



**UEPB**

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

**BRENDA MARIA SILVA BEZERRA**

**SISTEMAS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÉTER PARA CO-ADMINISTRAÇÃO DE  
CURCUMINA E MICONAZOL CONTRA *CANDIDA ALBICANS***

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2022**

BRENDA MARIA SILVA BEZERRA

**SISTEMAS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÉTER PARA CO-ADMINISTRAÇÃO DE  
CURCUMINA E MICONAZOL CONTRA *CANDIDA ALBICANS***

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

**Área de concentração:** Farmácia.

**Orientador:** 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.

B574s Bezerra, Brenda Maria Silva.  
Sistemas híbridos ureasil-poliéter para co-administração de curcumina e miconazol contra *Candida albicans* [manuscrito] / Brenda Maria Silva Bezerra. - 2022.  
50 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 : Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior ,  
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Candidíase Vulvovaginal. 2. Terapia Antifúngica Combinada. 3. Sinergismo. 4. Fitoterapia. I. Título

21. ed. CDD 615.321

BRENDA MARIA SILVA BEZERRA

**SISTEMAS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÉTER PARA CO-ADMINISTRAÇÃO DE  
CURCUMINA E MICONAZOL CONTRA *CANDIDA ALBICANS***

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

**Área de concentração:** Farmácia.

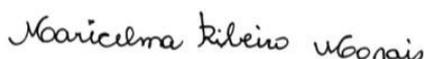
Aprovada em: 24/10/2022.

**BANCA EXAMINADORA**



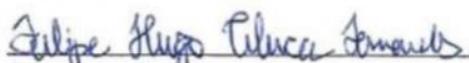
---

Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior (Orientador)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Profa. Dra. Maricelma Ribeiro Moraes  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (UEPB)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fonte inesgotável de força e amor, por ter me designado para esta jornada e me permitido concluí-la com êxito.

Aos meus pais, Marcos e Mariza, por sempre terem feito tudo para me proporcionar a melhor educação possível e para que eu sempre tivesse pleno conforto para me dedicar integralmente aos meus estudos, serei eternamente grata. Eu não estaria aqui sem o esforço de vocês.

À minha família, por sempre me incentivar e torcer pelas minhas conquistas, por ser meu suporte e por continuar ao meu lado em cada escolha que tomei, muito obrigada.

Aos meus amigos de escola, obrigada por terem continuado comigo nessa jornada e por sempre me fazerem ter certeza que continuarão nas próximas, comemorando cada pequena e grande vitória ao meu lado.

Por todos os momentos e memórias, conquistas e sonhos compartilhados nos últimos cinco anos, um agradecimento aos amigos que fiz na UEPB, em especial a Adélia, Alessandra, Ana Karla, Analara, Daiana, Duda, Emmanuel, Esdras, Jessé, João Victor, Karen, Nayara, Rayane, Sabrina, Tatiany, Walisson e Yasmim. O amor, o incentivo e a alegria de vocês foram essenciais durante essa jornada. Estendo minha gratidão a Diego, Sara e José, por também terem estado ao meu lado durante o desenvolvimento das pesquisas, tornando tudo mais leve.

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior, por me acolher como orientanda, por todos os ensinamentos, e pela paciência e confiança depositadas em mim, meu muito obrigada.

Ao corpo docente de Farmácia da UEPB, pela contribuição em minha formação profissional e pessoal, e por consolidarem em mim o amor pela docência.

Ao grupo I-Nano, pela colaboração em minha formação acadêmica, ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) e ao Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF), por concederem espaço para o desenvolvimento desta pesquisa.

À minha prezada instituição, UEPB, pelas oportunidades e por ter sido o espaço de crescimento pessoal e profissional profundo, e o abrigo de memórias e aprendizados que sempre levarei comigo.

## RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é um problema de saúde pública que afeta pelo menos 75% das mulheres uma vez na vida. *Candida albicans* é responsável por 90% dos casos devido a sua plasticidade e aos seus fatores de virulência. Atualmente, o tratamento da CVV é comprometido pela resistência fúngica e por problemas de eficácia e segurança. A terapia combinada é uma alternativa capaz de reduzir doses e efeitos adversos associados ao tratamento e pode ser capaz de retardar a resistência. A cucumina (CUR) é um polifenol obtido da *Curcuma longa*, com efeito antifúngico demonstrado e que já tem sido testada em combinações com antifúngicos comerciais. O miconazol (MCZ), agente imidazol, é uma opção de escolha para a CVV, sujeita aos problemas do tratamento convencional. Os sistemas híbridos ureasil-poliéter podem ser eficazes para veicular esses ativos e contornar limitações físico-químicas e farmacocinéticas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver sistemas híbridos ureasil-poliéter incorporados com CUR e MCZ e avaliar a atividade anticandida dos compostos isolados e combinados. Os sistemas foram preparados utilizando um precursor híbrido composto de um alcóxido modificado e polímeros modificados. Os ativos foram adicionados na etapa de hidrólise e condensação. As características físico-químicas dos materiais foram avaliadas por espectroscopia no infravermelho (FTIR), termogravimetria (TGA) e análise térmica diferencial (DTA). As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de CUR e MCZ contra *C. albicans* ATCC 10231 foram determinadas por microdiluição segundo a norma M27-A2 do CLSI. O efeito sinérgico entre os ativos foi analisado pelo método checkerboard. Os híbridos foram moldados como membranas circulares que se apresentaram transparentes e homogêneas após a secagem. As curvas de TGA mostraram que a incorporação de CUR e MCZ em U-PEO e U-PPO aumentou a estabilidade térmica de ambos os ativos, devido à capacidade dos materiais de conferir proteção térmica. Nas curvas de DTA, CUR e MCZ demonstraram incompatibilidade física, enquanto CUR e PEO apresentaram incompatibilidade térmica. Contudo, no FTIR, não foram observados espectros indicativos de incompatibilidade química. Nos testes microbiológicos, as CIMs de CUR e MCZ foram 256 e 2,5 µg/mL, respectivamente. No ensaio checkerboard, as CIMs foram reduzidas para 32 e 0,625 µg/mL e o índice de concentração inibitória fracionada (ICIF) foi calculado em 0,375, indicando sinergismo ( $ICIF \leq 0,5$ ) entre CUR e MCZ. Portanto, a combinação e incorporação de CUR e MCZ em sistemas híbridos ureasil-poliéter é vantajosa e pode ser uma terapia alternativa para o tratamento de CVV.

**Palavras-chave:** candidíase vulvovaginal; terapia antifúngica combinada; sinergismo.

## ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is a public health problem that affects at least 75% of women at least once in their lifetime. *Candida albicans* is responsible for 90% of cases due to its plasticity and virulence factors. Currently, the treatment of VVC is compromised by fungal resistance and by problems of efficacy and safety. Combination therapy is an alternative capable of reducing doses and adverse effects associated with treatment and may be able to delay resistance. Cucumin (CUR) is a polyphenol obtained from *Curcuma longa*, with a demonstrated antifungal effect and has already been tested in combination with commercial antifungals. Miconazole (MCZ), an imidazole agent, is an option of choice for VVC, subject to the problems of conventional treatment. Ureasil-polyether hybrid systems can be effective to deliver these actives and overcome physicochemical and pharmacokinetic limitations. The objective of this work was to develop ureasil-polyether hybrid systems incorporated with CUR and MCZ and to evaluate the anticandida activity of the isolated and combined compounds. The systems were prepared using a hybrid precursor composed of a modified alkoxide and modified polymers. The drugs were added in the hydrolysis and condensation step. The physicochemical characteristics of the materials were evaluated by infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetry (TGA) and differential thermal analysis (DTA). The minimum inhibitory concentrations (MICs) of CUR and MCZ against *C. albicans* ATCC 10231 were determined by microdilution according to CLSI standard M27-A2. The synergistic effect between the compounds was analyzed by the checkerboard method. The hybrids were molded as circular membranes that were transparent and homogeneous after drying. TGA curves showed that the incorporation of CUR and MCZ in U-PEO and U-PPO increased the thermal stability of both actives, due to the ability of the materials to provide thermal protection. In DTA curves, CUR and MCZ showed physical incompatibility, while CUR and PEO showed thermal incompatibility. However, in FTIR, no spectra indicative of chemical incompatibility were observed. In microbiological tests, the MICs of CUR and MCZ were 256 and 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. In the checkerboard assay, the MICs were reduced to 32 and 0.625  $\mu\text{g/mL}$  and the fractional inhibitory concentration index (FICI) was calculated at 0.375, indicating synergism ( $\text{FICI} \leq 0.5$ ) between CUR and MCZ. Therefore, the combination and incorporation of CUR and MCZ in ureasil-polyether hybrid systems is advantageous and could be an alternative therapy for the treatment of VVC.

