

Revisión bibliográfica del efecto de la matriz propóleo sobre las líneas celulares de cáncer de colon humano.

*Cadavid T. Elizabeth** (ecadavidt@ces.edu.co), Cubides D. Arelis*(cubides.arelis@uces.edu.co), López V. Elizabeth*(lopez.elizabeth@uces.edu.co), Osorno M. Laura*(Osornom.laura@uces.edu.co), Restrepo Ch. Anyi*(restrepo.anyi@uces.edu.co).*

******Docente Investigadora, Facultad de Ciencias y Biotecnología Universidad CES - Colombia.

***** Estudiantes Investigadoras, Facultad de Ciencias y Biotecnología Universidad CES - Colombia.

Dirección: Cl. 10a #22 - 04, Medellín, Antioquia

RESUMEN

El propóleo es un producto apícola resinoso, recogido y transformado por las abejas melíferas de la vegetación que estas visitan, la matriz está compuesta químicamente por flavonoides, cumarinas y ácidos fenólicos principalmente, lo que le confiere muchas propiedades biológicas, siendo una de ellas la actividad anticancerígena. Por tal motivo este compuesto es utilizado empíricamente como un tratamiento anticancerígeno alternativo, aunque los investigadores previos no han concluido aún sobre la caracterización del propóleo y la efectividad terapéutica de este. Por consiguiente, se realizó una revisión bibliográfica sobre 28 artículos de investigación, se recolectaron datos con el fin de hallar un rango de concentración activa y conocer los compuestos biomarcadores. Como resultado de esto hallamos que el extracto etanólico es el más activo frente a las células de cáncer de colon (ej. HTC-116), con un tiempo de exposición de 72 horas como el más efectivo, las investigaciones cuentan con un amplio rango de concentración IC50 que oscila entre 4.4 µg/mL a 75.33 µg/mL. Adicionalmente, se observó que el metabolito más reportado es el Ácido cafeico, reportado en el 34,8% de los artículos, pero solo uno reporta la concentración del metabolito en la matriz, reflejando poca correlación de los principios activos con la capacidad citotóxica del propóleo. Finalmente, esta investigación percibió la carencia de ensayos sobre el índice de selectividad en la mayoría de los artículos consultados, lo cual imposibilita determinar la selectividad de los extractos de propóleo frente a células de cáncer.

PALABRAS CLAVE – Cáncer de colon, propóleos, citotoxicidad.

SUMMARY

Propolis is a resinous bee product, collected and transformed by the honeybee of the vegetation that they visit, the matrix is chemically composed of flavonoids, coumarins and phenolic acids principally, which gives it many biologic attributes, one of them is the anticancer activity. For this reason this compound is empirically used as an alternative anticancerigen treatment, although previous researchers have not yet concluded about characterization of propolis and therapeutic effectivity of this. Therefore, it has been made a bibliographic review over 28 research articles, data was collected in order to find an active concentration range and know the biomarker compounds. As a result of this we find that ethanolic extract is the most active front of the colon cancer cells (ex.

HTC-116), with an exposure time of 72 hours like the most effective, the investigations count with a wide IC50 concentration range that oscillates between 4.4 µg/mL and 75.33 µg/mL. Additionally, it was observed that the most reported metabolite is the caffeic acid, reported in 34,8% of the articles, but just one of them it reports the metabolite concentration in the matrix, reflecting little correlation of the active principles with the propolis cytotoxicity capability. Finally, this research perceived the lack of the assays about the selectivity index in most of the articles consulted, which make it impossible to determine the selectivity of the propolis extracts front to cancer cells.

KEY WORDS: Colon cancer, propolis, cytotoxicity.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de colon se cataloga como el segundo tipo de cáncer con más mortalidad a nivel mundial^{1,2}, su tratamiento principal es la colectomía realizado concomitantemente con otros tratamientos como la quimioterapia y la radioterapia, aunque la efectividad del tratamiento está directamente asociado al estadio del cáncer, se han reportado un 30% de recurrencia de la enfermedad³.

