



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

NAARA FELIPE DA FONSÊCA

DESENVOLVIMENTO DE UM COMPRIMIDO MUCOADESIVO VAGINAL, COM AÇÃO ANTIFÚNGICA PRODUZIDO A PARTIR DAS FOLHAS DE *Schinopsis brasiliensis* Engler.

**CAMPINA GRANDE-PB
2022**

NAARA FELIPE DA FONSÊCA

DESENVOLVIMENTO DE UM COMPRIMIDO MUCOADESIVO VAGINAL, COM AÇÃO ANTIFÚNGICA PRODUZIDO A PARTIR DAS FOLHAS DE *Schinopsis brasiliensis* Engler.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia.

Orientador: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas Medeiros.

Coorientador: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior.

**CAMPINA GRANDE-PB
2022**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

F676d Fonseca, Naara Felipe da.
Desenvolvimento de um comprimido mucoadesivo vaginal com ação antifúngica produzido a partir das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler [manuscrito] / Naara Felipe da Fonseca. - 2022.
46 p. : il. colorido.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.
"Orientação : Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas Medeiros , Departamento de Farmácia - CCBS."
"Coorientação: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Vaginite. 2. Comprimido mucoadesivo. 3. Candidíase. 4. Fitoterapia. I. Título

21. ed. CDD 615.321

NAARA FELIPE DA FONSÊCA

TÍTULO DO TRABALHO: DESENVOLVIMENTO DE UM COMPRIMIDO
MUCOADESIVO VAGINAL, COM AÇÃO ANTIFÚNGICA PRODUZIDO A PARTIR DAS
FOLHAS DE *Schinopsis brasiliensis* Engler.

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
APRESENTADO À COORDENAÇÃO DO
CURSO DE FARMÁCIA DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA, COMO REQUISITO PARCIAL
À OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
BACHAREL EM FARMÁCIA.

Área de concentração: Farmácia.

Aprovada em: 24 / 03 / 2022 .

BANCA EXAMINADORA


UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Ana Cláudia Dantas de Medeiros
Matrícula nº 1299247

Prof.ª Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior (Coorientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Paulo César Dantas da Silva
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Thiago Pereira Chaves
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Louvai a fonte da fé e do saber
que à mente faiscando atçou,
de paixão por compreender,
como este mundo Ela desenhou.
O senso de maravilha fluindo
das maravilhas que investigamos,
nossa fé sempre progredindo
e renovando nossa vontade de orar:

Deus sábio, nós reconhecemos
que a nossa ciência e a nossa arte
e enquanto homens, tudo o que sabemos
da verdade toda é pequena parte.
Jaz muito além da especulação
insondável a nós, o profundo;
Ali guardas o plano da criação,
e o pulso de vida do mundo.

Como num rio uma e outra corrente,
submersas se dão em combate
até convergirem na mesma torrente,
na calma coerência de um curso constante,
ajunta ó Deus, nossa fé e saber!
que possam se unir numa só torrente,
e, enquanto se casam, a ti devolver
louvores e graças pois és a Nascente.

**“Louvai a fonte da fé e do Saber”, por Thomas Troeger.
Tradução de Guilherme Carvalho, para o livro “O teste da fé” (2013).**

Dedico a minha mãe Núbia Felipe (*in memoriam*), que sempre foi minha maior incentivadora
na busca da fé e do saber.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a todos os cientistas brasileiros, em especial aos do meu querido Nordeste, nas pessoas dos meus orientadores Ana Claudia e João Oshiro (o paulista mais nordestino que eu conheço), sou imensamente grata por poder observa-los e aprender com vocês, nesses cinco anos de pesquisa eu aprendi muito mais do que metodologias científicas e discutir resultados, aprendi que fazer pesquisa no Brasil talvez seja a profissão mais difícil que se possa querer seguir, não temos incentivo do governo, qualquer interação com a indústria é extremamente difícil, e para a maioria da população somos um monte de desocupados. Eu observei tanto vocês e a verdade é que, apesar de toda essa maré, contraria a cada dia que passa eu me apaixono mais por esse ambiente e vocês são os culpados. Espero que um dia eu possa ser uma cientista tão boa quanto vocês são, espero ter a persistência de professora Ana, que durante tanto tempo, doente muitas vezes, conseguiu gerenciar um grupo como o do LabDem, entregando por tanto tempo pesquisas de qualidade e inovadoras, tendo que ser tudo de orientadora a conselheira amorosa, e espero ser como João, que sem sombra de dúvidas é um dos melhores pesquisadores do Brasil, mas é também, uma das pessoas mais humana que eu conheço, o somos todos cientistas é a materialização dessa humanidade, espero um dia ser exatamente como o senhor e espero que minha história motive a nova geração como a sua história tem me motivado, sou extremamente grata pela oportunidade de poder te observar por mais alguns anos. Sempre falo o quanto fui abençoada por ter uma mãe e um pai científico, vocês que foram a minha escada para ir mais alto, e eu vou ser para sempre grata.

De forma especial agradeço ao meu pai Joselito Barbosa, sei que esse foi um sonho que vivemos juntos, eu não teria conseguido me dedicar como me dediquei e conquistar as coisas que conquistei sem o seu apoio, eu sempre falo do quanto tenho orgulho da sua origem humilde e da sua força para mudar, sei que o senhor fez um esforço enorme para me dar o melhor possível, e a conclusão desse curso não é uma conquista apenas minha, mas é uma conquista nossa e o senhor mesmo sem concluir nenhum estudo pode se considerar Graduado em Farmácia, porque juntos nós conseguimos isso, o senhor trabalha e eu estudo foi o nosso meio para chegar até aqui, e eu faria de novo quantas vezes fossem necessárias se o senhor estiver comigo. Nessa caminhada eu não poderia deixar de agradecer a minha gêmea Nayara Felipe, só nós sabemos como foram difíceis esses anos, mas eu sou tão orgulhosa da pessoa

que nos tornamos, você me faz entender o porquê a bíblia fala que é melhor andarem dois do que um, muito obrigada por todo apoio, sem você eu não teria conseguido.

De forma especial agradeço ao meu amado LabDem, sou extremamente feliz por fazer parte desse laboratório, sei que de todos os lugares em que poderia estar, eu sempre estive no melhor. Agradeço aos meus companheiros do LQAQ na pessoa do Prof. Germano Verás, obrigada por toda paciência em ensinar, e agradeço a todos que fazem parte desse grupo, muito obrigada por todo aprendizado. Agradeço ao LaFit, na pessoa do Prof. Harley Alves, obrigada por sempre me deixar acompanhar as pesquisas e aprender todo um novo universo, mesmo sendo de um grupo diferente, e agradeço na pessoa de Adriana Carneiro por todos os cafés e cuidado comigo, você tornou essa jornada muito mais divertida. Agradeço ao LABENFARM, na pessoa da Profa. Vanda Lucia dos Santos, muito obrigada por todo trabalho, eu cresci e me diverti muito com vocês. Agradeço ao LDCPF, na pessoa do Prof. Bolivar Ponciano, vocês são os melhores vizinhos.

Agradeço ao meu grupo de extensão Somos Todos Cientistas, vocês são incríveis, o CONCAF é a prova disso, esse grupo que nasceu no meio da pandemia com o intuito de ajudar e levar ciência a todas as pessoas, eu não poderia ser mais feliz por participar de um projeto tão nobre, muito obrigada por tudo, sei que nossa jornada juntos só está começando.

Agradeço de forma especial a minha Mestre Mariana Dantas e a minha Doutora Thaíse Sampaio, muito obrigada por me deixar seguir vocês, por permitir que eu aprendesse junto, na prática, vocês me deram o melhor presente que eu poderia receber durante a graduação, a oportunidade de ver duas pesquisas de ponta serem desenvolvidas do zero até a patente final, sei que essa oportunidade é única, e vocês sempre a dividiram comigo de forma tão humilde e de coração aberto, muito obrigada.

Agradeço a Ronald, que é o melhor secretario que o curso de Farmácia poderia ter.

Agradeço a turma de Farmácia 2016.2 da Universidade Estadual da Paraíba, minha turma, em especial a minha dupla Eduarda Gadelha, peço formalmente desculpas por todas as vezes que eu briguei fazendo trabalho em grupo (risos), e a Ana Luísa que formou o nosso trio, muito obrigada por todo apoio durante essa jornada, vocês fizeram esse fardo se tornar mais leve.

Agradeço também ao meu companheiro de turma, de laboratório e de vida Genil Dantas, quem diria que no final a gente fosse dar tão certo!?! Muito obrigada pelo amor e companheirismo, não tenho dúvidas do excelente profissional que você vai se tornar e do excelente cientista que você já é, espero continuar essa aventura que é a vida, com você.

Agradeço a todos os meus professores e professoras, por todo ensinamento, a todos os meus familiares e amigos pelo apoio, a Geovana, Pablo, Widsom, Daniella, Hilthon, João Vitor, Máisa, Geovana, Elizângela, Tia Naldete, Juliana e Deilson, são tantas pessoas que estiveram comigo, que de forma simbólica eu falo: a você que de alguma forma esteve comigo, me apoiou, ensinou e orou por mim, meu muito obrigada.

Por fim, mas não menos importante agradeço ao meu Deus, que sempre foi meu Pai presente, em todas as noites acordada e em todos os dias no laboratório, a força que me mantém viva e em frente, e mesmo que eu beba do copo do saber sei que no final o Senhor sempre estará lá, e é por isso que no fim eu agradeço também a mim, Naara Felipe, por não desistir e por sempre buscar aprender, por não me acomodar com o que me foi ensinado e por não desistir. Deixo esse agradecimento no final porque sei que no fim de tudo, quando minhas análises não derem certo e quando minha fé estiver quase negativa, eu sei que ainda sim vai sobrar Deus e eu, no final é tudo o que eu preciso, e por isso eu agradeço.

“Os benefícios da ciência não são para os cientistas, e sim para humanidade.”
(Louis Pasteur)

RESUMO

Cerca de 75% das mulheres adultas terão Candidíase vaginal em algum momento da vida, que é a inflamação causada por leveduras do gênero *Cândida*, condição que reflete diretamente na qualidade de vida da mulher. A utilização de plantas medicinais para o tratamento de doenças é uma prática milenar, sendo possível com o avanço da pesquisa científica, testar e padronizar os extratos vegetais, viabilizando a utilização dessas formulações pela indústria e diversificando as possibilidades de tratamentos de doenças, dentre essas a Candidíase. Assim, este estudo teve como objetivo desenvolver um comprimido vaginal mucoadesivo, com atividade antifúngica contra *C. albicans*, e testá-los de acordo com as técnicas preconizadas pela Farmacopeia. As folhas secas de *Schinopsis brasiliensis* foram trituradas e o melhor extrato hidroalcoólico, foi avaliado através da comparação entre seus potenciais antimicrobianos, onde foram desenvolvidos extratos que variavam o seu método extrativo (Turbólise, Ultrassom e Maceração) e a sua concentração hidroalcoólica (50 %, 70 %, 90 %). Em seguida foi realizado o ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizando como padrão o antifúngico Nistatina. Também foram realizados ensaios de quantificação fotoquímica, para determinação de Polifenóis Totais, Flavonoides Totais e Taninos Condensados. Os resultados dos testes microbiológicos mostraram que o método extrativo utilizando o ultrassom na concentração de 90% apresentou a melhor atividade antifúngica frente a cepas de *C. albicans*, sendo a concentração de 5mg/ml a que apresentou a melhor CIM. Os testes de quantificação fitoquímica evidenciaram que a cada 100 g de extrato o IFAV apresentou 15 mg de equivalentes de ácido gálico, 1,5 mg de equivalentes de quercetina, e os taninos apresentaram 1 mg de equivalentes de catequina. A mistura dos pós escolhidos para a formulação não apresentou um bom fluxo, sendo necessária compressão por via úmida, utilizando uma solução hidroalcoólica a 50%. Os resultados de controle da qualidade cumpriram as exigências da Farmacopeia Brasileira, apresentando valores para peso médio de $262,69 \pm 6,03$; friabilidade de 0,56% e dureza de $24,43 \pm 1,90$. O teste de mucoadesão apresentou altos valores de adesão entre o comprimido/mucina, com um valor de $0,1267 \pm 0,0098$ e o comprimido/mucosa vaginal com um valor de $0,0294 \pm 0,0014$. Concluiu-se que, os resultados mostraram que foi possível a obtenção de uma formulação com atividade antifúngica comprovada frente a *C. albicans*, e com característica mucoadesiva, sendo esse um produto que apresentou potencial para comercialização.

