

DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS EM AMOSTRAS DE PRÓPOLIS

RODRIGO BATISTA DE ALMEIDA¹
JONY LUIZ CAMAROTO¹
DIONEZINE DE FÁTIMA NAVARRO²
YONG K. PARK³
MASAHARU IKEGAKI³
VITOLDO A. KOZLOWSKI JUNIOR⁴

1 Bolsista do Programa de Iniciação
Científica CNPq/UEPG

2 Professora do Departamento de Ciências
Farmacêuticas da UEPG

3 Professor do Departamento de Ciência de
Alimentos da UNICAMP

4 Professor do Departamento de Odonto-
logia da UEPG

RESUMO

Análises espectrofotométricas UV/VIS e colorimétricas de flavonóides totais foram realizadas em amostras de própolis provenientes de diferentes regiões. Foi encontrada uma importante diferença em flavonóides totais nas amostras analisadas. Os resultados indicam que a composição química da própolis, especialmente flavonóides totais, é dependente de uma variedade de fatores.

Palavras-chave: própolis, flavonóides, produtos naturais

1. Introdução

A própolis é um produto apoterápico constituído de ceras, substâncias resinosas e balsâmicas, coletado pelas abelhas, de brotos, árvores e outras partes do tecido vegetal, e modificado na colméia por adição de secreções salivares e cera (MARCUCCI, 1996). Esse produto natural vem sendo amplamente utilizado como cicatrizante, antiinflamatório, bactericida, antioxidante etc., com muitas de suas propriedades farmacológicas sendo atribuídas aos flavonóides (HAVSTEEN, 1983). Entretanto, apesar do seu consumo popular e seu emprego milenar, os estudos laboratoriais sobre a composição química da própolis, relacionando-a às atividades bioquímicas e farmacológicas, são recentes e ainda inconclusivos, em função da variabilidade quantitativa e qualitativa de uma série de compostos, entre eles os flavonóides (BRUSCHI & FRANCO, 1995). Essa grande variação nos princípios ativos é dependente das condições e diferenças regionais (PARK et al., 1998), devido à grande variedade de espécies vegetais utilizadas pelas abelhas (POÇAS et al., 1998). Conseqüentemente, análises espectrofotométricas UV/VIS e colorimétricas de flavonóides totais foram realizadas em amostras de própolis provenientes de diferentes regiões.

2. Material e métodos

Amostras de própolis foram analisadas no Laboratório de Bioquímica do curso de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, obtendo-se curvas espectrofotométricas UV/VIS de flavonóides totais (com base em quercetina), através de equipamento Beckmann-DU70, determinando-se o comprimento de onda com maior absorbância. Além disso, foi realizada a determinação dos níveis de flavonóides totais através de método colorimétrico com base em quercetina, utilizando como reagente de cor solução de nitrato de alumínio a 10%. Este método é baseado na reação entre as hidroxilas dos flavonóides e o alumínio do reagente de cor (nitrato de alumínio), formando um complexo de coloração amarela (JURD, 1969). Com o propósito de eliminar interferências das colorações iniciais dos extratos de própolis, foram confeccionados brancos com os reagentes e a amostra, excetuando-se o reagente de cor. As leituras foram procedidas em espectrofotômetro

Colleman II em comprimento de onda de 415 nm, utilizando soluções de quercetina para confecção da curva de calibração. As amostras analisadas foram: a. extrato alcóolico a 8% de própolis originária da região de Curitiba - PR; b. extrato hidrossolúvel a 8% proveniente de Araranguá - SC (Prodapysa - Apis Nativa Produtos Naturais Ltda.); c. extrato hidroalcoólico a 6% proveniente de União da Vitória - PR (Propolinas® - Laboratório Breyer); d. extrato alcóolico a 8% de amostra originária da região de Socorro - SP.

3. Resultados

Os comprimentos de onda para os picos de absorbância das amostras de própolis analisadas estão agrupados na Tabela 1, e as curvas espectrofotométricas UV/VIS, na Figura 1.