El propóleo es un producto apícola de resina, que las abejas recolectan y transforman de la vegetación que visitan, especialmente de las flores y yemas de las hojas, y se mezclan con saliva, enzimas y otras secreciones de las abejas⁴. El tipo de insecto más común es *Apis Mellifera*, porque está ampliamente distribuido por todo el mundo y tiene una gran capacidad para convertirse en abejas formadoras de miel. La matriz de propóleo está compuesta principalmente por flavonoides, cumarina y ácido fenólico⁵, su composición química le confiere múltiples propiedades biológicas, una de las cuales es su actividad anticancerígena. Estas propiedades convierten al propóleo en

una matriz ideal para ser utilizado como alimento funcional para la prevención del cáncer de colon. Por tal motivo esta investigación se enfocó en la revisión bibliográfica de la actividad anticancerígena de los propóleos mediante la revisión bibliográfica con el fin de establecer la influencia de la composición química del producto en la actividad citotóxica de la matriz sobre las células de colon.

METODOLOGIA

Para definir cuál era el efecto de la matriz propóleo sobre las células de cáncer de colon, se realizó una revisión sistemática de 28 artículos, seleccionados mediante parámetros de inclusión tales como: factor de impacto de la revista científica superior a 1, descripción detallada de la extracción del propóleo, uso de células de cáncer de colon de origen humano y fecha de publicación menor a 10 años.

Para la recolección de datos se diseñaron dos tablas (Ver tabla 1-2). En la primera tabla se utilizaron factores como: Tipo de insecto, vegetación y lugar, condiciones de

almacenamiento, condiciones de extracción; incluyendo método usado, solventes y reportando los compuestos mayoritarios. En la segunda tabla se utilizaron factores como: línea celular, medio de cultivo (temperatura y composición del medio), concentración de la muestra (fracción usada), tiempo de exposición, método de medición de viabilidad de células, concentración media efectiva (IC50) y el control positivo utilizado. Consecutivamente, se diseñó una tercera tabla (Ver tabla 3), recopilando los compuestos aislados de los extractos etanólicos y metanólicos, su actividad y su índice de selectividad junto con la línea celular sana usada en caso de que fuese reportado.

Una vez recolectada la información en las tablas, se procedió a analizar cada variable por datos de frecuencias y de similitud entre artículos, con el objetivo de agrupar estos datos y definir cuáles datos eran concluyentes, insuficientes o insignificantes. Esto nos llevó a centrarnos en los extractos etanólicos y metanólicos de los cuales se recopiló información más específica tales como el índice de selectividad, el tipo, concentración y resultados de IC50 de los compuestos mayoritarios aislados. Todo esto con el fin de concluir estadísticamente respecto a cada variable analizada.

Herramientas de recolección

A continuación, se esquematiza información concerniente a las herramientas de recolección utilizadas. La tabla número 1 corresponde a la información sobre las condiciones de recolección descritas en los artículos. Respecto a la tabla número 2, esta es información recopilada sobre los métodos de determinación de la actividad antiproliferativa in vitro de los extractos de propóleo sobre células de cáncer de colon humano. Aunque se realizó la revisión sistemática de 28 artículos, 5 de ellos fueron descartados por no contar con suficiente información, no obstante, fueron añadidos y analizados por parte de las investigadoras⁶⁻¹⁰.

Para la revisión más específica de los datos sobre la actividad in vitro de los extractos etanólicos y metanólicos de propóleo se usó la herramienta de recolección número 3 mostrada a continuación.