**Keywords:** vulvovaginal candidiasis; combination antifungal therapy; synergism.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura química da CUR. ....	20
<b>Figura 2.</b> Tautomerismo ceto-enol da CUR. ....	20
<b>Figura 3.</b> Estrutura química do MCZ. ....	21
<b>Figura 4.</b> Estrutura química de U-PEO e U-PPO. ....	23
<b>Figura 5.</b> Ensaio checkerboard para avaliar o sinergismo entre CUR e MCZ. ....	29
<b>Figura 6.</b> Materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO400 puros (A, B), com CUR (C, D), com MCZ (E, F) e com CUR e MCZ (G, H). ....	30
<b>Figura 7.</b> Curvas de TG dos precursores híbridos U-PEO500 (A) e U-PPO400 (B). ....	32
<b>Figura 8.</b> Curvas de TG de CUR e de MCZ. ....	33
<b>Figura 9.</b> Curvas de TG de CUR e MCZ incorporados no material híbrido U-PEO500 (A) e U-PPO400 (B). ....	34
<b>Figura 10.</b> Curvas de DTA de CUR, MCZ, mistura binária CUR + MCZ 1:1 e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 puros e combinados com os IFAs. ....	36
<b>Figura 11.</b> Espectros de FTIR dos precursores híbridos U-PEO500 e U-PPO400. ....	38
<b>Figura 12.</b> Espectros de FTIR de curcumina, miconazol e da mistura binária CUR + MCZ 1:1. ....	39
<b>Figura 13.</b> Espectros de FTIR de U-PEO500 (A) e U-PPO400 (B) incorporados com CUR, MCZ e CUR + MCZ. ....	40
<b>Figura 14.</b> Semeio das concentrações das microplacas de CUR (A) e MCZ (B) em placas de ágar Sabouraud-Dextrose. ....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Peso, diâmetro e espessura das membranas híbridas de U-PEO e U-PPO com e sem CUR e MCZ. ....	31
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros termogravimétricos de CUR, MCZ e dos materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO puros e incorporados com os IFAs. ....	34
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros de DTA de CUR, MCZ e dos materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO incorporados com os IFAs. ....	37
<b>Tabela 4.</b> Concentrações inibitórias mínimas (CIM) de CUR e MCZ, representadas em µg/mL. ....	41
<b>Tabela 5.</b> Avaliação do efeito sinérgico entre CUR e MCZ contra <i>C. albicans</i> . ....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIF	Concentração Inibitória Fracionada
CUR	Curcumina
CVV	Candidíase Vulvovaginal
DMSO	Dimetilsufóxido
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
HCl	Ácido Clorídrico
ICIF	Índice de Concentração Inibitória Fracionada
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IsoTrEOS	Álcóxido modificado 3-isocinatopropiltriétoxisilano
MCZ	Nitrato de Miconazol
PEO	Poli(óxido de etileno)
PPO	Poli(óxido de propileno)
T <sub>pico</sub>	Temperatura de pico
U-PEO	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de etileno)
U-PPO	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de propileno)
CUR + MCZ 1:1	Mistura Binária de Curcumina e Miconazol
U-PEO + CUR	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de etileno) contendo Curcumina
U-PEO + MCZ	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de etileno) contendo Miconazol
U-PEO + CUR + MCZ	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de etileno) contendo Curcumina e Miconazol
U-PPO + CUR	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de propileno) contendo Curcumina
U-PPO + MCZ	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de propileno) contendo Miconazol
U-PPO + CUR + MCZ	Material Híbrido Ureasil poli(óxido de propileno) contendo Curcumina e Miconazol

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
™	“ <i>Trade mark</i> ”, do inglês, marca comercial
mg	Miligramas
μm	Micrômetro
μL	Microlitros
μg/mL	Microgramas por mililitros
g.mol <sup>-1</sup>	Gramas por mol
°C	Graus celcius
°C.min <sup>-1</sup>	Graus celcius por minuto
J/g	Joule por grama
mL/min	Mililitros por minuto

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	15
<b>2.1 Candidíase Vulvovaginal</b>	15
<b>2.2 Cavidade Vaginal</b>	16
<b>2.3 Tratamento da Candidíase Vulvovaginal</b>	17
<i>2.3.1 Terapia Antifúngica Combinada</i>	18
<i>2.3.2 Curcumina (CUR)</i>	19
<i>2.3.3 Miconazol (MCZ)</i>	21
<b>2.4 Sistemas Híbridos Orgânico-Inorgânicos</b>	22
<i>2.4.1 Sistemas Híbridos Ureasil-Poliéter (U-PEO e U-PPO)</i>	23
<b>3 OBJETIVOS</b>	24
<b>3.1 Objetivo Geral</b>	24
<b>3.2 Objetivos Específicos</b>	24
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	25
<b>4.1 Materiais</b>	25
<i>4.1.1 Matérias primas</i>	25
<i>4.1.2 Equipamentos</i>	25
<b>4.2 Métodos</b>	26
<i>4.2.1 Síntese dos materiais híbridos ureasil-poliéter com e sem IFAs</i>	26
<i>4.2.2 Caracterização físico-química dos materiais híbridos contendo CUR e MCZ</i>	26
<i>4.2.2.1 Termogravimetria (TG)</i>	26
<i>4.2.2.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)</i>	26
<i>4.2.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	27
<i>4.2.3 Ensaios de atividade antimicrobiana</i>	27
<i>4.2.3.1 Preparação do inóculo de C. albicans</i>	27
<i>4.2.3.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i>	27
<i>4.2.3.3 Ensaio checkerboard para avaliação de sinergismo</i>	28
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	30
<b>5.1 Obtenção dos materiais híbridos ureasil-poliéter com e sem IFAs</b>	30
<b>5.2 Caracterização físico-química dos materiais híbridos com e sem CUR e MCZ</b>	32
<i>5.2.1 Termogravimetria (TG)</i>	32
<i>5.2.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)</i>	35
<i>5.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	37
<b>5.3 Ensaios de atividade antimicrobiana</b>	40

<b>5.3.1</b>	<b><i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i></b>	40
<b>5.3.2</b>	<b><i>Ensaio checkerboard para avaliação de sinergismo</i></b>	42
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	44
	<b>REFERÊNCIAS</b>	45

## 1 INTRODUÇÃO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção fúngica que afeta cerca de 75% das mulheres pelo menos uma vez durante a vida. Trata-se de um problema de saúde pública, que está relacionado a gastos governamentais, pois afeta o rendimento e contribui para o estresse das mulheres acometidas, visto que seus sinais e sintomas clínicos, que incluem prurido e queimação genital, disúria e dispareunia, estão associados a intenso desconforto (DE CÁSSIA ORLANDI SARDI et al., 2021; GONÇALVES et al., 2016).

*C. albicans* é o principal patógeno causador de CVV, responsável por 85 a 95% dos casos, e por colonizar cerca de 10 a 15% de mulheres assintomáticas. No entanto, mudanças no microambiente vaginal e nos mecanismos de defesa do hospedeiro, decorrentes do uso de antibióticos e corticosteroides, e de condições clínicas como gravidez e diabetes mellitus descompensada, associadas a fatores de virulência do fungo, como adesão e formação de hifas e de biofilmes, podem favorecer o desenvolvimento patogênico de *C. albicans*, desencadeando a CVV (DADAR et al., 2018; MARTINS et al., 2014; POULAIN, 2015; SOBEL, 2007).

O tratamento da CVV é variável quando a condição é não complicada, que inclui casos leves frequentemente causados por *C. albicans*, ou complicada, quando outras espécies estão envolvidas, a doença ocorre durante a gravidez, ou, associada a outras condições clínicas, como imunossupressão ou diabetes (DOVNIK et al., 2015). Em ambos os cenários, a terapia envolve o uso de agentes antifúngicos tópicos como imidazóis ou nistatina, ou, a administração oral de triazóis, a curto ou a longo prazo, a depender da gravidade. Quando a CVV é recorrente, a terapia padrão deve ser associada a um tratamento de manutenção durante 6 meses (BRASIL, 2020).

Entretanto, apesar de eficaz para a maioria das mulheres, o tratamento convencional oral está associado a risco de toxicidade hepática, especialmente em pacientes com predisposição genética, comorbidades, ou que fazem uso de outros fármacos e de álcool, enquanto o regime tópico também pode desencadear eventos adversos como irritabilidade, edema e até dor vulvar crônica (LÍRIO et al., 2019; TVERDEK; KOFTERIDIS; KONTOYIANN, 2016). Isso sugere a necessidade de alternativas terapêuticas que garantam eficácia e mais segurança a mulheres sensibilizadas por efeitos indesejados.

