

Screening Fitoquímico de amostras de própolis do Nordeste do Brasil por HPLC:

Variedades verde, negra e vermelha

**Phytochemical Screening of propolis samples from Northeast Brazil by HPLC: Green,
black and red varieties**

**Examen fitoquímico de muestras de propóleos del Noreste de Brasil por HPLC:
variedades verdes, negras y rojas**

Recebido: 30/09/2020 | Revisado: 04/10/2020 | Aceito: 16/10/2020 | Publicado: 18/10/2020

Maria do Socorro Araujo Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1646-1624>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: fernandaa.rodrigues@hotmail.com

Bruna Rodrigues de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8250-9449>

Universidade Federal do Pernambuco, Brasil

E-mail: brunasousa14@hotmail.com

Marcelo Holanda da Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4681-1645>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: marchcunha@hotmail.com

Alfredina dos Santos Araujo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9336-7308>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: alfredina@ccta.ufcg.edu.br

Oswaldo Soares da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2029-9279>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: osvaldo_so2002@yahoo.com.br

Sthelio Braga da Fonseca

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3005-5438>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: sthelio@yahoo.com.br

Bruno Ranieri Lins de Albuquerque Meireles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3604-9768>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: bruno.ranieri@ccta.ufcg.edu.br

Weverton Pereira de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9193-894X>

Universidade Federal do Espírito Santos, Brasil

E-mail: weverton_cafu@hotmail.com

Francisco Bruno Ferreira de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2442-7730>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: brunoferreirafrei@outlook.com

Tiago da Nóbrega Albuquerque

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8046-8727>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: tiago.nobrega.pb@gmail.com

Resumo

A própolis é uma resina natural elaborado por abelhas do gênero *Apis sp.*, e devido à sua atividade antioxidante e antimicrobiana, tem sido usada frequentemente na medicina alternativa em diversos locais do mundo. Essas características biológicas estão atreladas a sua composição química, precisamente aos compostos fenólicos que variam em relação a sua estrutura e concentração dependendo da região de produção, disponibilidade de fontes vegetais para coleta de resinas e época do ano. Diversos experimentos têm sido conduzidos a fim de definir os compostos que caracterizam estas atividades, sendo assim, o objetivo deste estudo foi elaborar e identificar a composição química dos extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Os perfis apresentados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) dos extratos das amostras da própolis verde, vermelha e negra foram bastante semelhantes, mas houve uma grande variação em termos de perfil quantitativo, além de desempenharem um papel essencial na atividade antioxidante. Através dos cromatogramas, verifica-se que em função da concentração de própolis, diferentes compostos fenólicos são extraídos a partir da própolis, resultando em extratos com diferentes propriedades biológicas. Estes dados associados

contribuem para o conhecimento da atividade biológica do extrato hidroalcoólico de própolis verde, favorecendo a busca de novos agentes terapêuticos.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Perfil quantitativo; CLAE.

Abstract

Propolis is a natural resin made by bees of the genus *Apis* sp., And because of its antioxidant and antimicrobial activity, it has been used frequently in alternative medicine in several places of the world. These biological characteristics are related to their chemical composition, precisely to the phenolic compounds that vary in relation to their structure and concentration depending on the region of production, availability of plant sources for resin collection and time of year. Several experiments have been conducted in order to define the compounds that characterize these activities. The aim of this study was to elaborate and identify the chemical composition of the hydroalcoholic extracts of red, green and black propolis by High Performance Liquid Chromatography. The profiles presented by High Efficiency Liquid Chromatography (HPLC) of the extracts of the green, red and black propolis samples were very similar, but there was a great variation in terms of quantitative profile, besides playing an essential role in the antioxidant activity. Through the chromatograms, it is verified that as a function of the concentration of propolis, different phenolic compounds are extracted from the propolis, resulting in extracts with different biological properties. These data contribute to the knowledge of the biological activity of the hydroalcoholic extract of green propolis, favoring the search for new therapeutic agents.

Keywords: Antioxidant activity; Quantitative profile; HPLC.

