



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

MARYANE KAROLYNE BUARQUE VASCONCELOS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PRÓPOLIS VERMELHA DO NORDESTE  
DO BRASIL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ANTI-  
*CANDIDA***

Recife  
2025

MARYANE KAROLYNE BUARQUE VASCONCELOS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PRÓPOLIS VERMELHA DO NORDESTE  
DO BRASIL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ANTI-  
*CANDIDA***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

**Área de concentração:** Micologia Médica

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Vasconcelos, Maryane Karolyne Buarque.

Caracterização fitoquímica de própolis vermelha do Nordeste do Brasil, atividade antioxidante e avaliação de potencial anti candida / Maryane Karolyne Buarque Vasconcelos. - Recife, 2025. 73f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, 2025.

Orientação: Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo.

Inclui referências.

1. Antifúngico; 2. Produtos naturais; 3. Compostos bioativos. I. Macêdo, Danielle Patrícia Cerqueira. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

MARYANE KAROLYNE BUARQUE VASCONCELOS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PRÓPOLIS VERMELHA DO NORDESTE  
DO BRASIL, AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ANTI-CANDIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Biologia de Fungos da  
Universidade Federal de Pernambuco, Centro  
de Biociências como requisito para a obtenção  
do título de Mestre em Biologia de Fungos.  
Área de concentração: Micologia Médica

.

Aprovado em: 31/01/2025.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Daniela Silva Buonafina Paz  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE  
(Examinador Interno)

---

Dr.<sup>a</sup> Ianca Karine Prudêncio de Albuquerque  
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Medicina Tropical  
(Examinador Externo)

Dedico esta dissertação à memória da minha mãe, cuja força, amor incondicional e ensinamentos continuam a me guiar, mesmo com sua partida. Sua presença em minha vida foi e permanecerá como a luz que orienta meus passos. Este trabalho, assim como toda minha existência, é fruto do seu amor, da sua coragem e de tudo o que aprendi através de sua dedicação. Com toda a saudade e eterna gratidão, esta realização é, e sempre será, em sua homenagem.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que, em Sua infinita bondade, permitiu a conclusão deste trabalho.

Agradeço especialmente à minha mãe, que, mesmo descansando no Eterno, permanece comigo em espírito e deixou em mim o legado de sua força, amor e sabedoria. Ao meu pai e ao meu irmão, por todo incentivo, amor e apoio incondicional. Amo vocês imensamente.

À professora Dr<sup>a</sup> Danielle Macedo, expresso meu profundo reconhecimento pela paciência, dedicação, parceria e carinho. Sua orientação foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho, sou imensamente grata por cada conselho e palavra de incentivo ao longo dessa jornada. Nos momentos mais difíceis, sua presença fez toda a diferença. O que há de bom no LAM é reflexo do seu amor, dedicação e da atenção que oferece a todos nós.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Análises Microbiológicas (LAM) —lanca, Mayara Paulo, Marques, Débora, Kivia, Anne, Gabriel Torres e Gabriel Nascimento —, que compartilharam comigo seu tempo, paciência e experiências, contribuindo de forma significativa para o meu trabalho e me ajudando em todos os momentos. Mais do que colegas, vocês se tornaram amigos para a vida. Obrigada por cada risada e conversa. Vocês são a prova de que momentos difíceis podem ser tornar mais tranquilos se estivermos acompanhados das pessoas certas.

Aos meus amigos e irmãos de vida — Itamirys, Michael, Luiz, Amanda, Thiago, Pedro, Gih, Felipe, Rayane Alex —, meu mais sincero agradecimento pelo apoio constante, pelas palavras de conforto e encorajamento. Ter vocês ao meu lado tornam a caminhada mais leve e significativa. Não consigo imaginar minha vida sem a presença de vocês.

À minha família — tios, primos e todos que são parte essencial de mim —, agradeço pelo amor incondicional. É uma dádiva divina saber que sempre terei suporte e carinho. Família grande é sinônimo de amor multiplicado, então para nós, será infinito. A minha gatinha Sheila Michelle, por sua companhia silenciosa, de conforto e por estar em meu colo em cada página escrita. Você torna tudo mais doce.

Agradeço também à professora Dr<sup>a</sup> Elba Lúcia e Jeni que cederam o espaço do LAPRONAT, permitindo que parte essencial deste trabalho acontecesse. Obrigada pelo acolhimento, orientação e disponibilidade.

À Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, por me proporcionarem a oportunidade de viver essa experiência acadêmica.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro através da bolsa de mestrado, minha gratidão por tornar este trabalho possível.

Agradeço imensamente ao Sr. Jean, responsável pelo Apiário Zumbi dos Palmares, pela generosa cessão da amostra de própolis utilizada nos experimentos. Sem essa colaboração essencial, o desenvolvimento deste estudo não teria sido possível.

Sinto-me profundamente grata pela sorte e privilégio de ter cruzado caminhos com pessoas tão especiais ao longo da minha vida. Este trabalho é mais uma prova de que os laços que construí são pilares fundamentais em minha trajetória. Cada pessoa, à sua maneira, contribuiu para que este mestrado fosse possível, seja por meio de apoio direto ou pela simples presença que traz conforto e inspiração. A todos que, com gestos de carinho, amizade e amor, tornaram esta jornada mais leve e significativa, minha eterna gratidão. Vocês fazem parte deste marco.

## RESUMO

A própolis vermelha é um material resinoso produzido por abelhas a partir de exsudatos de plantas, flores e pólen. Classificada recentemente como o 13º tipo de própolis brasileira, sua composição química varia de acordo com fatores como vegetação, local e época de coleta. Este estudo objetivou caracterizar os componentes fitoquímicos do extrato de própolis vermelha coletada em União dos Palmares, Alagoas, Brasil, avaliando também suas atividades antioxidante e antifúngica. O extrato foi obtido por maceração e caracterizado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e métodos espectrofotométricos para determinação de fenóis totais, taninos e flavonoides. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método do DPPH, com cálculo do valor de IC<sub>50</sub>. A atividade antifúngica foi determinada por testes de microdiluição em poços, estabelecendo a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a cepas de *Candida* sp. Os resultados indicaram a presença significativa de taninos, fenóis totais e flavonoides, com valores de 1266,94 ± 8,94 mg/gEAT para fenóis totais, 590,23 ± 3,47 mg/gEAT para taninos e 1035,34 ± 9,36 mg/gER para flavonoides. Esses compostos, fortemente associados ao potencial antifúngico, destacaram-se como os principais constituintes fitoquímicos do extrato. No teste de atividade antioxidante, o valor de IC<sub>50</sub> foi de 424,12 ± 15,90 µg/mL, demonstrando capacidade antioxidante moderada. Nos ensaios antifúngicos, os extratos mostraram atividade frente a todas as cepas testadas. Entre os isolados clínicos, *Candida albicans* IC01 e IC02 apresentaram CIMs de 250 µg/mL e 125 µg/mL, respectivamente. *C. krusei* IC01 exibiu uma CIM de 250 µg/mL, enquanto *C. krusei* IC02 apresentou CIM de 125 µg/mL. Para *C. tropicalis*, os valores de CIM foram de 125 µg/mL e 62,5 µg/mL, para IC01 e IC02, respectivamente. Entre as cepas controle, *C. albicans* ATCC 14053 apresentou uma CIM de 500 µg/mL, enquanto *C. krusei* ATCC 6258 obteve CIM de 250 µg/mL. Conclui-se que o extrato de própolis vermelha possui notável conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides, com potencial antioxidante moderado e relevante atividade antifúngica, especialmente contra isolados clínicos de *Candida* sp. Esses resultados reforçam o potencial farmacológico da própolis vermelha e incentivam estudos adicionais para elucidar seus mecanismos de ação.

**Palavras-chave:** Antifúngico; Própolis vermelha; Produtos naturais; Compostos bioativos



## ABSTRACT

Red propolis is a resinous material produced by bees from plant exudates, flowers, and pollen. Recently classified as the 13th type of Brazilian propolis, its chemical composition varies according to factors such as vegetation, collection site, and season. This study aimed to characterize the phytochemical constituents of red propolis extract collected in União dos Palmares, Alagoas, Brazil, and to evaluate its antioxidant and antifungal activities. The extract was obtained by maceration and characterized through Thin Layer Chromatography (TLC) and spectrophotometric methods for the quantification of total phenolics, tannins, and flavonoids. Antioxidant activity was assessed using the DPPH radical scavenging assay, with IC<sub>50</sub> values calculated. Antifungal activity was determined through broth microdilution assays to establish the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) against *Candida* spp. strains. The results revealed a significant presence of tannins, total phenolics, and flavonoids, with values of 1266.94 ± 8.94 mg/gGAE for total phenolics, 590.23 ± 3.47 mg/gGAE for tannins, and 1035.34 ± 9.36 mg/gQE for flavonoids. These compounds, which are strongly associated with antifungal potential, were the main phytochemical constituents identified in the extract. The IC<sub>50</sub> value for antioxidant activity was 424.12 ± 15.90 µg/mL, indicating moderate antioxidant capacity. In antifungal assays, the extracts showed activity against all tested strains. Among clinical isolates, *Candida albicans* IC01 and IC02 presented MICs of 250 µg/mL and 125 µg/mL, respectively. *C. krusei* IC01 exhibited a MIC of 250 µg/mL, while *C. krusei* IC02 showed a MIC of 125 µg/mL. For *C. tropicalis*, MIC values were 125 µg/mL and 62.5 µg/mL for IC01 and IC02, respectively. Among control strains, *C. albicans* ATCC 14053 had a MIC of 500 µg/mL, and *C. krusei* ATCC 6258 presented a MIC of 250 µg/mL. In conclusion, red propolis extract contains a remarkable concentration of phenolic compounds and flavonoids, demonstrating moderate antioxidant potential and significant antifungal activity, particularly against clinical isolates of *Candida* spp. These findings support the pharmacological potential of red propolis and encourage further studies to elucidate its mechanisms of action.

**Keywords:** Antifungal; Red propolis; Natural products; Bioactive compounds

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Apis mellifera</i> depositando própolis na colmeia. ....	18
Figura 2: Coloração das própolis brasileiras e estado onde foram catalogadas. ....	22
Figura 3 - Variações dos tipos de própolis. Marrom escura (A), marrom (B), Verde (C); Amarela (D) e Vermelha (E). ....	24
Figura 4 - <i>Apis mellifera</i> coletando resina de <i>Dalbergia ecastophyllum</i> . ....	25
Figura 5 - Rato "mumificado" em própolis vermelha. ....	26
Figura 6: Estruturas químicas dos bioativos: (A) isoflavonas, retusapurpurins A e B; (B) Formononetina; (C) Neovestitol e (D) Vestitol. ....	29
Figura 7 – Esqueleto químico fundamental dos flavonoides e a estrutura de alguns	31
Figura 8 - Estrutura química dos taninos hidrolisáveis. ....	32
Figura 9 - Estrutura química dos taninos condensados. ....	33
Figura 10 - Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos. ....	34
Figura 11 - Estrutura química dos antioxidantes naturais ....	34
Figura 12: Morfologias do gênero <i>Candida</i> . A – Levedura unibrotante, B – Pseudo-hifa e C – Hifa verdadeira. ....	36
Figura 13: Localização do estado de Alagoas em relação ao Nordeste brasileiro. (A), Mapa de satélite do município União dos Palmares, onde fica localizado o apiário (B), Identificação do apiário parceiro (C). ....	43
Figura 14: Metodologia da obtenção do extrato concentrado de própolis. ....	44
Figura 15 - Esquema da Cromatografia de camada delgada (CCD). ....	46
Figura 16: Reação de estabilização do radical livre DPPH por um agente antioxidante. ....	48
Figura 17 - Representação da microdiluição em placa para a técnica de CIM. ....	50
Figura 18 – Placas de Cromatografia sob luz ultravioleta. A – Flavonoides, B – Compostos fenólicos e C – Taninos. ....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação das diferentes variações de própolis produzidas no Brasil.	21
Tabela 2 - Metabólitos pesquisados e seu sistema eluente, padrões e reveladores utilizados. ....	45
Tabela 3 - Prospecção fitoquímica realizada pelo método de CCD no extrato de própolis vermelha. Na tabela, a presença do composto é indicada por “+”. ....	52
Tabela 4 – Atividade antioxidante e análise fitoquímica do extrato de própolis vermelha .....	54
Tabela 5 – Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL de extrato e fluconazol. ....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade Antioxidante
AL	Alagoas
ATCC	American Type Culture Collection
BA	Bahia
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>C. krusei</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>C. paraosilosis</i>	<i>Candida paraosilosi</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
CE	Ceará
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CNA	<i>Candida não-albicans</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária
HPLC/CLAE	High-Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
IG	Identificação Geográfica
LAM	Laboratório de Análises Microbiológicas
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mg	Micrograma
NEU	etilborilaminoéster
PE	Pernambuco
PI	Piauí
PR	Paraná
PVA	Própolis Vermelha de Alagoas
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
RS	Rio Grande do Sul
RTIQ	Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade
SP	São Paulo

UFPE

Universidade Federal de Pernambuco

μL

Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
2.1	GERAL.....	16
2.2	ESPECÍFICOS .....	16
<b>3</b>	<b>REFERÊNCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>17</b>
3.1	PRÓPOLIS .....	17
3.1.1	Classificação da própolis brasileira .....	20
3.1.2	Própolis Vermelha .....	24
3.2	COMPOSTOS BIOATIVOS DA PRÓPOLIS VERMELHA .....	27
3.2.1	Compostos fenólicos .....	30
3.2.2	Flavonoides.....	30
3.2.3	Taninos.....	31
3.2.4	Atividade antioxidante .....	33
3.3	GÊNERO <i>Candida</i> .....	35
3.3.1	Fármacos empregados no tratamento da candidíase .....	38
3.3.2	Fluconazol.....	40
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
4.1	LOCAL DE TRABALHO.....	43
4.2	OBTENÇÃO DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS.....	43
4.3	OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA .....	44
4.4	TRIAGEM FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD).....	44
4.5	DOSEAMENTO DE FENÓIS TOTAIS.....	46
4.6	DOSEAMENTO DE TANINOS .....	46
4.7.	DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES .....	47
4.8	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH .....	47
4.10	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	48

4.10.1 Microrganismos testes .....	48
4.10.2 Confirmação taxonômica dos isolados clínicos .....	49
4.10.3 Teste de Concentração Inibitória Mínima .....	49
4.10.4 Teste de susceptibilidade antifúngica ao fluconazol .....	50
4.11 ANÁLISES ESTÁTISTICAS .....	51
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
5.1 PERFIL FITOQUÍMICO .....	52
5.1.1 Triagem por Cromatografia de Camada Delgada (CCD).....	52
5.1.2 Determinação de fenóis totais, taninos, flavonoides e atividade antioxidante.....	54
5.1.3 Atividade Antioxidante por DPPH .....	55
5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFUNGICA .....	57
5.2 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AO FLUCONAZOL .....	61
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas oportunistas podem acometer indivíduos com diferentes graus de imunossupressão ou doenças de base debilitantes e têm sido motivo de real preocupação quanto à gravidade dos quadros clínicos e refratariedade aos tratamentos. Tais infecções podem ser caracterizadas clinicamente como superficiais ou sistêmicas, e dentre os agentes etiológicos, podemos citar fungos filamentosos, como pertencentes ao gênero *Apergillus*, *Mucor* e *Fusarium*, bem como leveduras dos gêneros *Cryptococcus* e *Candida* (Vitale *et al.*, 2021).

As leveduras do gênero *Candida* são microrganismos unicelulares, comensais, que fazem parte da microbiota humana em diversos sítios corpóreos, como pele, dobradiças do corpo, canal vaginal, cavidade bucal e ânus. São consideradas oportunistas quando, em desequilíbrio com o hospedeiro, transitam do estado de colonização para doença, estabelecendo os casos de candidíase (Pappas *et al.*, 2018).

Ao se discutir infecções oportunistas, uma espécie de frequência destacável é *Candida albicans*, sendo o principal agente causador dessa micose, seguida por outras espécies emergentes, denominadas como *Candida não-Candida albicans*, aquelas que pertencem ao conjunto das *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*, (Cascio *et al.*, 2010; Macêdo *et al.*, 2010; Pappas *et al.*, 2018). A depender das apresentações clínicas dos casos de candidíase, os esquemas terapêuticos são estabelecidos, sendo os derivados azólicos os fármacos de primeira escolha para quadros de infecções superficiais em pele e/ou mucosas (de Oliveira Santos *et al.*, 2018).

Atualmente, o fluconazol é considerado o principal fármaco empregado como primeira escolha nestes casos, sendo uma droga segura e bem tolerada pela maior parte dos pacientes acometidos (Herreras Gómez *et al.*, 2022). No entanto, nos últimos anos, um número crescente de cepas de *Candida* sp. resistentes aos derivados azólicos, têm sido descritos (Vitale *et al.*, 2021).

Diante desse cenário de resistência crescente, aumenta também o interesse por alternativas terapêuticas, especialmente aquelas oriundas de produtos naturais. Há uma ampla gama de benefícios farmacológicos atribuídos ao uso de fitoterápicos e produtos naturais, e um produto que vêm recebendo destaque, é a própolis. Este composto tem despertado interesse devido às suas diversas propriedades farmacológicas, incluindo atividades antimicrobiana, imunomoduladora, anti-



inflamatória, antitumoral, entre outras (Farida *et al.*, 2021). Entre essas propriedades, destaca-se a atividade antifúngica, que foi documentada contra uma variedade considerável de espécies (Dalben-Dota *et al.*, 2010; Siqueira *et al.*, 2009).

Durante o desenvolvimento de estratégias terapêuticas alternativas para candidíase, produtos naturais com propriedades antifúngicas são explorados. Após estudos bioquímicos sobre as diferentes composições e potenciais antimicrobianos da própolis, foi observado que a complexidade química dos metabólitos secundários conferem propriedades interessantes, dentre elas, antifúngicas (Neves *et al.*, 2016).

