COMPOZIȚIA CHIMICĂ A EXTRACTULUI DE PROPOLIS

CHEMICAL COMPOSITION OF PROPOLIS EXTRACT

CZU: 547.262:543.42:638.135 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.83**

Carolina GRIGORAȘ,
ORCID: 0009-0006-7123-7453
e-mail: carolina.grigoras@usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
Maria GONȚA,
ORCID: 0000-0003-3476-0967
e-mail: maria.gonta@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova
Alexandru CIOCÂRLAN,
ORCID: 0000-0002-0776-5095
e-mail: alexandru.ciocarlan@usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Summary. *Propolis is a natural product with a complex chemical composition, which varies largely by geographical area and plant species visited by bees. Although the propolis collected from the same geographical area has similarities in chemical composition, specific compounds are also attested, due to the local flora. Over the years, numerous studies have been carried out on the chemical composition of propolis, but for the moment there is no common procedure for obtaining and analyzing propolis extracts, which makes it difficult to use the product in the food, cosmetics and pharmaceutical industries. In the present study we aimed to analyze the chemical composition of propolis extracts obtained by maceration with the use of 60%, 70% and 80% ethyl alcohol as solvent, in order to identify the main compounds and analyze the influence of solvent concentration on the extraction of active ingredients. For this purpose, GC-MS and UV-Vis analysis were performed, which confirmed that the predominant constituents are flavanoids with unsubstituted B ring, a characteristic aspect of propolis originating from the temperate zone.*

Keywords: *chemical composition, GC-MS and UV-Vis analysis, propolis extract.*

INTRODUCERE

Propolisul este un produs natural rășinos, de origine apicolă, care se compune din ceară de albine și exudate vegetale. Compoziția chimică a propolisului este complexă și variază în funcție de origine, momentul colectării, sursele de plante vizitate de albine și speciile de albine [1].

Peste 800 de compuși au fost identificați în diferite probe de propolis din diverse zone geografice. În propolisul din zona temperată, tropicală, mediteraneană și Pacificului, au fost identificați în principal alcooli, acizi și esterii acestora, benzofurani, benzopirani, calconi, flavonoide și esterii lor, glicozide, gliceride, lignani, fenilpropanoizi, stero-

izi, terpene și terpenoide. Dintre acestea, flavonoidele (> 140), terpenele și terpenoidele (> 160), fiind componentele esențiale.

Constituenții caracteristici propolisului originar din zona temperată (Asia de Vest, Africa de Nord, Europa și America de Nord, părți din Argentina și Noua Zeelandă) sunt flavonoidele fără substituenți ai inelului B, cum ar fi crizina, galanginul, pinocembrina, pinobanksinul.

Componentele chimice dominante în propolisul din regiunea tropicală, în special propolisul verde brazilian, sunt fenilpropanoizii prenilați (de exemplu, artepillina C) și diterpenele, iar pentru propolisul produs în regiunea Pacificului, compusul caracterisitic este flavanona de geranil care se găsește și în propolisul originar din Africa.

Flavonoidele fiind constituenții majori ai propolisului, contribuie foarte mult la activitățile farmacologice ale acestuia. Acestea au un spectru larg de proprietăți biologice, cum ar fi efecte antibacteriene, antivirale și antiinflamatorii. După structura chimică, flavonoidele din propolis sunt clasificate în flavone, flavonoli, flavanone, flavanonoli, chalcone, dihidrochalcone, izoflavone, izodihidroflavone, flavane, izoflavane și neoflavonoide [1-3].

În ciuda asemănărilor fitochimice caracteristice ale propolisului din cadrul aceleiași zone geografice, au fost observate, de asemenea, unicitatea specifică regiunii și variația compoziției chimice [1].