A combinação de dois agentes antifúngicos já é utilizada na prática clínica e possui benefício comprovado na redução do índice de mortalidade por meningite criptocócica com a associação de flucitosina e anfotericina B (DAY et al., 2013). O uso de agentes sinérgicos pode ser promissor na terapia anticandida por aumentar a atividade e o efeito fungicida de fármacos

atualmente disponíveis, reduzir sua toxicidade e o risco de resistência, tornando-se uma opção frente as limitações dos tratamentos atuais (CAMPITELLI et al., 2017).

A curcumina (CUR) é um polifenol presente no rizoma da *Curcuma longa*, planta amplamente utilizada no continente asiático como tempero, corante e conservante alimentar. Esse composto é dotado de atividades farmacológicas, como anti-inflamatória e antioxidante, e tem se destacado pelo seu potencial antifúngico (HEWLINGS; KALMAN, 2017). A CUR mostrou-se 2,5 vezes mais eficaz que o fluconazol em inibir a adesão de *Candida* ao epitélio bucal, o que a torna um antifúngico natural de interesse para novos tratamentos para a CVV (MARTINS et al., 2009).

Por sua vez, o nitrato de miconazol (MCZ) é um antifúngico imidazol comercializado para o tratamento de infecções de pele causadas por fungos e candidíases, incluindo a CVV. Seu efeito farmacológico deve-se à inibição da síntese do ergosterol, componente principal da membrana celular dos fungos, por interação com o citocromo P450. A disrupção da síntese membranar contribui para o efeito fungistático primordial desse agente (PIÉRARD et al., 2012).

Apesar de serem aplicáveis no tratamento da CVV, CUR e MCZ são compostos lipofílicos de alta solubilidade em solventes potencialmente tóxicos, como dimetilsufóxido (DMSO) e etanol. Além disso, a baixa estabilidade de CUR frente a luz e em meio aquoso, junto a necessidade de alta frequência de administração das preparações vaginais comercialmente disponíveis de MCZ, revelam a necessidade de sistemas alternativos para a administração segura e eficaz de ambos (AL-BADR, 2005; SLIKA; PATRA, 2020).

Sistemas híbridos orgânico-inorgânicos do tipo ureasil-poliéter são materiais que associam características físico-químicas de suas fases, tornando-se aplicáveis para a produção de sistemas multifuncionais capazes de carrear fármacos hidrofílicos ou lipofílicos e controlar sua liberação, prevenir efeitos adversos locais e sistêmicos, garantir maior tempo de circulação plasmática e reduzir o número de doses diárias, aumentando a adesão ao tratamento (OSHIRO JUNIOR et al., 2016a).

A constituição química desses materiais, formados por cadeias de poli(óxido de etileno) (PEO) e poli(óxido de polipropileno) (PPO) e por siloxanos, confere aos híbridos potenciais grupos formadores de ligações de hidrogênio e tempo de contato prolongado com a mucosa vaginal, composta por um fluido constituído basicamente por água e mucina. Isso, associado à capacidade de modificar as propriedades poliméricas finais, torna esses sistemas atraentes para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas para administração vaginal de fármacos para o tratamento da CVV (NEVES et al., 2014; OSHIRO JUNIOR et al., 2015).

Diante da possibilidade da utilização de sistemas híbridos para a redução das limitações da administração de curcumina e miconazol, propõe-se a incorporação de ambos os ativos em materiais híbridos como uma alternativa segura e eficaz para o tratamento de CVV causada por *C. albicans*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Candidíase Vulvovaginal

A Candidíase Vulvovaginal (CVV) é uma infecção do trato reprodutor feminino causada por espécies de fungos oportunistas do gênero *Candida*. Dentre as espécies do gênero, *C. albicans* é responsável por cerca de 90% dos casos de CVV, enquanto outras espécies, como *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* possuem menor prevalência. A doença ocorre quando a paciente apresenta, além do agente etiológico, sinais e sintomas de inflamação vulvovaginal e ausência de outros microrganismos no local (DE CÁSSIA ORLANDI SARDI et al., 2021).

Estima-se que 75-80% das mulheres desenvolvem a CVV pelo menos uma vez na vida e que cerca de 9% delas apresentam a forma recorrente da doença, com mais de três episódios por ano (ROSATI et al., 2020). A CVV é considerada uma doença de mulheres imunocompetentes e cursa com coceira, ardor, dor e vermelhidão, que podem ser acompanhados por corrimento vaginal resultante do fluido vaginal acompanhado por descamação epitelial, células imunes e leveduras (WILLEMS et al., 2020).

O desenvolvimento patogênico do principal agente causador de CVV, *C. albicans*, decorre da transição morfológica do fungo de levedura para hifa —forma invasiva capaz de penetrar ativamente no tecido hospedeiro e de induzir a endocitose—, resultante de mudanças no microambiente vulvovaginal. A forma de hifa ainda é capaz de produzir uma toxina denominada candidalisina, que danifica a membrana epitelial por criação de poros e pela ativação de vias inflamatórias inatas e relacionadas ao aparecimento dos sintomas da CVV (TALAPAKO et al., 2021; WILLEMS et al., 2020).

Outros fatores de virulência associados à patogenia de *C. albicans* incluem a adesão, a liberação de enzimas hidrolíticas e a formação de biofilmes. A adesão é mediada por proteínas conhecidas como adesinas, que reconhecem ligantes específicos na superfície das células hospedeiras, e está envolvida no início da colonização e no desenvolvimento da infecção. As enzimas hidrolíticas, especialmente as proteinases aspárticas (SAP), são capazes de hidrolisar o revestimento do epitélio vaginal e proteínas de defesa, como imunoglobulinas, mucina, fibronectina e os componentes C3b, C4b e C5 do complemento, comprometendo a defesa do hospedeiro contra a infecção (CZECHOWICZ; NOWICKA; GOŚCINIAK, 2022; DE BERNARDIS et al., 2018).

Os biofilmes são comunidades microbianas heterogêneas, formadas por uma ou várias espécies de fungos e/ou bactérias. Essas estruturas são constituídas por diferentes tipos celulares, incluindo hifas, leveduras e pseudohifas, envoltos por uma matriz extracelular

composta majoritariamente por proteínas, que oferece nutrientes e proteção contra fatores externos, conferindo resistência ao biofilme (RODRÍGUEZ-CERDEIRA et al., 2020). Na patogenia da CVV, dois tipos de biofilmes estão envolvidos: o abiótico, que pode ser formado na superfície de dispositivos intrauterinos; e o biótico, na superfície do epitélio vaginal. O último está relacionado à formação de células persistentes e à alta resistência fúngica aos tratamentos convencionais (WU et al., 2020).

A ocorrência da CVV está relacionada a fatores comportamentais que resultam em mudanças no microambiente vaginal. A reposição hormonal, o uso de corticoesteroides e de antibióticos locais ou de amplo espectro, além de gravidez e diabetes mellitus descompensada, contribuem para a redução da resposta imune ou para a redução da microbiota vaginal, aumentando o risco patogênico de *C. albicans* (DE CÁSSIA ORLANDI SARDI et al., 2021). Além disso, o alto consumo de leite, de produtos lácteos e os hábitos intestinais também estão relacionados ao desequilíbrio da microbiota vaginal e parecem ter relevância no desenvolvimento de CVV (PEREIRA et al., 2021).

Com relação ao tratamento da CVV, alguns fatores contribuem para a falha terapêutica, como a baixa biodisponibilidade de alguns fármacos em tecidos com pH baixo, problemas farmacocinéticos, além da necessidade de suporte do sistema imune do hospedeiro quando agentes estáticos são utilizados. A resistência de *C. albicans* aos fármacos convencionais, pode ser mediada por alterações no alvo de ação, pela formação do biofilme e por bombas de efluxo, especialmente as da família ABC (do inglês, *ATP-binding cassette*), e também é um dos fatores responsáveis por comprometer o tratamento disponível atualmente (BHATTACHARYA; SAETIA; FRIES, 2020; LEE et al., 2020).

## 2.2 Cavidade Vaginal

A cavidade vaginal é uma estrutura fibromuscular que mede cerca de 6 a 12 cm e compreende a extensão da vulva ao colo uterino. A mucosa dessa cavidade cria um microambiente favorável para o crescimento da microbiota normal, enquanto impede o desenvolvimento de microrganismos patogênicos. As junções frouxas dessa camada ainda possibilitam a permeação e retenção de mediadores imunológicos no local, e permitem que substâncias antimicrobianas aplicadas topicamente infiltrem a superfície vaginal, conferindo proteção ao longo da sua extensão (ANDERSON; MARATHE; PUDNEY, 2014; GRAZIOTTIN; GAMBINI, 2015).

Além disso, a existência de uma microbiota vaginal única, formada principalmente por espécies de *Lactobacillus*, também contribui para a defesa do hospedeiro, dada a capacidade

dessas espécies de reduzirem o pH vaginal para 3,5 a 4,5 e de produzirem compostos capazes de matar ou inativar agentes invasores, além de promoverem uma barreira física no epitélio capaz de impedir a adesão de patógenos (LEYVA-GÓMEZ et al., 2019).