Resumen

El própolis es una resina natural preparada por abejas del tipo *Apis* sp., y debido a su antioxidante y actividad antimicrobiana, se ha usado con frecuencia en la medicina alternativa en varios sitios del mundo. Estas características biológicas se enjaezan su composición química, exactamente a los compuestos fenólicos lo que varía en cuanto a su estructura y concentración según la región de producción, la disponibilidad de fuentes de verduras para la colección de resina y temporada. Varios experimentos se han conducido a fin de definir los compuestos que caracterizan estas actividades, siendo tan, el objetivo de este estudio preparado e identificó la composición química de los extractos hidroalcohólicos de própolis rojo, verde y negro para Cromatografía Líquida de la Alta eficacia. Los perfiles presentados por Cromatografía Líquida de la Alta eficacia (CLAE) de los extractos de las muestras de

própolis verde, rojo y negro eran completamente similares, pero había una gran variación en términos de perfil cuantitativo, además realizaron un periódico esencial en la actividad de antioxidante. A través del cromatogramas, comprueba que en la función de la concentración de própolis, los compuestos diferentes fenólicos se extraen del própolis, dando vuelta en extractos con propiedades biológicas diferentes. Estos datos asociados contribuyen al conocimiento de la actividad biológica del extracto hidroalcohólico de própolis verde, favoreciendo la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos.

Palabras clave: Actividad de antioxidante; Perfil cuantitativo; CLAE.

1. Introdução

A depender da fonte botânica do ecossistema de onde a própolis está sendo produzida, a mesma apresenta diferente Screening Fitoquímico, por isso, para a instalação de uma terapêutica adequada com o uso deste produto natural se faz necessário determinar a sua origem botânica através da análise de seu perfil químico comparado com a provável fonte vegetal, bem como determinar sua origem geográfica, aliada à fenologia da planta hospedeira (Lins et al., 2010).

A origem botânica é o fator determinante na variabilidade química da composição da própolis, e como consequência, das propriedades biológicas a partir de uma determinada região. Na Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia, a fonte dominante para a produção da própolis é o exsudato do botão de álamo (*Populus* sp.); já na América do Sul outras espécies vegetais são empregadas como fontes de produção da própolis como o alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), rabo-de-bugi (*Dalbergia Ecastophyllum*), copaíba (*Copaifera langsdorffii*), cipreste (*Cupressus sempervirens*) e palmeira-sagu (*Macaranga tanarius*). As amostras originárias destas regiões são quimicamente similares, predominantemente compostas por substâncias flavonoides, como o CAPE (Sforcin & Bankova, 2011; Alencar et al., 2013; Hipólito, 2013).

Existem diversos tipos de própolis conhecidos atualmente, porém os mais conhecidos no Nordeste são as própolis vermelhas, as própolis verdes e as própolis negras.

A própolis vermelha possui uma importante fonte de compostos com atividades biológicas, sendo uma delas a atividade antioxidante (Oldoni et al., 2011). Estudo realizado por Cabral, Oldoni, Prado, Bezerra e Alencar (2009), concluiu que a própolis vermelha possui alta atividade antioxidante e antibacteriana e as subfrações obtidas são mais ativas biologicamente que o extrato bruto.

A própolis verde brasileira apresenta uma screening fitoquímico único, com alta concentração de compostos fenólicos com predomínio do ácido cinâmico - o artepelin C, e o Éster Feniletil do Ácido Cafeíco (CAPE), ácido cafeoilquínico, ácido p-cumárico; terpenos como o ácido diterpênico, ácidos aromáticos e ácidos sesqui, di e triterpênicos; flavonóides como canferide, pinobanskina, crisina, galangina, canferol e isosakuranetina; acetofenonas, lignanas, álcool triterpênico e hidrocarbonos, esta ampla gama de substância confere a própolis verde inúmeras atividades biológicas (Braga, 2017).

Silva (2012) em seu estudo relatam que os constituintes ativos da jurema preta que tem sido descrito, são principalmente os esteroides, terpenóides, flavonóides e taninos. Sendo os taninos considerados um dos responsáveis por atividade contra bactérias, fungos, vírus e protozoários. Por sua vez, a literatura oferece raros relatos de suas propriedades farmacológicas exploradas, e em especial com a própolis preta, proveniente da Jurema preta.

Bankova; Popova; Trusheva (2014), descrevem que o controle da origem geográfica da própolis é fundamental para assegurar uma composição constante e alcançar uma melhor padronização possível.