MATERIALE ȘI METODE

Materia primă: propolisul brut, a fost colectat în noiembrie 2023 din zona de sud-est a Republicii Moldova, satul Mihailovca, raionul Cimișlia (46°32′23″N 28°55′45″E) [5]. Zona de sud-est a Republicii Moldova din districtul botanic Tigheci este caracterizată de păduri ce constituite aproximativ 20–30% din suprafața per ansamblu a masivului, alcătuită din următoarele specii: gorun, stejar pufos, jugastru, carpen, tei, arțar, frasin, ulm, salcâm, glădiță ș.a. [4]. În imediată apropiere de stupi sunt plante și pomi fructiferi precum: floarea-soarelui, meri, peri, etc.

Obținerea extractelor etanolice de propolis

Extractele etanolice de propolis (EEP) au fost obținute prin extracție convențională-macerarea. Procesul de extracție s-a realizat la temperatura camerei timp de 10 zile cu agitare periodică, raportul dintre materie primă:solvent fiind de 1:10, iar în calitate de solvent au fost utilizate soluțiile de alcool etilic (EtOH) de 60%, 70% și respectiv 80% [5].

Analiza GC-SM a extractelor etanolice de propolis

Analiza GC-SM a axtractelor etanolice de propolis a fost efectuată folosind un cromatograf de tip Agilent 7890 A cuplat cu detector de masa Agilent 5975C (MSD), dotat cu un injector (250 ºC, 1:50, 1 mL), o coloană capilară calibrată HP-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm), temperatura de termostatare de 250º și un debit constant al gazului purtător (He) de 1.1 mL/min, la o presiune în interiorul camerii de ionizare de 8,8 psi. Programul de temperatură din cuptor a fost: 70ºC timp de 2 minute, cu o creștere de 5 ºC /min. până la 200ºC, menținute timp de 20 minute, apoi până la 300ºC timp de 5 minute.

Scanarea a fost efectuată în intervalele 30-300 u.a.m. timp de 15 minute și 30-450 u.a.m. cu reținerea de solvent timp de 3 minute.

Analiza spectrală UV-Vis

Spectrele de absorbție a extractelor etanolice de propolis au fost înregistrate pe un spectrofotometru UV-Vis (PG Instruments Ltd. T 70 UV-VIS, Lutterworth, Maria Britanie), într-o cuvă de cuarț în intervalul 190-800 nm, folosind în calitate de martor soluțiile de alcool etilic de 60%, 70% și respectiv 80%.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Extractele etanolice de propolis au fost obținute conform procedurii descrise mai sus, iar după extracție, probele au fost centrifugate la 8800 rpm, timp de 10 minute, ulterior au fost plasate pentru 12 ore la temperatura de +4°C, după care s-a repetat procedura de centrifugare, urmată de filtrarea extractelor. Extractele obținute au fost puse la păstrare în vase de culoare închisă la + 4°C pentru a fi utilizate în testele ulterioare.

Probele medii a extractelor etanolice de propolis (EEP- EtOH de 60%, 70% și 80%), au fost analizate prin cromatografia cu gaze cuplată cu spectrometria de masa (GC-MS). În rezultatul analizei au fost identificați 8 constituenți principali, aceștia în mare parte sunt flavonoide, compuși caracteristici propolisului din zona temperată (Tabelul 1).

Tabelul 1. Rezultatele analizei cromatografice GC-SM a extractelor de propolis

No.	Compusul	EEP (60%)		EEP (70%)		EEP (80%)	
		TR*, min	%	TR *, min	%	TR *, min	%
1	Acid (*E*)-*p*-cumaric	30.71	**1.07**	**-**	**-**	30.75	**1.31**
2	Acid ferulic	31.72	**5.26**	31.71	**6.40**	31.71	**5.18**
3	Pinostrobin chalcona	32.59	**2.45**	32.58	**3.89**	32.58	**4.09**
4	Pinocembrin	33.04	**21.70**	33.03	**26.23**	33.03	**23.33**
5	9-(*Z*)-Retinal	33.41	**1.69**	33.40	**2.05**	33.41	**2.11**
6	Tectocrizin	33.59	**12.96**	33.59	**13.35**	33.59	**12.60**
7	Naringenin	33.94	**22.11**	33.94	**22.07**	33.95	**18.90**
8	Crizin	34.16	**6.37**	34.13	**7.89**	34.13	**9.41**

***TR** – timp de retenție.

Analiza comparativă a rezultatelor obținute, denotă că nu se atestă variații mari a concentraților compușilor identificați, cu excepția pinocembrinului, ce a fost identificat în cantități mai mari în EEP- EtOH 70% (Figura 1).

