



















































































de β-(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  $0,70 \pm 0,06 \text{ L/kg}$ , 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

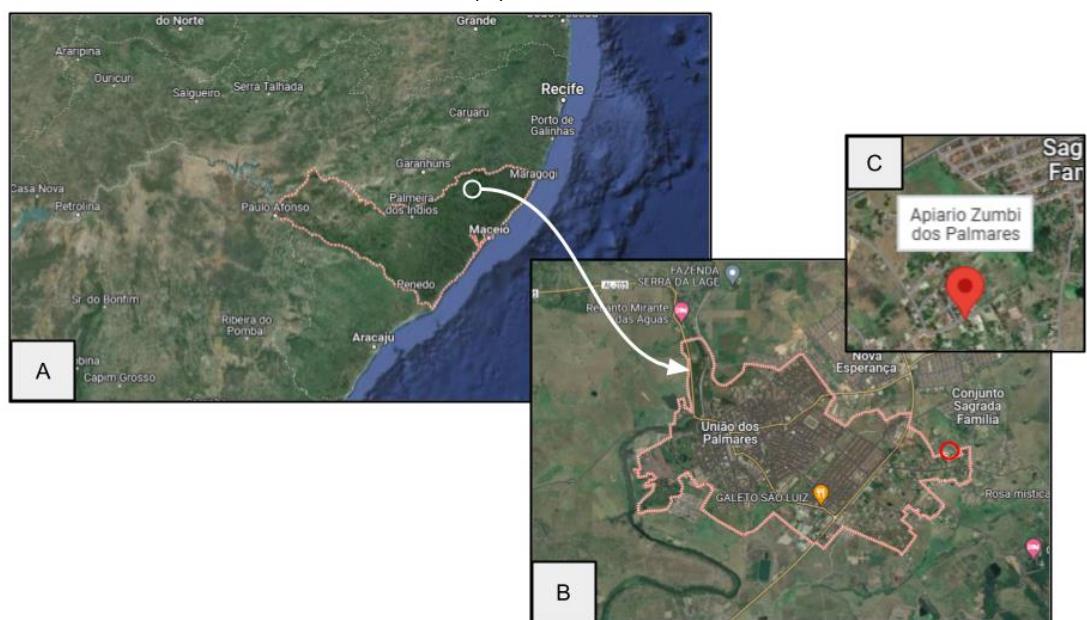
### 4.1 LOCAL DE TRABALHO

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 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).

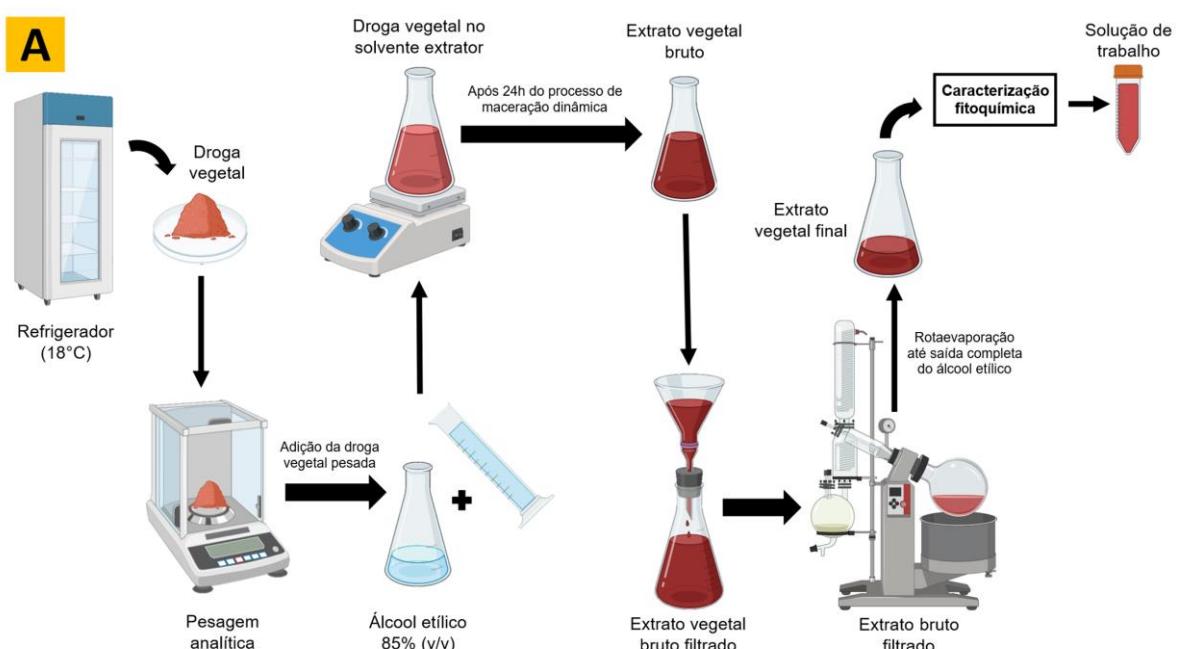


Fonte: Darlan P. de Campos, (2006)