Palavras-Chave: Vaginite. Comprimido Mucoadesivo. Candidíase.

ABSTRACT

About 75% of adult women will have vaginal candidiasis at some point in their lives, which is the inflammation caused by yeasts of the *Candida* genus, a condition that reflects directly on the quality of life of women. The use of medicinal plants for the treatment of diseases is an ancient practice, being possible with the advancement of scientific research, testing and standardizing plant extracts, enabling the use of these formulations by the industry and diversifying the possibilities of treatment of diseases, including Candidiasis. Thus, this study aimed to develop a mucoadhesive vaginal tablet, with antifungal activity against *C. albicans*, and to test them according to the techniques recommended by the Pharmacopoeia. The dried leaves of *Schinopsis brasiliensis* were triturated and the best hydroalcoholic extract was evaluated by comparing its antimicrobial potential, where extracts were developed that varied their extraction method (Turbólise, Ultrasound and Maceration) and their hydroalcoholic concentration (50%, 70%, 90%). Then the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) assay was performed using the antifungal Nystatin as a standard. Photochemical quantification assays were also performed to determine Total Polyphenols, Total Flavonoids and Condensed Tannins. The results of the microbiological tests showed that the extractive method using ultrasound at a concentration of 90% showed the best antifungal activity against *C. albicans* strains, being the concentration of 5mg/ml the one that presented the best MIC. The phytochemical quantification tests showed that for each 100 g of extract the APIV presented 15 mg of gallic acid equivalents, 1.5 mg of quercetin equivalents, and the tannins presented 1 mg of catechin equivalents. The mixing of the powders chosen for the formulation did not show a good flow, requiring wet compression using a 50% hydroalcoholic solution. The quality control results met the requirements of the Brazilian Pharmacopoeia, presenting mean weight values of 262.69 ± 6.03 ; friability of 0.56% and hardness of 24.43 ± 1.90 . The mucoadhesion test showed high values of adhesion between the tablet/mucin, with a value of 0.1267 ± 0.0098 and the tablet/vaginal mucosa with a value of 0.0294 ± 0.0014 . In conclusion, the results showed that it was possible to obtain a formulation with proven antifungal activity against *C. albicans*, and with a mucoadhesive characteristic. This being a product that presented potential for commercialization.

Keywords: Vaginitis. Mucoadhesive Tablet. Candidiasis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Processamento das folhas de <i>S. brasiliensis</i> | 29 |
| Figura 2 - Curvas Analíticas para quantificação de metabólitos secundários. | 33 |
| Figura 3 - Gráficos de resíduos | 34 |
| Figura 4 - Características visuais dos comprimidos contendo CMC | 36 |
| Figura 5 - Gráfico do potencial mucoadesivo dos comprimidos..... | 38 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Atividade antifúngica dos extratos variando suas proporções hidroalcoólicas. | 31 |
| Tabela 2 - Atividade antifúngica dos extratos 90 %, com variação do método extrativo. | 31 |
| Tabela 3 - Atividade antifúngica do extrato a 90 % ultrassom em diferentes concentrações. | 32 |
| Tabela 4 - Concentrações percentuais dos componentes e suas classes. | 35 |
| Tabela 5 - Controle do peso médio, friabilidade e dureza dos comprimidos. | 36 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 REFERÊNCIAL TEÓRICO | 16 |
| 2.1 Infecções Vaginais | 16 |
| 2.2 Tratamentos Convencionais | 17 |
| 2.3 Plantas Medicinais | 18 |
| 2.4 Schinopsis brasiliensis Engler | 20 |
| 2.5 Comprimidos Mucoadesivos | 21 |
| 3 MATERIAL E METODOS | 22 |
| 3.1 Obtenção e Processamento do Material Vegetal | 22 |
| 3.2 Produção do extrato vegetal | 22 |
| 3.3 Avaliação da atividade antifúngica | 23 |
| 3.3.1 Identificação do melhor extrato frente a cepas de <i>Candida albicans</i> | 23 |
| 3.3.2 Identificação da Concentração inibitória mínima do extrato escolhido | 24 |
| 3.4 Prospecção Fitoquímica | 24 |
| 3.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais | 24 |
| 3.4.2 Determinação do teor de flavonoides totais | 25 |
| 3.4.3 Determinação do teor de taninos condensados | 25 |
| 3.5 Desenvolvimento da Formulação | 26 |
| 3.5.1 Avaliação Da Densidade Bruta e de Compactação, Fator de Hausner, Índice de Compressibilidade e Índice de Densificação | 26 |
| 3.5.2 Avaliação do ângulo de repouso e da velocidade de fluxo do pó. | 27 |
| 3.5.3 Determinação do peso médio | 27 |
| 3.5.4 Avaliação da Dureza | 27 |
| 3.5.5 Avaliação da Friabilidade | 27 |
| 3.6 Avaliação da mucoadesão | 28 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 29 |
| 4.1 Obtenção e Processamento do Material Vegetal | 29 |
| 4.2 Produção dos extratos vegetal e Identificação do melhor extrato frente a cepas de <i>Candida albicans</i> | 30 |
| 4.3 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima do extrato escolhido | 31 |
| 4.4 Prospecção Fitoquímica | 32 |
| 4.5 Desenvolvimento da Formulação | 35 |

| | |
|--|-----------|
| 4.6 Avaliação da mucoadesão | 37 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 39 |
| REFERÊNCIAS | 40 |

1 INTRODUÇÃO

O microrganismo, *Candida albicans*, é o grande responsável pela condição de inflamação na vagina, conhecida como vaginite, que é causada por leveduras do gênero *Candida* (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilopsis*). Essa condição se dá pelo desequilíbrio na fisiologia da microbiota vaginal, que em condições normais é composta predominantemente por lactobacilos denominados bacilos de Doderlein, responsáveis por manter o equilíbrio do pH ácido a partir da produção de ácidos orgânicos (ácido láctico), impedindo o aparecimento de microrganismos patogênicos. Quando ocorre esse desequilíbrio, existe um favorecimento a manifestação de infecções vaginais. De acordo com a literatura, 75% das mulheres adultas, irão apresentá-la pelo menos uma vez ao longo da vida com risco alto de recidiva. (GOMES et al., 2012; MISHRA et al.; 2016, HANI et al., 2016).

O tratamento convencional para os casos de vaginite é a utilização de medicamentos de uso oral ou tópico, destacando-se a preferência pelos medicamentos tópicos por apresentarem maiores vantagens em relação àqueles de uso oral, como ausência de metabolismo de primeira passagem, melhor biodisponibilidade e baixa exposição sistêmica ao Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) (GUPTA et al., 2013; SZYMANSKA et al., 2014). Apesar das vantagens essas formulações vaginais convencionais estão associadas a baixa retenção no epitélio vaginal, o que pode levar a uma baixa adesão ao tratamento, favorecendo o surgimento de cepas multirresistentes levando a recorrência da doença e dificultando a terapia (SÁNCHEZ et al., 2018).

Devido aos avanços da resistência microbiológica aos medicamentos convencionais, existe uma busca constante por novos compostos, uma fonte para essa busca é a biodiversidade vegetal que possui inúmeros compostos ativos com ação terapêutica comprovada através da presença de metabólitos secundários (MORAIS-BRAGA et al., 2013). Nesse sentido, a *Schinopsis brasiliensis* Engler vem sendo muito estudada nos últimos anos por apresentar uma alta concentração de compostos fenólicos, bem como excelente atividade antimicrobiana frente a cepas de *Candida albicans* (SARAIVA et al., 2013).

Registros como o de Saraiva et. al (2013) e Donati et. al (2014) demonstram o uso etnofarmacológico e aplicação popular de *S. brasiliensis* para o tratamento de gripe, tosse, diarreia, fratura e anti-inflamatório por meio de chás e xaropes. Além disso, expressa relatos de atividade de extratos hidroetanólicos da casca e da folha contra microrganismos de interesse médico como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus oralis*, *Pseudomonas*

aeruginosa e atividade antioxidante. Tendo em vista todos os aspectos abordados, o objetivo do nosso trabalho foi desenvolver um comprimido, associando a incorporação de extrato de *S. brasiliensis*, com o objetivo de utilizar um produto natural, visando diminuir os casos de abandono de tratamento, melhorar a disponibilidade e por consequência diminuir os casos de resistência microbiológica.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Infecções Vaginais

Em situações de normalidade, a vagina tem em sua composição microrganismos que defende o epitélio vaginal contra agressores, todavia, esse é um ecossistema sensível e instável a fatores internos e externos, o que propicia o aparecimento de infecções. Como protetor fundamental desse sistema podemos citar os *Lactobacillus*, que desenvolvem esse papel através de diferentes mecanismos, com estado hormonal e a resposta imune do hospedeiro, através de ações bactericidas, de coagregação, exclusão competitiva e imunomodulação. (SHANCHES-JÚNIOR, 2017).

Na vagina são produzidas diversas secreções, dentre elas o muco cervical, que é composto majoritariamente de mucina, a qual é a principal glicoproteína (cerca de 90%), apresentando propriedades viscoelásticas, contribuindo com a ionização dos resíduos sulfatados em baixos pH e a presença do ácido siálico, gerando carga negativa favorecendo as ligações de hidrogênio e outras interações. (BANSIL, TURNER, 2018).

Vaginite é a infecção causada por alterações na mucosa vaginal, pode ter múltiplas causas e seus sintomas são inespecíficos, o que dificulta o tratamento, uma vez que o conjunto de sintomas não é suficiente para conclusão de um diagnóstico etiológico. São exemplos dessas infecções: candidíase vaginal, tricomoníase e vaginose bacteriana. (ESPINAR et al., 2014).

Dentre essas vaginoses, podemos destacar a causada pela *Candida* spp., a candidíase vaginal. A presença desse fungo é regulada fisiologicamente por um dos *Lactobacillus* presentes no muco, denominados bacilos de Doderlein, que são classificados como bacilos gram-positivos de acordo com suas características morfotintoriais e são constituintes cerca de 95% da microbiota vaginal, eles são responsáveis por produzir o ácido láctico responsável por manter o pH fisiológico da vagina, o que impede a fixação de agentes patogênicos às células do epitélio. (GOMES et al., 2012).