Um tipo de própolis brasileira encontrada principalmente no Nordeste, popularmente conhecida como “própolis vermelha”, e descrita pela primeira vez por Alencar *et al.* (2007), destacou-se como um complexo de substâncias com potencial antioxidante, antifúngico e antibacteriano, em ensaios de laboratório (Junior *et al.*, 2012).

Em 2016, Neves e colaboradores, demonstraram que a atividade antimicrobiana da própolis vermelha está parcialmente associada à isoflavona formononetina, ilustrando assim que ainda há necessidade de investigação deste e de outros constituintes fitoquímicos, além de pesquisas de suas propriedades anti-*Candida* com as mais variadas espécies, como apontado também por Alencar *et al.* (2007).

Neste contexto, a própolis vermelha do Nordeste do Brasil coletada pelo gênero de abelhas *Apis mellifera* de exsudatos resinosos vermelhos de *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub., uma espécie de árvore conhecida como Rabo-de-Bugio, tem sido citada por suas propriedades terapêuticas. Contudo, pouco sobre sua composição e propriedades antifúngicas foram relatadas, bem como respostas sobre mecanismo de ação destas biomoléculas (Pratami *et al.*, 2020).

Diante da importância de identificar produtos naturais com potenciais efeitos terapêuticos e considerando o crescente desafio representado pelas infecções causadas por cepas resistentes de *Candida* sp., bem como a limitada base de estudos científicos sobre a própolis vermelha do Nordeste brasileiro, este trabalho teve como objetivo investigar as propriedades fitoquímicas e antifúngicas da própolis vermelha coletada no estado de Alagoas. Essa abordagem visa contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre o tema e para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas inovadoras.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Caracterizar a composição da própolis vermelha coletada no Nordeste do Brasil, determinar o potencial antioxidante e avaliar a propriedade antifúngica *in vitro* frente cepas de controle e a isolados clínicos de *Candida* sensíveis e resistentes ao fluconazol.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Obter extrato etanólico de própolis vermelha bruta;
- Determinar o conteúdo de fenóis totais e taninos;
- Determinar o conteúdo total de flavonoides;
- Caracterizar a composição fitoquímica majoritária de amostras de própolis vermelha;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato de própolis vermelha;
- Realizar a confirmação taxonômica de isolados clínicos de *Candida* da coleção de cultura do Laboratório de Análises Microbiológicas (LAM).
- Avaliar a atividade antifúngica do extrato de própolis vermelha em isolados clínicos e cepas padrão de espécies de *Candida*.

### 3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PRÓPOLIS

A própolis, assim como o mel, é um dos muitos produtos produzidos pelas abelhas, entretanto, mesmo não sendo o foco principal de produção, a relevância deste composto tem crescido significativamente como resultado de descobertas a respeito de sua composição e das diversas aplicações desse produto em indústrias diversas como a farmacêutica, química, alimentícia, biomédica e manufatureira (Anjum *et al.*, 2019).

Sabe-se que a própolis tem sido utilizada pela humanidade em diferentes formas ao longo dos séculos, desde tempos mais remotos, despertando o interesse dos pesquisadores nas últimas décadas, devido às suas diversas propriedades biológicas (Sforcin; Bankova, 2011). Registros históricos indicam que a prática da apicultura tem origem há aproximadamente 4.400 anos, com os antigos egípcios, sendo estes os primeiros a estimular as abelhas em construir suas colônias em potes de barro, muitas vezes nas proximidades das residências dos produtores de mel (Anjum *et al.*, 2019).

A utilização da própolis no campo da medicina remonta a várias outras civilizações, incluindo os assírios, gregos, romanos e incas. Pesquisas sugerem que a própolis desempenhou um papel fundamental no processo de preservação de indivíduos falecidos, servindo como ingrediente no processo de embalsamamento dos corpos, além disto, os gregos documentaram a sua eficácia como agente benéfico para fins de cura física (Jacob *et al.*, 2015).

Do grego *pro*: para, em defesa e *polis*: cidade ou comunidade, a própolis é coletada pelas abelhas operárias a partir exsudatos resinosos de diferentes partes de plantas como flores, folhas, galhos, brotos e raízes, após esta coleta, as abelhas adicionam cera à resina vegetal recolhida, que é então misturada com suas secreções salivares e enzimáticas (Sforcin; Bankova, 2011).

Dentro da colmeia, a própolis é aplicada principalmente no reparo de sua estrutura física, no selamento de frestas, manutenção da temperatura e ainda no processo de mumificação de invasores grandes demais para serem removidos, evitando assim, sua decomposição dentro da colmeia. Ademais, a própolis atua como um antisséptico, protegendo as larvas, mel e favos contra infecções fúngicas e bacterianas, considerando que vivem em colônias com milhares de indivíduos, uma

infecção pode se espalhar rapidamente por toda a população (Anjum *et al.*, 2019b).

Figura 1 - *Apis mellifera* depositando própolis na colmeia.



Fonte: Secretaria da agricultura, pecuária e desenvolvimento de Minas Gerais (2019).

A própolis trata-se de um material lipofílico, que se diferencia por sua dureza e fragilidade quando exposto a baixas temperaturas, apresentando-se com textura quebradiça. Contudo, sob temperaturas iguais ou superiores à ambiente, adquire uma consistência suave, flexível e de aspecto pegajoso; seu odor é marcante, e sua coloração varia conforme a fonte botânica das resinas utilizadas (Feitosa, 2020).

No Brasil, a própolis é produzida principalmente pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* africanizadas e foi classificada em 13 tipos distintos, de acordo com a região geográfica em que é encontrada. Essa classificação reflete a influência direta da variabilidade botânica nacional que determina não apenas a origem, mas também a composição química e as propriedades biológicas das diferentes própolis. Entre os tipos mais estudados destacam-se a própolis verde, a vermelha e a marrom, amplamente reconhecidas por suas propriedades bioativas e elevado valor comercial (Alencar *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2002).

A própolis é constituída predominantemente por resinas e bálsamos, representando entre 50% e 70% de sua composição, além de cera (30% a 50%), pólenes (5% a 10%), aminoácidos, minerais e vitaminas A, B e E. Também apresenta

derivados fenólicos e compostos aromáticos, cuja proporção varia conforme a flora da região visitada pelas abelhas (Cordeiro; Vera, 2024).

Sua destacada atividade antioxidante, que supera a da vitamina C, é atribuída principalmente aos flavonoides presentes na fração resinosa. Esses compostos são reconhecidos por conferir à própolis propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, antitumorais e anti-inflamatórias (Cordeiro; Vera, 2024; Zulhendri *et al.*, 2022).

Não obstante, é evidenciada sua propriedade antimicrobiana, apresentando eficácia contra bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, e Gram-negativas, como *Salmonella* sp., outrossim, apresentou capacidade de inibir a enzima glicosiltransferase em espécies de *Streptococcus*, incluindo *S. mutans* e *S. sobrinus* (Ahangari; Naseri; Vatandoost, 2018).

De acordo com (Zulhendri *et al.*, 2022) a própolis apresentou ação eficaz contra vários patógenos orais anaeróbios, como *Lactobacillus acidophilus* e *Porphyromonas gingivalis*, esta atividade sendo atribuída principalmente à presença de flavonoides e compostos como o ácido cafeico. Sua atividade antifúngica contra *Candida albicans* e seus efeitos antivirais sobre o vírus da influenza aviária também foram frisados, mostrando aumento de eficácia quando combinada com fármacos comerciais (Alencar *et al.*, 2007b; Anjum *et al.*, 2019b).

Além de atividade microbiológica, é relatada sua utilização como um agente ativo no desenvolvimento de epitélio no processo de cicatrização de feridas cutâneas, promovendo a proliferação de queratinócitos, como o crescimento capilar depende do crescimento das células epiteliais, é possível que a própolis tenha o potencial de estimular o crescimento dos cabelos (Miyata *et al.*, 2014).

As atividades biológicas, como ação antimicrobiana (bactericida e fungicida), anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, fotoprotetora, antibiótica, antiviral, antioxidante, imunomoduladora (com papel crucial na terapêutica antitumoral, no transplante de órgãos e medula óssea e no tratamento de doenças autoimunes), hipotensora, entre várias outras (Queiroz *et al.*, 2021), estão associadas, segundo (Zulhendri *et al.*, 2022), a espécie de planta utilizada, à quantidade de resina coletada, às misturas com outras plantas regionais e às diferentes épocas do ano.

No que diz respeito às variedades de própolis, é fundamental destacar que a espécie ou linhagem de abelha utilizada pode afetar a qualidade do produto, adicionando que fatores não biológicos, como o método de extração, localização das colmeias, as técnicas adotadas nos ensaios e a época do ano em que a própolis é produzida, também podem influenciar o grau de atividade biológica. Isso ocorre porque a composição da própolis está diretamente relacionada à resina coletada pelas abelhas, o que pode resultar em variações na coloração, dependendo da região de origem (Queiroz *et al.*, 2021).

Segundo Barreto (2020), o Brasil possui a maior diversidade química de própolis entre os países tropicais, o que tem impulsionado a produção desse produto no território nacional. Atualmente, o Brasil ocupa o terceiro lugar no *ranking* mundial de produção de própolis, gerando cerca de 150 toneladas anuais, sendo dois terços da produção brasileira exportados para países como o Japão, contribuindo para o crescimento do setor apícola brasileiro (Cordeiro; Vera, 2024).

### **3.1.1 Classificação da própolis brasileira**

Conforme Anjum *et al.*, (2019), a própolis é considerada um produto opoterápico de origem mista, tal qual, apresenta elevada complexidade. Suas características são influenciadas por diversos fatores, dentre eles: a região de coleta, a fauna e a flora locais, condições sazonais, climáticas e de pluviosidade. No Brasil, a coleta de própolis ocorre ao longo de todo o ano, dependendo da produtividade dos pastos apícolas, estes fatores, combinados, resultam em variações sazonais e únicas em sua composição.

Levando em consideração o ponto de vista físico-químico, a própolis possui parâmetros bem definidos, com variações reconhecidas, estes parâmetros estão descritos nos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQ) para Produtos de Origem Animal, regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), dentre os principais parâmetros, destacam-se: massa mecânica, teor de cera, solubilidade em etanol, atividade oxidante, teor de flavonoides, compostos fenólicos, perda por dessecação, teor de cinzas e características sensoriais como aroma, cor e sabor (Barreto, 2020).

Comercialmente, a própolis é classificada por diferentes métodos e critérios. O primeiro baseia-se na origem botânica predominante, o segundo utiliza aspectos

visuais e a granulometria, diferenciando a própolis em formas como tiras ou pó. O terceiro critério agrupa a própolis em subtipos: 1, 2, 3 e resinoso, com base nos teores de compostos bioativos. Nesse contexto, a própolis do tipo 1 é considerada de melhor qualidade, enquanto a resina apresenta qualidade inferior (Barreto, 2020).

Além dessa categorização, pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas (Park *et al.*, 2002), elaboraram uma classificação que identifica 12 tipos de própolis brasileiras baseados nas principais características físico-químicas, a seguir em 2007, Alencar e colaboradores, identificaram um 13º tipo de própolis no estado de Alagoas, como mostra a tabela a seguir:

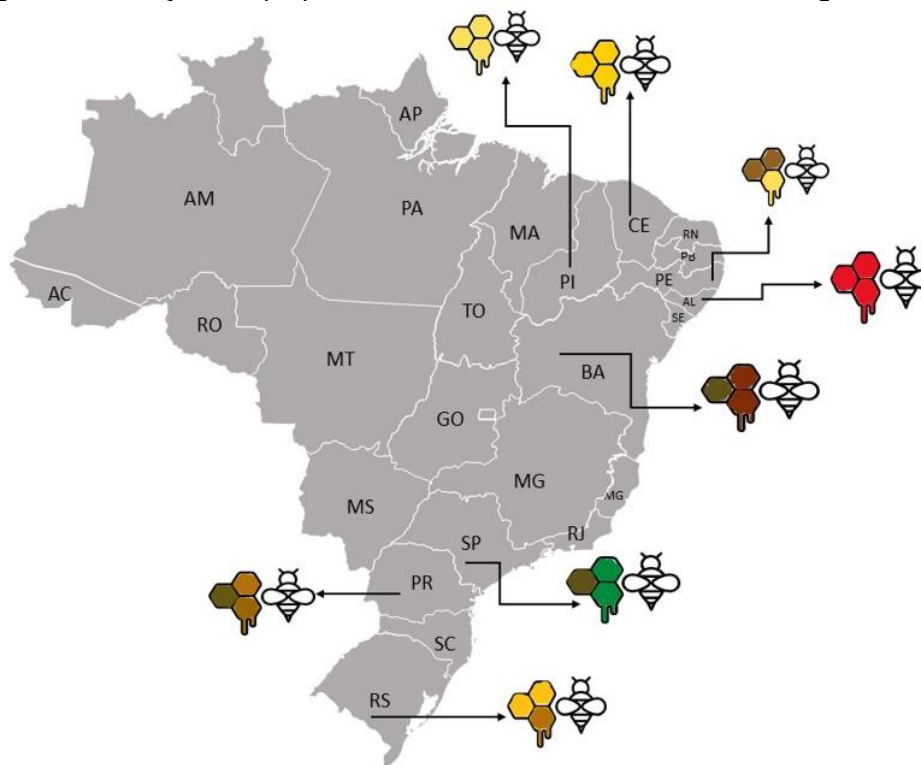
Tabela 1 - Classificação das diferentes variações de própolis produzidas no Brasil.

<b>Grupos/Estado</b>	<b>Cor</b>	<b>Origem da própolis (Região)</b>
Grupo 1 (RS)	Amarelo	Sul
Grupo 2 (RS)	Castanho Claro	Sul
Grupo 3 (PR)	Castanho Escuro	Sul
Grupo 4 (PR)	Castanho Claro	Sul
Grupo 5 (PR)	Marrom Esverdeado	Sul
Grupo 6 (BA)	Marrom Avermelhado	Nordeste
Grupo 7 (BA)	Marrom Esverdeado	Nordeste
Grupo 8 (PE)	Castanho Escuro	Nordeste
Grupo 9 (PE)	Amarelo	Nordeste
Grupo 10 (CE)	Amarelo Escuro	Nordeste
Grupo 11 (PI)	Amarelo	Nordeste
Grupo 12 (SP)	Verde ou marrom esverdeado	Sudeste
Grupo 13 (AL)	Vermelha	Nordeste

Fonte: Adaptado de Park *et al.*, 2002 e Alencar *et al.*, 2007.

Desta forma, as diferentes colorações de própolis são associadas às distintas regiões do Brasil, nas quais foram coletadas, como ilustra a figura abaixo:

Figura 2: Coloração das própolis brasileiras e estado onde foram catalogadas.



Fonte: A autora (2025).

Apesar da categorização, no Brasil, apenas quatro das treze própolis catalogadas possuem correlações botânicas bem definidas, são elas: Grupos 3, 6, 12 e 13. A limitação decorre da diversidade da flora brasileira, que oferece uma ampla variedade de matéria-prima para as abelhas, tendo em vista que no processo de produção da própolis, as abelhas coletam recursos de diferentes fontes vegetais dentro de uma mesma área (Silva *et al.*, 2008).

Além disso, a ausência ou escassez de estruturas vegetais, como polén e pequenas lascas de madeira, em algumas amostras de própolis, dificulta essa associação, pois as abelhas podem coletar exsudatos diretamente de troncos e ramos danificados, sem transportar fragmentos vegetais para a colmeia (Park *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2008).

A identificação precisa da origem vegetal da própolis é fundamental para esclarecer sua composição química e propriedades bioativas, essa informação



permite a padronização e controle de qualidade necessários para aplicações em áreas como medicina, alimentação e agricultura (Park *et al.*, 2002).

A correlação entre a própolis e sua origem vegetal é estabelecida por meio de análises palinológicas (estudo de pólenes), identificação de outras estruturas vegetais e compostos biológicos presentes na resina apícola coletada (Santos *et al.*, 2020; Toreti *et al.*, 2013).

A composição da própolis é amplamente diversificada e heterogênea, sendo influenciada por fatores como a estação do ano, a fauna, flora locais e as condições climáticas, tal variação contribui para sua complexidade, pois há incorporação de produtos do metabolismo secundário das plantas, como compostos fenólicos e terpenos, além de substâncias adicionadas pelas abelhas, como proteínas e ácidos graxos; a singularidade de cada tipo de própolis resulta da interação dessas variáveis, que afetam diretamente suas características químicas, físicas e biofuncionais (Salgueiro, 2016; Santos *et al.*, 2020).

A coloração da própolis apresenta uma ampla variação, que pode ir de amarelo a marrom escuro, tons esverdeados, até alcançar tonalidades de marrom avermelhado, dependendo de sua origem geográfica e da flora predominante na região de coleta. Além disso, a própolis exibe um odor característico, cuja intensidade e perfil aromático também variam entre as diferentes amostras, refletindo sua composição química distinta (Barreto, 2020).

A coloração castanha escura é majoritariamente derivada dos botões florais da planta *Populus alba* L., a própolis marrom avermelhada tem como fonte vegetal principal a *Hyptis divaricata*., enquanto a própolis verde e as variações de amarelo são produzidas a partir dos brotos e folhas de *Baccharis dracunculifolia* DC. (alecrim-do-campo). Por fim, a própolis vermelha do Nordeste, origina-se dos exsudatos dos caules e folhas de *Dalbergia ecastophyllum* (L.), (rabo-de-bugio) (Barreto, 2020; Park *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2008).

Figura 3 - Variações dos tipos de própolis. Marrom escura (A), marrom (B), Verde (C); Amarela (D) e Vermelha (E).



Fonte: RuraltecTV (2024).

### 3.1.2 Própolis Vermelha

De acordo com Ccana-Ccapatinta *et al.*, (2020), no Brasil, a espécie *Dalbergia ecastophyllum* foi identificada como a principal fonte vegetal de resina vermelha coletada pelas abelhas *Apis mellifera*. Popularmente, conhecida como rabo-de-bugio ou marmelo do mangue, a planta *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taubert pertence à família Leguminosae, que abrange 600 gêneros e 12.000 espécies (Mata, 2014). O gênero *Dalbergia* L., é notável por suas árvores, arbustos e trepadeiras, amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Aresi, 2011).