Tabela 1 – Comprimentos de onda (λ) e maiores absorbâncias em amostras de própolis

AMOSTRAS	COMPRIMENTO DE ONDA (λ)	MAIOR ABSORBÂNCIA
Extrato alcóolico a 8% - Curitiba - PR	294.00	0.3948
Extrato hidrossolúvel a 8% - Araranguá - SC	274.00	0.8120
Extrato hidroetanólico a 6% - U. da Vitória - SC	282.00	0.0562
Extrato alcóolico a 8 % - Socorro - SP	300.00	1.4991

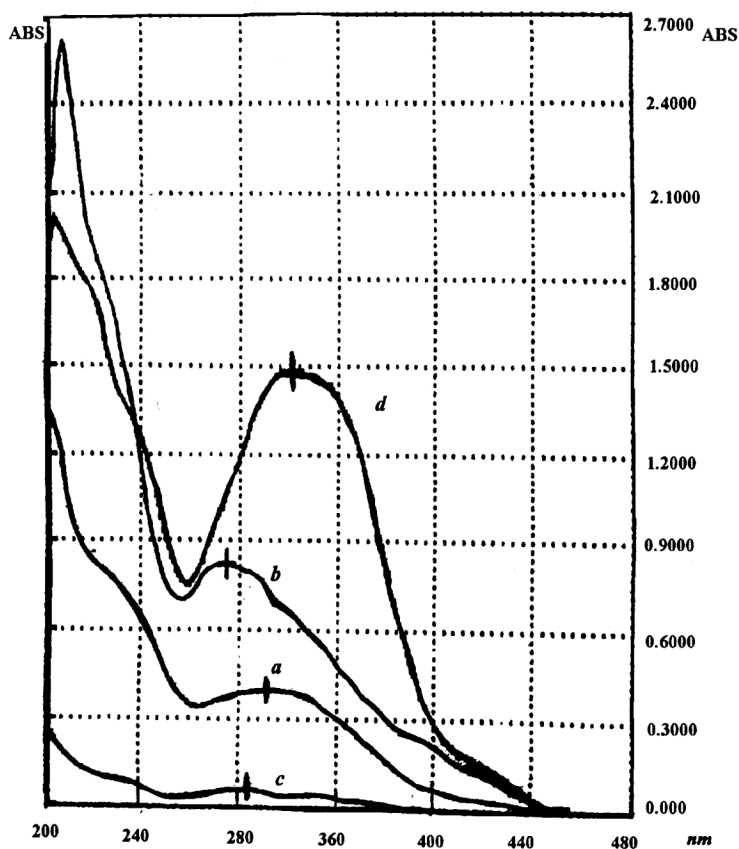


Figura 1 – Curvas espectrofotométricas UV/VIS de flavonóides totais (com base em quercetina) nas amostras: a. extrato alcóolico a 8% de própolis originária da região de Curitiba - PR; b. extrato hidrossolúvel a 8% proveniente de Araranguá - SC; c. extrato hidroalcóolico a 6% proveniente de União da Vitória - PR; d. extrato alcóolico a 8% de amostra originária da região de Socorro - SP

As concentrações de flavonóides totais através do método colorimétrico foram calculadas pela equação da reta = $1.8 + 120.8 \times A$, obtendo-se os resultados discriminados na Tabela 2.

Tabela 2 – Concentração de flavonóides totais ($\mu\text{g/ml}$) em amostras de própolis

AMOSTRAS	FLAVONÓIDES TOTAIS ($\mu\text{G/ML}$)
Extrato alcoólico 8% – Curitiba - PR	29,56
Extrato hidrossolúvel 8% – Araranguá - SC	43,42
Extrato hidroetanólico 6% – União da Vitória - SC	8,02
Extrato alcoólico 8 % – Socorro - SP	149,06