O gênero *Candida* é encontrado fisiologicamente nas cavidades vaginal e oral, contendo cerca de 150 espécies, pode ser problemático para pacientes imunocomprometidos ou com outros fatores de risco, uma vez que, ao se ter o comprometimento de uma barreira anatômica ou alteração no mecanismo de defesa, a *Candida* pode tornar-se patogênica e

causar infecções, superficiais e sistêmicas. (SHUKLA, SOBEL, 2019; FERNANDES et al., 2021)

A *Candida albicans*, é a espécie de *Candida* spp. que frequentemente é causadora da candidíase (cerca de 90%) dos casos, outras espécies são também isoladas, porém em menor frequência. A identificação das cepas ocorre através de métodos convencionais e é baseada em critérios morfológicos e bioquímicos, porém, essas metodologias não separam todas as espécies de forma confiável. (AMEEN et al., 2017).

Predominantemente a candidíase é recorrente, podendo ser identificada dessa forma quando a mulher apresenta quatro episódios durante o período de um ano. Devido à sintomatologia persistente, os casos de candidíase afetam diretamente a qualidade de vida da mulher, estando constantemente presente na realidade clínica, serviços de emergência e atenção primária a saúde. (TUR et al., 2013; KALAIARASAN et al., 2017).

2.2 Tratamentos Convencionais

Apesar dos avanços terapêuticos, a candidíase vulvovaginal (CVV) continua sendo um problema global, afetando todas as camadas sociais. Os mecanismos de defesa vaginal ainda não são totalmente compreendidos, embora que numerosos fatores de risco já tenham sido identificados, sendo que os mecanismos patogênicos de CVV permanecem por elucidar. (RODRIGUEZ, 2019)

Os protocolos padronizados para tratamento da candidíase são satisfatórios, sendo os medicamentos de uso oral mais eficiente que os demais, porém foram relatadas falhas terapêuticas. O tratamento mais utilizado por via oral se baseia no uso de imidazólicos e triazólicos, com a dosagem única de 500mg de fluconazol, e 200mg de cetoconazol uma vez ao dia por 14 dias. O tratamento pela via intravaginal tópica é geralmente realizado durante sete dias com clotrimazol 1%, durante três dias com terconazol 0,8%, ou duas vezes ao dia durante quatorze dias com ácido bórico 600mg. (SHABANIAN et al., 2017; JHA et al., SALERNO et al., 2021).

A administração para efeito local de formulações intravaginais, evita o metabolismo de primeira passagem, o que reduz os efeitos adversos gastrointestinais e tem uma fácil aplicação, essas alternativas as formulações de administração oral tem se destacado como alternativa ao tratamento local de infecções. (DESHPANDE, RHODES, DANISH, 1992; DE ARAÚJO PEREIRA, BRUSCHI, 2012.). Além da redução das interações medicamentosas, os

efeitos adversos dos tratamentos através da aplicação vaginal de agentes terapêuticos para controle de infecções locais apresentaram, em sua maioria, eficácia comparável a administração oral. (PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, 2015)

O uso indiscriminado de antifúngicos é o principal fator responsável pelo surgimento seletivo de microrganismos resistentes. Dessa forma se faz necessário o desenvolvimento de novas formas de prevenir e tratar infecções, sendo as pesquisas com produtos naturais uma alternativa inovadora para o desenvolvimento de novos medicamentos antifúngicos com baixa toxicidade, redução dos efeitos secundários, amplo espectro de ação, estabilidade e características farmacocinéticas adequadas. (RENÇBER et al., 2019).

A resistência aos antifúngicos por algumas espécies de *Candida* foram elucidadas a partir de diferentes mecanismos, como o de regulação positiva da enzima alvo, o aumento do efluxo do Insumo Farmacêutico Ativo (API), barreiras de permeabilidade associada à formação de biofilme e mutações presente no gene ERG3, que é resultante em membranas celulares carentes de ergosterol. (HAMDY et al., 2020).

Com o avanço da tecnologia, o mercado farmacêutico dispõe de inúmeras formulações para o tratamento da candidíase vaginal, com diferentes apresentações farmacotécnicas como os comprimidos, para utilização em via oral, cremes, loções, supositórios, comprimidos vaginais e tampões revestidos, para vias tópicas, todavia a conduta clínica deve ser individualizada, respeitando a particularidade de cada paciente. (PALMEIRA-DE-OLIVEIRA et al.,2015; SANTOS, 2017).

O isolamento de compostos antimicrobianos a partir de plantas tem despertado o interesse de pesquisadores nos últimos vinte anos, contudo a utilização de plantas como fontes de medicamentos não é recente, sendo que na prática clínica cerca de 25% dos tratamentos são oriundos de moléculas naturais. (TOCCI et al., 2018).

2.3 Plantas Medicinais

As plantas medicinais podem ser identificadas a partir da produção de compostos bioativos, que são capazes de alterar o funcionamento de órgãos e sistemas, tendo ação em determinadas doenças, reestabelecendo o equilíbrio orgânico, dessa forma, os produtos naturais são destacados como alternativas aos fungicidas sintéticos disponíveis no mercado,

pois são capazes de esquivar-se do mecanismo de resistência, esses apresentam outros benefícios, como reações adversas diminuídas e baixa toxicidade. (SONY et al., 2018).

Nos últimos dez anos o mercado mundial de medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais moveram cerca de US\$ 18 bilhões, sendo a China e a Índia os principais exportadores e a Europa o principal importador. A eficácia dos medicamentos fitoterápicos e das plantas no tratamento de doenças pode ser comprovada pela rápida expansão desse mercado e aprovação do uso desses medicamentos pelo usuário. (KHAN E RAUF, 2014).

A utilização de plantas para tratamento de doenças é uma prática conhecida desde os princípios da civilização humana e tem a colaboração de diversas civilizações. A divulgação desse conhecimento científico auxilia na junção de experiências, buscando através do estudo, o aprimoramento e crescimento da ciência na área. (DAR et al., 2017). Apesar do uso histórico, nos últimos anos, tem-se observado um aumento no uso de plantas medicinais pela população, aumentando o interesse pelo desenvolvimento de pesquisas envolvendo ativos de origem vegetal, todavia, para o desenvolvimento de um medicamento fitoterápico, deve-se iniciar a etapa de controle de qualidade com a padronização do Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal (IFAV) através de sua caracterização. (SUSHMA et al., 2011).

O Nordeste Brasileiro é considerado mundialmente como um centro de biodiversidade, sendo destaque nacional devido sua variedade de plantas medicinais. O bioma predominante nessa região é a Caatinga, que está localizada no semiárido Brasileiro, onde detém domínio heterogêneo, táxons raros e/ou endêmicos com capacidade medicinal para o tratamento de doenças. Essa diversidade é utilizada por comunidades tradicionais e atuais para o tratamento de doenças, fins extrativos, pastagem e agricultura, tendo uma redução de 50% do seu aporte inicial nos últimos anos. Na Paraíba, por exemplo, apenas 33% dessa vegetação estão conservadas. (BAPTISTEL et al., 2014; ALBUQUERQUE et al., 2020).

Atualmente, os produtos de origem vegetal representam uma fonte significativa de diferentes moléculas e compostos bioativos, representando mais de 30% dos produtos ofertados pela indústria farmacêutica. Embora se tenha essa grande biodiversidade de plantas, poucos são as pesquisas voltadas a elucidação de novos compostos bioativos capazes de substituir os estudos de novos Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) e diferentes alternativas terapêuticas. (NEWMAN, CRAGG 2012; GOULART et al., 2013; DZOYEM et al., 2013).

Apesar da diversidade de plantas contidas nesse bioma, pode-se destacar a *Schinopsis brasiliensis* Engler como possível IFAV com propriedades antifúngicas e antimicrobianas relevantes para desenvolvimento de uma formulação fitoterápica.

2.4 *Schinopsis brasiliensis* Engler

Composta por quatorze espécies, pertencente ao gênero *Schinopsis*, família *Anacardiaceae*, a *Schinopsis brasiliensis* Engler está presente em toda a área da Caatinga, onde é popularmente conhecida por diversos nomes, como: baraúna ou braúna, braúna parda e braúna do sertão chamacoco ou chamucoco no Pantanal mato-grossense. É encontrada desde o estado da Bahia à Paraíba, com poucos representantes do Rio Grande do Norte ao Piauí. (CARDOSO et al., 2015).

A *Schinopsis brasiliensis* é repleta de metabolitos secundários que podem apresentar ação biológica, como os taninos que desempenham um papel de proteção da planta contra ataques de predadores e doenças, podendo ser encontrado nas folhas, frutos, cascas e raízes. Os integrantes da família *Anacardiaceae* são conhecidas pela presença de compostos químicos e atividade biológica em seus extratos, sendo destacada a ocorrência de metabolitos como os flavonoides, bi flavonoides, terpenos, esteroides, xantonas, bichalconas, lipídeos, compostos fenólicos e seus derivados. (MEDEIROS, 2019).

Evidenciando esse potencial terapêutico foi relatada na literatura a atividade inibitória de extratos hidroetanólicos da casca e folha de *S. brasiliensis* contra microrganismos de ocorrência clínica como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus oralis*, *Pseudomonas aeruginosa*, sendo destacada também a atividade antioxidante desse extrato. Além disso, também foi observado na literatura a utilização popular da fitoterapia e o estudo da etnofarmacológica da planta para tratamento de gripe, tosse, diarreia, atividade antifúngica entre outros. (SARAIVA et al., 2013; DONATI et al., 2014)

O potencial terapêutico dessa espécie pode ser explicado pela presença dos diversos metabolitos secundários, dos quais diversos compostos químicos já foram isolados, dentre eles o galato de metila e o ácido gálico, que apresentam possível aplicação em diversos setores, desde a indústria farmacêutica à indústria alimentícia, onde representam fonte de oxidantes e estabilizantes de bebidas, matéria prima para síntese de novos fármacos, com ação no tratamento de doenças cardiovasculares, degenerativas, anticâncer, antidiabética, anti-helmíntica, antimicrobiana e antifúngica (FERNANDES, 2015).

Toda via, a utilização do IFAV isolado é inviável, pois existe uma necessidade de padronizar o extrato da planta, sendo necessários estudos que comprovem e padronizem a efetividade da dosagem desses IFAV, bem como a validação da sua via de administração correta.

2.5 Comprimidos Mucoadesivos

Quando colocados em formulações sólidas, como comprimidos, o IFAV apresenta melhor estabilidade química em relação a incorporação deles em preparações líquidas e semissólidas. Ademais, quando administradas por via oral, as formulações sólidas mascaram os sabores desagradáveis, aumentando a aceitabilidade por parte dos consumidores. (GALLO et al. (2013). Por outro lado, as formulações vaginais são diretamente associadas às limitações de retenção mínima no epitélio vaginal, diminuição da concentração do IFA no local, afetando justamente a morbidade da candidíase vaginal e sua recorrência, refletindo na ineficácia do tratamento e gerando maior desconforto. (DE JESÚS VALLE et al., 2018).

Os comprimidos bioadesivos surgem como uma alternativa capaz de sanar os problemas apresentados pelas formulações sólidas de via oral, pois esses apresentam a propriedade de manter-se por um maior período no local de ação, reduzindo a frequência de dosagens e aumentando a efetividade da resposta sistêmica. Ademais, as formulações para via intravaginal superam os problemas fisiológicos que dificultam a absorção. Diversos polímeros com propriedades bioadesivas vem sendo descritos na literatura por apresentar resultados promissores para o desenvolvimento de formulações vaginais, como os policarbófilos, hidroxipropilmetilcelulose e ácido poliacrílico. (POWAR et al., 2017).