Esta espécie que é conhecida principalmente por seu exsudato de pigmento vermelho intenso, possui hábito terrestre/semiaquático, desenvolvendo-se bem em solos alagados, como mangues, estuários e dunas. Pode se estender sobre as águas e é bem adaptada a condições de alta salinidade. Nessas áreas, contribui para a fixação do solo, oferecendo proteção, facilitando a manutenção e propagação das

espécies, além de prevenir a erosão, sendo de grande relevância ambiental e ecológica na região (Aresi, 2011).

No momento da coleta de seiva, as abelhas, da espécie *Apis mellifera* L., utilizam suas mandíbulas para raspar substâncias resinosas presentes em botões florais e exsudatos resultantes de cortes já existentes dos tecidos vegetais. Com o auxílio das pernas dianteiras e intermediárias, as abelhas manipulam e compactam o material, armazenando-o nas corbículas, que são estruturas localizadas na tíbia das patas traseiras (Bonamigo *et al.*, 2017; Mello; Hubinger, 2012; Toreti *et al.*, 2013).

Figura 4 - *Apis mellifera* coletando resina de *Dalbergia ecastophyllum*.



Fonte: Jean Carvalho, 2022.

A resina coletada pelas abelhas é então depositada na colmeia e, durante esse processo, ocorre a adição de secreções salivares, cera e, eventualmente, grãos de pólen, aderidos ao seu corpo, resultando na formação da própolis como é conhecida. Assim, sua composição constitui uma mistura complexa e elástica de substâncias gomosas e balsâmicas, cujas características de coloração, textura e consistência refletem diretamente o exsudato coletado de *Dalbergia ecastophyllum*, atribuindo à própolis produzida os tons de vermelho e aroma característicos (Bonamigo *et al.*, 2017).

Similarmente ao papel protetor desempenhado pelas resinas nas plantas, a própolis vermelha desempenha funções essenciais para a colmeia. Atua como agente de defesa contra predadores, promovendo a higienização do ambiente e contribuindo

para a manutenção da temperatura interna da colônia. Além disso, a própolis vermelha é utilizada pelas abelhas para selar orifícios na estrutura da colmeia, bloqueando a entrada de invasores externos e, em casos em que não possam ser removidos, suas carcaças são mumificadas, assim, evitando a decomposição e a contaminação do espaço. Destaca-se, ainda, pelo elevado potencial na prevenção de infecções causadas por micro-organismos, apresentando maior eficácia comparativa às própolis verde e marrom (Santos *et al.*, 2020; Trusheva *et al.*, 2006).

Figura 5 - Rato "mumificado" em própolis vermelha.



Fonte: Mississippi State University (2017).

Do total de própolis vermelha produzido, aproximadamente dois terços são destinados à exportação para diversos países, com destaque para o Japão, que é o principal importador e o mercado que mais valoriza o produto brasileiro (Machado *et al.*, 2012; SEBRAE, 2017). As importações japonesas começaram em 1985, e atualmente cerca de 90% da própolis "*in natura*" consumida no país é de origem brasileira, sendo utilizadas na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e na agricultura (SEBRAE, 2017).

Em 2012, o estado de Alagoas conquistou o selo de Indicação Geográfica (IG), um reconhecimento que ampliou sua inserção em mercados internacionais e aumentou o valor do produto no mercado externo, após isto, o valor da própolis vermelha pode chegar a R\$ 500,00 por quilograma, refletindo sua elevada demanda

e exclusividade, podendo alcançar um valor até cinco vezes superior ao da própolis verde (SEBRAE, 2017).

Segundo o SEBRAE (2017), o Brasil ocupa atualmente a posição de segundo maior produtor de própolis no mundo, ficando atrás apenas da China. A produção nacional alcança cerca de 150 toneladas anuais para todas as variedades, com destaque para as principais regiões produtoras, localizadas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro; sendo a Bahia e Alagoas os principais responsáveis pela produção de 90% da própolis vermelha produzida no país, o equivalente a 100 kg/mês.

O elevado valor agregado à própolis vermelha está diretamente relacionado à lei de oferta e demanda, por ser originária de regiões de manguezal, principalmente da região Nordeste do Brasil, mais especificamente, nos estados de Alagoas e Bahia, sua produção anual é extremamente limitada quando comparada a outros tipos de própolis, a baixa produtividade torna o produto escasso no mercado, mesmo que a demanda por essa variedade específica também seja relativamente reduzida, se comparada aos outros tipos (Ribeiro *et al.*, 2023).

A própolis vermelha do Nordeste brasileiro destaca-se por seus notáveis benefícios biológicos, evidenciados por suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (Barreto, 2020; Ribeiro *et al.*, 2023). Apesar de sua produção em menor escala, essa riqueza natural apresenta um imenso potencial científico e econômico a ser explorado. Sua singularidade não apenas reforça a relevância dos recursos naturais do Brasil, mas também enfatiza a importância da valorização da biodiversidade nordestina. Nesse contexto, o investimento em estudos aprofundados e estratégias para seu aproveitamento é essencial, contribuindo para consolidar sua posição como um recurso de elevado valor biotecnológico e cultural.

### 3.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DA PRÓPOLIS VERMELHA

As substâncias bioativas provenientes de fontes naturais têm despertado crescente interesse entre os consumidores, dada sua aplicabilidade terapêutica. Esses componentes apresentam características notáveis, capazes de promover a otimização de processos fisiológicos e prevenir o surgimento de diversas patologias (Kieliszek *et al.*, 2018).

O uso de compostos bioativos, é possível devido à presença de metabólitos secundários, substâncias orgânicas sintetizadas por enzimas nos organismos vivos (Marzzoco; Torres, 2007). Assim como os metabólitos primários, que desempenham funções essenciais relacionadas à estrutura, plasticidade e armazenamento de energia, os metabólitos secundários são sintetizados pelas plantas ao longo de todo o seu ciclo vital.

Esses compostos desempenham um papel crucial na defesa das plantas, protegendo-as de ameaças externas, como outras plantas, insetos, herbívoros predadores e microrganismos patogênicos, da mesma forma os metabólitos secundários estão intimamente relacionados à capacidade de adaptação das plantas ao seu ambiente (Vasilaki *et al.*, 2019).

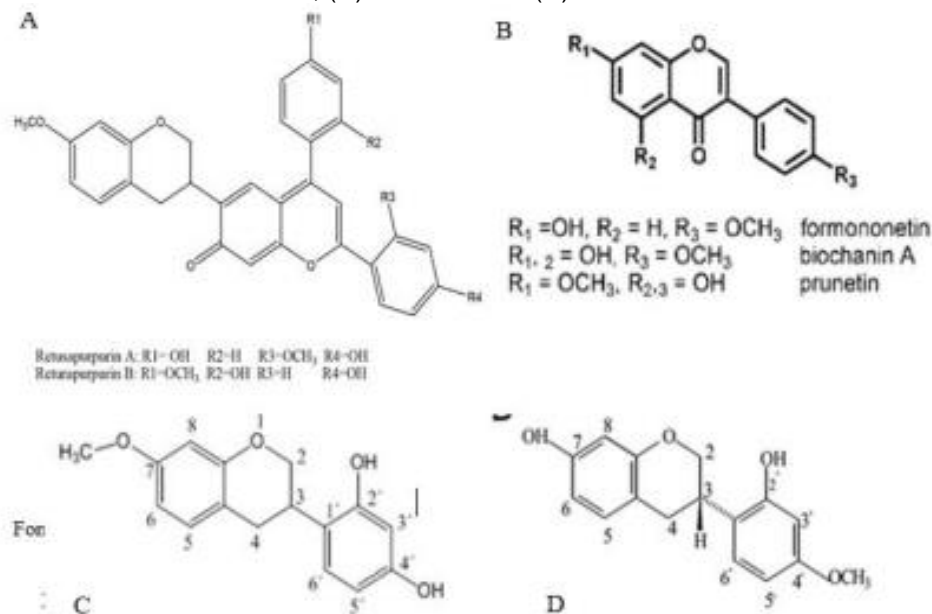
Evidências científicas demonstram a diversidade de substâncias presentes na composição da própolis, destacando-se: os taninos, catequinas, chalconas, auronas, xantonas, triterpenoides pentacíclicos, gutiferonas, flavonoides, isoflavonas (tais como formononetina e biochanina A), pterocarpanos, isoflavanoides C30, isoliquiritigenina, benzofenonas poliisopreniladas (PPBs), gutiferona E/xantocimol, oblongifolina A, 3,8-dihidroxi-9-metoxipterocarpan, 3,4-dihidroxi-9-metoxipterocarpan e 3-hidroxi-8,9-dimetoxipterocarpan (Ccana-Ccapatinta *et al.*, 2020; Mendonça *et al.*, 2015; Piccinelli *et al.*, 2011).

Alencar *et al.* (2007), ao empregar cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), identificou 20 compostos químicos na própolis vermelha brasileira, evidenciando sua complexidade e potencial bioativo. Entre os ácidos carboxílicos e seus derivados, destacam-se o ácido butanodioico, éster dimetílico, o ácido hidroxi-butanodioico, éster dimetílico, o ácido hexadecanóico, éster metílico e o ácido 10-octadecenóico, éster metílico, além do ácido benzóico, conhecido por suas propriedades antimicrobianas.

Os compostos fenólicos mais encontrados incluem o m-guaiacol, o methyleugenol, o methoxyeugenol, o metilo o-orsellinate e o 2,4,6-trimetilfenol, com destacadas atividades antioxidantes. Flavonoides como a homopterocarpina, o medicarpin, a 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol e a 7,4'-diidroxiisoflavona, o que reforçam a presença de compostos com potencial farmacológico (Alencar *et al.*, 2007b; Ccana-Ccapatinta *et al.*, 2020). Oldoni *et al.*, (2011) identificaram dois isoflavonoides, vestitol

e neovestitol, que se distinguem por suas propriedades terapêuticas, notadamente na modulação de processos inflamatórios.

Figura 6: Estruturas químicas dos bioativos: (A) isoflavonas, retusapurins A e B; (B) Formononetina; (C) Neovestitol e (D) Vestitol.



Fonte: (Bueno-Silva *et al.*, 2017; Rüfer; Kulling, 2006).

Adicionalmente, estudos de Mendonça *et al.*, (2015) e Lopez *et al.*, (2015) revelaram a presença de diversos compostos bioativos, como taninos flobafenos, catequinas, chalconas (isoliquiritigenina), auronas, flavononas (liquiritigenina, pinocembrina e naringenina), flavonóis, flavonas (galangina), xantonas, triterpenoides pentacíclicos, gutifersonas, isoflavonoides (formononetina, biochanina A, daidzeína e genisteína), ácidos fenólicos e pterocarpanos (medicarpina).

Os compostos químicos de maior prevalência, que atuam como marcadores na caracterização da própolis vermelha, são os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, abrangendo catequinas (flavan-3-ol), chalconas, auronas, flavonas, flavonóis, e isoflavonas, entre as quais se destacam pterocarpanos, formononetina, biochanina A, pinocembrina e medicarpina. Também estão presentes os taninos, sendo a presença de formononetina particularmente notável (Piccinelli *et al.*, 2011).

Esses compostos, quando investigados de forma isolada, realçam o potencial bioativo da própolis vermelha, consolidando-a como uma fonte natural promissora. Essa riqueza fitoquímica tem impulsionado pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de métodos produtivos e à compreensão dos mecanismos



bioquímicos que fundamentam seu valor singular como recurso natural (Bueno-Silva *et al.*, 2017).

### 3.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos distinguem-se quimicamente pela presença de um anel aromático contendo uma ou mais hidroxilas, incluindo seus respectivos derivados (Shahidi; Han, 1993). Esses bioativos integram o grupo dos metabólitos secundários das plantas, caracterizados por uma ampla variação estrutural e de massa molecular. Suas configurações podem abranger desde estruturas simples, com baixo peso molecular e um único anel fenólico, até formas complexas de elevado peso molecular, evidenciando uma notável diversidade estrutural (Kumar *et al.*, 2021).

Moniruzzaman *et al.* (2014) identificaram na Própolis Vermelha de Alagoas, compostos pertencentes à classe dos fenólicos, subdivididos em flavonoides como catequina, naringina, miricetina, naringenina, hesperetina, kaempferol e apigenina e ácidos fenólicos, incluindo ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido conífero, ácido benzoico e trans-ácido cinâmico. A concentração desses componentes apresenta variações conforme o tipo de própolis, influenciada pelas características regionais de origem, o que torna desafiadora a determinação de uma composição química padronizada (Rüfer; Kulling, 2006).

Esses compostos desempenham um papel crucial na proteção celular, atuando na neutralização do estresse oxidativo e, conseqüentemente, na prevenção do processo de apoptose. Tal efeito é mediado pela capacidade de capturar espécies reativas de oxigênio, destacando-se sua relevância para os mecanismos antioxidantes naturais (Bonamigo *et al.*, 2017).

### 3.2.2 Flavonoides

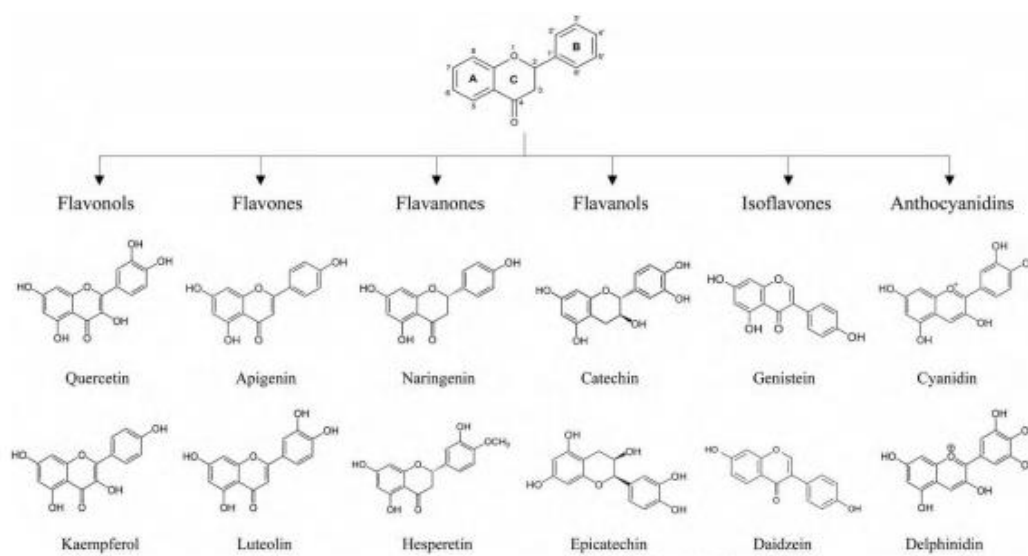
Os flavonoides são compostos polifenólicos frequentemente encontrado nas plantas, sua estrutura química caracteriza-se principalmente pela presença de 15 átomos de carbono dispostos em três anéis, conforme a formulação:  $C_6-C_3-C_6$ . Dentro das diferentes classes de flavonoides, destacam-se as flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavonóis, flavan-3-ols, e antocianidinas, além de outras subclasses, como biflavonas, chalconas, auronas e cumarinas (Pietta, 2000). Os principais flavonoides representam cerca de 25 a 30% do extrato etanólico de própolis,



quando analisados com base seca, evidenciando sua importância na composição química desse produto apícola (Bueno-Silva *et al.*, 2017).

Derivados dos compostos fenólicos, os flavonoides apresentam baixo peso molecular e possuem uma estrutura composta por dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de três carbonos, formando um anel heterocíclico. Quando ocorre uma modificação em sua fórmula estrutural padrão, pode haver a substituição desse anel heterocíclico, resultando na formação de flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas (Figura 7) (Moniruzzaman *et al.*, 2014).

Figura 7 – Esqueleto químico fundamental dos flavonoides e a estrutura de alguns representantes.



Fonte: (Kamiloglu *et al.*, 2021).

Em ensaios realizados com a própolis vermelha da região nordestina revelou um elevado teor de flavonoides em sua composição (Daugusch *et al.*, 2008). A presença desses compostos confere benefícios significativos à saúde humana, especialmente devido ao seu expressivo poder antioxidante (Kumar *et al.*, 2021; Moniruzzaman *et al.*, 2014).

### 3.2.3 Taninos

Os taninos, são uma importante classe dos compostos fenólicos, possuem massa molecular intermediária a alta, variando entre 500 e 3000 Daltons (Fennema, 1993). São conhecidos por sua capacidade de precipitar ou se ligar a proteínas solúveis, característica que lhes confere o sabor adstringente. Esse fenômeno, resultante da precipitação de proteínas salivares, é um fator relevante na qualidade

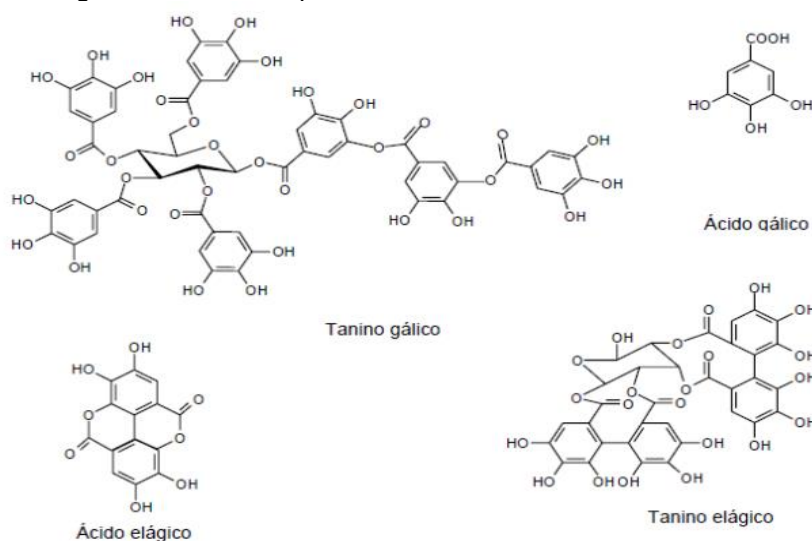
sensorial de alimentos como frutas e produtos processados (Hümmer; Schreier, 2008).