### 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 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.

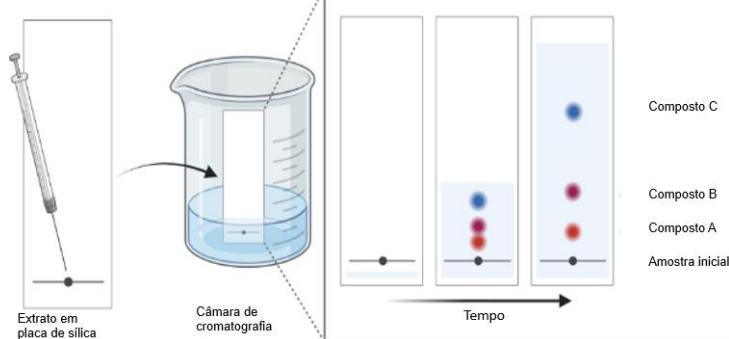
Tabela 2 - Metabólitos pesquisados e seu sistema eluente, padrões e reveladores utilizados.

<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 µL de uma solução diluída do extrato (1,0 mg/mL), foram pipetados em tubos de ensaio. Em seguida, adicionou-se 500 µL 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 µL 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 µg/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

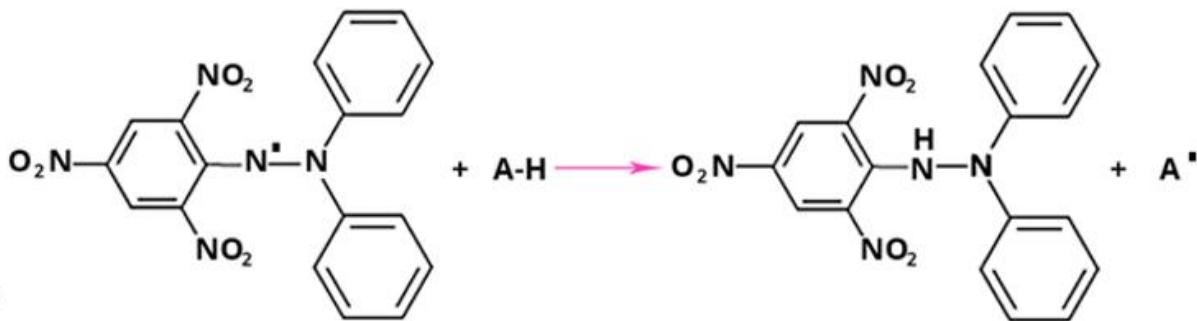
O extrato seco foi diluído em metanol P.A. para atingir uma concentração de 1 mg/mL, em balão volumétrico de 25 mL, realizando a diluição em triplicata. Para a quantificação dos flavonoides, uma alíquota de 0,2 mL do extrato diluído foi transferida para tubos de ensaio. Em seguida, foram adicionados 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 da amostra (ABSamostra), diluída em metanol (ABSbranco) e do controle negativo (ABScn).