Estudos recentes apontaram que a composição química e o efeito antimicrobiano das amostras de própolis são dependentes da vegetação ao redor dos apiários. Castro et al. (2007); Siqueira et al. (2014), em estudo sobre a influência da sazonalidade na atividade antibacteriana da própolis das regiões sudeste e nordeste, ao longo dos períodos de safra apícola, pode constatar que a medida que a sazonalidade mudava a atividade antibacteriana das própolis dos tipos 6 (região nordeste) e 12 (região sudeste), sofriam alterações nas concentrações dos compostos bioativos.

Muitos são os métodos utilizados para analisar os compostos químicos da própolis, como os métodos analíticos que se baseiam em curvas de calibração e absorbância, que apesar de pouco sensíveis ainda hoje continuam a serem utilizados; Dentre os métodos pode-se destacar os métodos cromatográficos, a cromatografia em papel, Cromatografia em Camada Delgada (CCD), bidimensional em papel, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Cromatografia Gasosa (CG), além dos métodos de espectrofotometria de massa. Destes os de maiores sucessos aplicados à separação e identificação das moléculas que estão solubilizadas nos extratos de própolis são os de CG, CLAE e a espectrofotometria de massa, que apesar de serem métodos onerosos, são extremamente sensíveis neste processo (Pereira et al., 2015).

Sendo assim o objetivo desta pesquisa foi identificar a composição química dos extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

2. Metodologia

2.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida nos Laboratórios do Centro de Vocação Tecnológica (CVT), no Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais e no Laboratório de Química, ambos, do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA), da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal, PB.

2.2 Procedência das Própolis

As amostras de própolis vermelha, verde e negra utilizadas nesta pesquisa, foram fornecidas pelo especialista *Edivaldo Ferreira Pacheco* Filho, proprietário dos Apiários EDIMEL – Apicultura e Apiterapia – João Pessoa, no Estado da Paraíba. A vermelha foi escolhida por ser padronizada, tendo seus componentes químicos e seus flavonóides identificados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE) em trabalho desenvolvido por Dausch (2007). As amostras de própolis foram conservadas a temperatura ambiente e protegidas do sol até o momento da elaboração do extrato hidroalcoólico.

2.3 Elaboração dos Extratos Hidroalcoólico de Própolis Vermelha, Verde e Negra

A extração iniciou-se com o prévio congelamento da propolis bruta (vermelha, verde e negra) a -18°C por 24 horas, após este período as amostras foram maceradas de modo mecânico em liquidificador industrial de alta rotação (Vithory) para obtenção de um pó (Figura 1).

Figura 1. Própolis em pó.



Própolis verde

Própolis vermelha

Própolis negra

Fonte: Autores (2018).

Após a maceração as amostras foram pesadas em balança analítica de alta precisão (Shimadzu), 02 gramas de pó para 25 mL de álcool etílico a 70% como solvente. Para a extração o material foi incubado em banho-maria estático a 50 °C por 30 minutos com agitação manual a cada 5 minutos. Em seguida, as soluções ficaram por 48 horas à temperatura ambiente, sendo submetidas a agitações manuais periódicas a cada 2 horas. As amostras foram filtradas a vácuo e centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, a 35 °C em centrífuga refrigerada NT 815. O sobrenadante foi levado para rotaevaporação a 55 °C, a fim de evaporar todo o solvente, e concentrar os extratos hidroalcoólico da própolis bruta (Figura 2).

Figura 2. Extrato hidroalcoólico da própolis bruta.



Própolis verde

Propolis vermelha

Propolis negra

Fonte: Autores (2018).

2.4 Identificação do Perfil Químico dos Extratos de Própolis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Os perfis químicos dos extratos de própolis foram determinados pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência desenvolvida em colaboração com o Laboratório de Combustíveis e Materiais da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

A metodologia utilizada para esta análise seguiu o protocolo descrito por Zhao, Dong, Sun (2009), com adaptações para analisar os compostos fenólicos presentes nos extratos foram, usados o módulo de separação (LC-20 AT, Shimadzu Corporation, Japão) equipado com uma coluna de 18 cadeias de Carbono em fase reversa (SUPELCOSIL™ LC-PAH CLAE Column, 250 x 4,6 mm, tamanho de partícula 5 µm, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e um detector UV-VISÍVEL (Rheodyne, EUA).

As amostras foram aluídas em um sistema gradiente que consistiu nas seguintes fases móveis: solvente A (2% de ácido acético, v/v) e solvente B (acetonitrila: metanol, 2:1, v/v), em fluxo constante de 1 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C e o volume de injeção foi de 20 µL.