Quantidades elevadas de taninos são frequentemente encontradas em frutos verdes, conferindo-lhes um sabor desagradável. Esse mecanismo atua como estratégia de defesa, evitando sua ingestão por predadores antes que atinjam a maturidade necessária para a germinação das sementes (Hümmer; Schreier, 2008).

Além de sua reconhecida atividade antioxidante (Abu Zarin *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2014), os taninos apresentam uma ampla gama de propriedades biológicas, incluindo controle glicêmico (Lee *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2015) e atividades antitumoral, antimicrobiana (Abu Zarin *et al.*, 2016), antifibrinolítica (Pereira; Silva; Carbonari, 2017) e antiviral, com destaque para a eficácia contra o vírus da hepatite C (Ajala; Jukov; Ma, 2014).

Os taninos podem ser classificados em duas categorias principais: hidrolisáveis e condensados. Ambos os tipos são constituídos por moléculas conhecidas como poli-hidroxifenóis ou seus derivados. Os taninos hidrolisáveis incluem os galitaninos e os elagitaninos, derivados, respectivamente, do ácido gálico e do ácido elágico. São chamados de hidrolisáveis, uma vez que suas ligações ésteres são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas (Fennema, 1993; Pereira; Seixas; Aquino Neto, 2002).

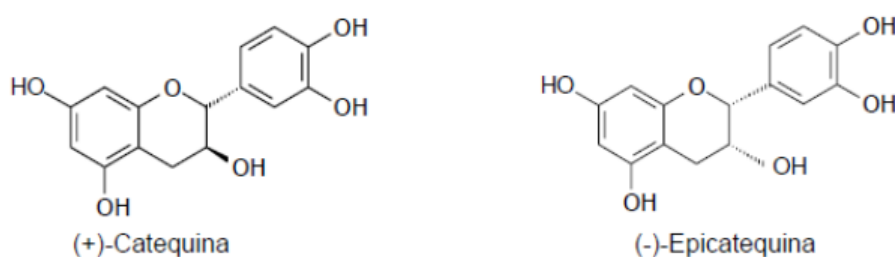
Figura 8 - Estrutura química dos taninos hidrolisáveis.



Fonte: (Júnior *et al.*, 2010).

Os taninos condensados englobam todos os demais taninos considerados verdadeiros. Suas moléculas apresentam maior resistência à fragmentação e estão associadas aos pigmentos flavonoides, possuindo uma estrutura polimérica baseada no flavan-3-ol, como a catequina, ou no flavan-3,4-diol, como a leucocianidina. Sob ação de ácidos ou enzimas, esses compostos tendem a se polimerizar, originando substâncias vermelhas insolúveis conhecidas como flobafenos. Esses compostos conferem a coloração avermelhada a diversas cascas vegetais, como a quina vermelha. Em solução, reagem com cloreto férrico, desenvolvendo uma coloração esverdeada, característica também observada no catecol (Haslam, 1998).

Figura 9 - Estrutura química dos taninos condensados.



Fonte: (Júnior *et al.*, 2010).

### 3.2.4 Atividade antioxidante

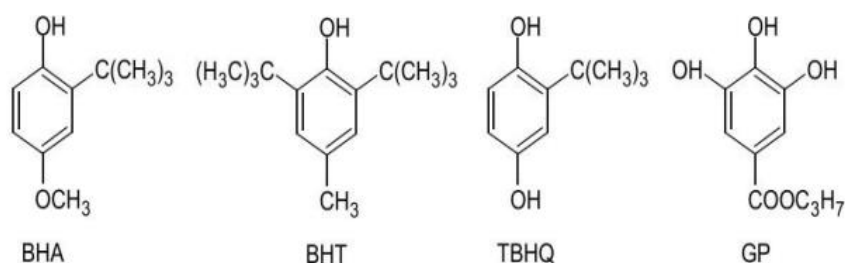
O estresse oxidativo, provocado pela ação de espécies reativas de oxigênio (EROs), está diretamente associado ao envelhecimento celular e ao desenvolvimento de doenças degenerativas, como o câncer (Noguchi; Niki, 2000), doenças cardiovasculares (Maqsood *et al.*, 2020) e patologias neurodegenerativas, incluindo Alzheimer e Parkinson (Kim *et al.*, 2014). A fim de prevenir a oxidação, é indispensável controlar fatores externos que influenciam a formação de radicais livres, como o contato com o oxigênio, a exposição à luz, temperaturas elevadas e a presença de metais (Ribeiro *et al.*, 2019).

Os compostos antioxidantes desempenham papel essencial no combate à formação de radicais livres, na redução de hidroperóxidos e peróxido de hidrogênio, contribuindo assim para a minimização dos danos celulares (Noguchi; Niki, 2000). Para o controle da geração de radicais livres, os antioxidantes primários atuam reagindo diretamente com os radicais livres, doando prótons para estabilizá-los. Já os antioxidantes secundários, também conhecidos como preventivos, interferem na

etapa de iniciação da cadeia oxidativa, reduzindo sua progressão (Ribeiro *et al.*, 2019).

Os antioxidantes sintéticos frequentemente presentes em alimentos industrializados incluem o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), propil-galato (PG) e terc-butilhidroquinona (TBHQ). Esses compostos possuem estruturas fenólicas, o que lhes confere a capacidade de doar um próton ao radical livre, interrompendo a cadeia de reações de oxidação. Esse mecanismo também permite a regeneração da molécula de acilglicerol, contribuindo para a estabilização do sistema oxidativo (Zhang *et al.*, 2014).

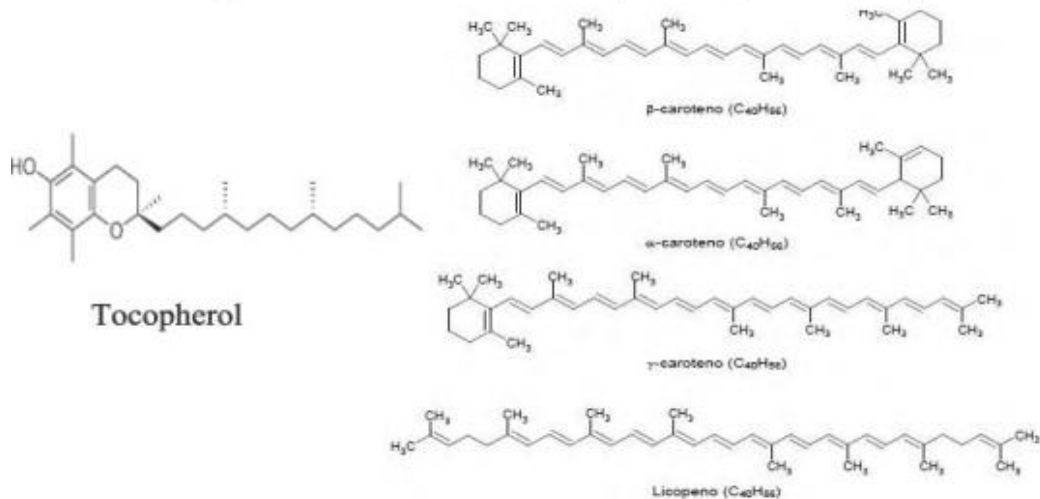
Figura 10 - Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos.



Fonte: (Vasilaki *et al.*, 2019).

Entre os principais exemplos de antioxidantes naturais, destacam-se os carotenoides (Noguchi; Niki, 2000), os tocoferóis (vitamina E), o ácido ascórbico (Moniruzzaman *et al.*, 2014) e os polifenóis (Vasilaki *et al.*, 2019). Para identificar a atividade antioxidante dos extratos vegetais, os métodos DPPH (Pietta, 2000), redução do reagente FolinCiocalteu (fenólicos totais) podem ser utilizados.

Figura 11 - Estrutura química dos antioxidantes naturais



Fonte: (Vasilaki *et al.*, 2019).

Uma das propriedades biológicas estudadas na própolis vermelha é seu poder antioxidante. Alencar *et al.*, (2007), Bueno-Silva *et al.*, (2017) e Nascimento *et al.*, (2016) afirmam que todas as amostras de própolis vermelha analisadas apresentaram propriedade antioxidante. Assim, com suas ações biológicas, a mesma pode ser utilizada como produto antioxidante.

### 3.3 GÊNERO *Candida*

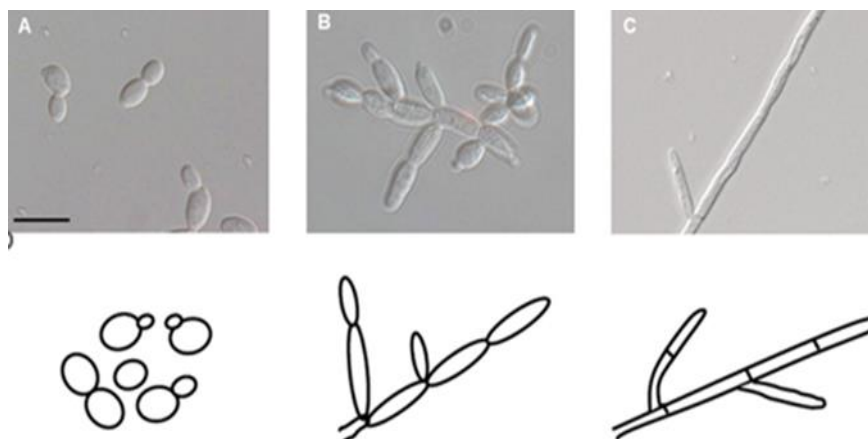
Os fungos são microrganismos heterotróficos e eucarióticos que podem ser classificados em dois principais grupos morfológicos: fungos filamentosos, caracterizados por estruturas multinucleadas e as leveduras, compostas por células mononucleadas. Esses organismos possuem potencial patogênico variável, dependendo dos órgãos ou tecidos acometidos. Fungos do gênero *Candida*, por exemplo, são responsáveis por uma ampla gama de infecções, desde as superficiais até sistêmicas (Makabe; Santos; Pires, 2018).

As leveduras do gênero *Candida* estão classificadas taxonomicamente no filo *Ascomycota*, na classe *Saccharomycetes* e na família *Debaryomycetaceae*. Atualmente, esse grupo de microrganismos engloba mais de 300 espécies catalogadas. Estudos filogenéticos demonstraram que as espécies do gênero *Candida* podem ser organizadas em mais de dez clados, indicando subdivisões intraespecíficas (Takashima; Sugita, 2022).

As diferentes cepas fúngicas de *Candida* sp. podem apresentar três morfologias distintas: leveduras, pseudo-hifas e hifas verdadeiras. A morfologia de levedura é caracterizada por células únicas de formato oval, com capacidade de brotamento axial e bipolar. Essa forma desempenha um papel significativo nos mecanismos de virulência, especialmente em espécies de *Candida* não-*C. albicans* (Thompson; Carlisle; Kadosh, 2011).

A plasticidade morfológica contribui para a adaptabilidade do fungo em diferentes ambientes do hospedeiro, facilitando sua disseminação e patogenicidade. A capacidade de polimorfismo de *Candida albicans* é amplamente reconhecida como um importante fator de virulência. Nesse contexto, a forma de levedura atua predominantemente na disseminação do fungo, enquanto a formação de hifas garante a invasão tecidual no epitélio (Lim *et al.*, 2012).

Figura 12: Morfologias do gênero *Candida*. A – Levedura unibrotante, B – Pseudo-hifa e C – Hifa verdadeira.



Fonte: Thompson; Carlise; Kadosh, 2011.

As leveduras do gênero fazem parte da microbiota normal de humanos e outros animais, atuando como comensais sem causar danos ao hospedeiro, podendo ser encontradas colonizando a mucosa oral, trato gastrointestinal e geniturinário em torno de 50-70% de indivíduos saudáveis (Hani *et al.*, 2015).

Porém, desequilíbrios específicos podem desencadear o desenvolvimento de fatores de virulência nessas leveduras, conferindo-lhes caráter patogênico, esse comportamento justifica sua classificação como fungos oportunistas, sendo agentes etiológicos da infecção fúngica conhecida como candidíase (Sobreira *et al.*, 2020). As infecções causadas por esses fungos podem ser classificadas em diferentes tipos, incluindo infecções superficiais, cutâneas, mucosas e sistêmicas (Makabe; Santos; Pires, 2018).

A candidíase pode ter origem exógena ou endógena, sendo esta última a mais comum devido à presença natural de *Candida* sp. na microbiota do hospedeiro. A colonização do trato gastrointestinal é observada em cerca de 80% dos casos, enquanto o trato geniturinário, particularmente em mulheres, é em 20 a 30% dos quadros (Makabe; Santos; Pires, 2018).

Em ambientes hospitalares, onde predominam pacientes imunocomprometidos, *Candida* sp. é responsável por aproximadamente 80% das infecções fúngicas

nosocomiais, incluindo aquelas que acometem a corrente sanguínea (candidemia) (Sobreira *et al.*, 2020).

Dentre os fatores que favorecem o desenvolvimento de infecções causadas por *Candida* sp., destacam-se: imunodepressão, imunodeficiência congênita e adquirida, doenças degenerativas, alterações fisiológicas relacionadas à idade, uso indiscriminado de antibióticos de amplo espectro, reposição hormonal, administração de hormônios esteroides, principalmente em indivíduos submetidos a transplantes, cirurgias, e em pacientes em uso de acessos venosos (Hani *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2021).

Esses microrganismos possuem um conjunto de fatores que contribuem para seu potencial patogênico nos hospedeiros, entre os quais se destacam: o polimorfismo (capacidade de alternar entre as formas de levedura e hifa), a expressão de enzimas hidrolíticas, a formação de biofilmes, o tigmotropismo (habilidade de emitir e invadir áreas específicas do hospedeiro) e a adesão de contato (Rocha *et al.*, 2021). Pesquisas mais recentes revelam os desafios associados ao tratamento dessas infecções com as terapias atualmente disponíveis, destacando as elevadas taxas de morbidade e mortalidade relacionadas a essas condições (Berto *et al.*, 2018).

No Brasil, estudos sobre candidemia revelam uma frequência de 1 a 2,5 casos para cada 1000 internações hospitalares (Braga *et al.*, 2018; Nucci *et al.*, 2013). Uma pesquisa conduzida por Doi e colaboradores (2016), com amostras provenientes de 16 hospitais das cinco regiões brasileiras coletadas entre 2007 e 2010, indicou que a maioria dos isolados foi obtido de pacientes do sexo masculino, com idade média de 56 anos. Nesse estudo, *Candida albicans* foi a espécie mais incidente seguida por *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*.

De forma semelhante, Braga *et al.*, (2018) observaram maior incidência de candidemia em homens com idade média de 55 anos. Embora *C. albicans* permanecesse como a espécie mais frequentemente isolada, o número de casos envolvendo *C. tropicalis* superou o de *C. parapsilosis*. O período analisado nesse estudo abrangeu de 1996 a 2016, com amostras coletadas em unidades de terapia intensiva do hospital da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Outro estudo, conduzido por Giacomazzi e associados em 2016, confirmou que o gênero *Candida* é o principal responsável por infecções fúngicas no Brasil,

correspondendo a cerca de 74% dos casos registrados. No entanto, os autores destacaram que esses números podem estar subestimados devido a falhas na notificação, no diagnóstico e no tratamento das infecções fúngicas no país.

A taxa média de mortalidade associada a infecções por *Candida* sp. no Brasil é alarmante, atingindo 52%, sendo *C. albicans* o agente etiológico mais frequentemente identificado, com uma taxa de incidência de aproximadamente 37% (Dalla Lana *et al.*, 2020). Esses dados ressaltam a necessidade urgente de estratégias mais eficazes para o diagnóstico precoce, manejo clínico e prevenção dessas infecções graves.

No tratamento da candidíase, as principais classes farmacológicas empregadas na terapia antifúngica incluem os polienos, os azólicos, as equinocandinas e as fluoropirimidinas. No entanto, a conduta clínica dessas infecções enfrenta desafios significativos devido ao crescente fenômeno da resistência fúngica, que contribui para uma maior suscetibilidade à infecção por espécies de *Candida* (Dalla Lana *et al.*, 2020).

Embora as espécies de *Candida* não-*C. albicans* sejam menos frequentemente isoladas em comparação à *C. albicans*, elas exibem perfis de resistência relevantes frente aos antifúngicos disponíveis, tornando o tratamento dessas infecções ainda mais complexo (Rocha *et al.*, 2021). Esses fatores ressaltam a necessidade de estratégias terapêuticas inovadoras e de vigilância contínua para mitigar o impacto clínico e epidemiológico das candidíases resistentes.

### **3.3.1 Fármacos empregados no tratamento da candidíase**

Os fármacos mais comumente utilizados no tratamento de infecções causadas por *Candida spp.* são classificados em quatro grupos principais: azóis, polienos, pirimidinas e equinocandinas (Braga *et al.*, 2018). Cada uma dessas classes apresenta características específicas em termos de mecanismo de ação e aplicação terapêutica.

No grupo dos azóis, destacam-se os fármacos voriconazol, miconazol, clotrimazol, cetoconazol, fluconazol, itraconazol, setoconazol, bifonazol, econazol, terconazol e posaconazol. O mecanismo de ação dos azóis baseia-se na inibição das enzimas do complexo citocromo P-450, que desempenham um papel crucial na síntese de ergosterol, componente essencial das membranas celulares dos fungos.



Como resultado, esses fármacos exercem uma ação fungistática com amplo espectro de atividade. No entanto, um dos principais desafios associados ao uso dos azóis é o alto índice de resistência observado, especialmente em situações de uso prolongado ou inadequado (Atiencina-Carrera *et al.*, 2022; Urban *et al.*, 2016).

Os polienos incluem os fármacos nistatina e anfotericina B, conhecidos por sua baixa solubilidade em água, o que limita suas opções de formulação e administração. A anfotericina B, isolada pela primeira vez em 1955, é amplamente utilizada no tratamento de infecções fúngicas graves (Urban *et al.*, 2016).