Por intensificar o contato da formulação com o epitélio/mucosa, esses polímeros mucoadesivos, possibilitam a melhora da biodisponibilidade local e sistêmica do IFA.

Dentro dessa classe de excipientes com propriedades de mucoadesão, podemos destacar os do tipo hidrofílico ou solúveis em água, esses quando expostos a umidade se aderem facilmente as superfícies, por conterem grupos formadores de ligações de hidrogênio. São exemplos dessa classe os carbômeros, a quitosana, o aginato de sódio e os derivados da celulose que tem a capacidade de se entumecer e interpenetrar nas cadeias da mucosa. Apesar de apresentarem uma alta viscosidade em baixas concentrações, a maioria desses polímeros são sensíveis ao pH, apresentando um diferente comportamento a depender a via de administração. (HIORTH; NILSEN; THO, 2014).

Dentro do grupo dos derivados da celulose, podemos destacar a carboximetilcelulose (CMC), substância que juntamente com a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) é amplamente utilizada no desenvolvimento de plataformas mucoadesivas. A CMC apresenta vantagem em comparação ao HPMC, pois essa por ser um polímero aniônico tem a capacidade de estabelecer ligações de hidrogênio, o que resulta em uma melhor propriedade mucoadesiva. (JAIN et al., 2013; CHATTERJEE et al., 2017).

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Obtenção e Processamento do Material Vegetal

As folhas de *S. brasiliensis* foram coletadas no município de Puxinanã na região semiárida do estado da Paraíba (7° 16' 73,26''S; 35° 97'93,50''W, no dia 26 de março de 2019, às nove horas da manhã. O reconhecimento botânico (macroscópico e microscópico) foi executado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), a planta foi registrada no Sistema Nacional de Patrimônio Genético de Associados Conhecimentos Tradicionais (SISGEN) do Brasil, sobre o número de depósito: A31EB7A e o depósito da exsicata foi realizado no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes localizado na UFPB, sobre o número de depósito EAN-14049.

As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 40 °C, até obter constância no peso do material. Posteriormente, a planta foi pulverizada em moinho de facas com malha de 10 mesh. A droga vegetal em pó, obtida ao final desse processo, foi utilizada para produção dos extratos vegetal.

3.2 Produção do extrato vegetal

Foram obtidos seis extratos hidroalcoólicos, utilizando diferentes concentrações extrativas água: etanol (EtOH) nas proporções de 50 %, 70 % e 90 %, e através de diferentes métodos extrativos, por ondas ultrassônicas, por turbólise e por maceração, utilizando uma lavadora ultrassônica, com uma quantidade de 200 g de droga vegetal em 1000 ml de solução hidroalcoólica em banho-maria a 40 °C, por um período de 60 minutos; um Ultra Turrax com a mesma quantidade de droga vegetal e solução extrativa, durante 15 minutos e as mesmas proporções de droga vegetal-solução extrativa foram acondicionados em um vidro âmbar durante 72 horas, para produção dos extratos respectivamente.

Após filtradas, as soluções extrativas foram secas em um evaporador rotativo e estufa, e pulverizadas em almofariz e pistilo para obtenção de um pó, o qual foi utilizado para os testes.

3.3 Avaliação da atividade antifúngica

3.3.1 Identificação do melhor extrato frente a cepas de *Candida albicans*.

Candida albicans (ATCC 10231) foi cultivada em Ágar Sabouraud Dextrose (Himedia®) em estufa a 35°C durante 48 horas. As colônias foram suspensas em 10 ml de solução salina estéril a 0,9%. A suspensão de levedura foi agitada e ajustada em espectrofotômetro (Biospectro SP22®), comparando a turbidez com a escala de McFarland (0,5), equivalente a uma absorbância entre 0,08 e 0,10 a 530nm, correspondente a $5,0 \times 10^6$ UFC/ml.

Foi avaliado o potencial antifúngico sobre cepa *C. albicans* através do ensaio microbiológico por difusão em ágar, método do cilindro, com modificações. Para a realização do *screening* da atividade antifúngica cada extrato foi testado em triplicata nas concentrações de 160 mg/ml e 80 mg/ml, conforme proposto por Brandão (2014), diluídos em solução de Dimetilsufóxido P.A., na concentração de 10%. Como controle positivo foi utilizado Nistatina P.A., na concentração de 500 microgramas, conforme proposto por Naieni et al (2014), com modificações.

Foi preparada uma camada base e uma camada de superfície de meio de cultura sobre a qual serão colocados os cilindros. Para a camada base foi preparada através da adição de 20 mL de ágar Mueller Hinton fundido em placas de *Petri* de dimensão 90 x 15mm. Após a solidificação da camada base, foi vertido 5ml de meio de superfície, preparado com 1ml de suspensão fúngica em 100ml de ágar Muller Hinton, fundido e resfriado entre 46°C e 48°C. Após a solidificação do meio superfície, foram dispostos de forma equidistante, cilindros de aço inoxidável, com diâmetro externo de $8 \text{ mm} \pm 0,1 \text{ mm}$, diâmetro interno de $6 \text{ mm} \pm 0,1 \text{ mm}$ e comprimento de $10 \text{ mm} \pm 0,1 \text{ mm}$. Foram dispensados nos cilindros 100 μl de cada extrato, em triplicatas para cada concentração. Após 2h, as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 48 horas. Ao término deste período, a atividade antifúngica dos extratos foi medida em milímetros, com auxílio de paquímetro, a fim de obter a média do valor dos halos de inibição.

3.3.2 Identificação da Concentração inibitória mínima do extrato escolhido

Para identificação da Concentração inibitória mínima do extrato, foram utilizadas as concentrações de 40 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml e 2,5 mg/ml do extrato diluídos em DMSO a 10%.

Foi utilizada a mesma metodologia descrita no item 3.3.1.

3.4 Prospecção Fitoquímica

Foi realizado um estudo quantitativo, por espectrofotometria UV-VIS, utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240, dos metabólitos secundários (polifenóis, taninos, flavonoides).

Essa caracterização foi realizada com a finalidade de identificar os constituintes presentes em maior quantidade na *S. brasiliensis*. Para isso foram obtidos os valores de absorvância para a concentração de metabolitos secundários no extrato estudado, para que fosse relacionado os valores de absorvância encontrados para os diferentes metabólitos através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração. O conteúdo total de cada constituinte identificado foi expresso em miligramas equivalentes ao padrão utilizado.

3.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais

Utilizando o padrão ácido gálico foi construída a curva de calibração utilizando as concentrações entre 3 e 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com leitura das absorvâncias em 757 nm. Para leitura das soluções de extratos vegetais foi realizada em meio alcalino a reação utilizando o reagente Folin- Ciocalteu

De acordo com a técnica foi utilizado 0,5 mL da solução do reagente de Folin-Ciocalteu 1N e posteriormente, 0,5 mL de solução do extrato, em tubos de ensaio, que ficaram em repouso por 2 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). Posteriormente, adicionou-se 1 mL de uma solução de Na_2CO_3 a 20% (m/v), os tubos ficaram em repouso por 10 minutos até conclusão da reação colorimétrica. As leituras foram realizadas em triplicata e a concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,5 mL da solução de extrato e 1,5 mL

de água deionizada, onde foi subtraído os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores finais foram maiores do que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

3.4.2 Determinação do teor de flavonoides totais

Utilizando o padrão quercetina foi construída a curva de calibração utilizando as concentrações entre 2 e 28 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com leitura das absorvâncias em 415 nm. Para leitura das soluções de extratos vegetais foram realizadas na presença de cloreto de alumínio.

Para realização do ensaio, foi distribuído em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de AlCl_3 2% (p/v) e 1,5 mL de solução metanólica do extrato, mantendo um repouso de 10 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). As medidas foram obtidas em triplicata e a concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 1,5 mL da solução do extrato e 1,5 mL de metanol, subtraindo os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores obtidos foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

3.4.3 Determinação do teor de taninos condensados

Utilizando o padrão catequina foi construída a curva de calibração utilizando as concentrações entre 10 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com leitura das absorvâncias em 500 nm. Para leitura das soluções de extratos vegetais foi realizado em meio ácido a reação utilizando uma solução de vanilina.

De acordo com o procedimento técnico, em tubos de ensaio foram distribuídos 1,5 mL de solução metanólica de vanilina 4% (p/v) e 0,25 mL de solução metanólica do extrato e 0,75 mL de HCl P.A, mantendo-os em repouso por 20 minutos, imersos em água a cerca de 22 °C. As medidas foram obtidas em triplicata, e a concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,25 mL da solução do extrato e 2,25 mL de metanol, subtraindo os valores

de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

3.5 Desenvolvimento da Formulação

A formulação dos comprimidos foi planejada de forma a utilizar o polímero Carboximetilcelulose (CMC), que apresenta características adesivas, também foi selecionado um diluente em pó (lactose) e desintegrante (amido). Os excipientes selecionados juntamente com o IFAV foram submetidos à aglutinação com etanol 50 %.

Essa massa moldável obtida foi seca em estufa de circulação de ar a 60° C, até que fosse observado uma massa constante durante as pesagens. Posteriormente, foram produzidos grânulos, utilizando um granulador de 2,36 mm (malha 8- Lawes), os grânulos obtidos foram adicionados com o estearato de magnésio, que foi o agente lubrificante utilizado e submetidos ao processo de compressão, com um compressor Lamaq Monopress LM⁻¹. Com base nisso foi produzido um lote de 100 comprimidos com cerca de 250 mg.

3.5.1 Avaliação Da Densidade Bruta e de Compactação, Fator de Hausner, Índice de Compressibilidade e Índice de Densificação.

Foram vertidos 10 g da formulação, em proveta de 50 mL para medir inicialmente o volume bruto (VB). A proveta foi submetida a quedas sucessivas de 10, 500 e 1250 vezes, para determinação dos volumes V 10, V 500 e V 1250, respectivamente. O procedimento foi continuado em seqüências de 1250 quedas até que entre duas leituras subsequentes a diferença de volume seja inferior ou igual a 0,1 mL, para determinar o volume de compactação (VC) (MANIVANNAN *et al.*, 2021).

A partir dos volumes obtidos foi calculado a densidade bruta (DB) e de compactação (DC) através das equações A e B, respectivamente:

$$DB = m \text{ VB} \quad (\text{A})$$

$$DC = m \text{ VC} \quad (\text{B})$$

3.5.2 Avaliação do ângulo de repouso e da velocidade de fluxo do pó.

O ângulo de repouso estático foi avaliado com base no método da altura fixa do funil. Para isto foi observado a passagem de 10 g de pó de cada formulação por um funil de altura e espessura padronizadas, com a formação de um cone sobre a superfície de papel milimetrado.

A tangente do ângulo de repouso foi dada através da equação F:

$$\operatorname{tg}\alpha = H \div R \quad (F)$$

Onde, α é o ângulo de repouso, H é altura e R é o raio do cone.

O tempo de escoamento foi medido em segundos, em quintuplicada, utilizando-se um cronômetro (ASTM-C1444, 2000).