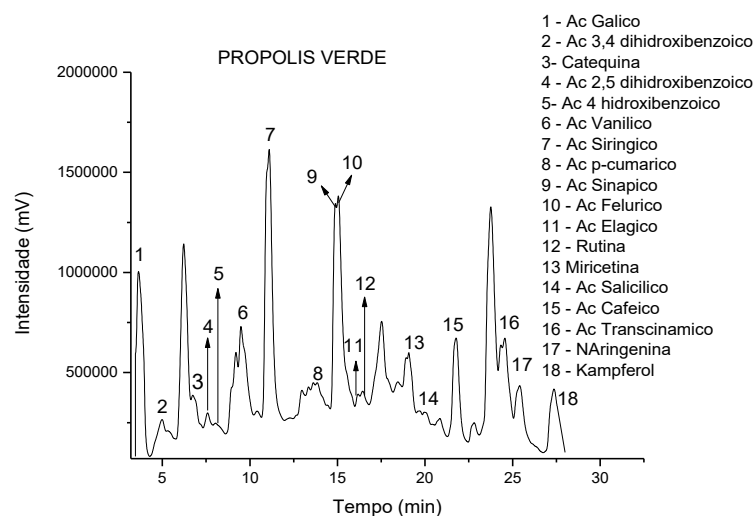
Os picos dos compostos fenólicos foram monitorados a 280 nm e os espectros de absorção de UV-VIS foram registrados em linha a partir de 200 para 600 nm durante a análise por CLAE.

Os compostos fenólicos foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção com os padrões de ácidos fenólicos e flavonoides, sendo quantificados em concentrações de mg/mL. Os cromatogramas foram registrados em software tipo LabSolutions Data System.

3. Resultados e Discussão

A análise cromatográfica do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta detectou a presença e quantificou 18 compostos secundários (Figura 3), identificado dentre eles o ácido 2,5 dihidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido gálico, ácido p cumárico, ácido salicílico, catequina, kampferol, miricetina e rutina, principais componentes químicos relacionados as atividades biológicas conferidas a própolis.

Figura 3. Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80mg/mL).



Fonte: Autores.

Os principais compostos químicos presentes no extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta, são reconhecidos na literatura por apresentarem significativas propriedades antimicrobianas. O perfil cromatográfico com as concentrações de cada composto químico presente na amostra está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados da CLAE, apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80 mg/mL)

Nome dos compostos químicos	Tempo de retenção	Concentração do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (mg/mL)
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	7,58	21,39
Ácido 3,4 diroxibenzoico	5,31	1,81
Ácido 4 Hidroxibenzoico	8,03	2,68
Ácido Cafeico	22,81	1,39
Ácido Elágico	16,18	0,69
Ácido Felúrico	15,05	5,07
Ácido Gálico	3,64	0,56
Ácido p Cumárico	13,62	0,56
Ácido Salicílico	19,62	1,78
Ácido Sinápico	14,88	5,66
Ácido Siríngico	10,41	1,02
Ácido Trans cinâmico	24,33	0,31
Ácido Vanílico	9,49	1,35
Catequina	6,74	2,97
Kampferol	27,37	2,46
Miricetina	19,07	3,41
Naringenina	25,41	1,98
Rutina	16,44	4,32

Fonte: Autores (2018).

O ácido 2,5 dihidroxibenzoico (21,39mg/mL), ácido sinápico (5,66 mg/mL) e o ácido felúrico (5,07mg/mL) que foram os compostos mais abundantes detectados, são largamente difundidos como sendo compostos responsáveis por combater radicais livre, apresentando alto potencial antioxidante, maior até do que a alfa-tocoferol (vitamina E), o ácido ascórbico (vitamina C), e o betacaroteno (VIEIRA, 2016).

A rutina, composto também detectado no extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta, na concentração de (4,32mg/mL) é normalmente utilizada para o tratamento de patologias que se caracterizam por hemorragia e excessiva fragilidade capilar, no entanto Oliveira et al. (2016), identificou que a quercetina e rutina são potenciais agentes antifúngicos, podendo trabalhar em combinação com antifúngicos convencionais, como fluconazol e anfotericina B, reduzindo suas doses, diminuindo assim os efeitos colaterais provocados por esses fármacos.