O mecanismo de ação da anfotericina B envolve sua ligação aos esteróis presentes na membrana celular dos fungos, com afinidade predominante pelo ergosterol. Essa interação resulta na formação de poros na membrana fúngica, que alteram sua permeabilidade e causam a perda de componentes intracelulares essenciais, como sódio, potássio e outros íons. Esse processo culmina na destruição da célula fúngica (McCarty; White; Pappas, 2021).

No entanto, uma dificuldade significativa associada ao uso dos polienos é a similaridade estrutural entre o ergosterol das membranas fúngicas e o colesterol presente nas células de mamíferos. Essa semelhança molecular dificulta a ação seletiva dos antifúngicos e contribui para o desenvolvimento de efeitos tóxicos. A anfotericina B, em particular, está associada a diversas reações adversas, sendo os problemas renais os mais frequentes e graves (Campos *et al.*, 2020). Embora eficaz, o uso da anfotericina B exige monitoramento cuidadoso devido ao seu potencial tóxico, destacando a necessidade de estratégias que minimizem os riscos associados à terapia.

As pirimidinas são representadas pelo fármaco flucitosina, cujo mecanismo de ação está associado à inibição da síntese de DNA e RNA, interferindo diretamente na replicação e na transcrição celular dos fungos (Urban *et al.*, 2016). Esse mecanismo torna a flucitosina uma ferramenta importante no tratamento de infecções fúngicas específicas, embora seu uso seja geralmente combinado com outros antifúngicos para aumentar a eficácia e prevenir resistência (Campos *et al.*, 2020).

Por outro lado, as equinocandinas incluem caspofungina, micafungina e anidulafungina, compostos que consistem em peptídeos cíclicos ligados a um ácido graxo de cadeia longa. Esses antifúngicos semissintéticos atuam inibindo a síntese

de  $\beta$ -(1,3) D-glicanos, componentes essenciais da parede celular fúngica. Essa inibição leva ao rompimento da parede celular, promovendo estresse osmótico, lise e, consequentemente, a morte do fungo (Arendrup; Perlin, 2014).

As equinocandinas possuem um efeito fungicida contra espécies como *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, tanto em estudos *in vitro* quanto em modelos *in vivo* (Campos *et al.*, 2020). Contudo, apresentam menor eficácia contra *C. parapsilosis*, o que deve ser considerado na escolha do tratamento em infecções causadas por essa espécie (Thompson; Carlisle; Kadosh, 2011). Esses aspectos tornam as equinocandinas alternativas promissoras no manejo de infecções fúngicas, especialmente em casos refratários a outras classes de antifúngicos.

Os antifúngicos sintéticos disponíveis na indústria farmacêutica apresentam limitações significativas, incluindo a ocorrência de efeitos adversos nos pacientes e o desenvolvimento de resistência por parte dos patógenos. Esses problemas frequentemente decorrem do uso inadequado e descontrolado desses medicamentos. Diante desse cenário, torna-se evidente a necessidade de investir em novos compostos com ação antifúngica, os quais poderão tornar-se alternativas terapêuticas, como compostos antipatogênicos inovadores, para diversificar as opções no mercado e enfrentar os desafios impostos pelas infecções fúngicas resistentes (Campos *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2021).

O aumento no número de isolados clínicos resistentes aos antifúngicos comerciais tem sido amplamente relatado, configurando-se como um problema emergente no campo da saúde (Dalla Lana *et al.*, 2020). A crescente resistência aos antifúngicos reforça a urgência de desenvolver estratégias eficazes para impedir sua disseminação entre os fungos. Tais iniciativas são fundamentais para preservar a eficácia dos tratamentos disponíveis e minimizar o impacto das infecções fúngicas resistentes.

### 3.3.2 Fluconazol

O fluconazol, quimicamente denominado 2-(2,4-difluorofenil)-1,3-bis(1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol, foi o primeiro antifúngico triazólico sintético a ser desenvolvido. Seu *design* foi baseado na modificação estrutural de derivados imidazólicos e em

estudos pré-clínicos utilizando modelos animais de infecção. Iniciado em 1978, o planejamento do fluconazol teve como principal objetivo conferir à molécula maior estabilidade metabólica e hidrossolubilidade, características cruciais para ampliar sua eficácia clínica e sua aplicabilidade (Redding *et al.*, 1994).

As propriedades físico-químicas do fluconazol permitiram o desenvolvimento de formulações tanto orais quanto intravenosas. Essa inovação representou um marco no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas, revolucionando o manejo dessas condições ao proporcionar maior praticidade e eficácia terapêutica (Redding *et al.*, 1994).

O fluconazol foi aprovado pela primeira vez nos Estados Unidos em 1990. No Brasil, o medicamento é comercializado pela Wyeth sob o nome comercial ZOLTEC®. Este fármaco é licenciado para o tratamento de criptococose e candidíase, além de ser utilizado na prevenção de infecções fúngicas em pacientes com doenças oncológicas, destacando-se pela sua versatilidade e eficácia no manejo de condições fúngicas graves (Richardson *et al.*, 1990; Zoltec, 2019).

A ação antifúngica do fluconazol ocorre por meio da inibição seletiva da enzima lanosterol 14-alfa-desmetilase, pertencente ao sistema do citocromo P450. Essa inibição interfere diretamente na biossíntese do ergosterol, um componente crucial da membrana celular fúngica. O fluconazol apresenta predominantemente uma ação fungistática, ou seja, impede a multiplicação das leveduras, mas, em doses mais altas, pode exercer também uma ação fungicida dose-dependente. Além disso, o fármaco demonstra um efeito pós-antifúngico prolongado, o que contribui para a eficácia terapêutica mesmo após a suspensão do tratamento (Santos *et al.*, 2010a; Zoltec, 2019).

O fluconazol possui um espectro de ação restrito a fungos leveduriformes, incluindo *Candida* spp. Esses dados evidenciam a eficácia do fluconazol contra algumas das principais infecções fúngicas causadas por leveduras, embora sua atividade seja mais limitada em relação a outras espécies (Nucci *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2010a).

O fluconazol apresenta biodisponibilidade oral superior a 90%, o que garante sua alta absorção quando administrado por via oral. Ele se distribui amplamente pelo organismo, concentrando-se principalmente na pele e urina, mas também apresenta

boa penetração no líquido cefalorraquidiano, o que é particularmente relevante no tratamento de infecções fúngicas no sistema nervoso central. O volume aparente de distribuição ( $V_d$ ) é aproximadamente  $0,70 \pm 0,06$  L/kg, o que se aproxima do volume total de água corpórea. Além disso, o fluconazol tem baixa ligação a proteínas plasmáticas (11-12%) e não sofre metabolismo significativo, já que não são descritos metabólitos circulantes. Sua eliminação ocorre predominantemente por via renal, sendo que cerca de 80% da dose administrada é excretada na forma inalterada, o que implica em uma depuração eficaz do fármaco através dos rins. Essas características farmacocinéticas são favoráveis ao seu uso clínico, garantindo boa eficácia e um perfil de segurança relativamente alto (Santos *et al.*, 2010; Zoltec, 2019).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

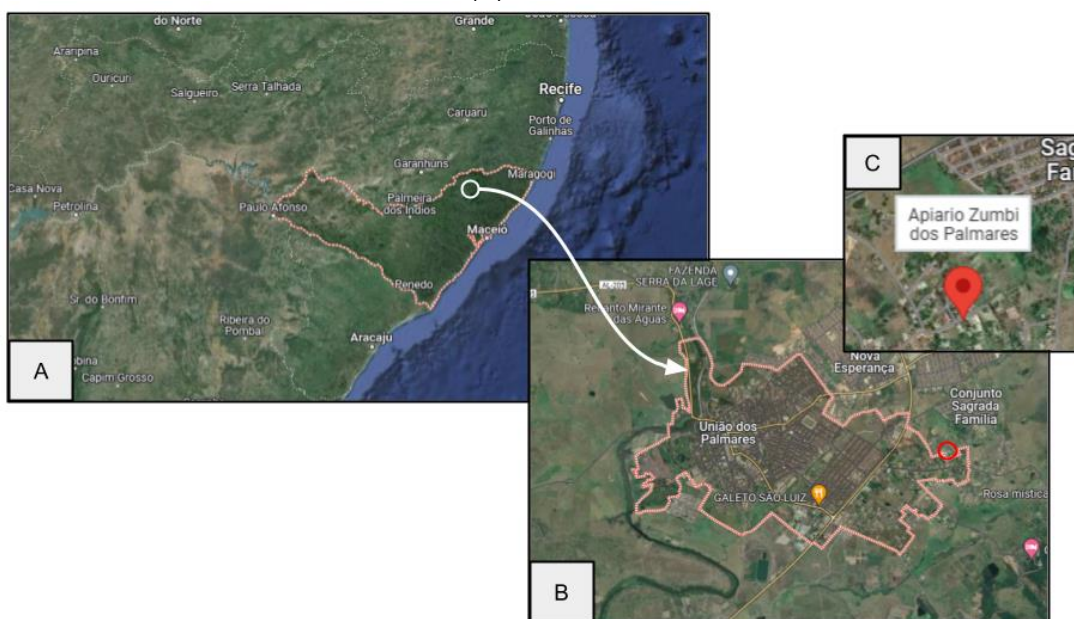
### 4.1 LOCAL DE TRABALHO

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório de Análises Microbiológicas (LAM) e no Laboratório de Química Farmacêutica e Produtos Naturais (LAPRONAT), ambos localizados no Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em Recife-PE.

### 4.2 OBTENÇÃO DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS

Amostras de própolis vermelha utilizadas foram cedidas pelo apiário Zumbi dos Palmares, parceiro do LAM/Departamento de Ciências Farmacêuticas, localizados no município de União dos Palmares no estado de Alagoas. A figura abaixo mostra a localização do apiário em relação ao nordeste e à cidade onde está localizado. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração, em recipiente vedado e protegido de luz, até o momento de uso.

Figura 13: Localização do estado de Alagoas em relação ao Nordeste brasileiro. (A), Mapa de satélite do município União dos Palmares, onde fica localizado o apiário (B), Identificação do apiário parceiro (C).

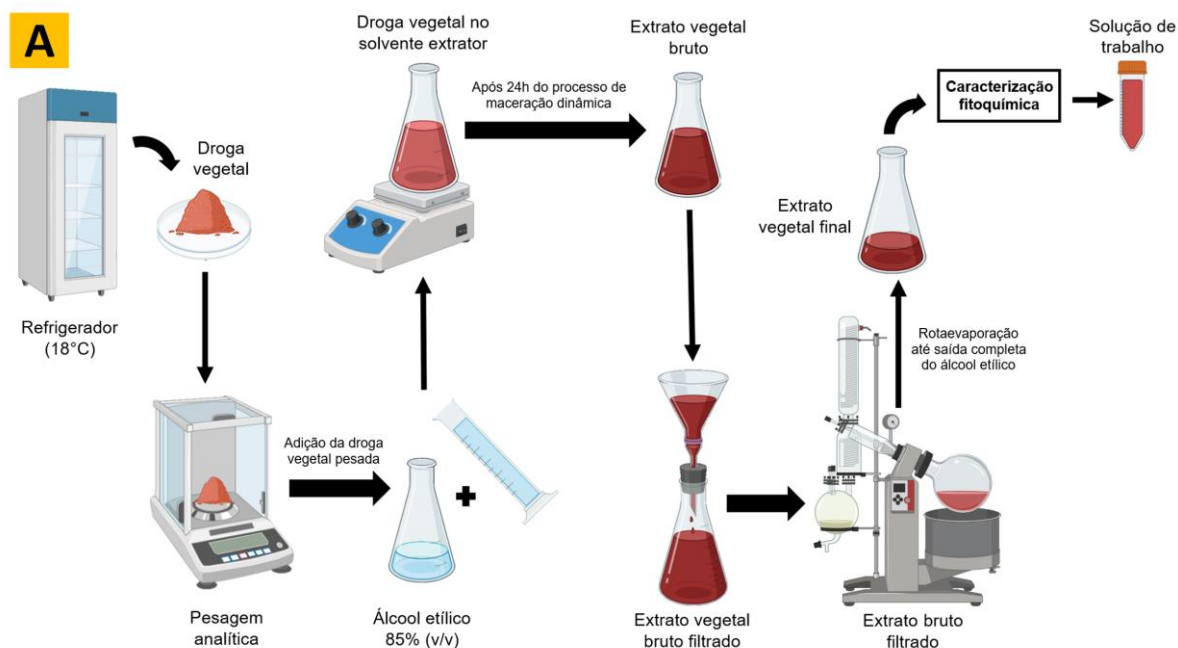


Fonte: Darlan P. de Campos, (2006)

### 4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA

Conforme a metodologia descrita por Alencar *et al.* (2007) com modificações, a própolis vermelha bruta foi inicialmente congelada e triturada em liquidificador doméstico até a obtenção de um pó. Posteriormente, 30g de própolis triturada foram adicionados a 70 ml de etanol: água 70:30 (v.v<sup>-1</sup>). A mistura, então ficou em agitação magnética durante 24 horas, em temperatura ambiente. Após a extração, a combinação de própolis e solvente foi filtrada em papel filtro papel filtro qualitativo (80 g.m<sup>-2</sup>). O extrato obtido foi então submetido a evaporação em rotaevaporador, até esgotamento da porção hidroetanólica, resultando no extrato concentrado de própolis. Sendo armazenado em refrigeração, protegido de luz, até o momento de utilização.

Figura 14: Metodologia da obtenção do extrato concentrado de própolis.



Fonte: A autora (2025).

### 4.4 TRIAGEM FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)

O extrato bruto foi analisado por Cromatografia de Camada Delgada (CCD), com o intuito de verificar a presença de diversas classes de metabólitos secundários. Para

essa análise, foi utilizada uma cuba cromatográfica de vidro com tampa, onde foram adicionados ao sistema eluente, o padrão e o revelador apropriados para cada tipo de metabólito.

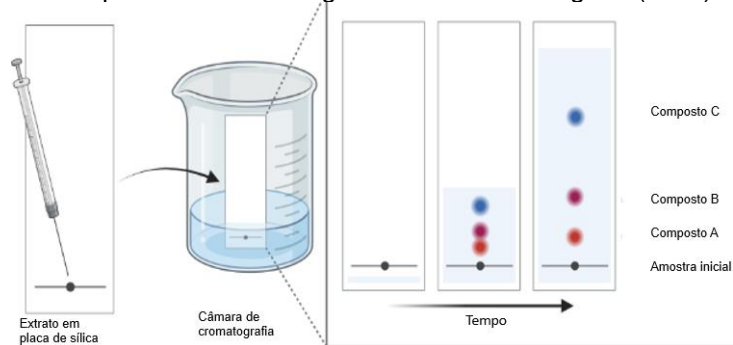
Tabela 2 - Metabólitos pesquisados e seu sistema eluente, padrões e reveladores utilizados.

<b>Metabólito secundário</b>	<b>Sistema eluente</b>	<b>Padrão</b>	<b>Revelador</b>
Compostos fenólicos	Acetato de Etila: Ácido Fórmico: Água (27:1,5: 1,5)	Rutina	NEU
Taninos	Acetato de Etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (20,30: 2,2: 2,2: 5,3)	Ácido gálico	FeCl <sub>3</sub>
Flavonoides	Acetato de Etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (20,30: 2,2: 2,2: 5,3)	Rutina	NEU

Fonte: A autora (2025).

O extrato foi pesado (0,10 g) e dissolvido em 1,5 mL de metanol. Para garantir uma amostra homogênea, a mistura foi submetida ao processo de ultrassom no equipamento UNIQUE - Modelo Ultra Cleaner 1400A. As placas de sílica-alumínio (a fase estacionária), foram recortadas e o extrato vegetal diluído foi aplicado com o auxílio de capilares de vidro 1cm acima do nível inferior da placa de sílica. Após a evaporação completa do metanol, as placas foram inseridas na cuba cromatográfica, onde o eluente (fase móvel) foi adicionado para a separação dos compostos. Com auxílio de capilares. Logo em seguida, este sistema foi levado à cuba cromatográfica com tampa, aguardando-se o tempo de eluição. A finalização do processo ocorreu pela retirada da placa de sílica da cuba e secagem à temperatura ambiente, seguida da pulverização do revelador e leitura em câmara UV a 365 nm para visualização do caminho cromatográfico por fluorescência.

Figura 15 - Esquema da Cromatografia de camada delgada (CCD).



Fonte: A autora (2025).

#### 4.5 DOSEAMENTO DE FENÓIS TOTAIS

Para a determinação do teor de fenóis totais, 200  $\mu\text{L}$  de uma solução diluída do extrato (1,0 mg/mL), foram pipetados em tubos de ensaio. Em seguida, adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteu, 1 mL de uma solução de carbonato de sódio e 8,3 mL de água destilada, completando o volume total da reação. As amostras foram mantidas em repouso, protegidas da luz, à temperatura ambiente, por 30 minutos.

A absorbância das soluções foi medida em 760 nm, utilizando-se um branco preparado com água destilada para calibração. Paralelamente, foi construída uma curva de calibração utilizando alíquotas variando de 100 a 500  $\mu\text{L}$  de uma solução padrão de ácido tânico, com as mesmas condições reacionais e ajuste do volume final para 10 mL com água destilada. As concentrações finais do padrão variaram entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{g/mL}$ . Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados foram expressos como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT/g), conforme metodologia adaptada de Peixoto *et al.*, (2008).

#### 4.6 DOSEAMENTO DE TANINOS

A determinação do teor de taninos foi realizada utilizando o método de Folin-Ciocalteu adaptado para o tipo de extrato. Inicialmente, 1 g de caseína foi pesado e transferido para um erlenmeyer de 50 mL. Em seguida, adicionaram-se 6 mL da amostra e 12 mL de água destilada. A mistura foi mantida sob agitação por 3 horas, protegida da luz, para permitir a precipitação dos taninos pela interação com a proteína. Após o tempo de reação, o conteúdo foi filtrado em um balão volumétrico e



o volume final ajustado para 25 mL com água destilada. Uma alíquota de 1 mL foi então retirada para a quantificação dos fenóis pelo método de Folin-Ciocalteu.