3.5.3 Determinação do peso médio

Um total de 20 comprimidos foram pesados e a partir das massas individuais foi calculado o seu peso médio, de acordo com especificação da Farmacopeia Brasileira (2019).

3.5.4 Avaliação da Dureza

A dureza dos comprimidos foi avaliada utilizando-se um durômetro digital 298/DGP (Ethik). A resistência média foi determinada com base nas leituras de 10 comprimidos como preconizado na Farmacopeia Brasileira (2019).

3.5.5 Avaliação da Friabilidade

Conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2019), 20 comprimidos foram inicialmente pesados e submetidos a 100 rotações em friabilômetro (Modelo 300 – Ethik), após o procedimento eles foram novamente pesados, retirando-se qualquer resíduo de pó. A porcentagem de pó perdido foi calculada pela diferença entre o peso final e o peso inicial dos comprimidos.

3.6 Avaliação da mucoadesão

Discos de mucina foram preparados por compressão de mucosas (250 mg) umedecida com 50 μL de dispersão de mucina 8% (p/p), utilizando um compressor de comprimidos com um diâmetro de 123 mm e mucosa de vagina de vacas (obtidas em matadouro) foram utilizados para análise de mucoadesão. A força mucoadesiva da formulação foi analisada utilizando um analisador de textura TAXT plus (Stable Micro Systems®).

Inicialmente, 50 μL de tampão acetato foi aplicado na superfície do disco de mucina antes do experimento e a mucosa foi imersa no mesmo tampão para simular o ambiente vaginal por 30s. Em seguida, os discos de mucina ou a mucosa vaginal de vaca, foram fixados horizontalmente em uma sonda cilíndrica do texturômetro com fita dupla-face para mantê-los estáticos. Depois disso, o comprimido aderiu à superfície da placa de acrílico inferior e foi colocado abaixo da sonda cilíndrica, desencadeando assim o abaixamento do teste cilíndrico a uma taxa de 1 mm s^{-1} até que o disco de mucina atingisse o comprimido experimental. A sonda cilíndrica foi mantida em contato sem força aplicada por 60s para garantir o contato íntimo entre o comprimido e o disco de mucina. Após esse tempo, o teste foi finalizado a uma velocidade de 1 mm s^{-1} (OSHIRO JUNIOR et al., 2015). Durante o experimento, uma curva força-tempo foi registrada através do software Expert Texture Exponent 32 e da área sob a curva força-distância durante a fase de retirada; o pico de adesão foi calculado como força de adesão (Wad). Este processo foi replicado três vezes a 37 ± 1 °C.

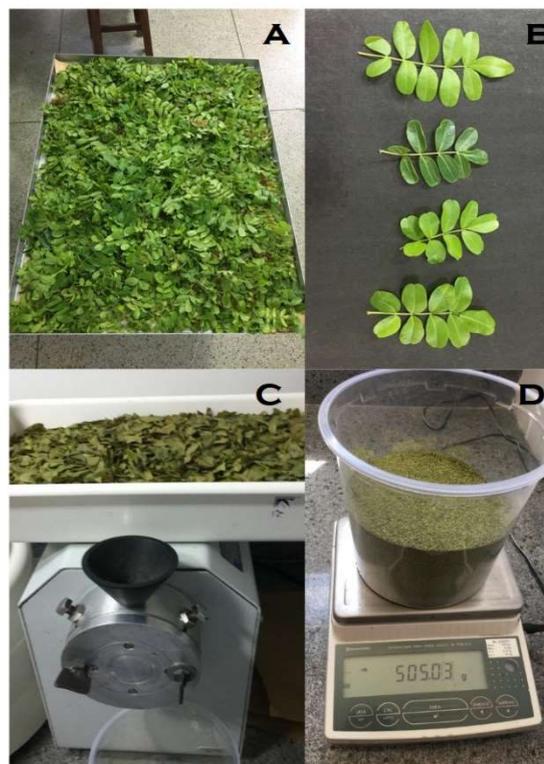
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Obtenção e Processamento do Material Vegetal

O aspecto visual das plantas após a coleta permitiu observar suas peculiaridades, como folhas pequenas de coloração verde vibrante e odor característico cítrico (Figura 1- Item B). As folhas foram lavadas e acondicionadas de maneira uniforme sobre papel Kraft em bandejas para secagem em estufa de circulação de ar (Figura 1- Item A).

Após a secagem foi observado mudanças nas características das folhas, que tiveram seu odor reduzido e coloração modificada para verde claro, observou-se também a perda de massa em consequência da desidratação. Em seguida as folhas foram preparadas para o processo de moagem, obtendo-se um rendimento de 505,03 g de droga vegetal (Figura 1- Item C e D), após a moagem, correspondendo a 16,83 % da massa inicial. Após esta etapa, as partículas encontravam-se padronizadas e em tamanho uniforme com malha 10 mesh.

Figura 1 - Processamento das folhas de *S. brasiliensis*



Fonte: Elaborada pelo autor

Legenda: A) Secagem em estufa, B) Características visuais da planta, C) Moagem em moinho de facas, D) Rendimento processo de moagem.

O processo de secagem tem como principal objetivo a redução de água do material vegetal, ocorrendo em uma estufa de circulação de ar, para impedir a proliferação de microrganismos, a 40 °C. O processo envolve também o aproveitamento de ativos naturais provenientes do material estudado. Os parâmetros de secagem que podem ser relacionados a variação do teor de ativos são: temperatura, método ou técnica, parte da planta etc. (FERNANDES et al., 2015; TISCHER, 2014).

A maioria das plantas medicinais é comercializada na forma dessecada e o processo de secagem é fundamental para garantir a qualidade e longevidade do produto, de forma que as suas propriedades químicas sejam aproveitadas ao máximo. (BABU et al., 2018; PHAM et al., 2019), relata que a secagem é um processo complexo, que envolve simultaneamente a transferência de massa e calor, entre o produto e o ar de secagem, onde o aumento da temperatura resulta em um aumento da pressão parcial de vapor de água do produto a ser seco, resultando na diminuição do teor de água.

A moagem, também conhecida como trituração é o processo de redução de tamanho, no qual após secagem as plantas geralmente são submetidas, permitindo a uniformidade no tamanho das partículas reduzindo-as a pó, combinadas a um mecanismo de força de abrasão, impacto, corte sobre o material vegetal, podendo influenciar ainda o tempo, o processo, tipo de amostra e a granulometria facilitando a manipulação, transporte e ou armazenamento, mistura ou extração de compostos, por meio de um moinho de facas (Figura 1- Item C). (TISCHER, 2014).

4.2 Produção dos extratos vegetal e Identificação do melhor extrato frente a cepas de *Candida albicans*.

O extrato vegetal utilizado foi selecionado a partir da avaliação microbiológica de diferentes concentrações extrativas. A tabela 1 mostra a atividade antifúngica do extrato *S. brasiliensis* folha em diferentes proporções de solução hidroalcoólica.

Tabela 1 - Atividade antifúngica dos extratos variando suas proporções hidroalcoólicas.

| Solução hidroalcoólica dos extratos | Concentração dos extratos diluídos em DMSO 10% (mg/ mL) | | | | | |
|--|---|------|-------|-------|------|-------|
| | 160 | | | 80 | | |
| | Média | (DP) | (DPR) | Média | (DP) | (DPR) |
| <i>S. brasiliensis</i> 50% | 14,33 | 0,58 | 4,03 | 14,00 | 0,00 | 0,00 |
| <i>S. brasiliensis</i> 70% | 17,00 | 0,00 | 0,00 | 13,00 | 0,00 | 0,00 |
| <i>S. brasiliensis</i> 90% | 18,33 | 0,58 | 3,15 | 14,00 | 0,00 | 0,00 |

Legenda: Desvio-padrão (DP); Desvio- padrão relativo (DPR).

De acordo com a tabela 1, considerando as médias dos halos de inibição, o extrato hidroalcoólico da *S. brasiliensis* 90 %, exibiu melhor atividade antifúngica, quando comparado às demais concentrações testadas. Assim, selecionou-se o extrato de *S. brasiliensis* a 90 % e analisou-se a atividade antifúngica, variando o método de preparo do extrato, mantendo sua concentração hidroalcoólica a 90 %.

Tabela 2 - Atividade antifúngica dos extratos 90 %, com variação do método extrativo.

| Método | Concentração dos extratos diluídos em DMSO 10 % (mg/mL) | | | | | |
|------------------|---|------|-------|-------|------|-------|
| | 160 | | | 80 | | |
| | Média | (DP) | (DPR) | Média | (DP) | (DPR) |
| Maceração | 17,66 | 0,58 | 3,27 | 15,33 | 0,57 | 3,76 |
| Turbólise | 17,66 | 0,58 | 3,27 | 15,66 | 0,57 | 3,68 |
| Ultrassom | 18,33 | 0,58 | 3,14 | 14,00 | 0,00 | 0,00 |

Legenda: Desvio-padrão (DP); Desvio- padrão relativo (DPR).

Comparando as médias dos halos de inibição entre os métodos avaliados, de acordo com a tabela 2, o extrato de *S. brasiliensis*, utilizando o método extrativo por ultrassom, na concentração hidroalcoólica a 90 %, demonstrou melhor atividade antifúngica

4.3 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima do extrato escolhido

Considerando o *screening* realizado, o extrato de *S. brasiliensis* a 90 %, método de preparo por ultrassom, apresentou melhor atividade antifúngica sobre *C. albicans*. A partir dessa conclusão, foram realizadas diluições sucessivas deste extrato, na razão de dois, a fim

de se obter a menor concentração capaz de inibir o crescimento do fungo. A tabela 3 apresenta os resultados dos halos de inibição para cada concentração testada.

Tabela 3 - Atividade antifúngica do extrato a 90 % ultrassom em diferentes concentrações.

| Medidas | Concentração dos extratos diluídos em DMSO 10% (mg/mL) | | | | |
|--------------|--|-------|-------|--------------|------|
| | 40 | 20 | 10 | 5 | 2,5 |
| Média | 13,66 | 13,33 | 12,33 | 11,33 | 9,66 |
| DP | 0,57 | 0,58 | 1,15 | 1,15 | 0,57 |
| DPR | 4,22 | 4,33 | 9,36 | 10,19 | 5,97 |

Legenda: Desvio-padrão (DP); Desvio- padrão relativo (DPR).