Moreira (2010), em seu trabalho isolou a miricetina dos extratos etanólicos de *Melaleuca alternifolia* e *Plinia cauliflora*, identificando um significativo potencial

antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*. Costa et al. (2013), identificou que os derivados das catequinas constituem os principais compostos encontrados no extrato de chá verde dos Açores (108 g/kg) sendo este um potente agente fungistático natural, de baixo custo, frente a cepas de *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*. Os flavonoides miricetina e catequina foram detectados na amostra na concentração de 3,41 mg/mL e 2,97 mg/mL, respectivamente.

O ácido salicílico também identificado no extrato, na concentração de (1,78 mg/mL) possui ampla atividade antimicrobiana, sendo utilizado em associação com medicamentos como o tolnaftato, no tratamento de micoses cutâneas, como as lesões hiperqueratóticas causadas pela Candidíase ungueal (Delucia, 2014).

Um dos compostos secundários mais bem definidos em relação atividade antifúngica da própolis é o ácido cafeico, que nesta amostra apresentou uma concentração de 1,39 mg/mL. Araújo (2017), em seu trabalho, obteve-se 16 ésteres do ácido cafeico, com rendimentos variando entre 11,82-93,06%, sendo 6 derivados inéditos na literatura. Seis ésteres apresentaram atividade antifúngica, os ésteres ME7 e ME13 demonstraram as melhores CIM (128 e 256 µg/mL, respectivamente) frente a isolados de *Candida* spp.

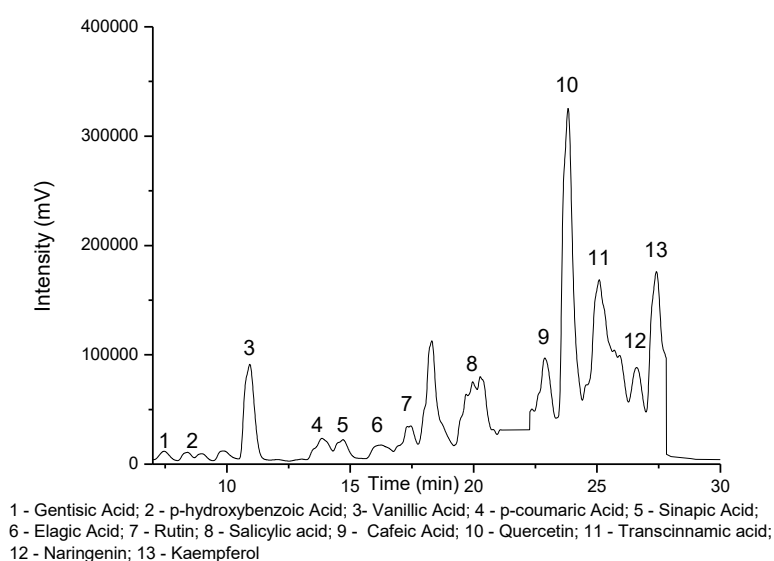
Nunes et al. (2012), ao realizar a padronização de uma amostra de extrato etanólico de própolis verde, também identificou a presença e quantificou o ácido cafeico, só que em uma concentração menor (0,87 mg/mL) do que a determinada por este estudo, demonstrando que este apresenta um maior potencial antimicrobiano, do que o avaliado.

Queiroz (2010), em trabalho semelhante a este, também identificou a presença do ácido p cumarico (0,75 mg/mL), kaempferol (1,43 mg/mL), ácido ferúlico (1,12 mg/mL) e ácido cafeico (0,44 mg/mL) no extrato etanólico de própolis verde. As concentrações destas substâncias no extrato em questão são maiores, exceto a do ácido p-cumárico (0,56 mg/mL), no entanto, apenas a sua presença já garante ao extrato hidroalcoólico de própolis verde uma potencial atividade farmacológica.

Alguns picos não puderam ser identificados no extrato devido a falta de padronização de alguns compostos químicos, a exemplo o ácido 3-5-diprenil-4-hidroxiâmico (Artepellin C) e a quercetina, que por apresentar um tempo de retenção muito próximo ao do ácido cafeico pode ter se eluído com o mesmo, formando apenas um pico.

Na Figura 4 podemos visualizar o cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80mg/mL).

Figura 1. Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80mg/mL).