O teor de taninos foi calculado como a diferença entre o conteúdo de fenóis totais e os fenóis residuais. A reação produz uma coloração azul, cuja intensidade apresenta absorção máxima a 760 nm, proporcional à concentração de compostos fenólicos. O procedimento seguiu as recomendações de Amorim *et al.*, (2008).

#### 4.7. DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES

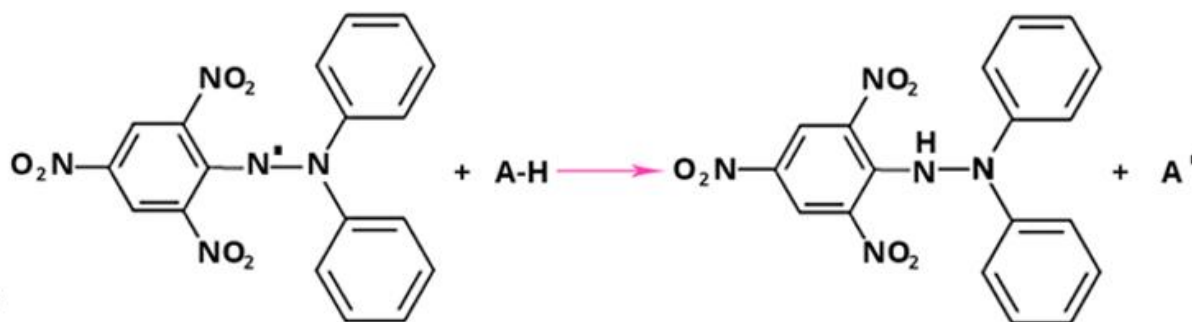
O extrato seco foi diluído em metanol P.A. para atingir uma concentração de 1 mg/mL, em balão volumétrico de 25 mL, realizando a diluição em triplicata. Para a quantificação dos flavonoides, uma alíquota de 0,2 mL do extrato diluído foi transferida para tubos de ensaio. Em seguida, foram adicionados 0,120 mL de ácido acético glacial, 0,5 mL de solução de cloreto de alumínio (5%, p/v em água destilada) e o volume foi completado para 10 mL com água destilada em cada tubo. Após a preparação da solução, os tubos foram agitados adequadamente e deixados em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz, à temperatura ambiente.

Transcorrido esse período, a absorbância da mistura foi medida a 420 nm, utilizando água destilada como branco. O padrão de rutina foi preparado em balão volumétrico de 100 mL com metanol, seguido pela adição dos reagentes, resultando em uma concentração final de 0,5 mg/mL, conforme descrito por Peixoto Sobrinho *et al.*, (2008).

#### 4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH

A avaliação da atividade antirradicais livres do extrato de própolis foi avaliada a partir da reação entre metabolitos secundários e 1,1-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), um radical livre já caracterizado e alvo das porções antioxidantes do extrato. O mecanismo de estabilização de radicais livres para o DPPH ocorre com o apresentado na imagem abaixo:

Figura 16: Reação de estabilização do radical livre DPPH por um agente antioxidante.



Fonte: Oliveira, 2015.

Para determinação do grau da atividade antioxidante (AA), utilizou-se como base o trabalho de Peixoto Sobrinho *et al.* (2008) seguido de adaptações do seu método. A atividade antioxidante (AA) foi descrita em porcentagem de acordo com a fórmula B, a qual reúne parâmetros relativos à absorbância de da amostra ( $ABS_{amostra}$ ), diluída em metanol ( $ABS_{branco}$ ) e do controle negativo ( $ABS_{cn}$ ).

$$AA = \left[ 1 - \frac{(ABS_{amostra} - ABS_{branco})}{ABS_{cn}} \right] \times 100$$

#### 4.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

##### 4.10.1 Microrganismos testes

A avaliação da atividade antifúngica dos extratos de própolis vermelha de Alagoas foi conduzida frente a microrganismos obtidos da *American Type Culture Collection* (ATCC), incluindo *Candida albicans* (ATCC 14053) e *C. krusei* (ATCC 6258). Adicionalmente, foram testados seis isolados clínicos, sendo duas da espécie *C. albicans*, duas de *C. tropicalis* e duas de *C. krusei*.

Os isolados ATCC foram disponibilizados pela Micoteca URM pertencente ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, enquanto que os isolados clínicos foram provenientes da coleção de cultura do Laboratório de Análises Microbiológicas (LAM).

#### 4.10.2 Confirmação taxonômica dos isolados clínicos

A confirmação taxonômica das cepas foi realizada através do cultivo no meio BBL CHROMagar® *Candida* Medium, que permite a diferenciação das espécies do gênero *Candida* com base na coloração característica das colônias.

Devido à origem clínica dos isolados, a identificação das espécies foi realizada, permitindo a seleção de dois isolados de *Candida albicans*, dois de *Candida krusei* e dois de *Candida tropicalis*. A partir deste ponto, as amostras clínicas foram denominadas *Candida albicans* IC01, *C. albicans* IC02, *C. krusei* IC01, *C. krusei* IC02, *C. tropicalis* IC01 e *C. tropicalis* IC02.

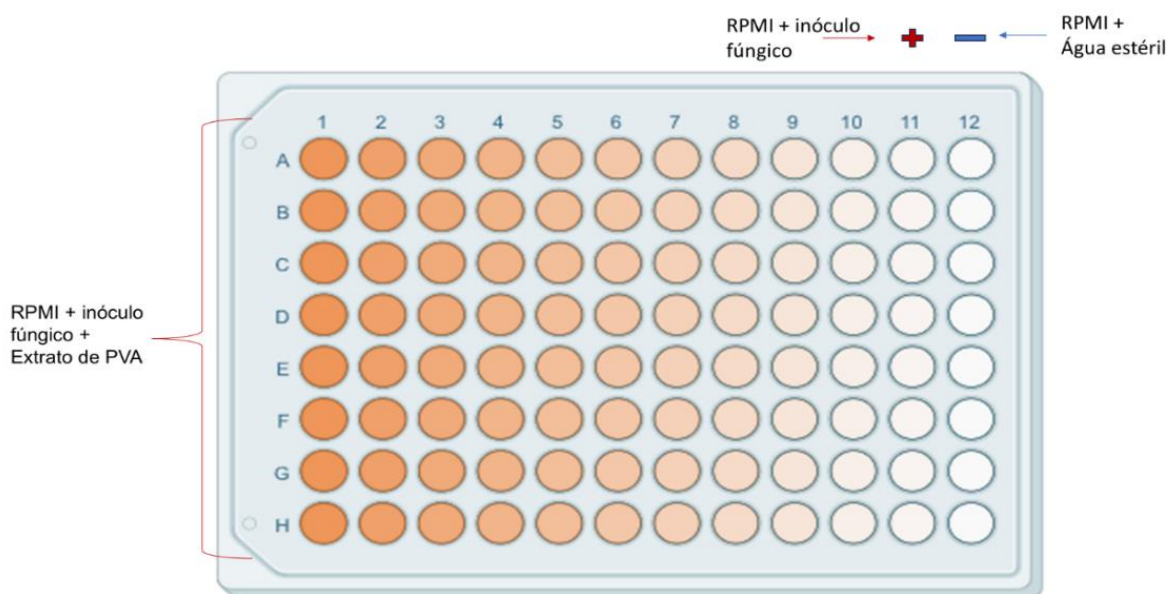
#### 4.10.3 Teste de Concentração Inibitória Mínima

O teste de atividade antimicrobiana da própolis vermelha alagoana foi realizado através do método de Microdiluição, conforme o protocolo *European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) no documento E.DEF 7.3.2 (2020) para determinação da Concentração Inibitória Mínima. O procedimento foi executado em triplicata e seguiu as etapas descritas abaixo:

Inicialmente, foram adicionados 100 µL do meio Gibco *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 2% Glicose para preparação das soluções de trabalho em todos os poços de microplaca de 96 poços de fundo chato. Em seguida, 100 µL do extrato etanólico de própolis vermelha, diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) a 8% foram adicionados ao primeiro poço. Diluições seriadas sucessivas foram realizadas, resultando em concentrações iniciando em 2.000 µg/mL e finalizando em 3,9 µg/mL, da coluna 1 até coluna 10, respectivamente. Suspensões fúngicas foram preparadas a partir de culturas das cepas previamente incubadas por 24 horas em Ágar Sabouraud-Dextrose (DAS) com cloranfenicol. A padronização das suspensões foi realizada utilizando um espectrofotômetro (Novainstruments Série 2000 VIS, 325 a 1000 nm) para alcançar uma densidade óptica (DO) entre 0,09 e 0,11 a 530 nm, o que corresponde a uma concentração entre  $1 \times 10^6$  e  $5 \times 10^6$  células/mL. Após a padronização, as suspensões foram diluídas na proporção de 1:10 em água estéril. Em seguida, foram adicionados, nas colunas 1 a 10, volumes iguais de 100 µL das suspensões fúngicas padronizadas. Na coluna 11, foram adicionados volumes 100µL de RPMI e 100µL das suspensões fúngicas, se tornando o controle positivo para viabilidade fúngica, enquanto a coluna 12 recebeu os mesmos volumes de RPMI e

água estéril, servindo como controle negativo. As placas de microdiluição foram incubadas a 37 °C por 48 horas em estufa. Após o término do período de incubação, realizou-se a análise visual do crescimento microbiano, sendo o mesmo evidenciado pela opacidade do meio de cultura, indicativa de turvação decorrente da proliferação celular. Após a identificação dos poços que não apresentaram indicativo de turbidez, foi realizado um retro repique das amostras contidas no poço sem crescimento visível, bem como dos seus poços adjacentes (anterior e posterior) em placas de Ágar Sabouraud-Dextrose e as placas incubadas a 37°C. Essa etapa foi conduzida com o objetivo de confirmar a ausência efetiva de crescimento microbiano e validar os resultados obtidos através da observação do crescimento e contagem de colônias.

Figura 17 - Representação da microdiluição em placa para a técnica de CIM.



Fonte: A autora (2025).

#### 4.10.4 Teste de susceptibilidade antifúngica ao fluconazol

Os testes de susceptibilidade ao fluconazol foram realizados seguindo a metodologia do *European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (2020), semelhante ao item anterior, seguindo o mesmo protocolo, mas utilizou-se o fármaco fluconazol em substituição ao extrato. Desta forma a solução de fluconazol foi preparada por diluição em água destilada, seguida de diluições em meio RPMI com 2% de glicose, iniciando-se na concentração de 64 µg/mL e finalizando em 0,125 µg/mL. Suspensões fúngicas foram preparadas a partir de culturas incubadas por 24h em Ágar Sabouraud-Dextrose e padronizadas para uma densidade óptica

entre 0,09 e 0,11, garantindo uma concentração de  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células/mL. Em placas de microdiluição, as suspensões fúngicas e soluções de fluconazol foram adicionadas, e a incubação foi realizada por 48h a 37 °C. A coluna 11 foi utilizada como controle positivo, contendo apenas a suspensão fúngica e o meio de cultura, enquanto a coluna 12 serviu como controle de esterilidade, composta exclusivamente pelo meio e água estéril. Após o período de incubação, foi realizada a análise visual do crescimento microbiano, observando a opacidade do meio de cultura, que indica a proliferação celular. Os poços sem turbidez, sugerindo ausência de crescimento, foram selecionados para um retro repique das amostras em placas de Ágar Sabouraud-Dextrose, incluindo também os poços adjacentes (anterior e posterior). As placas foram incubadas a 37°C para confirmar a ausência de crescimento microbiano. Esse procedimento visou validar os resultados observados por meio do crescimento e contagem de colônias.

#### 4.11 ANÁLISES ESTÁTISTICAS

Os testes estatísticos foram realizados utilizando o programa BioEstat 5.0 para a análise fitoquímica do extrato e o software GraphPad Prism para avaliar sua atividade antifúngica contra as cepas testadas. Para a interpretação dos dados, foram empregados os testes T, o teste de normalidade e a Análise de Variância de dois fatores (ANOVA), considerando significativo um valor de  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PERFIL FITOQUÍMICO

#### 5.1.1 Triagem por Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

Os testes de prospecção fitoquímica foram realizados por meio da técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando sílica-gel como material adsorvente e um eluente volátil, o qual interage com a amostra, promovendo, por efeito capilar, a separação visual dos compostos na placa cromatográfica. A revelação da presença de compostos fenólicos e flavonoides ocorre pela reação de fluorescência produzida pelo reagente de revelação ácido etilborilaminoéster a 1% em metanol (NEU), responsável por sensibilizar eletronicamente a estrutura química dos fitoquímicos, possibilitando fluorescência quando exposto à radiação ultravioleta,

O perfil fitoquímico da própolis varia a depender de como se dá os múltiplos fatores que a compõem, como espécie da abelha nativa e vegetação circundante, cuja composição de metabolitos secundários é uma variável por si só. A fim de determinar por polaridade os principais grupos de metabólitos secundários presentes no extrato de própolis vermelha, o método de Cromatografia de Camada Delgada (CCD) foi empregado como uma ferramenta qualitativa fácil, de rápido acesso e eficiente na separação dos compostos (Costa, 2022).

A partir do emprego de eluentes específicos, foi possível separar com eficiência classes fitoquímicas do extrato de própolis. Como apresentado na tabela 2, os principais grupos fitoquímicos separados por CCD foram compostos fenólicos, taninos totais e flavonoides, sendo estes biomarcadores importantes na inativação fúngica das cepas de *Candida* sp. (Sobreira *et al.*, 2020).

Tabela 3 - Prospecção fitoquímica realizada pelo método de CCD no extrato de própolis vermelha. Na tabela, a presença do composto é indicada por “+”.

Método extrativo	Fenóis totais	Taninos	Flavonoides
Maceração	+	+	++

Fonte: A autora (2025).

Das principais classes encontradas no extrato de própolis vermelha, destaca-se os fenóis totais, encontrados em maior quantidade neste estudo. Derivados fenólicos são um grupo de presença impactante na própolis vermelha, como indica (Lima *et al.*, 2022). De acordo com o autor, os compostos fenólicos derivados do

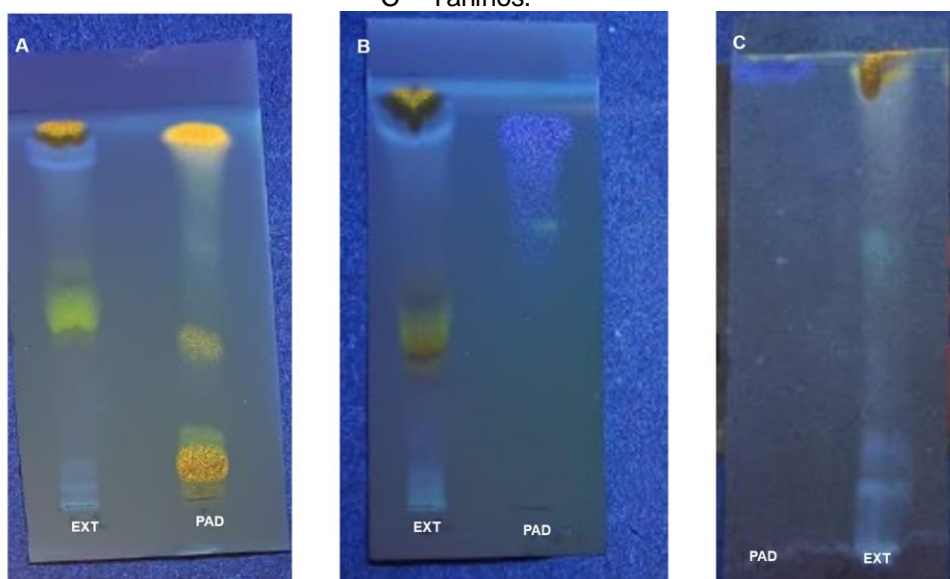
extrato de própolis apresentam destacáveis interesse e aplicação na área farmacêutica e de engenharia biomédica no que tange as propriedades antimicrobianas.

Na literatura, um outro grupo de metabólitos secundários também identificado por CCD no presente trabalho foram os flavonoides. Os vários tons de azul nas bandas são características de compostos fenólicos, principalmente da classe dos taninos, além dos tons alaranjados/amarelos, que característicos dos flavonoides e do padrão de rotina utilizado nos testes. Segundo (Lima *et al.*, 2022), os flavonoides desempenham importante papel por ser um dos principais biomarcadores presentes na espécie de própolis vermelha, tornando-se um grande diferencial dentre os demais tipos de própolis.

Neste estudo, todos os compostos mencionados tiveram sua presença confirmada a partir da verificação da fluorescência presente nas placas de sílica, evidenciando o arraste das classes estudadas. Todos os compostos citados possuem atividade antimicrobiana (Araujo *et al.*, 2018), sendo ponto de partida para o teste de sua ação antifúngica.

Nas Figura 19 é possível identificar os compostos bioativos separados por bandas durante a corrida do extrato e padrão. Sendo EXT identificado como o extrato de própolis e PAD, o padrão utilizado.

Figura 18 – Placas de Cromatografia sob luz ultravioleta. A – Flavonoides, B – Compostos fenólicos e C – Taninos.



Fonte: A autora (2025).

### 5.1.2 Determinação de fenóis totais, taninos, flavonoides e atividade antioxidante

Os resultados referentes ao teor de fenóis totais, taninos e flavonoides nos extratos brutos, estão apresentados na tabela 4. Os valores correspondem às médias das triplicatas, acompanhadas de seus respectivos desvios-padrão. Para os fenóis e taninos, os resultados estão expressos em mg equivalente de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT/g), enquanto, para os flavonoides, os valores estão em mg equivalente de rutina por grama de extrato (mg ER/g).

Tabela 4 – Atividade antioxidante e análise fitoquímica do extrato de própolis vermelha

<b>Fenóis totais (mg EAT/g)</b>	<b>Taninos (mg EAT/g)</b>	<b>Flavonoides (mg ER/g)</b>	<b>DPPH (IC<sub>50</sub>µg/mL)</b>
1266,94 ± 8,94	590,23 ± 3,47	1035,34 ± 9,36	424,12 ± 15,90

Fonte: A autora (2025).