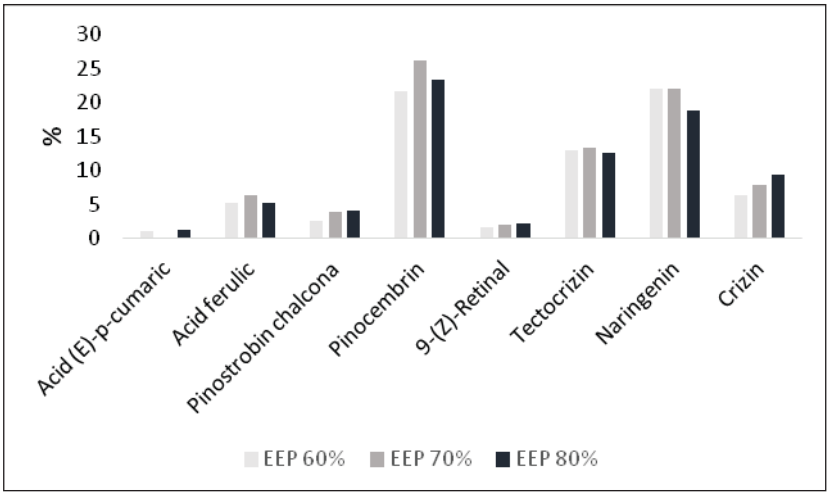


Figura 1. Analiza comparativă a compoziției chimice a extractelor etanolice de propolis

Compușii identificați aparțin la câteva clase de compuși: acizi fenolici (acidul (*E*)-*p*-cumaric (**1**) și acidul ferulic (**2**)), mono-hidroxiflavanone (pinostrobin chalcona (**3**)), dihidroxiflavanone (pinocembrin (**4**)), aldehide (9-(*Z*)-retinal (**5**)), monohidroxiflavone (tectocrizin (**6**)), flavanone (naringenin (**7**)), dihidroxi-flavone (crizin (**8**)) (Figura 2). Aceștia au rol de agenți antiinflamatori, agenți antineoplazici, antioxidanți, antimicrobiene, etc.

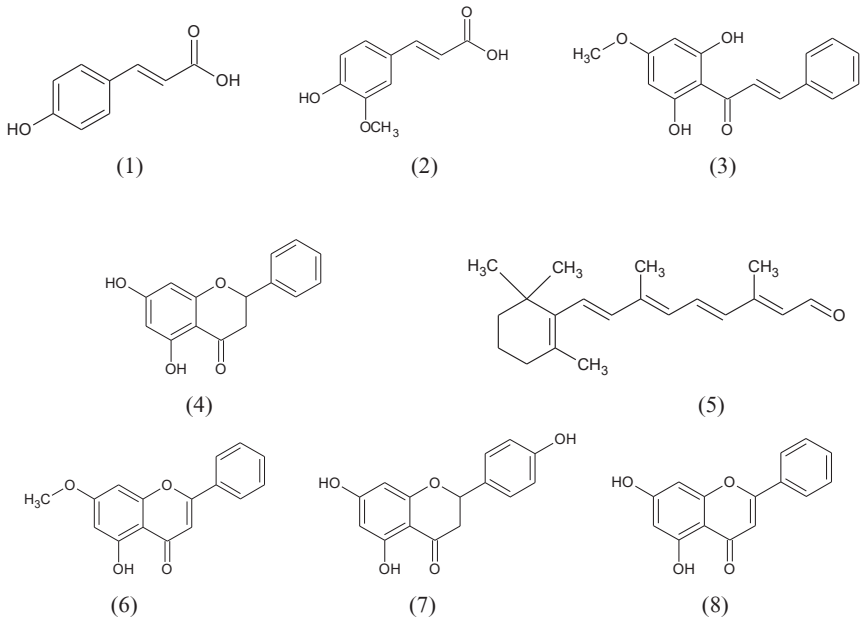


Figura 2. Formulele de structură ai principalilor constituenți identificați în extractele etanolice de propolis