Fonte: Software tipo LabSolutions Data System, (2018).

O perfil cromatográfico do extrato da própolis vermelha com as concentrações de cada composto químico presente na amostra está apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados da CLAE, apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80 mg/mL).

Nome dos compostos químicos	Tempo de retenção	Concentração do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (mg/mL)
Ácido 4 Hidroxibenzoico	8,407	0,041
Ácido p Cumárico	13,852	0,04
Ácido Salicílico	19,698	0,93
Ácido Sinapico	14,708	0,279
Ácido Trans cinamico	24,567	0,015
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	7,457	1,028
Ácido Vanílico	9,884	0,035
Ácido Elagico	16,252	0,107
Ácido Cafeíco	22,882	0,642
Rutina	17,312	0,294
Naringenina	25,698	0,109
Kampferol	27,406	1,189

Fonte: Autores (2018).

Analisando os compostos químicos descritos na Tabela 3, destacamos os que apresentaram maiores concentrações na própolis vermelha que foram o Ácido 2,5 dihidroxibenzoico (1,028 mg/mL), o Kampferol (1,189 mg/mL) e o ácido salicilico (6,25

mg/mL), sendo esses responsáveis por atividade antioxidante e antibacteriana (Oliveira Et al., 2016).

No Brasil, tem sido realizadas pesquisas com a própolis vermelha que tem se mostrado promissora. Foram isolados vários compostos desse tipo de própolis, dentre eles o 2,3-epoxi-2-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona um composto inédito que se mostrou um bom agente antibacteriano e observou-se ainda atividade de outras duas benzofenonas preniladas contra bactérias (Trusheva Et al., 2006). Em estudos com esse tipo de própolis foi observada atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *S. mutans* a partir de uma fração clorofórmica desta própolis (Alencar Et al., 2007), comprovando que esta própolis, assim como a própolis verde, merece estudos mais profundos.

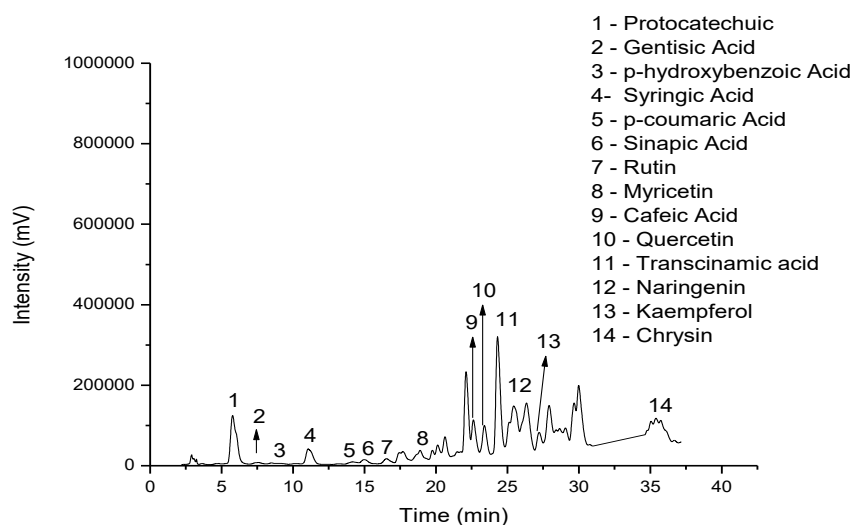
No entanto em análise realizada por Oldoni (2011) foram identificados pela primeira vez em amostras de própolis brasileira os seguintes compostos: metil-oorsellinato, metil-abietato, medicarpina, homopterocarpina, mesitol e 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol e 7,4'-Diidroxiiisoflavona. Pode-se observar a presença de pelo menos 4 isoflavonas nunca antes relatadas, sendo que as isoflavonas homopterocarpina, medicarpina e 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol apresentaram-se como os compostos de maior abundância pela técnica de Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrofotometria em massa.

A origem botânica da própolis vermelha brasileira tem sido há algum tempo investigada e, agora parece ter sido elucidada. Estudos realizados por Silva et al. (2007), demonstraram que a própolis vermelha possui composição química idêntica à planta *Dalbergia ecasthopyllum*, que é uma leguminosa normalmente encontrada na América tropical e África, rica em isoflavonas. Existem vários trabalhos na literatura demonstrando que essas isoflavonas possuem atividade antimicrobiana, antifúngica, anticâncer e antioxidante (Militao, 2006; Rufer; Kuling, 2006).