Apesar dos mecanismos de defesa da região, desequilíbrios na microbiota podem facilitar o crescimento de microrganismos patogênicos e o desenvolvimento de infecções no local. Nesses casos, o tratamento pela aplicação tópica de fármacos por via vaginal mostra-se vantajoso devido à alta vascularização da região, a alta superfície de contato e por evitar a degradação gastrointestinal do ativo, bem como o efeito de primeira passagem hepática, quando comparada à administração oral (LEYVA-GÓMEZ et al., 2019; PANDEY et al., 2020).

As formas farmacêuticas mais comumente usadas para administração vaginal incluem semissólidos, como géis e cremes, para períodos curtos de tratamento, além de óvulos vaginais, geralmente compostos de glicerol e gelatina. Para tratamentos longos, anéis vaginais podem fornecer liberação prolongada do ativo (COOK; BROWN, 2018). Contudo, essas preparações comumente apresentam baixa retenção na mucosa vaginal, o que limita a eficácia terapêutica e alerta para a necessidade da escolha de excipientes, especialmente polímeros, capazes de se aderir à mucina do fluido vaginal (PANDEY et al., 2020).

### **2.3 Tratamento da Candidíase Vulvovaginal**

Atualmente, apenas quatro classes de antifúngicos estão disponíveis comercialmente para o tratamento de infecções fúngicas: os polienos, como a anfotericina B e a nistatina; as pirimidinas, como a flucitosina; os azóis, divididos em imidazóis e triazóis e mais amplamente utilizados devido a sua segurança e variedade de formulações; e as equinocandinas, classe mais recente que inclui opções terapêuticas para o tratamento da candidíase causada por espécies resistentes aos azóis (ROBINS; WRIGHT; COWEN, 2016).

O esquema terapêutico atual para a CVV não complicada inclui a administração vaginal de cremes de agentes imidazóis, como miconazol 2%, butaconazol 2% ou clotrimazol 1%, por 3 a 7 dias, ou, de nistatina por 10 a 14 dias. A segunda opção é o uso oral de fluconazol 150 mg em dose única ou itraconazol 100 mg em duas doses por um dia. Para a CVV complicada e recorrente, os azóis tópicos e orais também são utilizados, mas em esquemas de tratamento prolongado por até 6 meses (BRASIL, 2020; COLOMBO et al., 2013).

O uso desses agentes, contudo, é limitado por condições clínicas, como a gravidez, e por problemas como baixa biodisponibilidade e alta toxicidade dos fármacos, o que estreita a disponibilidade de formulações e compromete a adesão e a segurança do tratamento. Associado a isso, o autodiagnóstico, a venda livre e o uso indiscriminado desses medicamentos são

responsáveis pelo maior desafio da comunidade médica atual, o desenvolvimento da resistência fúngica, capaz de inviabilizar grande parte do arsenal antifúngico disponível, alertando para a necessidade novas estratégias terapêuticas para a CVV (CHEW; THAN, 2016; SOBEL, J.D; SOBEL, R., 2018).

Dentre as alternativas, formulações mucoadesivas têm ganhado destaque por atuar prolongando o tempo do ativo no local de ação e, conseqüentemente, aumentando sua biodisponibilidade e eficácia clínica, além de fornecer uma liberação rápida ou prolongada de fármacos de modo não invasivo (KUMAR et al., 2020; ROSSI et al., 2018). Géis mucoadesivos *in situ* e a base de lipossomas e micropartículas promovem liberação sustentada, maior atividade anticandida e maior tempo de retenção de clotrimazol, sertaconazol e miconazol na cavidade vaginal, o que pode contribuir para reduzir a frequência de administração e aumentar a adesão e a eficácia do tratamento (ABDELLATIF et al., 2020; KENECHUKWU et al., 2018; RENÇBER et al., 2017).

A administração vaginal de probióticos, como *Lactobacillus crispatus* e *L. delbrueckii*, também tem sido estudada e, apesar de exibir fraco efeito anticandida, está associada a diminuição da recorrência de CVV por reestabelecer a microbiota normal, que é comprometida pelo uso prolongado de antimicrobianos (LI et al., 2019). A imunoterapia também parece ser eficaz em aumentar o tempo de reaparecimento dos sintomas e pode vir a ser uma alternativa para pacientes acometidos pela forma recorrente da doença (EDWARDS et al., 2018).

No tocante à reduzida quantidade de fármacos em uso e ao desenvolvimento de resistência por cepas de *C. albicans*, os compostos naturais representam potenciais opções terapêuticas. A variedade de compostos moleculares encontrados nas plantas pode oferecer mecanismos de ação diferentes dos atualmente disponíveis, contribuindo para aumentar o arsenal farmacológico para o tratamento da CVV e de infecções fúngicas invasivas. Além disso, a associação de tais compostos com os fármacos comerciais tem sido estudada e parece ser promissora para reduzir o risco de resistência (ZIDA et al., 2017).

### **2.3.1 Terapia Antifúngica Combinada**

A terapia combinada é utilizada no tratamento de doenças causadas por microrganismos, como malária, HIV, tuberculose e meningite criptocócica, para a qual a associação de anfotericina B e flucitosina representa o padrão ouro de tratamento (ROBINS; WRIGHT; COWEN, 2016). As vantagens da terapia combinada incluem redução do risco de resistência e da toxicidade dos fármacos convencionais, o efeito sinérgico e o aumento do espectro

antimicrobiano de ativos comerciais, em comparação com a monoterapia (HATIPOGLU; HATIPOGLU, 2013).

O efeito sinérgico entre dois compostos pode ocorrer por diferentes mecanismos. Os ativos podem atuar no mesmo sítio alvo, de modo que um facilita e aumenta a fixação do outro no local de ação. As duas substâncias também podem atuar em vias biológicas distintas, mas exercendo um efeito antimicrobiano coletivo, ou, ainda, agir em estágios diferentes de vias comuns, contribuindo para maior atividade farmacológica (AHMAD et al., 2017).

A terapia antifúngica combinada está relacionada a uma menor falha clínica, especialmente quando se tratam cepas resistentes. A maximização do efeito de fármacos conhecidos implica não somente em benefícios farmacodinâmicos, mas favorece a redução de doses e, conseqüentemente, de efeitos adversos, aprimorando a eficácia e a segurança do tratamento ao paciente (CARRILLO MUÑOZ, ALFONSO JAVIER et al., 2017).

O sinergismo e a associação de antifúngicos comerciais têm sido estudados e é comprovadamente benéfica em alguns casos, mas a combinação com novos compostos também está sendo avaliada. Os fitoconstituintes, por exemplo, são capazes de potencializar a atividade antifúngica dos fármacos conhecidos e reverter a resistência através da inibição do efluxo pela membrana plasmática. As combinações entre antifúngicos conhecidos e compostos naturais podem ser mais eficazes que a monoterapia atual e representam uma alternativa de menor custo para a terapia combinada (ZAIDI et al., 2018).

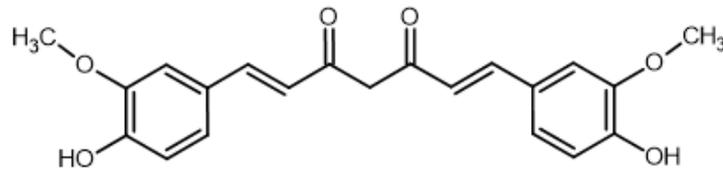
A administração vaginal da combinação de agentes comerciais, como o fluconazol, com extratos vegetais, a exemplo do de gengibre, mostrou-se eficaz em reduzir as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de ambos os ativos e a toxicidade renal do azólico, além de promover aumento da atividade antifúngica e maior erradicação do biofilme de *C. albicans*, o que reflete aumento da suscetibilidade da cepa ao fármaco comercial e a capacidade da combinação de evitar a resistência fúngica. Além disso, a produção de citocinas pró-inflamatórias danosas ao epitélio vaginal e relacionadas à patogenia da CVV foi consideravelmente menor em comparação com a monoterapia, o que amplia os benefícios da terapia combinada (KHAN et al., 2021).

### 2.3.2 Curcumina (CUR)

A curcumina, (1E,6E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, também denominada diferuloilmetano, é um polifenol extraído do rizoma de *Curcuma longa*, planta conhecida como açafrão-da-Índia. A CUR é formada por dois anéis aromáticos que contém grupos o-metoxifenólicos e são unidos por uma cadeia  $\beta$ -dicetona- $\alpha,\beta$ -insaturada de

sete carbonos. Possui fórmula química  $C_{21}H_{20}O_6$  e peso molecular igual a 368,38 g/mol (PRIYADARSINI et al., 2014). A estrutura da CUR está representada na Figura 1.