Tabla 1. Herramienta de recolección de datos sobre las condiciones de recolección de los extractos de propóleo.

| Condiciones de recolección | | | | | | | | |
|----------------------------|--------|---------|------------|-------|-------------------------------|---------------------------|----------|-------------------------|
| No°Artículo | Nombre | Insecto | Vegetación | Lugar | Condiciones de almacenamiento | Condiciones de extracción | | Compuestos mayoritarios |
| | | | | | | Método | Solvente | |
| | | | | | | | | |

Tabla 2. Herramienta de recolección de datos sobre la actividad antiproliferativa in vitro de los extractos de propóleo.

| Actividad antiproliferativa in vitro de los extractos de propóleo | | | | | | | | |
|---|---------------|------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------------|------|------------------|-------------------------|
| No°Artículo | Línea celular | Medio de cultivo | Concentraciones de la muestra | Tiempo de exposición | Método de medición de la viabilidad | IC50 | Control positivo | Índice de especificidad |
| | | | | | | | | |

Tabla 3. Herramienta de recolección de datos de la actividad antiproliferativa in vitro de los compuestos aislados y de los extractos totales metanólicos y etanólicos de propóleo.

| Actividad antiproliferativa de los compuestos aislados de los extractos metanólicos y etanólicos de propóleo | | | | | | |
|--|----------------------------------|--|--|-------------------------------------|------------------------|--------------------------|
| Referencia | Compuestos aislados en la matriz | Concentración del compuesto aislado en la matriz | IC50/% inhibición del crecimiento del compuesto aislados | Actividad antiproliferativa | | |
| | | | | IC50/%inhibición del extracto total | Ensayo de selectividad | IC50 sobre células sanas |
| | | | | | | |

RESULTADOS

Se realizó una recolección inicial de datos por factores a partir de 28 artículos, se comparó la información extraída por las 4 investigadoras respecto a la recolección de la matriz propóleo, tales

como: tipo de insecto, lugar, método de extracción, solvente utilizado y compuestos mayoritarios, e información concerniente a la actividad biológica como: línea celular utilizada, medio de cultivo, ensayo de viabilidad celular realizado, IC50 reportado, control positivo y selectividad de la matriz. Toda esta información se consigna en el en la tabla 1.

Se evidenciaron los puntos en común en cada artículo. Posteriormente, se definió trabajar con aquellos artículos que tuvieran matrices extraídas con solventes etanólicos y metanólicos, ya que la gran mayoría (82%, 23 artículos) usaban este método de extracción¹¹⁻³², esta información se sintetizó en la tabla 2.

Proporción de los compuestos mayoritarios en la revisión

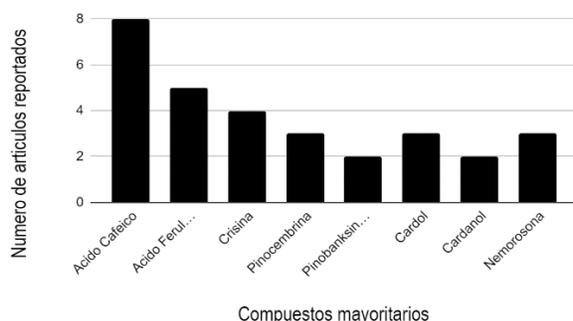


Gráfico 1. Frecuencia de aparición de compuestos mayoritarios en la matriz propóleos. El eje Y, representa la cantidad de veces que se reportó el compuesto mayoritario en los 23 artículos consultados y el eje X son los compuestos mayoritarios reportados en la matriz propóleos. Los datos hallados de IC50 para los compuestos mayoritarios aislados de

propóleo arrojaron valores muy variables difícilmente representables en un gráfico, valores que van desde 3,0 hasta 96,1 ($\mu\text{g mL}^{-1}/\%$ inhibición), donde el ácido cafeico tiene un valor de $96,1 \pm 0,19$, crisina tiene un valor de $43,2 \pm 2,50$, pinocembrina tiene un valor de $90,4 \pm 0,65$, Pinobanksin-3-Acetato tiene un valor de $58,9 \pm 3,70$, cardanol tiene un valor de 10,76 y el cardol tiene un valor de 4,5; 3,0; $4,51 \pm 0,76$ ($\mu\text{g mL}^{-1}/\%$ inhibición) (cada valor representa el resultado de una investigación diferente)¹¹⁻³².