A Figura 5 apresenta o cromatograma do extrato hidroalcoólico da propolis negra.

Os principais compostos químicos presentes no extrato de própolis, são reconhecidos na literatura por apresentarem significativas propriedades anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, anticarcinogênica, antiviral, antioxidante e fitotóxica têm sido atribuídas à própolis e aos seus constituintes (Sforcin, Bankova, 2011).

Figura 5. Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (80mg/mL).



Fonte: Software tipo LabSolutions Data System, (2018).

A literatura científica evidencia que mais de trezentas substâncias tem sido identificada em amostras de própolis, das quais se destacam: os flavonoides (galangina, crisina, tectocrisina, pinocembrina, canferol e quercetina), além dos aldeídos aromáticos (vanilina e isovanilina), cumarinas, ácidos fenólicos (ácido caféico, ferúlico, cinâmico e cumárico), ácidos orgânicos (ácido benzóico), ácidos e ésteres alifáticos e aromáticos, açúcares, alcoóis, ácidos graxos, aminoácidos, esteroides, cetonas, chalconas e diidrochalconas, terpenoides e proteínas. Dentre estas classes de substâncias, destacam-se a dos flavonoides e a dos ácidos fenólicos, com inúmeras atividades biológicas descritas para a própolis, segundo Salgueiro e Castro (2016).

Pode ser constatado na Tabela 3, os compostos químicos que apresentaram maiores concentrações na própolis preta foram o ácido 3,4-dihidroxibenzoico (14,19 mg/mL), a Rutina (12,71 mg/mL), o ácido transcinâmico (6,25 mg/mL), sendo esses responsáveis por atividade antioxidante e antibacteriana (Oliveira Et Al., 2016).

O perfil cromatográfico do extrato da própolis negra com as concentrações de cada composto químico presente na amostra está apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados da CLAE, apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (80 mg/mL).

Nome dos compostos químicos	Tempo de retenção	de Concentração do extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (mg/mL)
Ácido 3,4 diroxibenzóico	5,772	1,135
Ácido 4 Hidroxibenzoico	8,492	0,064
Ácido p Cumárico	14,167	0,033
Ácido Sinapico	14,98	0,204
Ácido Siringico	10,114	0,028
Ácido Trans cinamico	24,313	0,285
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	7,568	1,017
Ácido Cafeico	22,62	0,487
Rutina	16,544	0,278
Miricetina	18,892	0,443
Quercetina	23,392	0,5
Naringenina	25,445	0,428
Kampferol	27,223	0,457
Crisina	35,733	0,152

Fonte: Autores (2018).

Devido à variação na composição química da própolis, é necessária uma padronização destes extratos de própolis. (Salatino, Fernandes-Silva, Righi & Salatino, 2011). Através das análises dos cromatogramas, pode-se verificar que, em função da variedade de própolis, diferentes compostos fenólicos são extraídos a partir da própolis, resultando em extratos com diferentes propriedades biológicas.

4. Considerações Finais

Por meio das análises dos cromatogramas, pôde-se verificar que, em função da variedade de própolis, diferentes compostos fenólicos são extraídos, sendo necessário uma maior padronização em termos técnicos, de legislação. Estes dados associados contribuem para o conhecimento da atividade biológica dos extratos hidroalcoólicos de própolis favorecendo a busca de novos agentes terapêuticos.

Referências

Alencar, S. M., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., Rosalen, P. L., & Ikegakid, M. (2007). Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*.

Alencar, S. M., Oldoni, T. L. C.; Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costaneto, C. M., Cury, J. A., Rosalen, P. L., & Ikegaki, M. (2013). Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 278-283.

Braga, T. S. F. (2017). Extrato padronizado de própolis (EPP-AF®) aumenta a sobrevida em camundongos imunossuprimidos com sepse induzida por *Candida Albicans*. 105f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís.

Cabral, I. S. R., Oldoni, T. L. C., Prado, A., Bezerra, R. M. N., & Alencar, S. M (2009). Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. *Quim. Nova*.

Costa, C. D. P. (2013). Avaliação da atividade anti-*Candida* do chá verde dos Açores. Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia Comunitária, Hospitalar e Investigação. 123f. Relatório de Estágio (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade da Beira Interior, Covilhã.