A amostra analisada apresentou um maior teor de fenóis totais e flavonoides, evidenciando sua riqueza em compostos bioativos. A composição química da própolis vermelha pode variar de acordo com a região de coleta, as condições climáticas e o estado da vegetação circundante (Salatino *et al.*, 2018). A elevada concentração desses metabólitos é um fator determinante para suas propriedades farmacológicas mais investigadas, incluindo sua atividade antifúngica (Moise, 2020).

Em outros estudos, como o de Silva (2023), foram reportadas concentrações de 208,0 ± 1,69 mg EAG/g para fenóis totais e 45,3 ± 1,27 mg EQ/g para flavonoides. Uma das possíveis explicações para essa variação nos teores de compostos bioativos é a sazonalidade na produção de própolis pelas abelhas, fator que pode influenciar diretamente sua composição química, como já mencionado (Machado *et al.*, 2016).

Em Cavalcanti (2023), a quantidade de flavonoides foi de 73,5 mg/g EQ.g<sup>-1</sup> e de fenóis foi encontrado o valor de 117,6 mg/g EAG g<sup>-1</sup>. Essa diferença pode ser explicada pelo solvente que foi utilizado, no caso de Cavalcanti, o hexano, o que pode ter interferido na extração dos compostos.

Em Peccin *et al.*, (2022), foi realizada extração utilizando etanol e hexano, em três diferentes temperaturas e em todas, o etanol se destacou pela melhor atividade antimicrobiana, melhor atividade antioxidante e uma quantidade maior de compostos



fenólicos e taninos, o que mostra a importância da escolha do solvente para preparação de extratos.

Em 2022, Silva reportou concentrações de 241,2 mg EQ/g para fenóis totais e 36,1 mg EQ/g para flavonoides, utilizando etanol como solvente, assim como no presente estudo. A ampla variação na quantidade de compostos fenólicos na própolis vermelha é amplamente documentada na literatura, sendo frequente a obtenção de valores superiores a 90 mg/g. Esse padrão foi confirmado por Cabral *et al.* (2009), que registraram 257,98 mg EAG/g, e por Alencar *et al.* (2007), que relataram um teor ainda mais elevado, de 426,31 mg EAG/g. Dentre os estudos mencionados, os valores obtidos no presente trabalho demonstram uma concentração superior de compostos fenólicos.

Concentrações menores foram observadas em estudo de Al-Nemari *et al.* (2020) utilizando água como solvente. Nesse estudo, os valores para fenóis totais e flavonoides foram de  $16,9 \pm 0,4$  mg QE/g e  $98,3 \pm 0,4$  mg QE/g, respectivamente, resultados inferiores aos encontrados no método aqui usado. No caso do uso do etanol como agente extrator, as concentrações de flavonoides foram muito superiores às observadas com água, alcançando  $1035,34 \pm 9,36$ . Para fenóis totais, a diferença foi ainda mais expressiva, com uma concentração de  $1266,94 \pm 8,94$ , indicando uma eficácia superior na extração desse composto.

### 5.1.3 Atividade Antioxidante por DPPH

A relação entre o percentual de inibição do DPPH e o valor de  $IC_{50}$  é inversamente proporcional, ou seja, quanto maior a inibição do DPPH, menor será o  $IC_{50}$ , e vice-versa. Isso ocorre porque o  $IC_{50}$  representa a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres presentes na solução. Assim, uma amostra com alta atividade antioxidante conseguirá atingir essa inibição com uma concentração menor, resultando em um  $IC_{50}$  baixo. Por outro lado, quando uma amostra possui menor capacidade antioxidante, é necessário utilizar uma concentração maior para alcançar a mesma inibição de 50%, elevando o valor do  $IC_{50}$ . Dessa forma, uma amostra com  $IC_{50}$  alto apresenta menor eficiência na neutralização dos radicais livres quando comparada a outra com um  $IC_{50}$  mais baixo (Sánchez-Moreno; Larrauri; Saura-Calixto, 1998).

No presente estudo, o IC<sub>50</sub> obtido foi de 424,12 µg/mL, indicando que esses teores inibiram aproximadamente 50% dos radicais livres. Comparando com valores relatados na literatura, esse resultado sugere uma atividade antioxidante moderada, uma vez que estudos anteriores apontam IC<sub>50</sub> menores para extratos de própolis vermelha, refletindo uma maior eficiência antioxidante.

Esses resultados reforçam que a capacidade antioxidante da própolis pode variar de acordo com fatores como solvente de extração, composição química e local de coleta da amostra. Diversos estudos destacam o potencial antioxidante do extrato bruto e de frações de própolis, tanto no Brasil quanto em outras regiões do mundo comparando com seus compostos fenólicos (Alaerjani *et al.*, 2022).

Cabral *et al.*, (2009) avaliaram a atividade antioxidante do extrato etanólico e suas frações, observando que a fração hexânica apresentou a maior capacidade antioxidante, com 74,4% de inibição do DPPH, enquanto o extrato etanólico bruto inibiu 50,5% do radical. Já Santos *et al.*, (2023) relataram que o extrato hidroalcoólico da própolis vermelha de Alagoas apresentou uma inibição de 89,59%, enquanto a borra da extração mostrou um valor significativamente menor, de 39,59%. Esses dados sugerem que a eficiência antioxidante da própolis vermelha pode ser influenciada pelo solvente utilizado na extração e pelas características da amostra analisada.

Foi destacada uma correlação positiva entre a capacidade antioxidante e o teor de compostos fenólicos na própolis (Cabral *et al.*, 2009; Cottica *et al.*, 2011), com maior ênfase nos flavonoides e taninos (Alencar *et al.*, 2007), fenilpropanoides prenilados (Salatino *et al.*, 2005) e compostos específicos, como o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C) (Matsuda & Almeida-Muradian, 2008) e o ácido cafeico (Gregoris & Stevanato, 2010). A eficácia antioxidante de flavonoides e polifenóis parece estar diretamente relacionada ao número e à disposição dos grupos hidroxila em suas moléculas (Gregoris & Stevanato, 2010; Pietta, 2000).

De-Melo *et al.* (2012) relataram variações significativas nas concentrações de fenólicos totais e, mais especificamente, de flavonoides totais em amostras de própolis provenientes das regiões Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. Além disso, Cabral *et al.* (2012) sugerem que outros compostos, além dos fenólicos, podem contribuir para a capacidade antioxidante da própolis

Ademais, Aguiar, (2015) avaliou a atividade antioxidante da própolis vermelha e verificou que tanto o extrato etanólico quanto suas frações apresentaram um potencial antioxidante significativo, sendo superiores ao padrão de vitamina C. Essa variação nos resultados entre os diferentes estudos reforça a influência de fatores como a origem geográfica da própolis, as condições ambientais e a sazonalidade da coleta na composição fitoquímica do material analisado, método de extração e técnica utilizada.

Dessa forma, ao comparar o IC<sub>50</sub> de 424,12 µg/mL deste estudo com os trabalhos mencionados, percebe-se que a atividade antioxidante da amostra analisada é inferior à relatada por outros autores como Santos *et al.* (2023), cujo extrato apresentou uma inibição próxima de 90%. No entanto, os resultados obtidos estão dentro da ampla variação observada na literatura para a própolis vermelha, evidenciando que diferenças metodológicas e regionais podem impactar significativamente o potencial antioxidante do material.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFUNGICA

Os resultados obtidos para a avaliação da susceptibilidade dos isolados clínicos e cepas padrão frente ao extrato hidroalcoólico de própolis vermelha de Alagoas, utilizando a metodologia de microdiluição em caldo, revelaram sensibilidade em todos os casos. Para os isolados clínicos, *Candida albicans* IC01 e IC02 apresentaram uma CIM de e 250 µg/mL e 125 µg/mL, respectivamente. Já *Candida krusei* IC01 exibiu uma CIM de 250 µg/mL, enquanto *Candida krusei* IC02 demonstrou uma CIM reduzida de 125 µg/mL. No caso de *Candida tropicalis*, IC01 e IC02 apresentaram CIMs de 125 µg/mL e 62,5 µg/mL, respectivamente.

Entre as cepas controle, *Candida albicans* ATCC 14053 apresentou uma CIM de 500 µg/mL, enquanto *Candida krusei* ATCC 6258 exibiu uma CIM de 250 µg/mL. Esses resultados destacam a eficácia do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha frente às leveduras avaliadas, com variações na susceptibilidade entre as espécies e isolados, conforme a tabela a seguir:

Tabela 5 – Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL de extrato e fluconazol.

<b>Cepas</b>	<b>CIM (Extrato)</b>	<b>CIM (Fluconazol)</b>
<i>Candida albicans</i> IC01	250 µg/mL	4 µg/mL
<i>Candida albicans</i> IC02	125 µg/mL	4 µg/mL
<i>Candida krusei</i> IC01	250 µg/mL	64 µg/mL
<i>Candida krusei</i> IC02	125 µg/mL	64 µg/mL
<i>Candida tropicalis</i> IC01	125 µg/mL	1 µg/mL
<i>Candida tropicalis</i> IC02	62,5 µg/mL	1 µg/mL
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	250 µg/mL	4 µg/mL
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	500µg/mL	64 µg/mL

Fonte: A autora (2025).

Nascimento e colaboradores (2007) estabeleceram critérios para a avaliação da atividade antimicrobiana de substâncias bioativas com base nos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM). Segundo os autores, compostos com CIM entre 50 e 500 µg/mL são considerados como de elevada atividade antimicrobiana, enquanto valores entre 600 e 1500 µg/mL indicam atividade antimicrobiana moderada. Por outro lado, substâncias que apresentem CIM superiores a 1600 µg/mL são classificadas como tendo baixa atividade antimicrobiana.

No que diz respeito à Concentração Inibitória Mínima (CIM) deste estudo, observou-se que a partir de 62,5 µg/mL de extrato foi possível inibir o crescimento fúngico após 48 horas de incubação para os isolados clínicos e 250 µg/mL para as cepas controle, indicando uma atividade antimicrobiana elevada. Esses resultados são expressivos quando comparados aos obtidos por Ota *et al.*, (2001) ao estudar extratos etanólicos de própolis verde de diferentes regiões brasileiras, os quais apresentaram CIM de 3800 µg/mL para *C. albicans* e 9000 µg/mL para *Candida* sp.

Corroborando os resultados obtidos no presente ensaio a atividade antifúngica de diferentes extratos hidroalcoólicos de própolis coletados em Sergipe, Nordeste do Brasil, em diferentes períodos de um mesmo ano foram avaliadas frente a cepas padrão de *Candida* sp. Os extratos foram avaliados quanto à eficácia contra cepas ATCC de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, constatando-se que todas as

amostras testadas inibiram o crescimento das cepas, sendo a maior efetividade observada em *C. glabrata* (Mendonça *et al.*, 2015).

Os valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) e Concentração Fungicida Mínima (MFC) de um extrato etanólico de própolis iraniana contra isolados de *Candida albicans* resistentes ao fluconazol, provenientes de unhas, cavidade oral e vaginal, variaram entre 120,2 e 970,6 µg/mL e 480,8 e 3900,4 µg/mL, respectivamente. Além disso, concentrações subinibitórias (1/2 MIC e 1/4 MIC) demonstraram uma redução significativa na formação de tubos germinativos por esses isolados. Observou-se que os valores de MFC do extrato iraniano estavam em uma faixa muito elevada, se comparada à atividade fungicida da própolis brasileira (BRP), que apresentou valores entre 64 e 512 µg/mL contra cepas de *C. albicans* (Freires *et al.*, 2016; Siqueira *et al.*, 2009).

Um estudo adicional avaliou o efeito do extrato etanólico de própolis (EEP) brasileiro em solução sobre a atividade antibiofilme de 29 isolados clínicos de *Candida albicans* obtidos de amostras vaginais. O EEP demonstrou elevada atividade antibiofilme contra todos os isolados, com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variando entre 68,35 e 546,87 µg/mL. Destaca-se que, na concentração de 546,87 µg/mL, 75,8% do total de isolados apresentaram inibição (Junior *et al.*, 2012). Esses dados evidenciam o potencial do EEP como um agente eficaz no combate ao biofilme de *C. albicans*, que representa um fator crucial de resistência e persistência em infecções fúngicas.

Adicionalmente, Guedes *et al.* (2012) avaliaram extratos brutos e frações obtidos de própolis do litoral de Alagoas, determinando valores de CIM contra espécies de *Candida* que variaram entre 8 e 16 µg/mL. Esses achados evidenciam a eficácia de compostos bioativos naturais contra leveduras, destacando a ampla variabilidade nos valores de CIM, o que reforça o potencial do uso de fontes naturais diversificadas, para o desenvolvimento de agentes antifúngicos. A aplicação de critérios padronizados, como os sugeridos por Nascimento *et al.* (2007) é fundamental para a análise comparativa de resultados entre estudos distintos.

Freires *et al.* (2016) realizaram uma comparação entre frações da própolis tipo 3, proveniente da região Sul do Brasil, e da própolis tipo 13, oriunda de Alagoas (PVA), avaliando sua atividade antifúngica contra *Candida* spp. Os resultados indicaram que

as frações diclorometano e hexânica da própolis tipo 3 exibiram maior atividade antifúngica em relação à etanólica, apresentando um intervalo de CIM entre 20 e 500 µg/mL. Essa disparidade pode ser explicada pelo método de extração empregado (Alencar *et al.*, 2007; Araujo *et al.*, 2018).

Os resultados obtidos por Bueno-Silva *et al.* (2017) sugerem que o extrato etanólico de própolis brasileira exerce efeitos deletérios irreversíveis sobre a membrana celular bacteriana, culminando na morte celular. No entanto, devido à variabilidade na qualidade, quantidade e proporções dos componentes bioativos presentes na própolis, torna-se desafiador prever qual atividade biológica será predominante. Tal dificuldade reside no fato de que esses componentes apresentam uma ação sinérgica, potencializando o efeito geral do extrato e contribuindo para sua ampla gama de atividades biológicas.

Diversos estudos têm evidenciado amplamente as diversas atividades antimicrobianas da própolis, com destaque para sua função antifúngica, antibacteriana e antileishmania (Araujo *et al.*, 2018; Freires *et al.*, 2016; Lima *et al.*, 2022). De acordo com Dantas Silva e colaboradores (2012), essa atividade é atribuída, em grande parte, à presença de flavonoides associados a compostos fenólicos, conferindo à própolis um relevante potencial como agente antimicrobiano.

Confirmando esta hipótese, segundo Ccana-Ccapatinta *et al.* (2020) atividade antimicrobiana está frequentemente associada à presença de compostos secundários, como fenóis e flavonoides. Os flavonoides apresentam notável atividade antifúngica, atuando por meio da inibição da síntese de ácidos nucleicos, o que provoca alterações na permeabilidade da membrana celular e compromete o metabolismo energético dos fungos. Conforme apresentado, a amostra de própolis testada neste trabalho demonstrou expressivas de flavonoides e fenóis, o que pode ter sido um fator determinante para a eficácia na inibição de fungos pertencentes ao gênero *Candida*.

De acordo com Alves *et al.* (2014), os compostos fenólicos demonstraram eficácia antifúngica *in vitro* contra espécies do gênero *Candida*, incluindo *C. albicans* e *C. tropicalis*. Esse efeito antifúngico é atribuído, em parte, à capacidade dos compostos fenólicos de inativar sistemas enzimáticos essenciais para a produção de energia nos microrganismos (Lima *et al.*, 2022). Além disso, esses compostos também

interagem com componentes estruturais da célula fúngica, contribuindo para sua desestabilização (Porte *et al.*, 2001).

Entretanto, a qualidade e a quantidade desses compostos bioativos dependem diretamente da origem geográfica da própolis, apresentando variações significativas de uma região para outra. Estudos sobre as propriedades antimicrobianas e antifúngicas da própolis têm fomentado sua aplicação em indústrias farmacêuticas e alimentícias, devido ao seu potencial como um ingrediente natural e funcional (Dantas de Almeida *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2021).

## 5.2 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AO FLUCONAZOL

Conforme descrito por Arendrup *et al.* (2020), as cepas podem ser categorizadas como sensíveis, sensíveis com aumento da exposição ou resistentes a uma determinada droga antifúngica. Para realizar essa classificação, são definidos pontos de corte clínicos de CIM específicos para cada droga e espécie, salvo em casos onde não há evidências suficientes para comprovar a atividade da droga contra a espécie em questão. Esses valores são essenciais para otimizar as estratégias de tratamento, garantindo que o paciente seja exposto à terapêutica mais adequada, segura e eficaz (Lamoth; Lewis; Kontoyiannis, 2020).

De acordo com a classificação estabelecida por Arendrup *et al.* (2020) para a espécie *Candida albicans*, cepas com CIM superior a 4 µg/mL para fluconazol são consideradas resistentes, enquanto aquelas com CIM igual ou inferior a 2 µg/mL são classificadas como sensíveis. Diante dessa definição, todos os isolados utilizados no presente estudo foram classificados como resistentes para fluconazol. O que difere do encontrado por Fay e colaboradores em (2018), onde a cepa padrão ATCC14053 apresentou CIM de 0,25 µg/mL para o mesmo fármaco.

Essa variação pode estar relacionada à heterogeneidade da amostra do fármaco empregado ou à capacidade adaptativa do fungo. As modificações observadas podem envolver mecanismos como alterações no sítio de ação do antifúngico, aumento da eficiência de bombas de efluxo responsáveis pela remoção do fármaco da célula fúngica ou o desenvolvimento de vias metabólicas alternativas que permitem a sobrevivência do microrganismo, contornando a ação do antifúngico.

Apesar da mudança do perfil de sensibilidade, as cepas de *Candida albicans* demonstram boa sensibilidade aos extratos deste trabalho. Assim, pode ser inferido que os microrganismos também apresentem diferentes respostas aos compostos fitoquímicos das plantas, sendo necessário incluir a espécie particular em estudos que objetive extrair informações relacionadas a estes bioativos (Cartaxo-Furtado *et al.*, 2015).