Condiciones de recolección

En base a la información encontrada en los artículos escogidos, se determina que la especie de abeja más usada es la *Apis Mellifera* (41% de los artículos)^{6,8,16,19,25,26,29,31-33} dado que tiene una gran distribución global y una alta capacidad como abeja formadora de miel esto la hace ideal para este tipo de estudios. En los artículos investigados no se especificaba la vegetación del lugar (el 75% de los artículos no hacía referencia a la vegetación del lugar), es de suma importancia conocer la vegetación presente en el lugar de producción del propóleo, ya que de acuerdo a la planta que el insecto visita es la composición del propóleo, se indicó el lugar, país o región de recolección de propóleos, la mayor cantidad de estudios se hicieron en América del sur y central^{6-9,11,12,18,20,21,30}.

El 32% de los artículos reportaban las condiciones de almacenamiento para el propóleo crudo, la cual fue principalmente mantenerlo protegido de la luz^{8,11,12,15,16,19,20,22,26,27}. Los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en la matriz propóleo son sensibles a la luz por lo cual esta condición de almacenamiento resulta ser muy importante para conservar la estabilidad de la matriz.

Métodos de extracción

El método de extracción más utilizado en los estudios fue maceración con solventes polares (correspondió al 78% del total de métodos usados), a través de esta extracción se logra obtener la mayor cantidad de compuestos de la matriz, es un proceso simple y en su mayoría se protege de la luz para evitar posibles reacciones químicas^{6,10-13,15,22,24-32}. Se hizo mención de compuestos mayoritarios en algunos artículos los cuales fueron ácido cafeico, ácido ferúlico, crisina, pinocembrina, pinobanksina, cardanol y cardol. Como se observa en el gráfico 1, el metabolito más reportado es el Ácido cafeico, presente en el 35% de los estudios con extractos etanólicos, sin embargo, sólo uno de estos, reporta su concentración²⁶, con esto se evidencia la falta de análisis de los estudios actuales en la caracterización de esta matriz que dificultan el poder atribuir propiedades biológicas a compuestos activos específicos.

Actividad de citotoxicidad in vitro

Se encontró que la línea celular de mayor uso fue la HCT-116 (carcinoma colorrectal de adulto humano), en el 29% de los artículos consultados usaban en común esta línea celular^{6,16-18,20,24,26,28,32}. Esto puede deberse a que es la línea celular de más fácil accesibilidad en el mercado. Se encontró que el tiempo de exposición más efectivo fue a las 72 horas (39% de los artículos), ya que se pudo ver que la actividad de los compuestos sobre las células cancerígenas es dosis y tiempo dependiente^{7,9-12,16,18-20,25,28}, por lo mismo al exponer las células durante 24 o 48 horas el efecto reportado no fue significativo en comparación. El control positivo más usado en estos experimentos fue el fármaco anticáncer doxorubicina^{11,12,14,18,20,23,24,30}, el cual actúa como intercalante de DNA inhibiendo su síntesis y la del RNA. Al hacer una revisión de los resultados reportados con extractos etanólicos y metanólicos, podemos evidenciar que solo en

un reporte se estudió la actividad citotóxica de compuestos aislados. En el rango de concentración de IC50 de los extractos totales no se pudo llegar a un consenso ya que este es muy variable, se encuentran concentraciones desde 4,4 µg/mL hasta 75.33 µg/mL

Índice de selectividad

Al realizar el análisis de los resultados mostrados en los 23 estudios realizados con extractos etanólicos y metanólicos de propóleo, finalmente, se encontró que la mayoría de artículos no hace ensayos en células sanas (el 82% de los artículos no realiza prueba de selectividad) por lo cual no se puede determinar qué tan selectivos son los extractos totales de propóleo contra las células de cáncer, es importante mencionar que aquellos estudios donde se declaraba el uso de células sanas mostraron que el IC50 en células sanas era mayor y el de las células de cáncer menor, por lo que estos estudios afirmaban que la citotoxicidad del extracto era mayor en células de cáncer^{13,14,26,27,31}.