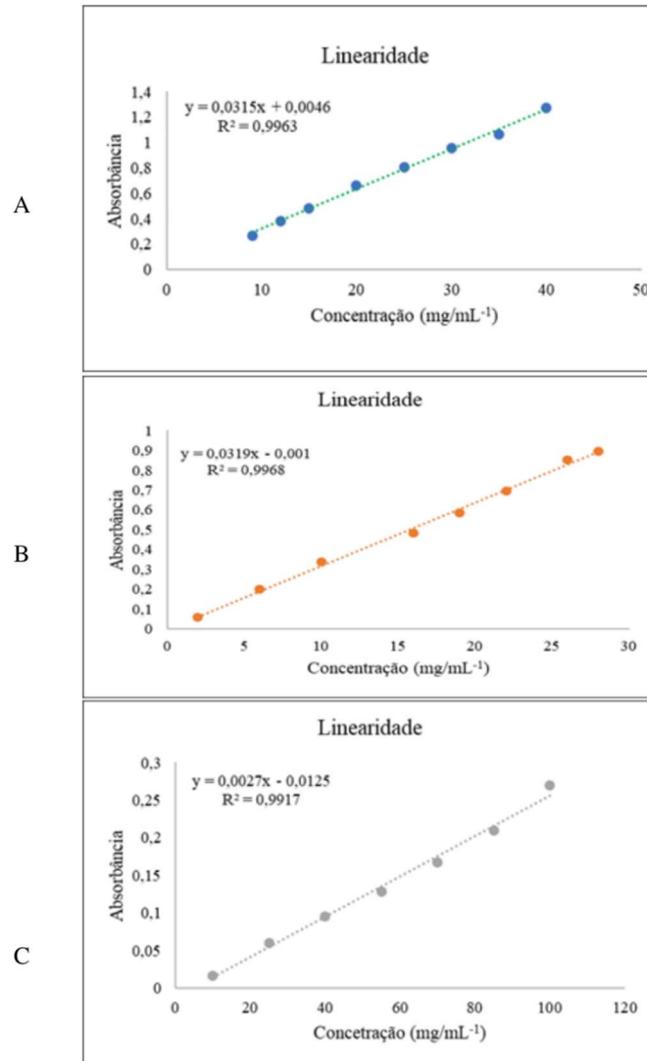
De acordo com Miranda-Cadena et al (2018), halos de inibição menores que 10mm categoriza o microrganismo como resistente ao antifúngico Nistatina, utilizado como padrão neste estudo. Desta forma, considerando os resultados apresentados na Tabela 3, a concentração de 5 mg/ml do extrato foi a menor concentração com potencial antifúngico sobre *C. albicans*.

4.4 Prospecção Fitoquímica

A etapa fitoquímica analisa os grupos de metabolitos secundários da planta, resultados do metabolismo dos vegetais, sua estrutura química, molecular e propriedades biológicas. Os metabólitos primários possuem função estrutural e de armazenamento de energia, enquanto os secundários são conhecidos por desenvolverem importantes atividades biológicas no organismo com funções terapêuticas e fins medicinais, através da presença de fitoconstituintes existentes nas plantas demarcados por triagens químicas, como taninos, esteróis, terpenos, flavonoides, alcaloides, saponinas e quinonas (KABERA et al., 2014).

A linearidade do método foi obtida por meio da construção da curva analítica. A figura 2, apresentam as curvas analíticas para quantificação de polifenóis (A), flavonoides (B) e taninos (C).

Figura 2 - Curvas Analíticas para quantificação de metabolitos secundários.



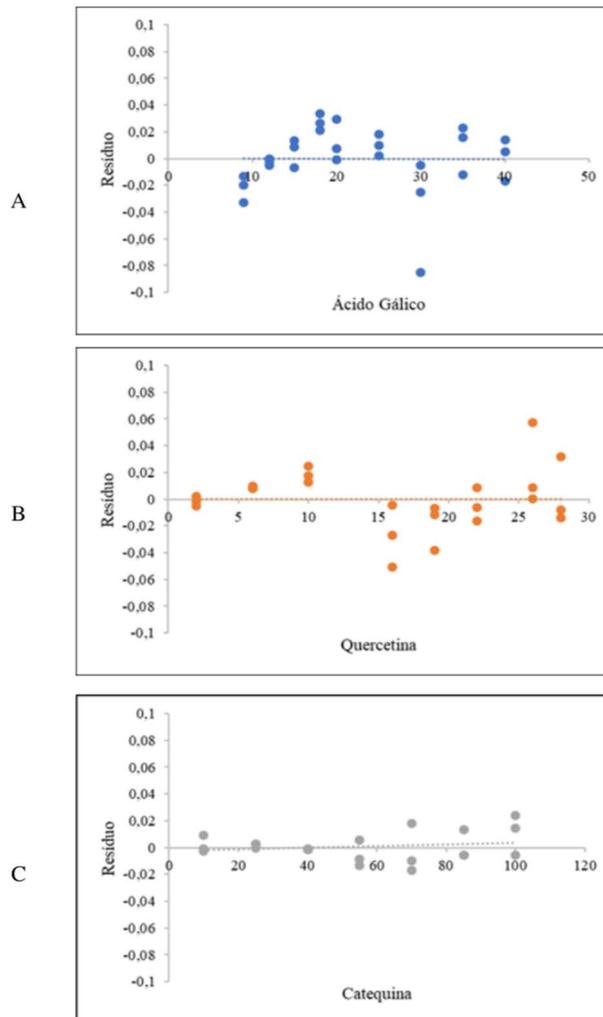
Fonte: Elaborada pelo autor

A equação da reta dos dados obtidos para ácido gálico, quercetina e catequina apresentaram os coeficientes de correlação (r^2) de 0,9963, 0,9968 e 0,9917. Os dados foram submetidos à análise de variância (falta de ajuste e significância da regressão) utilizando o teste F de Snedecor para avaliação do ajuste do modelo. Os resultados revelaram que neste modelo não houve falta de ajuste e apresentou significância da regressão, validando o modelo dado pela equação da reta.

Os gráficos de resíduos (Figura 3) do ácido gálico (Item A), quercetina (Item B), catequina (Item C), possibilitou a variâncias dos dados na curva analítica em relação ao aumento da concentração, apresentando comportamento homocedásticos. Ademais, o limite de detecção e o limite de quantificação foram quantificados utilizando os parâmetros da curva

analítica, sendo respectivamente 0,105 e 0,312 para o ácido gálico; 0,0123 e 0,037, para a quercetina e 0,0250 e 0,0758 para a catequina.

Figura 3 - Gráficos de resíduos



Fonte: Elaborada pelo autor

Assim, as concentrações desconhecidas dos metabólitos propostos no *screening* foram identificadas, sendo que a cada 100 gramas de extrato foi obtido 15 mg de equivalentes de ácido gálico, os flavonoides tiveram uma concentração de 1,5 mg de equivalente de quercetina e, os taninos apresentaram 1 mg de equivalentes de catequina.

Estudos têm indicado um efeito inibitório dos compostos fenólicos no crescimento de fungos e produção de micotoxinas. Os ácidos fenólicos como o ferúlico, cinâmico e vanílico e seus derivados presentes em plantas são inibidores do crescimento fúngico e desenvolvimento dos esporos fúngicos (SOUSA,2008). De acordo com MONTEIRO et.al. (2005) o grupo dos

fenólicos apresentam atividade antimicrobiana comprovada devido à sua capacidade de precipitar proteínas. Podendo ser o metabólito responsável pelo potencial antifúngico do extrato.

Os resultados das quantificações, corroboram com os resultados obtidos por LIMA et.al (2016), onde o extrato de *S. brasiliensis*, apresentou uma grande quantidade de metabólitos secundários, sendo em sua maioria compostos fenólicos.

4.5 Desenvolvimento da Formulação

No desenvolvimento do comprimido foi utilizado os excipientes Carboximetilcelulose (CMC), conhecido como polímero mucoadesivo de primeira geração derivado da celulose. Esse polímero é um composto aniônico capaz de estabelecer pontes de hidrogênio entre os grupos carboxílicos não ionizados com a mucina, baixa toxicidade, entre diversas características (BALOGLU et al., 2010; HIORTH et al.,2014; CHATTERJEE et. al, 2017; FONSECA-SANTOS E CHORILLI, 2018).

Tabela 4 - Concentrações percentuais dos componentes e suas classes.

| Componentes | CMC (%) | Classe |
|--------------------|----------------|---------------------------|
| IFAV | 40,00 | Insumo F. A. Vegetal |
| CMC | 15,00 | Adesivo |
| Estearato | 2,00 | Lubrificante |
| Lactose | 33,00 | Diluyente/Educorante |
| Amido | 10,00 | Aglutinante/Desintegrante |

Fonte: Elaborada pelo autor

Como descrito na Tabela 4, o IFAV foi escolhido com base nos estudos microbiológicos anteriormente descritos, as concentrações dos excipientes foram fixados de acordo com análises previamente estabelecidas na literatura para finalidade de cada classe e a concentração do polímero para conferir característica mucoadesiva desejada.

Os constituintes foram avaliados quanto á caracterização do fluxo, no entanto, o índice de Carr (IC) e o fator de Hausner (FH) do CMC, Estearato, Lactose, Amido foram classificados como fluxo pobre (IC entre 32-37 %, FH entre 1,46 e 1,59). Assim, foi

necessário granular o pó usando uma solução etanólica 50 % (v/v), para produção de um lote de 100 comprimidos. As características visuais dos comprimidos obtidos podem ser observadas na figura 4.

Figura 4 - Características visuais dos comprimidos contendo CMC



Fonte: Elaborada pelo autor

A Tabela 5 apresenta os valores de controle de peso médio, friabilidade e dureza.

Tabela 5 - Controle do peso médio, friabilidade e dureza dos comprimidos.

| | Peso médio (mg) | Friabilidade (%) | Dureza (N) |
|--------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|
| Comprimidos | 262,69 ± 6,03 | 0,56% | 24,43 ± 1,90 |

Fonte: Elaborada pelo autor

Para controle da produção e uniformidade foi realizado o teste de peso médio, minimizando posteriormente erros experimentais pelo excesso ou ausência de polímero, IFAs ou qualquer outro adjuvante farmacotécnico, nesse ensaio os comprimidos contendo CMC pesaram em média 262,69 mg, com um desvio padrão de 6,03. Estando em conformidade com as especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (2019), uma vez que ao longo do processo de produção, ajustes de peso e compressão foram realizados, importantes parâmetros, já que a quantidade de ativo é diretamente proporcional a cada unidade de peso presente na formulação. Após isto, foram submetidos ao teste de friabilidade e observados à resistência mecânica ao desgaste e perda de peso. Por meio de uma força de rotação e um tempo pré-determinado, ensaiando processos industriais, os comprimidos foram pesados

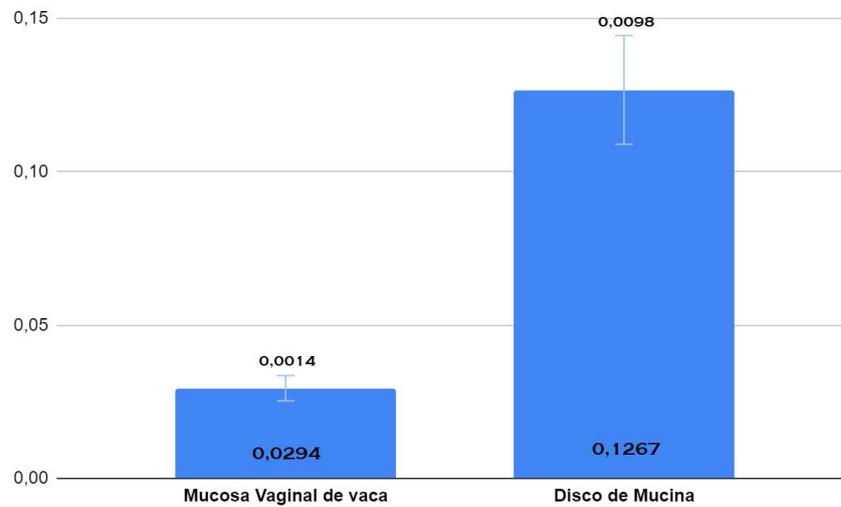
novamente, reprovando quando se apresentam quebradiços, com rachaduras ou partições. Foi obtido a partir da análise um percentual de 0,56 % para a friabilidade dos comprimidos testados, os valores de friabilidade determinaram a resistência dos comprimidos não revestidos à abrasão mecânica variando de 0,42 a 1,5 %. (FARMACOPÉIA,2019).