A fost realizată analiza spectrală UV-Vis a extractelor de propolis, în rezultat au fost obținute spectrele înregistrate în intervalul 190-800 nm (Figura 3), iar datele cu privire la maximele lor de abosorbție sunt prezentate în (Tabelul 2). Analiza spectrelor și a datelor obținute confirmă repetat, că extractele de propolis conțin flavanoide, pentru acestea fiind caracteristice maximile de absorbție înregistrate în domeniul 190-400 nm, de asemenea valorile date sunt comparabile și apropiate cu maximile de absorbție identificate în literatura de specialitate pentru compușii determinați.

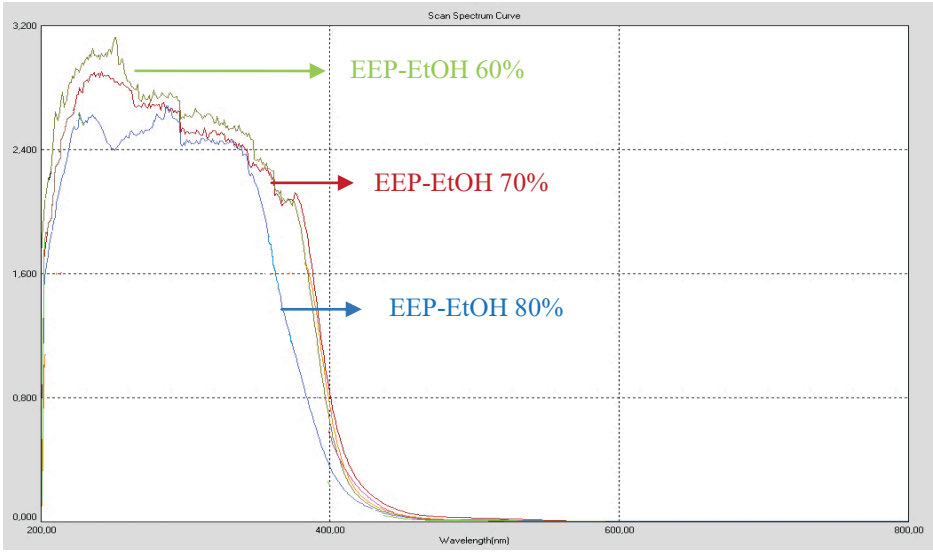


Figura 3. Spectrele de absorbție în UV-Vis a extractelor etanolice de propolis

Tabelul 2. Datele cu privire la analiza spectrală a extractelor etanolice de propolis

Compusul	λ_{max}, nm	EEP-EtOH 60%		EEP-EtOH 70%		EEP-EtOH 80%	
		λ, nm	Abs	λ, nm	Abs	λ, nm	Abs
Acid (*E*)-*p*-cumaric	226 312-361 [6]	375,00 337,00	2,074 2,563	376,00 355,00	2,125 2,291	380,00 307,00	1,692 2,032
Acid ferulic	218,236,295 [6]	327,00 322,00 317,00	2,596 2,619 2,632	347,00 320,00 313,00	2,323 2,526 2,542	273,00 243,00	2,192 2,306
Pinostrobin chalcona	250-380, 340 max [7]	307,00 290,00 278,00	2,668 2,770 2,789	308,00 298,00 285,00	2,531 2,541 2,707		
Pinocembrin	290 [8]	271,00	2,758	275,00	2,701		
9-(*Z*)-Retinal	380 nm	267,00	2,825	271,00	2,705		
Tectocrizin	-	256,00	2,991	242,00	2,904		
Naringenin	283 nm [9]	251,00	3,129	237,00	2,902		
Crizin	305, 265 [10]						

CONCLUZII

1. A fost realizată analiza GC-MS a extractelor etanolice de propolis în urma căreia au fost identificați 8 compuși esențiali, mai exact: acidul (*E*)-*p*-cumaric, acidul ferulic, pinostrobin chalcona, pinocembrin, (*Z*)-retinal, tectocrizin, naringenin, crizin.
2. Analiza GC-MS și spectrofotometrică UV-Vis au confirmat prezența flavonoidelor în compoziția chimică a extractelor, o bună parte dintre care sunt flavanoide fără substituenți în inelului B, ceea ce este caracteristic pentru propolisul din zona temperată.