DISCUSIÓN

El índice de selectividad se define como la elegibilidad que tiene un compuesto frente a una célula sana, haciendo efecto solo en la célula cancerígena. Es relevante contar con el índice de selectividad en las investigaciones sobre los compuestos mayoritarios, puesto que esto nos permite determinar el potencial citotóxico de los compuestos sobre las células cancerígenas y las células sanas. El índice de selectividad se puede calcular mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de selectividad} = \frac{\text{IC50 de células sanas}}{\text{IC50 de células cancerígenas}}$$

Para que un compuesto con propiedades anticancerígenas pueda ser considerado como efectivo y seguro este índice debe estar por encima de 100 de lo contrario no habría diferencia significativa del compuesto para atacar células sanas y cancerosas poniendo en riesgo la vida de los pacientes.

Durante la revisión de los artículos encontramos que solo el 18% reportan el índice de selectividad. Uno de ellos fue realizado por Umthong, S y colaboradores con propóleo tailandés donde se utilizaron las líneas sanas CH-liver (hígado) y HS-27 (fibroblastos), el índice de selectividad fue de 1,45 y 1,90 respectivamente²⁷; de igual forma el artículo reportado por Dugporn & colaboradores en el cual utilizaron la línea sana HS-27, obtuvieron valores de 1,98 y 1,91 para el compuesto aislado cardanol, al finalizar los ensayos experimentales de este artículo se concluyó que debido a la diferencia tan insignificante entre los IC-50 de las líneas celulares sanas y tumorales, no se contaba con información suficiente para hacer uso de estos propóleos y que su administración sistémica no obtuviera efectos adversos significativos¹⁹. El tercer artículo que reporta este índice fue el realizado por Bochra Kouidhi y colaboradores donde se usaron líneas celulares sanas MRC-5 (pulmón fetal) y el índice obtenido fue de 3,05³¹. El cuarto artículo que reportaba el índice de selectividad fue el llevado a cabo por Calhelha R y Colaboradores sobre la línea celular sana PLP-2 (Células primarias no tumorales del hígado) con propóleo portugués, en la que se reportó un índice de selectividad de 3,88, este grupo de investigadores en especial dieron a conocer su inquietud frente al riesgo citotóxico de las células no tumorales, recomendando más estudios sobre los compuestos del propóleo antes de plantearlo como un tratamiento alternativo¹³. Por último, Kustiawan P y

colaboradores, informaron de un índice de selectividad de 1,74 para la línea celular CCD-986sk (Epiteliales) en su experimentación con propóleos de Indonesia en un extracto aislado de Cardol¹⁴.

Hay que resaltar que a excepción de Calhelha y colaboradores (13), en el resto de los casos los autores de los artículos afirman en sus conclusiones la efectividad de los compuestos activos, asegurando que no son tóxicos en líneas celulares normales. Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente sobre la aplicabilidad del índice de selectividad, consideramos que es un punto crítico no ver los alcances reales de la investigación en la conclusión de los autores, hay que tener especial precaución a la hora de proclamar que un compuesto o extracto en este caso es anticancerígeno cuando no se cuenta con la evidencia suficiente de que sea así.

La carencia de este dato en la mayoría de los artículos revisados representa una limitación a la hora de avanzar a investigaciones con organismos y/o tejidos más complejos, que nos permitan posteriormente llegar a información más concluyente sobre la actividad anticancerígena del propóleo.

CONCLUSIONES

Múltiples variables se deben tener en cuenta para el análisis del potencial citotóxico de los propóleos, las más relevantes para este fin fueron analizadas para cada uno de los estudios revisados permitiéndonos concluir que:

A modo general, el insecto más utilizado en la obtención del propóleo fue *Apis Mellifera*, además no se puede determinar si la vegetación influye o no en la composición y actividad del extracto ya que solo 7 de 28

artículos consultados los describen.