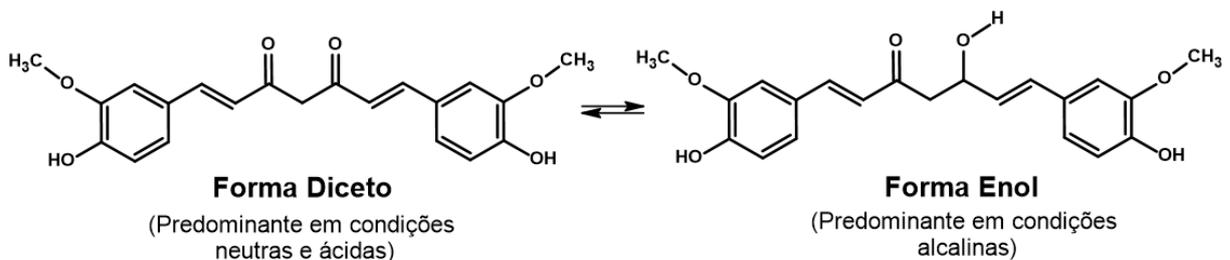
**Figura 1.** Estrutura química da CUR.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

A sua composição química lhe confere caráter hidrofóbico ( $\log P \sim 3$ ) e baixíssima solubilidade em água, mas boa solubilidade em solventes polares como etanol, metanol, DMSO e acetato de etila. Outra característica marcante da CUR é o tautomerismo ceto-enol (Figura 2), dependente da polaridade e do pH do meio. Em solventes apolares e em valores de  $\text{pH} > 8$ , a forma enol predomina, enquanto em solventes polares e em meios ácidos e neutros, a CUR existe na forma diceto. A cor da CUR também varia com o pH, de modo que, em valores de  $\text{pH} < 1$  e  $\text{pH} > 7$ , a CUR apresenta coloração vermelha, e em pH entre 1 e 7, coloração amarelo-alaranjada (ESATBEYOGLU et al., 2012).

**Figura 2.** Tautomerismo ceto-enol da CUR.



**Fonte:** Adaptado de Farooqui; Farooqui (2019).

A cúrcuma é um pó de cor amarelo-alaranjado, utilizado como desde tempos remotos como corante, tempero alimentar e na medicina asiática para tratar doenças do estômago e do fígado. A CUR, principal componente deste pó, foi isolada mais de dois séculos atrás, e na década de 1970, diversas atividades farmacológicas deste ativo, como antidiabética, anti-inflamatória e redutora de colesterol, foram descobertas (FAROOQUI; FAROOQUI, 2019).

A CUR também apresenta atividade antifúngica potente atribuída a mecanismos que incluem a geração de espécies livres de oxigênio (EROs) e indução de apoptose das células,

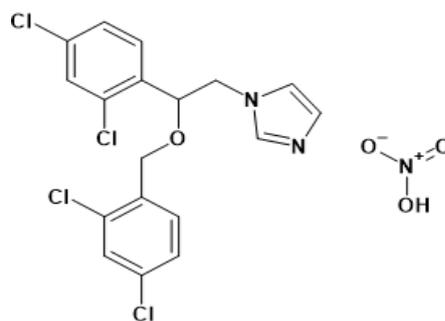
alteração na síntese do ergosterol e na permeabilidade da membrana plasmática. Além disso, este composto também é capaz de reduzir a secreção de proteinases aspárticas por *C. albicans*, de inibir a transição de levedura para hifa, através da ligação ao supressor TUP1, e modular as bombas de efluxo ABC, responsáveis pela resistência aos antifúngicos comerciais (ANDRADE et al., 2019; KUMAR et al., 2014; SHARMA et al., 2010).

Apesar da sua gama de efeitos biológicos e da atividade antifúngica potencial para a aplicação no tratamento da CVV, a baixa biodisponibilidade da CUR, seu rápido metabolismo e eliminação, além da mínima solubilidade em água e da instabilidade frente à luz e a meios alcalinos, comprometem seu uso clínico. Pensando nisso, sistemas de liberação modificados, como nanopartículas, hidrogéis, nanogéis e nanoemulsões, podem ser úteis contornar as limitações físico-químicas e farmacocinéticas da administração da CUR (STANIĆ et al., 2017).

### 2.3.3 Miconazol (MCZ)

O miconazol (Figura 3), 1-(2,4-dicloro-β-[(2,4-diclorobenzil oxil)]fenetil)imidazol, é um antifúngico pertencente à classe dos imidazóis, utilizado como base ou sal de nitrato para tratar infecções micóticas como candidíase superficial, pitiríase versicolor e dermatofitose. Possui amplo espectro de ação, mas tem uso limitado devido à sua baixa solubilidade em água (0,1 mg/mL) e biodisponibilidade imprevisível (AL-MAGHRABI et al., 2020; CERDEIRA; MAZZOTI; GANDER, 2010).

**Figura 3.** Estrutura química do MCZ.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

O MCZ é um fármaco de caráter lipofílico que possui alta permeabilidade e está classificado na classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade) do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. É um antifúngico de meia-vida curta, administrado por via tópica e associado a efeitos adversos locais, como irritação e sensibilidade na pele, sensação de queimação, eritema e até erupção cutânea (SHAH et al., 2017).

A atividade antifúngica do MCZ ocorre primordialmente pela inibição da biossíntese do ergosterol, principal esterol da membrana celular dos fungos, através do bloqueio da enzima 14- $\alpha$ -lanosterol desmetilase, pertencente ao complexo CYP450. A redução do ergosterol e o acúmulo de esteróis e de metabólitos tóxicos tornam a membrana celular mais permeável e fluida. O MCZ é o único azol capaz de inibir outras enzimas de membrana, como a peroxidase e a catalase, resultando em um aumento na produção de EROs e na consequente alteração nas organelas celulares, gerando necrose celular. Em baixas concentrações (0,01  $\mu\text{g/mL}$ ) a atividade é fungistática, enquanto em maiores concentrações (1-50  $\mu\text{g/mL}$ ), é fungicida (PIÉRARD et al., 2012).

Diferentemente do que ocorre com outros antibióticos e com outros azóis, como o fluconazol, a resistência fúngica ao MCZ permanece baixa, tanto em experimentos laboratoriais quanto em isolados clínicos, o que pode ser atribuído ao seu uso exclusivamente tópico e ao seu mecanismo de ação multidirecionado. No entanto, a formação de biofilmes pelas cepas fúngicas é capaz de impedir a atividade do MCZ, mesmo sem a resistência ao fármaco ser confirmada nas células (PIÉRARD et al., 2012).

Diante do exposto, novos sistemas de liberação, como nanopartículas, preparados com sistemas poliméricos biodegradáveis, podem ser eficazes para aprimorar a farmacocinética do MCZ, reduzir a sua dose e, conseqüentemente, os efeitos adversos, além de contribuir para liberação sustentada do ativo (AMARAL et al., 2019). A combinação de MCZ com outros compostos, sintéticos ou de origem natural, é capaz de diminuir as concentrações necessárias do fármaco para a terapia antifúngica e de inibir fatores como a formação do biofilme por *C. albicans*, aumentando a atividade do imidazol (MO et al., 2020; TITS et al., 2020).

#### **2.4 Sistemas Híbridos Orgânico-Inorgânicos**

Os sistemas híbridos orgânicos-inorgânicos são materiais multifuncionais que apresentam as vantagens dos óxidos inorgânicos, como alta estabilidade mecânica, estrutural e térmica, associadas as características dos polímeros orgânicos, como flexibilidade e variedade funcional (DÍAZ; CORMA, 2018). Além disso, esses materiais conferem inúmeras possibilidades atribuídas pelo acoplamento do estado coloidal com as propriedades físico-químicas de sistemas biológicos e de fluidos complexos, o que desperta o interesse para sua utilização em diversas áreas pela indústria e pela academia (FAUSTINI et al., 2018).

Uma das aplicações desses materiais encontra-se na indústria farmacêutica. Híbridos orgânicos-inorgânicos que possuem fase inorgânica formada por sílica são alternativas de baixo custo e de fácil aplicação que podem ser utilizadas para incorporar uma variedade de

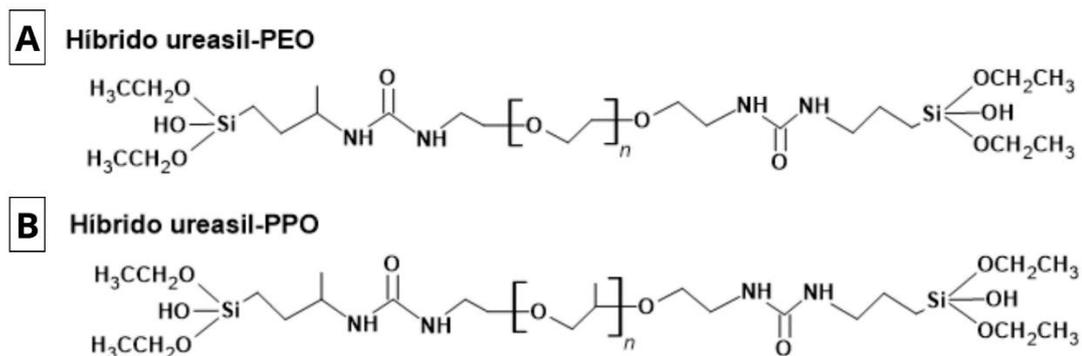
medicamentos. O caráter macroporoso desses sistemas lhes confere vantagens no encapsulamento e na liberação dos fármacos, podendo ser aplicáveis tanto para distribuição sistêmica quanto para administração local (OSHIRO et al., 2018).