A dureza, de acordo com Deshpande e colaboradores (2011) podem está relacionada à força de esmagamento, a qual confere integridade física aos choques mecânicos, aos processos de embalagem, revestimento, transporte, porém valores de dureza abaixo do preconizado pela Farmacopeia Brasileira comprometem a entrega do produto. Ao realizar essa análise os comprimidos apresentaram força média de $F1=24,43 \pm 1,90$, $F2=24,17 \pm 5,59$ e $F3= 23,49 \pm 5,34$. Os resultados apresentaram baixo desvio padrão (menor que 6), indicando reprodutibilidade da dureza; contudo, o teste de dureza é considerado apenas um dado informativo, não apresentando valores de referência oficiais (FARMACOPÉIA, 2019).

4.6 Avaliação da mucoadesão

A característica mucoadesiva se dá pela capacidade de um material biológico manter-se em contato com um substrato por um período prolongado através de forças interfaciais, como apresentadas no gráfico 1. O mecanismo de mucoadesão do CMC parte da hipótese química de interpretação molecular, que pode ser modificado pelo pH e temperatura, dentre outros fatores que podem alterar a força iônica. Estudos de liberação de IFAs partem do princípio de que essa forma farmacêutica tem a possibilidade de melhorar parâmetros farmacocinéticos como solubilidade e permeação desses ativos e diminuir efeitos sistêmicos indesejáveis, gerando uma otimização da resposta terapêutica (LEMOS et al., 2021; NOTARIO-PÉREZ et al., 2020).

Figura 5 - Gráfico do potencial mucoadesivo dos comprimidos.



Fonte: Elaborada pelo autor

Apesar de não existir metodologias oficiais para a caracterização desses sistemas mucoadesivos, diversos autores destacam a utilização de diferentes técnicas. (CARVALHO, CHORILLI e GREMIÃO, 2014). Que são utilizadas baseando-se paralelamente nos conceitos da eletrostática, fratura, umedecimento e adsorção (ASATI et al., 2019).

Tendo em vista esses conceitos, as forças de adesão foram comparadas com o comprimido produzido, utilizando um texturômetro acoplado a discos de mucina e tecido de mucosa vaginal de vaca. O CMC utilizado nas formulações apresentou uma significativa propriedade mucoadesiva em relação ao disco de mucina, com uma média de força de 0,1267 N, com um desvio padrão de 0,0098; e em relação à mucosa vaginal de vaca, com média de força de 0,0294 N, com um desvio padrão de 0,0014, o que evidencia uma possível praticabilidade da formulação desenvolvida.

A natureza química do CMC possivelmente é a razão que possibilitou a maior formação de ligações de hidrogênio e consequentemente modificar as propriedades de intumescimento, carga de água e flexibilidade para o emaranhamento do muco. Toda via, esses fatores podem ser influenciados pela mucosa vaginal e suas particularidades. Deve-se destacar que para o desenvolvimento de formulações mucoadesivas é necessário o cuidado de selecionar polímeros compatíveis, atóxicos e de baixo custo. (CARVALHO; CHORILLI; GREMIÃO, 2014; CHAVES et. al, 2015).

5 CONCLUSÃO

A pesquisa relatada possibilitou o desenvolvimento e produção de um comprimido mucoadesivo vaginal a partir do extrato hidroalcólico de *S. brasiliensis*, com atividade promissora contra *C. albicans*.

Através de ensaios microbiológicos e de padronização, foi possível identificar o extrato hidroalcólico com melhor potencial terapêutico. Após a escolha do extrato, foi realizada a quantificação das concentrações de três metabólitos secundários, presentes nas formulações, sendo eles polifenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados, utilizando, respectivamente, os marcadores, ácido gálico, quercetina e catequina.

A formulação desenvolvida provou-se adequada de acordo com os parâmetros farmacopeicos, sendo eles comprimidos compactos, com boa resistência mecânica, uniformidade de peso, teor do ativo e baixa friabilidade. A identificação dessas características facilita a reprodutibilidade em escala industrial do produto.

O ensaio de mucoadesão confirmou o potencial mucoadesivo do CMC, através do tempo em que os comprimidos permaneceram em contato com o tecido da mucosa vaginal de vaca.

Por fim, o objetivo principal da pesquisa foi alcançado, gerando uma relevante contribuição para a comunidade científica, comprovando a possibilidade de utilização de um IFAV incorporado em uma formulação viável, com potencial terapêutico e com utilização de tecnologias que deram suporte ao processo de desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; BRITO, A. L.; NASCIMENTO, A. L. B.; OLIVEIRA, A. F. M.; QUIXABEIRA, C. M. T.; DIAS, D. Q.; LIRA, E. C.; SILVA, F. S.; DELMONDES, G. A.; COUTINHO, H. D. M.; BARBOSA, M. O.; LANDELL, M. F.; ALVES, R. R. N.; JÚNIOR, W. S. F. Medicinal plants and animals of an important seasonal dry forest in Brazil. **Ethnobiology and Conservation**, v.9, p. 1-53, 2020.
- AMEEN, F.; MOSLEM, M.; TAMI, M. A.; AL-AJLAN, H.; AL-QAHTANI, N. Identification of *Candida* species in vaginal flora using conventional and molecular methods. **Journal de Mycologie Médicale**, Paris, v. 27, n. 3, p. 364-368, 2017.
- ASATI, S.; JAIN, S.; CHOUBEY, A. Bioadhesive or Mucoadhesive Drug Delivery System: A Potential Alternative to Conventional Therapy. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 9, n. 4-A, p. 858-867, 2019.
- BABU, A. K.; KUMARESANB, G.; RAJA, A. A. V.; VELRAJB, R. Review of leaf drying: Mechanism and influencing parameters, drying methods, nutrient preservation, and mathematical models. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 90. 536–556. 2018.
- BALOGLU E, KARAVANA SY, HYUSEIN IY, KÖSE T. Design and formulation of mebeverine HCl semisolid formulations for intraorally administration. **AAPS PharmSciTech**, 2010;11(1):181–8.
- BANSIL, R.;TURNER, B. S. The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 124, p.3-15, 2018.
- Baptistel, A.C., J.M.C.P. Coutinho, E.M.F. Lins Neto, and J.M. Monteiro. "Plantas Medicinais Utilizadas Na Comunidade Santo Antônio, Currais, Sul Do Piauí: Um Enfoque Etnobotânico." *Revista Brasileira De Plantas Medicinais* 16.2 Suppl 1 (2014): 406-25. Web.
- BRANDÃO, D. O. **Desenvolvimento de uma formulação de uso intracanal com atividade antimicrobiana obtida a partir de uma planta do semiárido brasileiro**. [s.l.] Universidade Estadual da Paraíba, 2014.
- CARDOSO, M. P.; LIMA, C. L. S.; DAVID, J. P.; MOREIRA, B. O.; SANTOS, E. O.; DAVID, J. M.; ALVES, C. Q. A New Biflavonoid from *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 26, n. 7, p. 1527-1531, 2015.
- CARVALHO, F. C.; CHORILLI, M.; GREMIÃO, M. P. D. Plataformas bio(muco) adesivas poliméricas baseadas em nanotecnologia para liberação controlada de fármacos - propriedades, metodologias e aplicações. **Polimeros**, v. 24, n. 2, p. 203–213, 2014.

CHATTERJEE B, AMALINA N, SENGUPTA P, MANDAL UK. Mucoadhesive polymers and their mode of action: a recent update. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 7, n. 5, p. 195-203, 2017.

CHAVES, T.P.; BARBOSA, A.S.; NUNES, L.E.; DA SILVA, K. M. A.; DA SILVA SIMÕES, M.O.; SANTOS, R.L.; CATÃO, R.M.R.; SANTOS, V.L.; MEDEIROS, A.C.D. Avaliação do potencial modulador da resistência bacteriana, toxicidade aguda e composição química de *Schinopsis brasiliensis* Engl. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 9 (33), 843-849. 2015.

DAR, R. A.; SHAHNAWAZ, M.; QAZI, P. H. General overview of medicinal plants: A review. **The Journal of Phytopharmacology**, v. 6, p.349-351, 2017.

De Araújo Pereira, R. R., & Bruschi, M. L.; Vaginal mucoadhesive drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 38(6), 643–652, 2012.

DE JESÚS VALLE, M. J.; COUTINHO, P.; RIBEIRO, M. P.; NAVARRO, A. S. Lyophilized tablets for focal delivery of fluconazole and itraconazole through vaginal mucosa, rational design, and in vitro evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 122, n. March, p. 144–151, 2018.

DESHPANDE, R. D.; GOWDA, D. V.; MAHAMMED, N.; MARAMWAR, D. N. BI-layer tablets- an emerging trend: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.2, p. 2534-2544, 2011.

DESHPANDE A.A., RHODES C.T., DANISH M., Intravaginal Drug Delivery, 18 , p. 1225-1279, 1992

DONATI, M.; MONDIN, A.; CHEN, Z.; MIRANDA, F. M.; NASCIMENTO JR, B. B.; SCHIRATO, G.; PASTORE, P.; FROLDI, G. Radical scavenging and antimicrobial activities of *Croton zehntneri*, *Pterodon emarginatus* and *Schinopsis brasiliensis* essential oils and their major constituents: estragole, trans-anethole, β -caryophyllene and myrcene. **Natural Product Research**, v. 29, n. 10, p. 1-8; 2014.

DZOYEM, J. P.; HAMAMOTO, H.; NGAMENI, B.; NGADJUI, B. T.; SEKIMIZU, K. Antimicrobial action mechanism of flavonoids from *Dorstenia* species. **Drug. Disc. Therap.** V.7, n.2, p.66-72, abr. 2013.

ESPINAR, C. P.; SÁNCHEZ-ORTIZ, M. D.N.; MONTES, F. J. O.; EZCURRA, M. A. M.; BARRENECHEA, A. I. S. Protocolo diagnóstico y terapéutico de las vaginitis infecciosas: vulvovaginitis candidiásica, tricomoniasis y vaginosis bacteriana. **Medicine**, Madrid, v. 11, n. 51, p. 3029-3032, 2014.

FARMACOPEIA brasileira: monografias. 6. ed. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Fundação Oswaldo Cruz, 2019. v. 1, p. 874.

FERNANDES, L.; RIBEIRO, H.; OLIVEIRA, A.; SILVA, A. S.; FREITAS, A.; HENRIQUES, M.; RODRIGUES, M. E. Portuguese honeys as antimicrobial agents against *Candida* species. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**. 2021, 11, p. 130-136.

FERNANDES, F.H.A; DE BATISTA, R.S.A; DE MEDEIROS, F.D.; SANTOS, F.S.; MEDEIROS, A.C.D. Development of a fast and simple method by HPLC-UV for determination of manic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 25 (3), 208–211. 2015.

FONSECA-SANTOS, B.; CHORILLI, M. Uma visão geral das formas de dosagem poliméricas na administração bucal de drogas: estado da arte, projeto de formulações e sua avaliação de desempenho in vivo **Mater. Sci. Eng. C**, 2018 (86), 129 – 143.