La extracción por maceración con solventes polares fue el método más utilizado, 19 de 28 artículos consultados utilizan este tipo de extracción, por lo que se recomienda usar este tipo de solventes para la extracción del propóleo en investigaciones futuras. Los compuestos más reportados fueron ácido cafeico, ácido ferúlico, pinocembrina, pinobanksina, crisina, cardanol y cardol, la mayoría de estos no se usaron como compuestos aislados ni se reportó su concentración en la matriz, en su mayoría se usó el extracto total, lo que no permite determinar con certeza que compuesto(s) son los responsables de la actividad citotóxica del propóleo.

En cuanto a la información relacionada con la evaluación de la actividad biológica de la matriz propóleo se concluye que el tiempo de exposición más efectivo fue 72 horas debido a que 11 de 28 artículos consultados consideran este tiempo como el más adecuado y el método de medición de viabilidad celular más usado fue el de MTT porque 21 de 28 artículos consultados usaron este método de viabilidad celular porque es sencillo y más utilizado para determinar la actividad metabólica de las células .

Luego del análisis de los estudios *in vitro* realizados con extractos etanólicos y metanólicos de propóleo, se puede concluir en primera instancia que el rango de concentración IC50 del extracto está entre 4,4 y 75.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$, esta se reporta entre una concentración mínima y una máxima debido a que las concentraciones IC50 en los artículos consultados son muy variables por lo cual no se pudo llegar a un consenso sobre la concentración efectiva. Además, se puede concluir que estos artículos en su mayoría no

presentan resultados sobre el índice de selectividad. Su ausencia en los artículos analizados deja un vacío en la investigación, ya que según lo encontrado se podría asumir que los compuestos presentes en los extractos de propóleo pueden llegar a ser tóxicos también en células normales. Se recomienda por lo tanto incluir en los estudios que se quieran realizar para determinar la actividad antiproliferativa de extractos de propóleo, una prueba de selectividad.

Si bien con los datos obtenidos, el uso de propóleos puede ser una buena alternativa se debe ser más exhaustivo en su evaluación para lograr obtener resultados significativos.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente agradecemos a nuestras familias por su apoyo en todo nuestro proceso académico, fueron nuestro soporte y motivación es este ciclo de vida. Agradecemos a nuestra asesora Elizabeth Cadavid Torres por acogernos, guiarnos y alentarnos con el fin de sacar de nosotras la mejor parte de un investigador, igualmente a Erika Yamile Herrera Puerta puesto que sin ella no se habría iniciado este grupo de investigación.

Este artículo fue desarrollado gracias al apoyo que brindó la Universidad CES de Medellín mediante la estrategia seminarios de investigación, en conjunto con nuestras docentes Julie Fernanda Benavides Arévalo y Heidy Johana Contretas Martinez, colaboradoras en la consecución de esta revisión.

CONFLICTO DE INTERES

Las autoras no declaran ningún conflicto de interés frente a esta investigación.