4. Discussão

A composição química da própolis varia de região para região (PARK et al., 1998), sendo que a proporção dos tipos de substâncias encontradas é variável e dependente do local da coleta, da flora, das condições sazonais de uma dada área (MARCUCCI, 1996), da variedade das abelhas (KOO & PARK, 1997) etc. Observando-se os dados discriminados na Tabela 2, percebe-se a grande variabilidade no teor de flavonóides totais nas amostras analisadas. Esta diferença pode estar relacionada à procedência das amostras, oriundas de distintas regiões e provavelmente com flora regionalmente particular; aos métodos de preparação dos extratos, que podem estar influenciando o aparecimento de determinados constituintes ativos; ou ainda à característica do método de determinação colorimétrica, já que é possível que nem todas as hidroxilas livres e/ou mais expostas na configuração molecular estejam se complexando com o alumínio e formando o composto colorido. Esta grande variabilidade presente nas soluções de própolis, confirmada por Park et al. (1998) e Koo & Park (1997), foi reiterada nesta avaliação, uma vez que as soluções demonstraram não somente uma variação quantitativa como também picos de absorbância diferentes (Figura 1), variando de 274 a 300 nm no comprimento de onda, o que indica constituintes e teores diferentes em flavonóides (Tabela 1).

Marcucci (1996), em uma importante revisão, comenta que alguns componentes da própolis apresentam atividade terapêutica comprovada, como é o caso de flavonóides, que possuem ação espasmolítica (querceti-

na, canferol e pectolinarigenina), antiinflamatória (acacetina), anti-úlceras (apigenina), antibacteriana (pinocembrina e galangina) etc., entre inúmeros outros compostos que ainda não foram apropriadamente avaliados, como derivados de álcool e fenol, aldeídos, ácidos alifáticos e ésteres, ácidos aromáticos e seus ésteres, chalconas e diidrochalconas, hidrocarbonetos, ésteres e ácidos graxos, cetonas, terpenóides e esteróides, além das flavanonas, flavonas e flavonóis, algumas das quais discriminadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Algumas flavanonas, flavonas e flavonóis encontradas em amostras de própolis (MARCUCCI, 1996)

NOME USUAL	NOME OFICIAL
-	3,7-Diidroxi-5-metoxiflavanona
-	2,5-Diidroxi-7-metoxiflavanona
3-O-Acetilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-acetoxiflavanona
3-O-Butanoilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-butanoiloxiflavanona
3-O-Hexanoilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-hexanoiloxiflavanona
3-O-Metilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-metoxiflavanona
3-O-Pentanoilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-pentanoiloxiflavanona
3-O-Pentenoilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-pentenoiloxiflavanona
3-O-Propanoilpinobanksina	5,7-Diidroxi-3-propanoiloxiflavanona
Alnusitol	3,5,7-Triidroxi-6-metoxiflavanona
Alpinetina	7-Hidroxi-5-metoxiflavanona
Naringenina	5,7,4'-Triidroxi-flavanona
Pinobanksina	3,5,7-Triidroxi-7-metoxiflavanona
Pinocembrina	5,7-Diidroxi-flavanona
Pinostrobin	5-Hidroxi-7-metoxiflavanona
Sakuranetina	5,4'-Diidroxi-7-metoxiflavanona
3,7-di-O-Metilquercetina	5,3',4'-Triidroxi-3,7-dimetoxiflavona
3-O-Metilcanferol	5,7,4'-Triidroxi-3-metoxiflavona
3-O-Metilgalangina	5,7-Diidroxi-3-metoxiflavona
4'-O-Metilcanferol	3,5,7-Triidroxi-4'-metoxiflavona