$$AA = \left[ 1 - \frac{(ABSamostra - ABSbranco)}{ABScn} \right] \times 100$$

## 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.

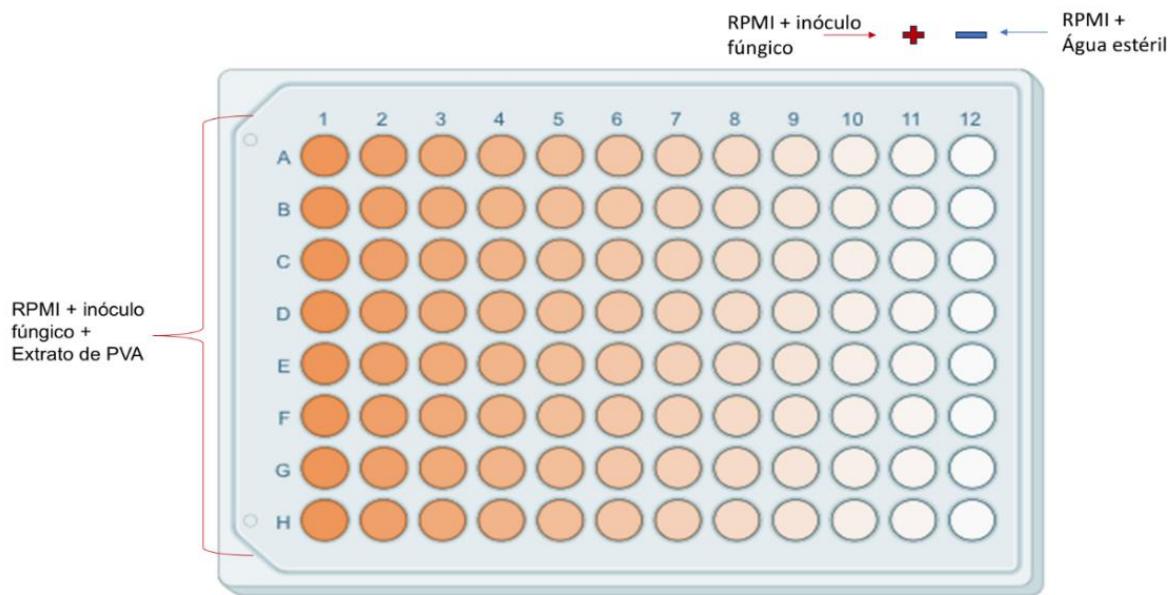
#### **4.10.3 Teste de Concentração Inibitória Mínima**

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 ESTATÍSTICAS

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 extractivo	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

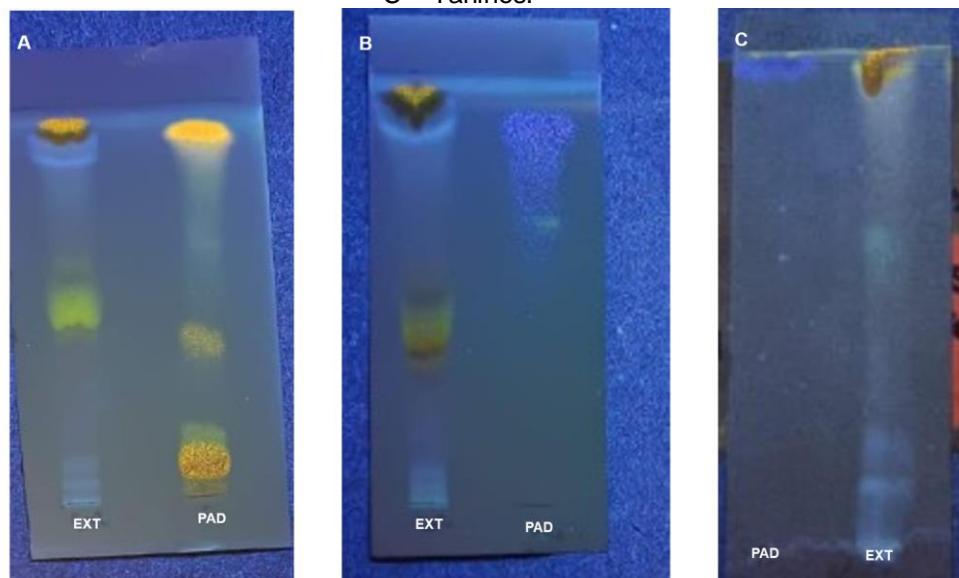
extrato de própolis apresentam destacáveis interesse e aplicação na área farmacêutica e de engenharia biomédica no que tange as propriedades antimicrobianas.

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 rutina 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 tântico 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

Fenóis totais (mg EqAT/g)	Taninos (mg EAT/g)	Flavonoides (mg ER/g)	DPPH (IC <sub>50</sub> µg/mL)
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  $208,0 \pm 1,69$  mg EAG/g para fenóis totais e  $45,3 \pm 1,27$  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 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.

Cepas	CIM (Extrato)	CIM (Fluconazol)
<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 presentou 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. I.], 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. I.], 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. I.], 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. I.], 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. I.], v. 32, p. 1523–1527, 2009.
- CAMPOS, T. et al. Avaliação do comportamento de leveduras do gênero *Candida* a fármacos antifúngicos. **Ciência & Inovação**, [s. I.], v. 5, n. 1, 2020. Disponível em: [https://faculdadedeamericana.com.br/ojs/index.php/Ciencia\\_Inovacao/article/view/461](https://faculdadedeamericana.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. I.], 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. I.], v. 169, p. 451–455, 2010.
- CCANA-CCAPATINTA, G. V. et al. *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. and *Sympodia globulifera* L.f.: The Botanical Sources of Isoflavonoids and Benzophenones in Brazilian Red Propolis. **Molecules**, [s. I.], 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. I.], 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. I.], 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. I.], 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. I.], p. 99–106, 2012.
- DAUGSCH, A. et al. Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. I.], 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 α-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-1beta 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.