REFERINȚE

1. KASOTE, D., BANKOVA, V., VILJOEN, A.M. Propolis: chemical diversity and challenges in quality control. In: *Phytochemistry Reviews.* 2022. vol. 21, p. 1887–1911. În: https://doi.org/10.1007/s11101-022-09816-1.
2. WOŹNIAK, M., SIP, A., MRÓWCZYŃSKA, L., BRONIARCZYK, J., WAŚKIEWICZ, A., RATAJCZAK, I. Biological Activity and Chemical Composition of Propolis from Various Regions of Poland. In: *Molecules*. 2022. nr. 28(1), p. 141-142. În: 10.3390/molecules28010141.
3. HUANG, S., ZHANG, C.P., WANG, K., LI, G.Q., HU, F.L. Recent advances in the chemical composition of propolis. In: *Molecules*. 2014. vol. 19, p. 19610-19632. ISSN 1420-3049. În: 10.3390/molecules1912 19610.
4. STAN, M., BACAL, S. Noi contribuții la cunoașterea stafilinidelor (Coleoptera: Staphylinidae) din rezervația peisagistica Codrii Tigheciului (Republica Moldova). In: *Oltenia - studii și comunicări științele naturii*. 2006. nr. 22, p. 155-159. ISSN 1454-6914.
5. GONȚA, M., GRIGORAȘ, C. Determinarea conținutului total de compuși fenolici în extractul de propolis în funcție de concentrația solventului. In: *Patrimoniul cultural de ieri – implicaţii în dezvoltarea societăţii durabile de mâine*, 8-9 feb. 2024. Ed. 8, p. 182-183. ISSN 2558 – 894X.
6. ROBBINS, J.R. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Metholodology. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2003. nr. 51, p. 2866-2887. DOI: 10.1021/jf026182t.
7. IBRAHIM, A.M., MUHAMMAD, N.A., HUSSAM, D.A., HAZRULRIZAWATI A. Characterization of two chalcone derivatives isolated from finger root with nutraceutical potentials. In: *Interantional Journal of Advanced Research.* 2018. vol. 6(11), p. 1089-1094. ISSN: 2320-5407. În: http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/8097
8. YANG, X., WANG, X., CHEN, X.Y., JI, H.Y., ZHANG, Y., LIU, A.J. Pinocembrin-Lecithin Complex: Characterization, Solubilization, and Antioxidant Activities. In: *Biomolecules*. 2018. vol. 8(2), p. 41 În: 10.3390/biom8020041.

9. SAHU, A.K., SAHU, G.K., DASH, D.K., MISHRA, S.P., MISHRA, K., KASHYAP, P., JAIN,V. Asessment of *in vitro* Naringenin releas from solid lipid nanoparticules and kinetic model profiling: applied ultraviolet-visible spectrophotometer. In: *Indian Drugs.* 2017. vol. 54(11), p. 46-57.
10. TOŠOVIĆ, J., MILOSEVIC, Z., MARKOVIĆ, S. Imulation of the UV/VIS spectra of flavonoids. In: *Journal of IEEE 15th International Conference on Bioinformatics and Bioengineering (BIBE).* 2015. p. 1-5. DOI: 10.1109/BIBE.2015.7367646.

NOTĂ. Acest studiu a fost realizat în cadrul subprogramului de cercetare, cod: 010603, „*Cercetări avansate în chimia computațională și ecologică, identificarea procedeelor tehnologice de tratare, formare a calității și cantității apelor*”. Mulțumiri se aduc domnului Dr. conf. univ., Ion DRAGALIN, Cercetător științific coordonator al laboratorului „*Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi*”, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova pentru aportul adus la realizarea analizei cromatografice GC-MS.