

# ESTUDO PRELIMINAR DA ACTIVIDADE ANTIFÚNGICA E EFEITO QUELANTE DE IÕES DO PRÓPOLIS

Moreira L.L., Pereira A.P., Morais M., Estevinho L.M.\*

CIMO – Centro de Investigação de Montanha do Instituto Politécnico de Bragança

Campus Santa Apolónia – Apartado 1172, 5301-855 Bragança

Tel. +351 273 303 200 Fax +351 273 325 405 e-mail: leticia@ipb.pt

**Palavras-chave:** própolis; actividade antifúngica; actividade quelante de iões.

**Resumo:** O própolis é uma substância resinosa produzida pelas abelhas e tem sido utilizado na medicina não convencional durante muito tempo, no tratamento e prevenção de inúmeras doenças, devido às suas propriedades biológicas, tais como antitumoral, antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e efeito imunomodulador, entre outros.

O estudo preliminar da actividade antifúngica foi realizado testando o própolis (5mg/mL, 10mg/mL e 20mg/mL) em três leveduras patogénicas: *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*, usando a *Sacharomyces cerevisiae* como referência. Os resultados demonstraram que o crescimento de todos os microrganismos foi afectado pela presença de própolis no meio extracelular, sendo que à concentração de 20mg/mL foi possível reduzir em 48h o número de unidades formadoras de colónias em cerca de 90%.

Para avaliar a actividade quelante de iões utilizaram-se dois própolis Portugueses, seguindo o método descrito por Decker and Welch. Os resultados demonstram que ambos os própolis evidenciam efeito quelante nos iões, sendo que o de Bornes - Trás-os-Montes se mostrou mais eficaz quando comparado com o de Fundão - Beira Interior. Dada a importância destes resultados, principalmente, devido ao aumento de doenças provocadas por leveduras resistentes a antibióticos. Em estudos posteriores proceder-se-á à quantificação das concentrações mínimas inibitórias, bem como à identificação dos compostos envolvidos nesta propriedade, e à elucidação dos mecanismos de acção. Relativamente à actividade quelante de iões esta pode ter interesse noutras funções a abordar em estudos posteriores, nomeadamente à utilização deste produto como anticoagulante.

## 1. INTRODUÇÃO

O própolis é uma substância resinosa produzida pelas abelhas a partir dos exsudados das plantas em conjunto com as enzimas salivares, com vestígios de néctar e pólen. Tem sido utilizado na medicina não convencional desde a antiguidade, no tratamento e prevenção de inúmeras doenças, devido às suas propriedades biológicas, tais como antitumoral, antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, efeito imunomodulador, entre outros [1].

Durante muitos anos o interesse pelo uso do própolis esteve latente, só recentemente, as investigações e o interesse nesta área voltaram a assumir uma elevada importância na comunidade científica. Inúmeras empresas como a alimentar e farmacêutica têm reforçado os seus investimentos na descoberta das potencialidades deste produto natural, o problema que se coloca é a grande variação na composição, uma vez que depende da variabilidade genética da rainha, da flora envolvente, da estação do ano, do

clima e de outros factores do ecossistema que envolve o apiário [2]. Por este motivo, estão a ser efectuados estudos no sentido de solucionar este problema.

No que respeita à actividade antibacteriana, esta encontra-se muito estudada, no entanto, a nível mundial os estudos com a actividade antifúngica do própolis são escassos.

As investigações têm sido desenvolvidas, maioritariamente, em países como o Brasil e a China, grandes produtores e consumidores mundiais de própolis [3]. Em Portugal somente existe um estudo publicado sobre este produto da colmeia, que é fruto do trabalho da nossa equipa.

Deste modo, este estudo pretende avaliar a potencialidade do uso do própolis Português como antifúngico e adicionalmente, estudar o seu poder quelante de iões.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Amostras**

Neste trabalho experimental foram utilizadas duas amostras de própolis (Bornes – Trás-os-Montes; Fundão – Beira Interior), extraídas de acordo com a metodologia descrita por Moreira *et al.* 2008.

### **2.2 Avaliação da actividade antifúngica**

A actividade antifúngica foi avaliada pelo método de macrodiluição em caldo, utilizando como material biológico três leveduras patogénicas: *Candida albicans* CECT 1394, *Candida krusei* ESA 11, *Cryptococcus neoformans* ESA 3 e *Saccharomyces cerevisiae* ESA 1, como estirpe de referência. Os microrganismos CECT foram obtidos da colecção de culturas Espanhola da Universidade de Valência, enquanto os microrganismos ESA são isolados clínicos identificados no Laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária de Bragança. As concentrações de própolis testadas foram 5, 10 e 20 mg/mL. Determinou-se o número de unidades formadoras de colónias (UFC) no momento da inoculação (T0), e ao fim de 24 (T1) e 48 horas de incubação (T2). Quando necessário, procedeu-se à diluição das amostras com água destilada.