REFERENCIAS

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
2. Cancer today [Internet]. [citado 26 de abril de 2021]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/home>
3. Rodríguez Fernández Z, Jean-Louis B, Lozada Prado GA, Joubert Álvarez G, Pineda Chacón J. Conocimientos vigentes acerca del cáncer de colon recurrente. *MEDISAN*. junio de 2015;19(6):797-814.
4. Peña RC. Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Cienc E Investig Agrar*. abril de 2008;35(1):17-26.
5. Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Sánchez-Escalante A. El propóleos: conservador potencial para la industria alimentaria. *Rev Científica*. octubre de 2013;38(10):705-11.
6. Santos DA dos, Munari FM, Frozza CO da S, Moura S, Barcellos T, Henriques JAP, et al. Brazilian red propolis extracts: study of chemical composition by ESI-MS/MS (ESI+) and cytotoxic profiles against colon cancer cell lines. *Biotechnol Res Innov*. 1 de enero de 2019;3(1):120-30.
7. Wu J-J, Shen C-T, Jong T-T, Young C-C, Yang H-L, Hsu S-L, et al. Supercritical carbon dioxide anti-solvent process for purification of micronized propolis particulates and associated anti-cancer activity. *Sep Purif Technol*. 10 de diciembre de 2009;70(2):190-8.
8. Chen C-R, Lee Y-N, Lee M-R, Chang C-MJ. Supercritical fluids extraction of cinnamic acid derivatives from Brazilian propolis and the effect on growth inhibition of colon cancer cells. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 1 de marzo de 2009;40(2):130-5.
9. Frión-Herrera Y, Gabbia D, Scaffidi M, Zagni L, Cuesta-Rubio O, De Martin S, et al. The Cuban Propolis Component Nemorosone Inhibits Proliferation and Metastatic Properties of Human Colorectal Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 6 de marzo de 2020;21(5):1-15.
10. Pratsinis H, Kletsas D, Melliou E, Chinou I. Antiproliferative Activity of Greek Propolis | *Journal of Medicinal Food*. *J Med Food*. 22 de abril de 2010;13(2):286-90.
11. Y F-H, D G, A D-G, O C-R, M C. Chemosensitizing activity of Cuban propolis and nemorosone in doxorubicin resistant human colon carcinoma cells. *Fitoterapia*. 11 de mayo de 2019;136:104-73.
12. Frión-Herrera Y, Gabbia D, Scaffidi M, Zagni L, Cuesta-Rubio O, De Martin S, et al. Cuban Brown Propolis Interferes in the Crosstalk between Colorectal Cancer Cells and M2 Macrophages. *Nutrients*. 9 de julio de 2020;12(7):2040.
13. Rc C, S F, Mj Q, M V-B, Ic F. Cytotoxicity of Portuguese propolis: the proximity of the in vitro doses for tumor and normal cell lines. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1-7.
14. Kustiawan PM, Phuwapraisirisan P, Puthong S, Palaga T, Arung ET, Chanchao C. Propolis from the Stingless Bee *Trigona incisa* from East Kalimantan, Indonesia, Induces In Vitro Cytotoxicity and Apoptosis in Cancer Cell lines. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP*. 2015;16(15):6581-9.
15. Umthong S, Puthong S, Chanchao C. *Trigona laeviceps* propolis from Thailand: antimicrobial, antiproliferative and cytotoxic activities. *Am J Chin Med*. 2009;37(5):855-65.