Daugusch, A. (2007). A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas Características químicas e biológicas. Tese de doutorado, Campinas, SP, Brasil.

Delucia, R. (Org). (2014). *Farmacologia Integrada: uso racional de medicamentos*. (2a ed.), São Paulo: Clube de Autores.

Hipólito, T. M. M. (2013). Própolis de abelha nativa sem ferrão da espécie *Frieseomelitta varia*: determinação da composição química e atividades biológicas. 2013. 96f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, Minas Gerais.

Lins, A. S. et al (2010). Implantação das análises físico- químicas da própolis no laboratório da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. Rev. Eletrônica Multidisciplinar Pindorama, Salvador, (1), 1-20, Recuperado de < http://www.revistapindorama.ifba.edu.br/ed_atual.php >

Militao, G. C. G., Dantas, I. N. F., Pessoa, C.; Falcao, M. J. C., Silveira, E. R., Lima, M. A. S., Curi, R., Lima, T., Moraes, M. O., & Costa-Lotufo, L. V. (2006). Induction of apoptosis by pterocarpanes from *Platymiscium floribundum* in HL-60 human leukemia cells. Life Sciences, Amsterdam 78(20), 2409-2417.

Nunes, L. C. C., et al. (2012). Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. Rev. bras. farmacogn, João Pessoa, 19(2b), 524-529.

Oldoni, T. L. C., Cabral, I. C. R., D'arcea, M. A. B. R., Rosalen, P. L., Ikegacic, M., Nascimento, A. M., & Alencar, S. M. (2011). Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. Separation and Purification Technology.

Oliveira, V. B., Zuchetto, M., Oliveira, C. F., Paula, C. S., Duarte, A. F. S., Miguel, M. D., Miguel, O. G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por claudina de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hookeraceae, Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, 18(1), 230-239.

Pereira, D. S., Freitas, C. I. A., Freitas, M. O., Maracajá, P. B., Da Silva, J. B. A., Silva, R. A. Da, Silveira, D. C da. Histórico e principais usos da própolis apícola. ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido, 11(2), 01-21.

Queiroz, V. C. P. P. (2010). Avaliação do potencial antifúngico de própolis de *Apis mellifera* contra leveduras do gênero *Candida*. 82f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, São Paulo.

Rufer, C. E., Kulling, S. E. (2006). Antioxidant activity of isoflavones and their major metabolites using different in vitro assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, 54, 2926-2931.

Salatino, A., Fernandes-Silva, C. C., Righi, A. A., & Salatino, M. L. F. (2011). Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*, 28, 925-936.

Salgueiro, F. B., Castro, R. N. (2016). Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. *Quim. Nova*, 39(10), 1192-1199.

Sforcin, J. M., Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 253–260.

Siqueira, A. L., Dantas, C. G., Gomes, M. Z.; Padilha, F. F., Albuquerque-Júnior, R. L. C., Cardoso, J. C. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de propolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. *Revista de Odontologia da UNESP*, 43(6), 359-366, 2014.

Silva, B. B., Rosalen, P. L., Cury, J. A., Ikegaki, M., Souza, V. C., Esteves, A., Alencar, S. M. Chemical composition and botanical origin of red própolis, a new type of Brazilian própolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2007.

Silva, V. A da. (2012). Avaliação citotóxica e genotóxica de *Minosa tenuiflora* (Wild) Poir. (Mimosaceae). 91p. Dissertação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB.

Trusheva, B., Popova, M., Bankova, V., Simova, S., Marcucci, M., Miorin, P. L. Bioactive Constituents of Brazilian Red Própolis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2006;3(2), 249–254.

Vieira, E. A. (2016). Potencial nutricional e antioxidante de Goji berry (*Lycium barbarum* L.). 2016. 76f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Maria do Socorro Araujo Rodrigues -15%

Bruna Rodrigues de Sousa -15%

Marcelo Holanda da Cunha -15%

Alfredina dos Santos Araujo -15%

Oswaldo Soares da Silva -15%

Sthelio Braga da Fonseca -5%

Bruno Ranieri Lins de Albuquerque Meireles -5%

Weverton Pereira de Medeiros -5%

Francisco Bruno Ferreira de Freitas -5%

Tiago da Nóbrega Albuquerque -5%