

## Fracionamento da Própolis da Abelha Nativa *Frieseomelitta varia* Direcionado por Testes para Detectar a Atividade Antibacteriana

Viviane A. C. Campos<sup>1</sup> (IC), Denilson F. Oliveira<sup>1\*</sup> (PQ), Hudson W. P. de Carvalho<sup>1</sup> (IC), Rafael C. R. Chagas<sup>1</sup> (PG), Priscila de Paula<sup>1</sup> (PG), Ney Robson T. Prado<sup>1</sup> (IC), Júlio N. C. Louzada<sup>2</sup> (PQ), Lúcio A. O. Campos<sup>3</sup> (PQ).

\* denilson@ufla.br

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras-DQI, <sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras-DBI, <sup>3</sup> Universidade Federal de Viçosa.

Palavras Chave: própolis, ácido caurenóico, abelha nativa

### Introdução

A própolis é uma mistura complexa, resinosa e balsâmica, formada a partir de substâncias oriundas de ramos, flores, pólen, brotos, exsudados de plantas, coletados pelas abelhas e ainda, suas secreções salivares<sup>1,2</sup>.

Em trabalho previamente realizado com vistas a identificar abelhas nativas do Brasil capazes de produzir substâncias com propriedades antibacterianas, selecionou-se *Frieseomelitta varia* Lepeletier, cuja própolis se mostrou ativa contra várias bactérias. Para dar continuidade a tal trabalho, buscou-se neste estudo contribuir para o isolamento e identificação da substância responsável pela referida atividade.

### Resultados e Discussão

Inicialmente, observou-se em trabalho com 50 mg da própolis produzida por *F. varia*, coletada no apiário da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa-MG), que as substâncias com propriedades antibacterianas eram solúveis em CHCl<sub>3</sub>/hexano (1:2). Logo, 18 g do mesmo material foram adicionados à referida combinação de solventes. Após filtração, a fase líquida foi concentrada até *secura* sob vácuo, dando origem a um resíduo (11,6 g), do qual retirou-se uma alíquota de 2,0 g para ser sucessivamente eluída através de coluna de sílica gel do tipo *flash* com hexano, AcOEt, MeOH, água e HCl 0,1 M. Após concentração das cinco frações resultantes até *secura* sob pressão reduzida, alíquotas das mesmas foram submetidas a testes de difusão em Ágar<sup>3</sup> com duas bactérias Gram-negativas (*Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) e duas Gram-positivas (*Bacillus subtilis* ATCC 6633 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Empregou-se Norfloxacin e o veículo (EtOH/água (7:3)) como controle positivo e negativo, respectivamente. Apenas a fração eluída com AcOEt (1,94 g) se mostrou ativa. Em decorrência, uma alíquota (0,60 g) deste resíduo foi eluída através do mesmo tipo de sílica gel empregada anteriormente. Para tanto, utilizaram-se combinações de AcOEt/hexano. As frações obtidas foram combinadas

de acordo com análises por cromatografia em camada fina, o que resultou em um total de sete frações. Destas, apenas a quinta (77 mg) e a sexta (59 mg) se mostraram ativas segundo o teste de difusão em Ágar. Logo, foram submetidas a análises por CLAE-UV, empregando-se coluna de sílica C18 e várias combinações de MeOH/água. Observou-se que a sexta fração ainda era complexa, mas a quinta apresentava apenas um pico principal. Logo, foi analisada em espectrômetro de massas equipado com analisador do tipo *ion trap*. A introdução da amostra foi diretamente feita pelo uso de uma interface *electrospray*. Observaram-se no modo negativo picos em *m/z* 335 [M+Cl]<sup>-</sup> e 299 [M-H]<sup>-</sup> que, ao ser submetido à fragmentação, deu origem a *m/z* 255 [M-H-CO<sub>2</sub>]. Já no modo positivo, havia picos em *m/z* 323 [M+Na]<sup>+</sup> e 339 [M+K]<sup>+</sup>. O comportamento cromatográfico<sup>4,5</sup> e os dados de espectrometria de massas sugerem que a substância ativa presente na quinta fração seja o ácido caurodienóico, um derivado do ácido caurenóico, que tem comprovada atividade antibacteriana e que já foi isolado da própolis da abelha de origem africana *Apis mellifera* Lepeletier<sup>6</sup>.

### Conclusões

O fracionamento direcionado por testes de difusão em Ágar com bactérias, da própolis produzida por *F. varia*, permitiu obter duas frações ativas. Segundo o comportamento cromatográfico e dados de espectrometria de massas, uma delas corresponde ao ácido caurodienóico.

<sup>1</sup> Marcucci, M.C.; Quim. Nova 1996, 19, 529.

<sup>2</sup> Ghisaberti, E.L.; Bee World 1979, 60, 5

<sup>3</sup> Frost JA. Testing for resistance to antimicrobial drugs. In: Henrik C, editor. Methods in practical laboratory bacteriology. London: CRC Press; 1994. p. 73.

<sup>4</sup> Oliveira B. H.; Sant' Ana, A. E. G.; Bastos, D. Z. L. Determination of Diterpenoid, Kaurenoic Acid, in *Annona glabra* by HPLC. Phytochemical Analysis 13 (2002) 368-371

<sup>5</sup> Melo, A. C.; Cota, B. B.; Oliveira, A. B.; Braga, F. C. HPLC quantitation of Kaurene diterpenes in *Xylopia species*. Fitoterapia 72 (2001) 40-45.

<sup>6</sup> A.K.M. Mottakina, R. Chowdhuryb, M.S. Haidera, K.M. Rahmanb, C.M. Hasanb, M.A. Rashidb, \*.. Fitoterapia 75 (2004) 355-359