#### 2.4.1 Sistemas Híbridos Ureasil-Poliéter (U-PEO e U-PPO)

Os materiais poliméricos representam alternativas aplicáveis no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, que têm ganhado destaque pela sua capacidade de incorporar fármacos lipofílicos e hidrofílicos, de aumentar a permanência na corrente sanguínea e de garantir mais segurança ao tratamento. O poli(óxido de etileno) (PEO) é um polímero de caráter hidrofílico, com alta capacidade de intumescimento e boa estabilidade em pH biológico. Por sua vez, o poli(óxido de propileno) (PPO), apresenta caráter hidrofóbico, devido a presença de um grupo metil adicional em sua cadeia (OSHIRO JUNIOR et al., 2016a).

Os sistemas híbridos ureasil-poliéter são constituídos por cadeias de PEO ou PPO e unidades de siloxano (Figura 4). A união das características da fase inorgânica com as da fase polimérica, como alta flexibilidade e possibilidade de modificar o peso molecular, permite que esses materiais sejam moldados em formas farmacêuticas distintas. Ademais, a presença de grupos formadores de ligações de hidrogênio, como –OH e –COOH, permite a interação destes com o substrato biológico, garantindo uma capacidade bioadesiva aos híbridos (OSHIRO JUNIOR et al., 2015).

**Figura 4.** Estrutura química de U-PEO (A) e U-PPO (B).



**Fonte:** Adaptado de Oshiro Junior et al. (2015).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Desenvolver sistemas híbridos do tipo ureasil-poliéter incorporados com curcumina e miconazol, potencialmente aplicáveis no tratamento da candidíase vulvovaginal causada por *C. albicans*.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Preparar e realizar a caracterização físico-química dos materiais híbridos ureasil-poliéter com e sem curcumina e miconazol;
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de curcumina e miconazol contra *C. albicans*;
- Estimar a interação do efeito entre curcumina e miconazol através do método *checkerboard*.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados entre Dezembro de 2021 e Abril de 2022 no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF), no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), e no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 *Matérias primas*

- Água destilada;
- Ágar Sabouraud-Dextrose (Lote: 012519506 – Kasvi®, Itália);
- Álcool etílico PA (Lote: 155147 – LabSynth®, Diadema, SP, Brasil);
- Álcóxido modificado 3-isocianatopropiltriétoxissilano (IsoTrEOS) (Lote: BCBZ6236 – DAS, Sigma Aldrich®, Cotia, SP, Brasil);
- 2-aminopropil propilenoglicol-polietileno (Lote: BCBH5375V – Sigma Aldrich®, SP, Brasil);
- 2-aminopropiléter propilenoglicol (Lote: MKBN7686V – Sigma Aldrich®, SP, Brasil)
- Caldo Sabouraud-Dextrose (Lote: 091217505 – Kasvi®, PR, Brasil)
- Curcumina (Sigma Aldrich®, SP, Brasil);
- Solução de HCl 2M;
- Nitrato de Miconazol (Sigma Aldrich®, SP, Brasil).

#### 4.1.2 *Equipamentos*

- Analisador térmico Shimadzu™ – DTA-60 (Número de série: C205651 – Barueri, SP, Brasil);
- Balança semi-analítica AW220 – Shimadzu (Número de série: B12917113 – Quioto, Honshu, Japão);
- Destilador de água Pilsen SP5L – SPBALOR (Número de série: 03616/116 – Vila Formosa, Prudente, Brasil);
- Espectrômetro Spectrum 400 – PerkinElmer (Waltham, MA, Estados Unidos);
- Termobalança Shimadzu™ – TGA-50 (Número de série: C305651 – Barueri, SP, Brasil).

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Síntese dos materiais híbridos ureasil-poliéter com e sem IFAs

Os precursores híbridos PEO500 e PPO400 foram obtidos pelo método sol-gel, através da reação entre um alcóxido modificado 3-isocinatopropiltriétoxisilano (IsOTrEOS) e os polímeros funcionalizados, poli(óxido de etileno), de massa molecular igual a 500 g.mol<sup>-1</sup>, e poli(óxido de propileno), de massa molecular 400 g.mol<sup>-1</sup>, respectivamente. A mistura dos reagentes foi realizada na proporção 1:2 (polímero:alcóxido) e mantida sob refluxo em etanol por 24 horas à 70 °C. Em seguida, o solvente foi evaporado sob vácuo em um rotaevaporador a 80 °C por cerca de 15 minutos.

Após a obtenção dos precursores, reações de hidrólise e condensação foram realizadas para a formação de membranas híbridas, utilizando para isso, 0,75 g de precursor, 500 µL de etanol, 50 µL de água e 15 µL de agente catalisador (HCl 2M), misturados nesta ordem sob agitação a 290 rpm em agitador magnético por 3 minutos.

As membranas incorporadas com curcumina e miconazol foram preparados com 0,0225 g de cada, aos quais adicionou-se os mesmos volumes de etanol e água citados anteriormente, sob agitação. Após 1 minuto, o conteúdo foi vertido em 0,75 g de precursor PEO500 e PPO400, e o mesmo período foi aguardado até que o volume previsto de HCl 2M fosse adicionado, com a amostra ainda sob agitação a 290 rpm em agitador magnético até a formação das membranas.

### 4.2.2 Caracterização físico-química dos materiais híbridos contendo CUR e MCZ

#### 4.2.2.1 Termogravimetria (TG)

As curvas de curcumina, miconazol e dos materiais híbridos com e sem IFAs foram obtidas em uma termobalança Shimadzu<sup>TM</sup> (TGA-50), sob atmosfera de nitrogênio com razão de fluxo de 100 mL/min. Em média 10 mg de cada amostra foram colocadas em cadinhos de alumina e submetidas a aquecimento no intervalo de temperatura entre 40 e 900 °C, com razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>.

#### 4.2.2.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas de DTA foram obtidas em um analisador térmico Shimadzu<sup>TM</sup> (DTA-60), sob atmosfera de nitrogênio com razão de fluxo de 100 mL/min e razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, na faixa de temperatura entre 40 e 400 °C. Aproximadamente 2 mg das amostras foram pesadas e colocadas em cadinhos de alumínio posteriormente selados com auxílio de uma prensa manual.

#### 4.2.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR das amostras foram obtidos em um espectrômetro de infravermelho (Spectrum 400 - Perkin Elmer, EUA) com varredura na faixa de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Os dados foram analisados pelo software Origin® (versão 8.5).

### 4.2.3 Ensaios de atividade antimicrobiana

#### 4.2.3.1 Preparação do inóculo de *C. albicans*

A avaliação *in vitro* da atividade antifúngica foi realizada utilizando a linhagem de referência de *C. albicans* ATCC 10231 obtida da American Type Culture Collection (ATCC). *C. albicans* foi mantida em caldo de levedura com base de nitrogênio (YNB, Sigma Aldrich®, EUA) suplementado com D - (+) - glicose 100 mM (Sigma Aldrich®, EUA). O microrganismo, em seguida, foi subcultivado em placas Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Sigma Aldrich®, EUA) e incubado a 37 °C por 48 h para crescimento de colônias.

O inóculo do microrganismo foi preparado com colônias crescidas em ágar Sabouraud-Dextrose por 24 horas a 35-37 °C suspensas em caldo Sabouraud-Dextrose (Kasvi®). Em seguida, a suspensão foi padronizada em espectrofotômetro a 530 nm a fim de se obter uma concentração equivalente a  $5 \times 10^6$  UFC/mL. Para a realização dos testes abaixo, a suspensão foi diluída em caldo para uma concentração final de  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL.

#### 4.2.3.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com a norma M27-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

O ensaio foi realizado em uma microplaca de 96 poços com fundo chato. Inicialmente, os poços foram preenchidos com 100  $\mu\text{L}$  de caldo Sabouraud-Dextrose (Kasvi®). Em seguida, acrescentou-se 100  $\mu\text{L}$  das soluções de curcumina e miconazol, preparadas em dimetilsulfóxido a 10%. Procedeu-se a realização de diluições seriadas de 1024 a 0,03125  $\mu\text{g/mL}$  para curcumina e de 5 a 0,00015269  $\mu\text{g/mL}$  para miconazol. Por fim, um volume equivalente a 5  $\mu\text{L}$  da suspensão de *C. albicans* ATCC 10231 foi inoculado. Como controles positivos foram utilizados caldo Sabouraud-Dextrose misturado às soluções de curcumina e de miconazol, enquanto o caldo isolado representou o controle negativo. O controle de crescimento foi realizado com o meio e a suspensão do fungo. A microplaca foi incubada em estufa bacteriológica a 35-37 °C por 24-48 horas.