Destaca-se que a cepa-controle *C. krusei* ATCC 6258, ao apresentar uma CIM de 64 µg/mL, está em conformidade com o intervalo de CIM definido pelo EUCAST para essa espécie, que varia entre 64 µg/mL e 16 µg/mL, validando os resultados das CIMs dos demais isolados (EUCAST, 2020). Além disso, é importante ressaltar que a espécie *C. krusei* possui resistência intrínseca ao fluconazol, o que justifica os valores elevados de CIM observados para cepas dessa espécie, assim como nos 2 isolados clínicos IC01 e IC02 (Jamiu *et al.*, 2021).

Para esta cepa, é relevante destacar que os resultados obtidos no teste de (CIM) da própolis, apesar de apresentarem os maiores valores entre as outras espécies, se mantiveram dentro do padrão definido por Nascimento e colaboradores (2009), que considera concentrações entre 50 e 500 µg/mL como indicativas de elevada atividade antimicrobiana, reforçando, assim, os achados positivos do presente trabalho.

Ambos os isolados clínicos de *C. tropicalis* testados neste trabalho se comportaram como sensíveis para fluconazol, apresentando CIM de 1 µg/mL. *Candida tropicalis* tem sido amplamente considerada a segunda espécie de *Candida* mais virulenta, sendo precedida apenas por *C. albicans*. Além disso, essa espécie se destaca por sua capacidade de formar biofilmes, um fator crucial para sua virulência e resistência a tratamentos antifúngicos, especialmente em infecções invasivas (Zuza-Alves; Silva-Rocha; Chaves, 2017). Nesse contexto, os resultados observados com o extrato de própolis em nosso estudo são de grande relevância, pois sugerem uma alternativa terapêutica potencial para o tratamento de infecções por *C. tropicalis* resistentes a antifúngicos convencionais.



## 6 CONCLUSÃO

A própolis vermelha, uma resina produzida por abelhas a partir de exsudatos vegetais, tem despertado amplo interesse científico devido às suas diversas propriedades biológicas. Estudos indicaram que sua composição química é rica em compostos fenólicos, flavonoides e taninos, que estão diretamente associados às atividades antioxidantes e antimicrobianas. A atividade antioxidante da própolis vermelha é atribuída a esses compostos, que neutralizam radicais livres e previnem danos oxidativos em células e tecidos. Os valores encontrados sugerem uma capacidade moderada de sequestro dos radicais livres DPPH, esse valor está dentro da faixa comum observada para a própolis vermelha, que varia conforme a origem e o método de extração. Além disso, o extrato etanólico de própolis vermelha demonstrou atividade antifúngica significativa contra diferentes espécies de *Candida*, incluindo *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variaram conforme a espécie, evidenciando uma eficácia modulada por fatores intrínsecos, como mecanismos de virulência e resistência antifúngica. Esses achados sugerem que a própolis vermelha é uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial terapêutico, especialmente no tratamento de infecções fúngicas e na prevenção de danos oxidativos. Os resultados corroboram o uso tradicional dessa substância, reforçando a importância do conhecimento empírico popular como guia para estudos farmacobotânicos. Entretanto, investigações adicionais são indispensáveis para elucidar plenamente os mecanismos de ação e para avaliar sua segurança e eficácia em aplicações clínicas.

## REFERÊNCIAS

- ABU ZARIN, M. *et al.* Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. **Food Science and Human Wellness**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 65–75, 2016.
- AGUIAR, G. R. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA. [s. l.],
- AHANGARI, Z.; NASERI, M.; VATANDOOST, F. Propolis: Chemical Composition and Its Applications in Endodontics. **Iranian Endodontic Journal**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 285–292, 2018.
- AJALA, O. S.; JUKOV, A.; MA, C.-M. Hepatitis C virus inhibitory hydrolysable tannins from the fruits of *Terminalia chebula*. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 99, p. 117–123, 2014.
- ALENCAR, S. M. *et al.* Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **J. Ethnopharmacol.**, [s. l.], v. 113, p. 278, 2007a.
- ALENCAR, S. M. *et al.* Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 113, n. 2, p. 278–283, 2007b.
- ANJUM, S. I. *et al.* Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1695–1703, 2019a.
- ANJUM, S. I. *et al.* Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1695–1703, 2019b.
- APARECIDA SOUZA MACHADO, B. *et al.* ESTUDO PROSPECTIVO DA PRÓPOLIS E TECNOLOGIAS CORRELATAS SOB O ENFOQUE EM DOCUMENTOS DE PATENTES DEPOSITADOS NO BRASIL. **Revista Gestão, Inovação e Tecnologia**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 221–235, 2012.
- ARAUJO, J. M. E. *et al.* Phenolic Composition and Leishmanicidal Activity of Red Propolis and *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub (Fabaceae) Extracts from Sergipe, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 61, p. e18160461, 2018.
- ARENDRUP, M. C.; PERLIN, D. S. Echinocandin resistance: an emerging clinical problem?. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 484–492, 2014.
- ATIENCIA-CARRERA, M. B. *et al.* Evaluation of the biofilm life cycle between *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 12, p. 953168, 2022.
- BARRETO, A. L. H. Controle de Qualidade da Própolis. [s. l.], 2020.

BERTO, C. *et al.* BASES DA RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA: UMA REVISÃO COMENTADA. **Revista Uningá**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 52–71, 2018.

BONAMIGO, T. *et al.* Antioxidant, Cytotoxic, and Toxic Activities of Propolis from Two Native Bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *Melipona quadrifasciata* anthidioides. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2017, p. 1038153, 2017.

BRAGA, P. R. *et al.* Secular trends of candidemia at a Brazilian tertiary care teaching hospital. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 22, p. 273–277, 2018.

BUENO-SILVA, B. *et al.* The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 31, n. 11, p. 1318–1324, 2017.

CABRAL, I. S. R. *et al.* Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, [s. l.], v. 32, p. 1523–1527, 2009.

CAMPOS, T. *et al.* Avaliação do comportamento de leveduras do gênero *Candida* a fármacos antifúngicos. **Ciência & Inovação**, [s. l.], v. 5, n. 1, 2020. Disponível em: [https://faculadadedeamericana.com.br/ojs/index.php/Ciencia\\_Inovacao/article/view/461](https://faculadadedeamericana.com.br/ojs/index.php/Ciencia_Inovacao/article/view/461). Acesso em: 28 jan. 2025.

CARTAXO-FURTADO, N. a. D. E. O. *et al.* Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s. l.], v. 17, p. 1091–1096, 2015.

CASCIO, A. *et al.* On a Fatal Case of *Candida krusei* Pleural Empyema in a Pregnant Woman with Spontaneous Esophagus Perforation. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 169, p. 451–455, 2010.

CCANA-CCAPATINTA, G. V. *et al.* *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. and *Symphonia globulifera* L.f.: The Botanical Sources of Isoflavonoids and Benzophenones in Brazilian Red Propolis. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 2060, 2020.

CORDEIRO, K. de A.; VERA, S. A. A. Eficácia da própolis em aplicações odontológicas: Um estudo de revisão. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. e1013846521–e1013846521, 2024.

DALBEN-DOTA, K. F. *et al.* Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. **Journal of Alternative and Complementary Medicine (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 285–290, 2010.

DALLA LANA, D. F. *et al.* Candidaemia Mortality Has not Changed Over the Last 2 Decades in Brazil. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 185, n. 4, p. 685–690, 2020.

DANTAS DE ALMEIDA, L. de F. *et al.* Efeito antifúngico de tinturas de própolis e romã sobre espécies de *Candida*. **Rev. cuba. estomatol**, [s. l.], p. 99–106, 2012.

DAUGSCH, A. *et al.* Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 754625, 2008.

DE OLIVEIRA SANTOS, G. C. *et al.* *Candida* Infections and Therapeutic Strategies: Mechanisms of Action for Traditional and Alternative Agents. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 9, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01351/full>. Acesso em: 12 nov. 2024.

DO NASCIMENTO, T. G. *et al.* Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Research Letters**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 301, 2016.

DOI, A. M. *et al.* Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. **PloS One**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. e0146909, 2016.

FARIDA, S. *et al.* In-vitro antioxidant, in-vivo anti-inflammatory, and acute toxicity study of Indonesian propolis capsule from *Tetragonula sapiens*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 2489, 2021.

FAY, V. da S. *et al.* Drug susceptibility in emerging fungal infections: tests with fluconazole, itraconazole, and amphotericin B. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 462–464, 2018.

FENG, H.-L. *et al.* Isolation and Purification of Condensed Tannins from Flamboyant Tree and Their Antioxidant and Antityrosinase Activities. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 173, n. 1, p. 179–192, 2014.

FREIRES, I. A. *et al.* Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. **Journal de Mycologie Médicale**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 122–132, 2016.

GIACOMAZZI, J. *et al.* The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 145–150, 2016.

HANI, U. *et al.* Candidiasis: a fungal infection--current challenges and progress in prevention and treatment. **Infectious Disorders Drug Targets**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 42–52, 2015.

HERRERAS GÓMEZ, L. R. *et al.* Antifungal resistance profile in the treatment of vaginal candidiasis: A diagnosis of etiologic agents. **Revista Habanera de Ciencias Médicas**, [s. l.], v. 21, n. 2, 2022. Disponível em: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1729-519X2022000200011&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1729-519X2022000200011&lng=en&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 12 nov. 2024.

HÜMMER, W.; SCHREIER, P. Analysis of proanthocyanidins. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s. l.], v. 52, n. 12, p. 1381–1398, 2008.

JACOB, A. *et al.* The effects of Malaysian propolis and Brazilian red propolis on connective tissue fibroblasts in the wound healing process. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 294, 2015.

JAMIU, A. T. *et al.* Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 14–30, 2021.

JUNIOR, W. B. *et al.* Atividade antimicrobiana de frações da própolis vermelha de Alagoas, Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 3–10, 2012.

JÚNIOR, D. M. de L. *et al.* FATORES ANTI-NUTRICIONAIS PARA RUMINANTES. **Acta Veterinaria Brasilica**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 132–143, 2010.

KAMILOGLU, S. *et al.* Effect of food matrix on the content and bioavailability of flavonoids. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 117, Plant-Based Bioactive Compounds: Healthy Promoters And Protective Agents, p. 15–33, 2021.

KIELISZEK, M. *et al.* Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 71, p. 170–180, 2018.

KIM, B.; KIM, J. E.; KIM, H. S. Caffeic acid induces keratinocyte differentiation by activation of PPAR- $\alpha$ . **J. Pharm. Pharmacol.**, [s. l.], v. 66, p. 84, 2014.

KUMAR, M. *et al.* Recent trends in extraction of plant bioactives using green technologies: A review. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 353, p. 129431, 2021.

LAMOTH, F.; LEWIS, R. E.; KONTOYIANNIS, D. P. Role and Interpretation of Antifungal Susceptibility Testing for the Management of Invasive Fungal Infections. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 17, 2020.

LEE, D. Y. *et al.* Hydrolyzable tannins from the fruits of *Terminalia chebula* Retz and their  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 137, p. 109–116, 2017.

LIMA, A. B. S. de *et al.* Quantificação de constituintes fenólicos de extratos de própolis vermelha de diferentes concentrações por HPLC. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. e1111830536–e1111830536, 2022.

LOPEZ, B. G. -C. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activity of red propolis: an alert for its safe use. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 119, n. 3, p. 677–687, 2015.

MACÊDO, D. P. C. *et al.* Esophagitis caused by *Candida guilliermondii* in diabetes mellitus: first reported case. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 48, n. 6, p. 862–865, 2010.

MAKABE, M. L.; SANTOS, P. de S.; PIRES, M. de F. C. Atividade *in vitro* do extrato etanólico de própolis e do digluconato de clorexidina sobre as espécies de *Candida* isoladas da mucosa bucal de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Online)**, [s. l.], p. 1–11, 2018.

MAQSOOD, S. *et al.* Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 308, p. 125522, 2020.

MCCARTY, T. P.; WHITE, C. M.; PAPPAS, P. G. Candidemia and Invasive Candidiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 389–413, 2021.

MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 47, n. 12, p. 2510–2518, 2012.

MENDONÇA, L. S. D. *et al.* Chemical markers and antifungal activity of red propolis from Sergipe, Brazil. **Food Science and Technology (Campinas)**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 291–298, 2015.

MIYATA, S. *et al.* Stimulatory Effect of Brazilian Propolis on Hair Growth through Proliferation of Keratinocytes in Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 49, p. 11854–11861, 2014.

MONIRUZZAMAN, M. *et al.* Identification of Phenolic Acids and Flavonoids in Monofloral Honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography: Determination of Antioxidant Capacity. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, n. 1, p. 737490, 2014.

NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 17, p. 108–113, 2007.

NEVES, M. V. M. das *et al.* Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida sp.* **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 47, p. 159–166, 2016.

NOGUCHI, N.; NIKI, E. Phenolic antioxidants: a rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. **Free Radical Biology & Medicine**, [s. l.], v. 28, n. 10, p. 1538–1546, 2000.

NUCCI, M. *et al.* Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. **PloS One**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. e59373, 2013.

OTA, C. *et al.* Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. **Mycoses**, [s. l.], v. 44, n. 9–10, p. 375–378, 2001.

PAPPAS, P. G. *et al.* Invasive candidiasis. **Nature Reviews. Disease Primers**, [s. l.], v. 4, p. 18026, 2018.

PARK, Y. K. *et al.* Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 997–1003, 2002.

PEREIRA, A. D. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. D. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 321–326, 2002.

PICCINELLI, A. L. *et al.* Cuban and Brazilian red propolis: botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.**, [s. l.], v. 59, p. 6484, 2011.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 63, n. 7, p. 1035–1042, 2000.

PRATAMI, D. K. *et al.* MICROENCAPSULATION OPTIMIZATION OF PROPOLIS ETHANOLIC EXTRACT FROM TETRAGONULA SPP USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, [s. l.], p. 197–206, 2020.

QUEIROZ, A. P. M. de *et al.* ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS: UMA REVISÃO. **Revista Ciência (In) Cena**, [s. l.], v. 1, n. 8, 2021. Disponível em: <https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/cienciaincenabahia/article/view/5>. Acesso em: 22 nov. 2024.

REDDING, S. *et al.* Resistance of *Candida albicans* to Fluconazole During Treatment of Oropharyngeal Candidiasis in a Patient with AIDS: Documentation by *In vitro* Susceptibility Testing and DNA Subtype Analysis. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 240–242, 1994.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian Brown Propolis: an Overview About Its Chemical Composition, Botanical Sources, Quality Control, and Pharmacological Properties. **Revista Brasileira De Farmacognosia**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 288–299, 2023.

RIBEIRO, V. R. *et al.* Improvement of phenolic compound bioaccessibility from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts after biosorption on *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Research International**, [s. l.], v. 126, p. 108623, 2019.

RICHARDSON, K. *et al.* Discovery of fluconazole, a novel antifungal agent. **Reviews of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 12 Suppl 3, p. S267-271, 1990.

ROCHA, W. R. V. da *et al.* Gênero *Candida* - Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. e43910414283–e43910414283, 2021.

RÜFER, C. E.; KULLING, S. E. Antioxidant activity of isoflavones and their major metabolites using different *in vitro* assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 54, n. 8, p. 2926–2931, 2006.

SALGUEIRO, F. B. CARACTERIZAÇÃO DA PRÓPOLIS VERDE BRASILEIRA: SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS, ATIVIDADE BIOLÓGICA E ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA. [s. l.],

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 76, n. 2, p. 270–276, 1998.

SANTOS, F. F. dos *et al.* Avaliação da atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas. **Scire Salutis**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 27–33, 2023.

SANTOS, S. R. C. J. *et al.* Fluconazole plasma concentration measurement by liquid chromatography for drug monitoring of burn patients. **Clinics**, [s. l.], v. 65, p. 237–243, 2010a.

SANTOS, S. R. C. J. *et al.* Fluconazole plasma concentration measurement by liquid chromatography for drug monitoring of burn patients. **Clinics**, [s. l.], v. 65, p. 237–243, 2010b.

SANTOS, L. M. *et al.* Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 100, n. 4, p. 1369–1382, 2020.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 133, n. 2, p. 253–260, 2011.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 33, n. 6, p. 501–547, 1993.

SILVA, B. B. *et al.* Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 380385, 2008.

SIQUEIRA, A. B. S. *et al.* Trichophyton species susceptibility to green and red propolis from Brazil. **Letters in Applied Microbiology**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 90–96, 2009.

SOBREIRA, A. L. de C. *et al.* Atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra isolados patogênicos de *Candida* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 429–433, 2020.

TAKASHIMA, M.; SUGITA, T. Taxonomy of Pathogenic Yeasts *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, and *Trichosporon*. **Medical Mycology Journal**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 119–132, 2022.

THOMPSON, D. S.; CARLISLE, P. L.; KADOSH, D. Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. **Eukaryotic Cell**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 1173–1182, 2011.

TORETI, V. C. *et al.* Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2013, n. 1, p. 697390, 2013.

TRUSHEVA, B. *et al.* Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 249, 2006.

URBAN, A. M. *et al.* Efetividade antifúngica de fármacos complexados com ciclodextrinas. **Saúde-UNG**, [s. l.], v. 10, n. 1–2, p. 97–110, 2016.

VASILAKI, A. *et al.* A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 298, p. 125080, 2019.

VITALE, R. G. *et al.* Recent developments in less known and multi-resistant fungal opportunists. **Critical Reviews in Microbiology**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 762–780, 2021.



YANG, K. *et al.* Hydrolysis enhances bioavailability of proanthocyanidin-derived metabolites and improves  $\beta$ -cell function in glucose intolerant rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 26, n. 8, p. 850–859, 2015.

ZHANG, M. *et al.* Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), IL-6 and IL-1 $\beta$  levels and ameliorates skin edema in acute and chronic model of cutaneous inflammation in mice. **Biol. Pharm. Bull.**, [s. l.], v. 37, p. 347, 2014.

ZULHENDRI, F. *et al.* Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 23, p. 8473, 2022.

ZUZA-ALVES, D. L.; SILVA-ROCHA, W. P.; CHAVES, G. M. An Update on *Candida tropicalis* Based on Basic and Clinical Approaches. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.01927/full>. Acesso em: 28 jan. 2025.