Acacetina	5,7-Diidroxi-4'-metoxiflavona
Alnusina	3,5,7-Triidroxi-6-metoxiflavona
Alpinetina	7-Hidroxi-5-metoxiflavona
Apigenina	5,7,4'-Triidroxi-6-metoxiflavona
Betuletol	3,5,7-Triidroxi-4',6-dimetoxiflavona
Canferida	3,5,7-Triidroxi-4-metoxiflavona
Canferol	3,5,7,4'-Tetraidroxi-6-metoxiflavona
Crisina	5,7-Diidroxi-6-metoxiflavona
Fisetina	3,7,3',4'-Tetraidroxi-6-metoxiflavona
Galangina	3,5,7-Triidroxi-6-metoxiflavona
Isalpinina	3,5-Diidroxi-7-metoxiflavona
Isorramnetina	3,5,7,4'-Tetraidroxi-3'-metoxiflavona
Pectolinarigenina	5,7-Diidroxi-6,4'-dimetoxiflavona
Quercetina	3,5,7,3',4'-Pentaidroxi-6-metoxiflavona
Ramnazina	3,4',5-Triidroxi-5',7-dimetoxiflavona
Ramnetina	3,5,3',4'-Tetraidroxi-7-metoxiflavona
Ramnocitrina	3,5,4'-Triidroxi-7-metoxiflavona
Tectocrisina	5-Hidroxi-7-metoxiflavona
7,4'-di-O-Metilcanferol	3,5-Diidroxi-7,4'-dimetoxiflavona
7-O-Metilapigenina	5,4'-Diidroxi-7-metoxiflavona
7-O-Metilcanferol	3,5,4'-Triidroxi-7-metoxiflavona

A extensa e variada quantidade de compostos pertencentes à classe dos flavonóides e o desconhecimento das características regionais que podem introduzir atividades farmacológicas, aliados a inúmeras propriedades terapêuticas atribuídas a estas substâncias químicas, demonstram a necessidade da condução de experimentos que identifiquem e acompanhem o perfil da própolis produzida em cada região (PREZA & FRANCO, 1996), correlacionando a sua composição química com o potencial terapêutico e contribuindo para o constante controle de qualidade (PEREIRA et al., 1998).

5. Conclusões

Os resultados obtidos sugerem o seguinte:

1. Existe uma grande variabilidade nas soluções de própolis.
2. Os níveis de flavonóides variam em quantidade e qualidade.
3. Há necessidade da realização de pesquisas para padronização do controle de qualidade no tipo de própolis indicado para uso medicinal.

Aceito para publicação em 28/10/98.

ABSTRACT

Spectrophotometric UV/VIS and colorimetric analyses of total flavonoids were developed on propolis samples collected in different regions. An important difference in total flavonoids was found. The results indicate that the chemical composition of propolis, specially total flavonoids, is dependent on a variety of factors.

Key words: propolis, flavonoids, natural products

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BRUSCHI, M.; FRANCO, S. Teor de flavonóides na própolis "in natura" e em extratos alcoólicos, segundo coleta obtida na fazenda experimental da UEM-FEI. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1995. Maringá. *Anais...* [s.l.]: CNPq/UEM/UEL/UEPG, 1995. p.407
- 2 HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. pharmacol*, v.32, n.7, p.1141-1148, 1983.
- 3 JURD, L. Aluminum complexes of phenolic flavones. Spectral and structural correlations. *Phytochem*, p.445-462, 1969.

- 4 KOO, M.; PARK, Y. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Biosci. Biotech. Biochem.**, v.61, n.2, p.367-369, 1997.
- 5 MARCUCCI, M. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química nova**, v.19, n.5, p.529-536, 1996.
- 6 PARK, Y. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current microbiology**, v.36, p.24-28, 1998.
- 7 PEREIRA, A. et al. Aplicação da cromatografia gasosa de alta resolução e alta temperatura no estudo de própolis. In: **Resumos – XV Simpósio de plantas medicinais do Brasil**. Águas de Lindóia, [s.n], 1998. p. 195.
- 8 POÇAS, E. et al. Estudo da distribuição dos compostos de alta massa molecular em própolis brasileiro. In: **Resumos - XV Simpósio de plantas medicinais do Brasil**. Águas de Lindóia, [s.n], 1998. p.149.
- 9 PREZA, S.; FRANCO, S. Estudos cromatográficos de flavonóides e taninóides contidos na própolis produzida no apiário da fazenda experimental de Iguatemi (FEI-UEM). In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1996, Londrina. **Anais...** [s.l]: CNPq/UEL/UEM /UEPG/UNIOESTE, 1996. p.394.