GALLO, L.; RAMIREZ-RIGO, M. V.; WILSON, E.; PINA, J.; ALLEMANDI, D.; BUCALÁ, V. Spray-dried cascara sagrada for direct compression: tablet formulation and a simple HPLC method for tablet performance evaluation. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science**, Pakistan, v. 4, n. 4, p. 1360-70, Dec. 2013.

GOMES, S.; FRUTUOSO, C.; CARVALHO, G.; ROCHA, A.; CORREIA, M.A.; RIBEIRO, R.; CRUZ, C.; PEREIRA, H. S.; AZEVEDO, H.; VITORINO, A.; MARTINS, C.; ROQUE, S.; PALMA, F. Vaginites. *In*: REVISÃO dos consensos em infecções vulvovaginais, 2012, [Coimbra]: Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2012. cap. 3.

GOULART, L. S.; TELES, H. L.; MENDES, V. A.; VIEIRA, M. C. S.; MOURA, S. V.; RAMON, J. L.; SOUZA, J. M.; VIEIRA, J. C. S.; CAMPOS, É. P. Antifungal prospecting in *Agonandra brasiliensis*. **Rev. Bras. Farm.** V.94, n.3, p.289–294, 2013.

GUPTA, N. V.; NATASHA, S.; GETYALA, A.; BHAT, R. S. Bioadhesive vaginal tablets containing spray dried microspheres loaded with clotrimazole for treatment of **vaginal Candidiasis**. *Acta Pharmaceutical*, **Zagreb**, v. 63, n.3, p. 359-372, 2013.

HAMDY, R; FAYED, B; HAMODA, A.M; RAWAS-QALAJI, HAIDER, M; SOLIMAN, S.S.M. Essential Oil-Based Design and Development of Novel Anti-Candida Azoles Formulation. **Molecules**. v.25, n., p.1-17, 2020.

HANI, U.; SHIVAKUMAR, H. G.; OSMANI, R. A. M.; SRIVASTAVA, A.; VARMA, N. S. K. **Development of a curcumin bioadhesive monolithic tablet for treatment of vaginal candidiasis**. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Teerã, v. 15, n. 1, p. 23-34, Apr. 2016.

HIORTH, M.; NILSEN, S.; THO, I. Bioadhesive mini tablets for vaginal drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 6, n. 3, p. 494–511, 2014.

JAIN, S; SANDHU, P.S.; MALVI, R.; GUPTA, B. Cellulose Derivatives as Thermoresponsive Polymer: An Overview. **Journal of applied pharmaceutical science**, v.3, n. 12, p. 139-144, 2013.

JHA, H. K.; DHALI, T. K.; AMATYA, R. Comparative Evaluation of Ketoconazole 400 mg Single Dose Versus Ketoconazole 200 mg Daily for Five Days in Pityriasis Versicolor. **Journal of College of Medical Sciences-Nepal**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 69–74, 2021.

KABERA, N. J.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 2014; 2. 377-392.

KALAIARASAN K; SINGH R; CHATURVEDULA L. Perfil fúngico de candidíase vulvovaginal em um hospital de cuidados terciários. **J Clin Diagn Res**. 2017; 11 (3): DC06-DC09.

KHAN, H.; RAUF, A. Medicinal plants: economic perspective and recent developments. **World Applied Sciences Journal**, v. 31, n. 11, p. 1925-1929, 2014.

LEMOS, P. V. F.; MARCELINO, H. R.; CARDOSO, L. G.; SOUZA, C. O.; DRUZIANA, J. I. Starch chemical modifications applied to drug delivery systems: From fundamentals to FDA-approved raw materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, p.2018-234, 1 August 2021.

LIMA, M. M. S. M. Atividade antifúngica e modo de ação do extrato etanólico da folha de *Schinopsis brasiliensis* Engler, sobre espécies do gênero *Candida*. 2016. 61f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Odontologia - PPGO) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016

MEDEIROS, A. C. D.; ALENCAR, L. C. B.; FELISMINO, D. C. *Shinopsis brasiliensis*. In: MEDEIROS, ANA. **Medicinal and Aromatic Plants of South America**. Brazil: Springer Nature, 2019. p. (421-422) – (486).

MISHRA, R.; JOSHI, P.; MEHTA, T. Formulation, development, and characterization of mucoadhesive film for treatment of vaginal candidiasis. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, New Delhi, v. 6, n. 1, p. 47-55, Jan. 2016.

MIRANDA-CADENAA K., MARCOS-ARIASA C., MATEOA E., AGUIRREB J.M., QUINDÓSA G.,ERASOA E.,*. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and their close-related species in oral candidiasis-

Archives of Oral Biology, v. 95, p.100–107, 2018

MONTEIRO JM., LINS NETO EMF et al. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpáticas da caatinga. *Revista árvore*. v. 29, p. 999-1005, 2005.

MORAIS-BRAGA, M. F. B; SOUZA, T. M; SANTOS, K. K. A; GUEDES, G. M. M; ANDRADE, J. C; TINTINO, S. R; COSTA, J. G. M; MENEZES, I. R. A; SARAIVA, A. Á. F; COUTINHO, H. D.M. Atividade antibacteriana, antifúngica e moduladora da atividade antimicrobiana de frações obtidas de *Lygodium venustum* SW. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas*, v. 12, n. 1, p. 157- 162, 2013.

NAEINI, A.; JALAYER NADERI, N.; SHOKRI, H. Analysis and in vitro anti-Candida antifungal activity of *Cuminum cyminum* and *Salvadora persica* herbs extracts against pathogenic Candida strains. *Journal de Mycologie Medicale*, v. 24, n. 1, p. 13–18, 2014.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. 2012. *J. Nat. Prod.* V.75, n.3, p. 311–335, fev. 2012.

NOTARIO-PÉREZ, F; CAZORLA-LUNA, R.; MARTÍN-ILLANA, A.; GALANTE, J.; RUIZ-CARO, R.; NEVES, J.; VEIGA, MD. Design, fabrication and characterisation of drug-loaded vaginal films: State-of-the-art. *Journal of Controlled Release*, v. 327, p. 477-499, 2020.

OSHIRO JUNIOR, J.A.; CARVALHO, F.C.; SOARES, C.P.; CHORILLI, M.; CHIAVACCI, L.A. Development of Cutaneous Bioadhesive Ureasil-Polyether Hybrid Films. *International Journal of Polymer Science*, v. 2015, p. 1-7, 2015.

PALMEIRA-DE-OLIVEIRA R.; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA A.; MARTINEZ-DE-OLIVEIRA J. New strategies for local treatment of vaginal infections. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015. 92:105-22.

PHAM, N. D.; KHAN. M.D. I. H.; JOARDDER, M. U. H.; RAHMAN, M.M.; MAHIUDDIN, M.D.; NISHANI ABESINGHE, A. N.; KARIM, M. A. Quality of plant-based food materials and its prediction during intermittent drying. *Critical reviews in food science and nutrition*. 59: 8, 1197-1211. 2019.

POWAR, T. A. et al. Bioadhesive garlic and ketoconazole vaginal tablets for treatment of candidiasis. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, v. 51, n. 2, p. 239–248, 2017.

RENÇBER, S.; KARAVANA, S. Y.; YILMAZ, F. F. ERAÇ, B.; NENNI, M.; GURER-ORHAN, H.; LIMONCU, M. H.; GÜNERI, P.; ERTAN, G. Formulation and evaluation of fluconazole loaded oral strips for local treatment of oral candidiasis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 49, p. 615-621, 2019.

Rodríguez-Cerdeira, C., Gregorio, M., Molares-Vila, A., López-Barcenas, A., Fabbrocini, G., Bardhi, B., . . . Hernandez-Castro, R.; Biofilms and vulvovaginal candidiasis. *Colloids and Surfaces, B, Biointerfaces*, 174, 110-125; 2019

SALERNO, S. N.; EDGINTON, A.; GERHART, J. G.; LAUGHON, M. M.; AMBALAVANAN, N.; SOKOL, G. M.; HORNIK, C. D.; STEWART, D.; MILLS, M.; MARTZ, K.; GONZALEZ, D. Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling Characterizes the CYP3A-Mediated Drug-Drug Interaction Between Fluconazole and Sildenafil in Infants. **Linical Pharmacology & Therapeutics**, v.109, n. , p. 253-262, 2021.

SÁNCHEZ, M. T.; RUIZ, M. A.; CASTÁN, H.; MORALES, M. E. A novel double-layer mucoadhesive tablet containing probiotic strain for vaginal administration: design, development, and technological evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 112, p. 63-70, 2018.

SANTOS-JÚNIOR, A. F.; SÁ, R. R.; SILVA, L. O. B.; MAGALHÃES, H. I. F.; TARANTINO, T. B.; KORN, M. G. A. In vitro Monitoring of Macro and Microelements in Multimineral Preparations across Dissolution Profiles by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). **Journal of the Brazilian Chemical Society.**, v. 28, n. 11, p. 2163- 2171, 2017.

SARAIVA, A.M.; SARAIVA, C.L.; CORDEIRO, R.P.; SOARES, R.R.; XAVIER, H.S.; CAETANO, N. Atividade antimicrobiana e sinérgica das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a clones multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s. Campinas, v.15, n.2, p.199-207, 2013.

SHABANIAN, S.; KHALILI, S.; LORIGOOINI, Z.; MALEKPOUR, A.; HEIDARI-SOURESHJANI, S. The effect of vaginal cream containing ginger in users of clotrimazole vaginal cream on vaginal candidiasis. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology e Resaech**, v. 8, p. 80-84, 2017.

SHUKLA, A., SOBEL, J.D. Vulvovaginitis Caused by *Candida* Species Following Antibiotic Exposure. *Curr Infect Dis Rep* **21**, 44 (2019).

SONY, P.; KALYANI, M.; JEYAKUMARI, D.; KANNAN, I.; SUKUMAR, R.G. *In vitro* antifungal activity of *Cassia fistula* extracts against fluconazole resistant strains of *Candida* species from HIV patients. **Journal de Mycologie Médicale**, Paris, v. 28, n. 1, p. 193-200, 2018.

SOUZA MM. Avaliação da atividade antifúngica e antimicotoxinas de extratos de farelo de arroz, cebola e microalga chlorella. Dissertação, Rio Grande, Rio Grande do Sul. 2008.

SWATHI MANIVANNAN, S.; BISWAS, P.; BARICK, P.; KUMARI, S.; SAHA, B. P.; JOHNSON, R. Comparative Study on Compaction and Sintering Behavior of Spray and

Freeze Granulated Magnesium Aluminate Spinel Powder. **Transactions of the Indian Ceramic Society**, v. 80, p. 110-117, 2021.

SUSHMA, G.; DEBNATH, S.; KUMAR, C. S.; CHANDU, A. N. Quality and regulatory affairs of herbal drugs: a world-wide review. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 1, n. 5, p. 389-396, oct. 2011.

SZYMANSKA, E.; WINNICKA, K.; AMELIAN, A.; CWALINA, U. Vaginal chitosan tablets with clotrimazole-design and evaluation of mucoadhesive properties using porcine vaginal mucosa, mucin, and gelatine. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 62, n. 2, p. 160-167, 2014.

TISCHER, B. **Avaliação do efeito de diferentes métodos de secagem, moagem e extração no óleo essencial de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers.** 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2014.

TOCCI, N. et al. Phenolic profile, chemical relationship and antifungal activity of Andean *Hypericum* species. **Industrial Crops & Product**. v.112, n., p-32-37, 2018.