., Ansari, M. J., ... & Lischer, K. (2021). Molecular interaction analysis of Sulawesi propolis compounds with SARS-CoV-2 main protease as preliminary study for COVID-19 drug discovery. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101234.
- Shaldam, M. A., Yahya, G., Mohamed, N. H., Abdel-Daim, M. M., & Al Naggar, Y. (2021). In silico screening of potent bioactive compounds from honeybee products against COVID-19 target enzymes. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(30), 40507-40514.
- Silva, K. C. M. D. (2018). *Os diferentes tipos de própolis e suas indicações: uma revisão da literatura*. Dissertação (Mestrado em Ciências Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar.
- Silveira, M. A. D., De Jong, D., Berretta, A. A., dos Santos Galvão, E. B., Ribeiro, J. C., Cerqueira-Silva, T., ... & da Hora Passos, R. (2021). Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111526.
- Vavougios, G. D., Zarogiannis, S. G., Krogfelt, K. A., Gourgoulialis, K., Mitsikostas, D. D., & Hadjigeorgiou, G. (2018). Novel candidate genes of the PARK7 interactome as mediators of apoptosis and acetylation in multiple sclerosis: An in silico analysis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 19, 8-14.
- Whittemore, R., & Knafl, K. (2005). The integrative review: updated methodology. *Journal of advanced nursing*, 52(5), 546-553.