A revelação do teste foi realizada após 24 e 48 horas pela adição de 40 µL de resazurina a 0,01% (Sigma Aldrich®) previamente filtrada em membrana 0,22 µm e a mudança de coloração de roxo para rosa evidenciou o crescimento de *C. albicans* nos orifícios. As CIMs foram definidas como a menor concentração dos IFAs capaz de inibir o crescimento do microrganismo testado.

As concentrações testadas na microplaca ainda foram avaliadas quanto a sua capacidade inibitória através do semeio do conteúdo dos poços em placas de Petri contendo ágar Sabouraud-Dextrose (Kasvi®), seguida de incubação por 24 horas a 35-37 °C.

#### 4.2.3.3 Ensaio checkerboard para avaliação de sinergismo

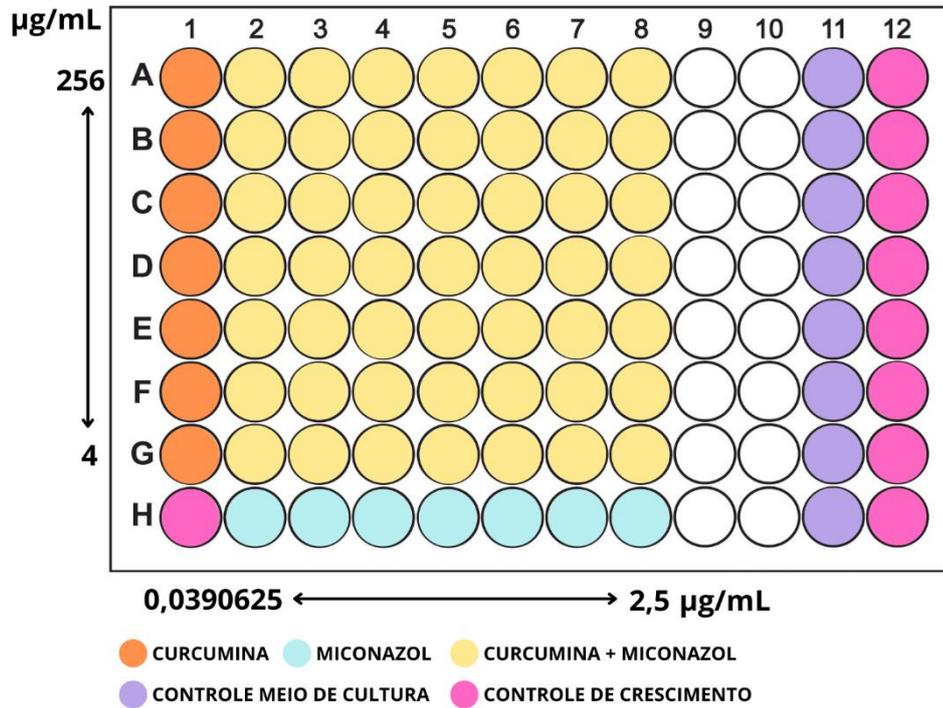
A interação dos efeitos de curcumina e miconazol frente a *C. albicans* ATCC 10231 foi avaliada pelo método *checkerboard*, seguindo a metodologia descrita por Pillai, Moellering & Eliopoulos (2005), com adaptações.

As soluções dos IFAs foram preparadas em dimetilsulfóxido a 10% e diluídas serialmente em caldo Sabouraud-Dextrose (Kasvi®) antes de serem adicionadas aos poços da microplaca. A coluna nº 1 foi preenchida até o poço G com 100 µL das diluições de curcumina, de forma decrescente, de modo que as concentrações finais atingissem 256 a 4 µg/mL. A fileira H foi preenchida da coluna nº 2 a nº 8 com as diluições de miconazol, de forma crescente, com as concentrações finais compreendidas entre 2,5 e 0,0390625 µg/mL. Os poços compreendidos da coluna nº 2 a nº 8 foram preenchidos até a linha G com 50 µL das respectivas diluições de curcumina e de miconazol, seguindo a ordem de concentrações previamente adicionadas. Em seguida, 100 µL do inóculo de *C. albicans* foi adicionado aos poços.

A coluna nº 11 foi reservada para o controle de meio de cultura caldo Sabouraud-Dextrose, enquanto a coluna nº 12 e o poço 1H foram preenchidos com o controle de crescimento fúngico. A microplaca foi incubada por 24-48 horas a 35-37 °C e o resultado foi revelado pela adição de 40 µL de resazurina a 0,01%, indicador do crescimento de microrganismos.

O esquema da microplaca para o teste de avaliação do sinergismo está demonstrado na Figura 5.

**Figura 5.** Ensaio *checkerboard* para avaliar o sinergismo entre CUR e MCZ.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

A avaliação da interação dos IFAs foi calculada pelo índice de concentração inibitória fracionada (ICIF), conforme a equação abaixo:

$$ICIF = CIF_{CUR} + CIF_{MCZ} = \frac{CIM_{CUR\ COMBINADA}}{CIM_{CUR\ ISOLADA}} + \frac{CIM_{MCZ\ COMBINADO}}{CIM_{MCZ\ ISOLADO}}$$

Segundo Pillai, Moellering & Eliopoulos (2005), valores de ICIF iguais ou inferiores a 0,5 indicam sinergismo entre os ativos, enquanto valores iguais a 1 e 2 sugerem efeito aditivo e antagônico, nesta ordem.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Obtenção dos materiais híbridos ureasil-poliéter com e sem IFAs

Os materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO400 foram obtidos pelo processo sol-gel e moldados na forma de membranas circulares, que apresentaram aspecto homogêneo e transparente, sem a presença de rachaduras ou fissuras após a secagem. A Figura 6 apresenta as características visuais das membranas híbridas puras e incorporadas com CUR e MCZ.

**Figura 6.** Materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO400 puros (A, B), com CUR (C, D), com MCZ (E, F) e com CUR e MCZ (G, H).



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

**Legenda:** U-PEO500: Membrana híbrida de ureasil-polióxido de etileno (A); U-PPO400: Membrana híbrida de ureasil-polióxido de propileno (B); U-PEO + CUR: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Curcumina a 3% (C); U-PPO + CUR: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina a 3% (D); U-PEO + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Miconazol (E); U-PPO + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Miconazol (F); U-PEO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Curcumina e Miconazol a 3% (G); U-PPO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina e Miconazol a 3% (H).

O método sol-gel permite a obtenção de híbridos com tamanho, poros e área de superfície controlada. Contudo, a evaporação do solvente pode causar uma contração abrupta no material e levar a um estresse interno que resulta em fissuras ou rachaduras na membrana final (OSHIRO JUNIOR et al., 2016b). Sendo assim, a uniformidade das características macroscópicas é fundamental para indicar a eficiência do processo de obtenção desses materiais.

Além disso, a observação visual (Figura 6) demonstrou que todos os ativos foram incorporados completamente na matriz quando adicionados em uma proporção máxima de 3%

em relação à massa do precursor, de modo que não foi observada precipitação de partículas de CUR ou MCZ. O mesmo comportamento foi observado na literatura, quando U-PEO500 foi incorporado com CUR e com micelas contendo 3% de CUR, e o material final apresentou-se límpido e homogêneo (NICOLAU COSTA et al., 2021).

As membranas dos precursores híbridos isolados (Figuras 6A e 6B) apresentaram-se transparentes, enquanto aquelas contendo CUR (Figuras 6C e 6D) adquiriram a coloração alaranjada dessa substância. Quando o MCZ (Figuras 6E e 6F) foi incorporado, as membranas tornaram-se turvas devido à distribuição do fármaco no material. Na membrana de U-PEO com CUR e MCZ (Figura 6G) é possível perceber uma coloração vermelho escura, característica da curcumina quando desprotonada.

Além das características visuais, também foram analisados os parâmetros de peso, diâmetro e espessura das membranas finais, conforme exposto na Tabela 1.