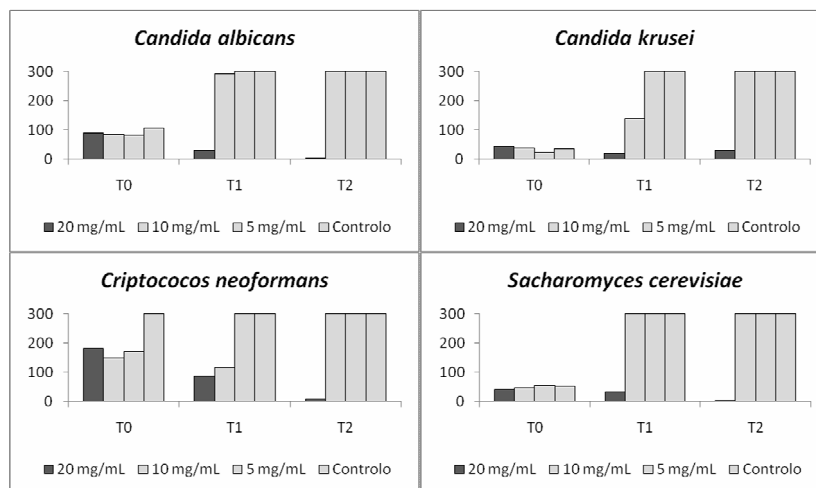
### **2.3. Efeito quelante de iões metálicos**

O estudo desta actividade permite avaliar a capacidade do própolis para capturar iões metálicos do meio envolvente.

A metodologia utilizada foi a descrita por Topçu *et al.* 2006 [3]. A uma alíquota de amostra foi adicionado cloreto de ferro, após 10 minutos de reacção, adicionou-se ferrozina. A cor originada pela reacção entre o  $Fe^{2+}$  em suspensão e a ferrozina foi quantificada a 562nm.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos para a actividade antifúngica encontram-se representados na figura 1.

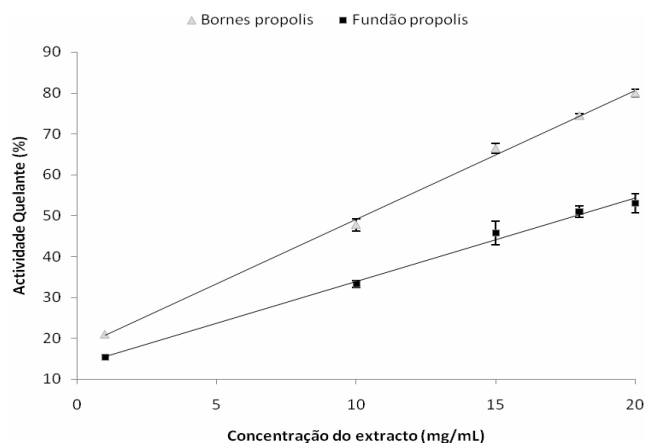


**Figura 1** – Contagem de UFC (unidades formadoras de colónias) obtidas pelo método de macrodiluição em caldo para as quatro leveduras testadas.

Da análise dos resultados constatou-se que o crescimento das leveduras não foi afectado por concentrações de própolis de 5 e 10 mg/mL, no entanto, observou-se um decréscimo acentuado na viabilidade para concentrações de 20 mg/mL. As leveduras *C. albicans* e *S. cerevisiae* demonstraram ser as mais sensíveis, pois praticamente, não se verificou crescimento ao fim das 48 horas.

Deste modo, através da análise dos resultados constata-se que o própolis possui efeito antifúngico, nomeadamente em *Cândida albicans*, levedura de importância clínica mais representativa.

Os resultados obtidos para a actividade quelante de iões estão apresentados na figura 2.



**Figura 2** – Gráfico representativo da percentagem da actividade quelante de iões em função da concentração de própolis

Conforme se pode observar na figura, a actividade quelante de iões aumentou linearmente com a concentração de própolis. No entanto esta foi diferente para as duas amostras, apresentando o própolis de Bornes menor valor de  $EC_{50}$  (10,3 mg/mL) quando comparado com o do Fundão (17,8 mg/mL). A diferença entre eles pode atribuir-se à composição e concentração de compostos fenólicos, como descrito por Moreira *et al.* 2008 [1].

Estes resultados sugerem que o própolis pode vir a ser usado como alternativa aos antifúngicos convencionais, e poderá vir a ser usado como anticoagulante, na terapia de doenças do foro cardiovascular, após estudos mais aprofundados.

#### **4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] – L. Moreira, L. G. Dias, J. A. Pereira, L. Estevinho. *Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal*, Food and Chemical Toxicology, **46** (2008), 3482-3485
- [2] - V.S. Bankova, S.L. Castro, M.C. Marcucci. *Apidologie* **31** (2000). 3-15.
- [3] – G. Topcu, M. Ay, A. Bilici, C. Sarikurkcu, M. Ozturk, A. Ulubelen. *A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus*, Food Chemistry, **103** (2007), 816-822.