16. Žižić JB, Vuković NL, Jadranin MB, Anđelković BD, Tešević VV, Kacaniova MM, et al. Chemical composition, cytotoxic and antioxidative activities of ethanolic extracts of propolis on HCT-116 cell line: Biological effects and composition of ethanolic extracts of propolis. *J Sci Food Agric*. septiembre de 2013;93(12):3001-26.
17. Rosal E del R del, Arrojo VC, Turpín EMG, Gómez JG, Díaz RA, Figueroa FL. Estudio de la actividad antioxidante y antitumoral del propóleo. *Ars Pharm Internet*. 28 de junio de 2017;58(2):75-81.
18. de Mendonça ICG, Porto ICC de M, do Nascimento TG, de Souza NS, Oliveira JM dos S, Arruda RE dos S, et al. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complement Altern Med*. diciembre de 2015;15(1):357-62.
19. Teerasripreecha D, Phuwapraisirisan P, Puthong S, Kimura K, Okuyama M, Mori H, et al. In vitro antiproliferative/cytotoxic activity on cancer cell lines of a cardanol and a cardol enriched from Thai Apis mellifera propolis. *BMC Complement Altern Med*. diciembre de 2012;12(1):518.
20. Reis JH de O, Barreto G de A, Cerqueira JC, Anjos JP dos, Andrade LN, Padilha FF, et al. Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. Gupta V, editor. *PLOS ONE*. 5 de julio de 2019;14(7):1-27.
21. da Cunha M, Rosalen P, Franchin M, de Alencar S, Ikegaki M, Ransom T, et al. Antiproliferative Constituents of Geopropolis from the Bee *Melipona scutellaris*. *Planta Med*. 6 de noviembre de 2015;82(03):190-4.
22. Badria F, Fathy H, Fatehe A, Elimam D, Ghazy M. Evaluate the cytotoxic activity of honey, propolis, and bee venom from different localities in Egypt against liver, breast, and colorectal cancer. *J Apitherapy*. 4 de febrero de 2017;2(1):1-8.
23. Kustiawan PM, Lirdprapamongkol K, Palaga T, Puthong S, Phuwapraisirisan P, Svasti J, et al. Molecular mechanism of cardol, isolated from *Trigona incisa* stingless bee propolis, induced apoptosis in the SW620 human colorectal cancer cell line. *BMC Pharmacol Toxicol* [Internet]. 4 de mayo de 2017 [citado 5 de abril de 2021];18(32). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5418687/>
24. Kubina R, Kabała-Dzik A, Dziedzic A, Bielec B, Wojtyczka RD, Bułdak RJ, et al. The Ethanol Extract of Polish Propolis Exhibits Anti-Proliferative and/or Pro-Apoptotic Effect on HCT 116 Colon Cancer and Me45 Malignant Melanoma Cells In Vitro Conditions. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ*. abril de 2015;24(2):203-12.
25. Valença I, Morais-Santos F, Miranda-Gonçalves V, Ferreira AM, Almeida-Aguiar C, Baltazar F. Portuguese propolis disturbs glycolytic metabolism of human colorectal cancer in vitro. *BMC Complement Altern Med*. 19 de julio de 2013;13:184.
26. Sulaiman G, Ad'hiah A, Sammarrae K, Bagnati R, Frapolli R, Bello E, et al. Assessing the anti-tumour properties of Iraqi propolis in vitro and in vivo | Elsevier Enhanced Reader. *Food Chem Toxicol*. 28 de enero de 2012;50:1632-41.
27. Umthong S, Phuwapraisirisan P, Puthong S, Chanchao C. In vitro antiproliferative activity of partially purified *Trigona laeviceps* propolis from Thailand on human cancer cell lines. *BMC Complement Altern Med*. diciembre de 2011;11(1):37-45.
28. Suzui M, Ishihara M, Naoi K, Hashita M, Itoh Y. Growth inhibitory activity of ethanol extracts of Chinese and Brazilian propolis in four human colon carcinoma cell lines.

- Oncol Rep. 6 de julio de 2009;22(2):349-54.
29. Catchpole O, Mitchell K, Bloor S, Davis P, Suddes A. Antiproliferative activity of New Zealand propolis and phenolic compounds vs human colorectal adenocarcinoma cells | Elsevier Enhanced Reader. *Fitoterapia*. 6 de septiembre de 2015;106:167-74.
 30. Hernandez J, Goycoolea F, Quintero J, Acosta A, Castañeda M, Domínguez Z, et al. Sonoran Propolis: Chemical Composition and Antiproliferative Activity on Cancer Cell Lines. *Planta Med*. 16 de septiembre de 2007;73:1469-74.
 31. Kouidhi B, Zmantar T, Bakhrouf A. Anti-cariogenic and anti-biofilms activity of Tunisian propolis extract and its potential protective effect against cancer cells proliferation. *Anaerobe*. 1 de diciembre de 2010;16(6):566-71.
 32. Ramnath S, Venkataramgowda S, Kishore BR. In-vitro cytotoxicity of Indian bee Propolis on cancer cell lines. *Int J Pharma Bio Sci*. 1 de enero de 2014;5(4):P698-706.
 33. Xuan H, Wang Y, Li A, Fu C, Wang Y, Peng W. Bioactive Components of Chinese Propolis Water Extract on Antitumor Activity and Quality Control. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016;2016:1-9.