

Fracionamento da Própolis de *Frieseomelitta varia* e Identificação da Substância com Atividade Antibacteriana

Viviane A. C. Campos¹ (IC), Denilson F. Oliveira^{1*} (PQ), Helvécio M. dos S. Júnior¹ (PG), Hudson W. P. de Carvalho¹ (IC), Alan. R. T. Machado¹ (IC), Aline Auxiliadora Tireli¹ (IC), Júlio N. C. Louzada² (PQ), Lúcio A. O. Campos³ (PQ).

¹ Universidade Federal de Lavras-DQI, ² Universidade Federal de Lavras-DBI, ³ Universidade Federal de Viçosa.

* denilson@ufla.br

Palavras Chave: *própolis*, , *abelha nativa*, ácido cauroidienóico

Introdução

A própolis é um material resinoso, produzido pelas abelhas a partir da coleta de resinas da flora da região, que são alteradas pela ação das enzimas contidas na saliva do inseto. As características do referido material variam de acordo com a espécie de abelha e com a sua origem botânica. Apresentam diversas propriedades biológicas e terapêuticas, dentre as quais se destaca aqui a atividade antibacteriana¹.

Em estudo previamente realizado com abelhas nativas do Brasil, selecionou-se a própolis de *Frieseomelitta varia* Lepeletier por inibir o crescimento bacteriano *in vitro*. Para dar continuidade a tal estudo, objetivou-se neste trabalho isolar e identificar a substância responsável por tal atividade antibacteriana.

Resultados e Discussão

Inicialmente, 18 g da própolis de *F. varia* foram adicionados a CHCl₃/hexano (1:2), resultando em uma mistura que foi filtrada. A parte líquida foi concentrada sob vácuo e 2,0 g do material final (11,6 g) foram eluídos 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 Agar 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 norfloxacina e o veículo (EtOH/água (7:3)) como controle positivo e negativo, respectivamente. Apenas a fração eluída com AcOEt, que resultou em resíduo com massa de 1,94 g, se mostrou ativa. Em decorrência, esta fração foi subsequentemente fracionada por cromatografia em coluna de sílica gel e em HPLC equipado com coluna de sílica C-18, até que a substância ativa se encontrasse pura. Para tanto, todas as etapas foram direcionadas pelos testes de difusão em Agar com as mencionadas bactérias. Para a obtenção de maior quantidade da substância ativa, a mesma foi empregada como

padrão para direcionar novo fracionamento de maior parte (9,0 g) da fração da própolis solúvel em CHCl₃/hexano (1:2). Inicialmente, tal material foi submetido a fracionamentos por cromatografia em coluna de sílica gel, empregando-se AcOEt/hex (1:5) como eluente. Para acompanhar o processo empregaram-se análises por cromatografia em camada fina. A seguir, a fração rica na substância ativa foi submetida a fracionamentos em CLAE-DAD equipado com coluna de sílica C18. Empregaram-se dois sistemas de solventes em seqüência: 1) MeOH/água (80:20) contendo 0,1% de AcOH; 2) MeCN/água (60:40) contendo 0,1 % de AcOH. Com isso, obtiveram-se 27 mg da substância antibacteriana, que teve identificada a presença de carboxila e de ligação C=C na sua estrutura, ao ser analisada por FT-IR. Já nas análises por ESI-MS, observaram-se picos em *m/z* 323 [M+Na]⁺, 301 [M+H]⁺ e 299 [M-H]⁻, sugerindo que a massa molecular da substância fosse 300 u. Observaram-se ainda, fragmentos em *m/z* 283 [M+H-H₂O] e 255 [M-H-CO₂]⁻, que corroboraram a presença de carboxila na estrutura. Segundo comparação com dados da literatura^{2,3}, a substância isolada se trata do ácido cauroidienóico, que apresenta comprovada atividade antibacteriana e já foi isolado de própolis produzida por outra espécie de abelha⁴.

Conclusões

O fracionamento da própolis produzida por *F. varia* permitiu isolar uma substância com atividade antibacteriana que, segundo comparação com dados da literatura, trata-se do ácido cauroidienóico. Análises espectroscópicas adicionais deverão ser realizadas para confirmar o resultado.

Agradecimentos

A CAPES, pelo apoio financeiro.

¹ Park, Y. K. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Curr Microbiol*, New York, v.36, n.1, p.24–28,

² 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

³ 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.

⁴ A.K.M. Mottakina, R. Chowdhuryb, M.S. Haidera,K.M. Rahmant,
C.M. Hasanb, M.A. Rashidb,*.. Fitoterapia 75 (2004) 355–359