**Tabela 1.** Peso, diâmetro e espessura das membranas híbridas de U-PEO e U-PPO com e sem CUR e MCZ.

Membrana	Peso (g)	Diâmetro (cm)	Espessura (cm)
U-PEO500	0,61 ± 0,008	1,75 ± 0,07	0,20
U-PEO + CUR 3%	0,61 ± 0,010	1,90 ± 0,1	0,20
U-PEO + MCZ 3%	0,67 ± 0,070	1,80	0,20
U-PEO + CUR + MCZ 3%	0,65 ± 0,030	2,20	0,20
U-PPO400	0,53 ± 0,020	1,65 ± 0,07	0,20
U-PPO + CUR 3%	0,56 ± 0,002	1,90	0,20
U-PPO + MCZ 3%	0,56 ± 0,001	1,80	0,20
U-PPO + CUR + MCZ 3%	0,57 ± 0,008	1,80	0,20

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: U-PEO500: Ureasil-polióxido de etileno; U-PEO + CUR: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Curcumina; U-PEO + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Miconazol; U-PEO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Curcumina e Miconazol; U-PPO400: Ureasil-polióxido de propileno; U-PPO + CUR: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina; U-PPO + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Miconazol; U-PPO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina e Miconazol. Valores expressos em média e desvio padrão (n = 3).

A redução do peso das membranas em relação a massa do precursor adicionada na inicialmente ocorre devido a perdas durante o processo de produção e à evaporação do etanol e da água durante o processo de secagem. A correspondência entre as medidas obtidas e os baixos valores de desvio padrão refletem a reprodutibilidade do método e apontam para a capacidade da produção em maior escala de formas farmacêuticas sólidas a partir dos materiais híbridos.

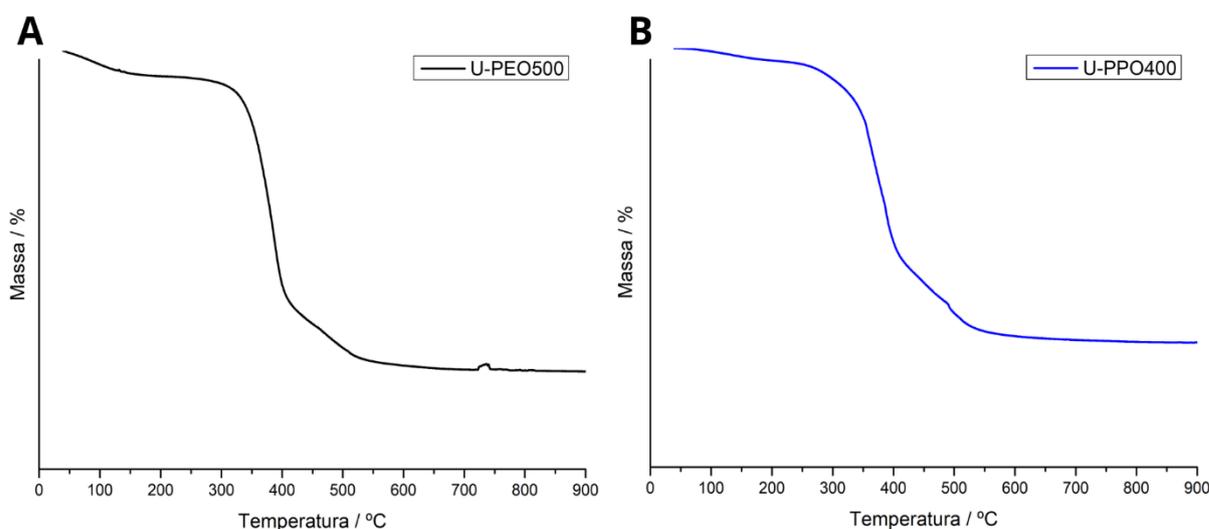
## 5.2 Caracterização físico-química dos materiais híbridos com e sem CUR e MCZ

### 5.2.1 Termogravimetria (TG)

Os parâmetros termogravimétricos de CUR, MCZ e dos precursores híbridos puros e incorporados com os IFAs estão apresentados nas Figuras 7-9 e na Tabela 2. A curva de TG do precursor híbrido U-PEO500 (Figura 7A) apresenta três etapas de decomposição térmica. A primeira ocorre entre 57,49-161,37 °C com perda de massa de 13,41%, atribuída à evaporação de água e de etanol. O principal evento térmico ocorre em 268,33-431,39 °C com perda de 58,45% devido à decomposição das unidades ureasil. O último estágio ocorre entre 446,73-545,79 °C com 26,04% de perda de massa.

O perfil termogravimétrico do U-PPO400 (Figura 7B) mostrou-se semelhante, com três eventos térmicos, sendo o primeiro entre 42,08 e 223,93 °C com perda de 3,31% referente à desidratação e perda do solvente. O principal estágio de decomposição ocorre em 228,31-489,47 °C com perda de 57,74%. O último evento térmico em 492,10-782,46 °C cursa com redução de 8,41% de massa. Observou-se um resíduo final de 3,2032 mg (30,53%).

**Figura 7.** Curvas de TG dos precursores híbridos U-PEO500 (A) e U-PPO400 (B).



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: U-PEO500: Material híbrido ureasil-polióxido de etileno; U-PPO400: Material híbrido ureasil-polióxido de propileno.

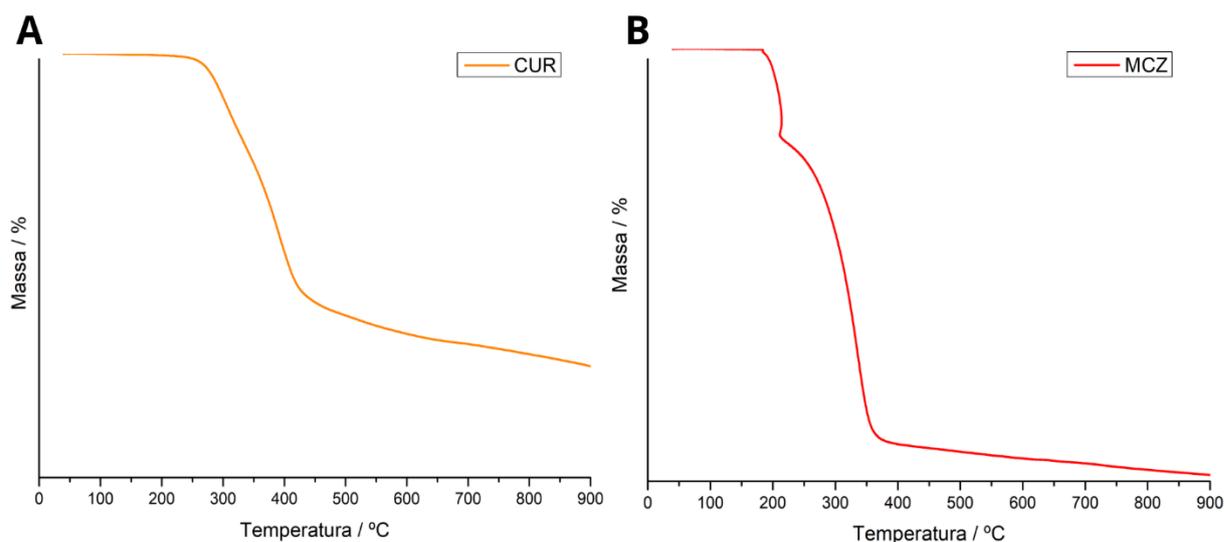
A curva de TG da CUR (Figura 8A) apresentou dois eventos térmicos de decomposição. Até 200 °C o ativo se manteve estável e não houve perda de massa referente à desidratação, o que atesta que a amostra estava totalmente seca. O primeiro evento ocorre em 239,12-443,28 °C com perda de 56,01%. O segundo estágio ocorre em 440,73-900 °C com 16,03% de perda e formação de um resíduo final de 2,9083 mg (27,95%). Segundo Chen, Z., et al. (2014), a

primeira e segunda etapas são referentes à decomposição de grupos substituintes e dos anéis aromáticos da CUR, respectivamente.

Por sua vez, a curva termogravimétrica do MCZ, na Figura 8B, exibiu decomposição térmica em três estágios. O primeiro ocorre entre 180,42 e 214,16 °C com perda de 20,49%. O segundo refere-se ao principal evento termogravimétrico e ocorre em 219,42-356,56 °C com 65,72% de perda de massa. A última etapa de decomposição, entre 361,40 e 900 °C cursa com perda de 10,01%, restando um resíduo de 0,4048 mg (3,75%). Esses dados corroboram com aqueles encontrados em Tejada et al. (2018), que atribuem o pico largo em 309 °C com ombro em cerca de 200 °C como o principal evento termogravimétrico do fármaco.

O primeiro evento térmico do MCZ pode ser atribuído à perda de  $C_3H_3N_2$  e HCl na forma de gases, ao passo que o segundo e terceiro eventos correspondem à liberação do restante da molécula,  $C_{15}H_{10}Cl_3O$ . O MCZ tem decomposição térmica completa, que ocorre na forma de liberação de gases, entre os quais estão  $N_2$ , CO,  $CO_2$  e  $NH_3$  (ABD EL-HALIM et al., 2012).

**Figura 8.** Curvas de TG de CUR (A) e de MCZ (B).



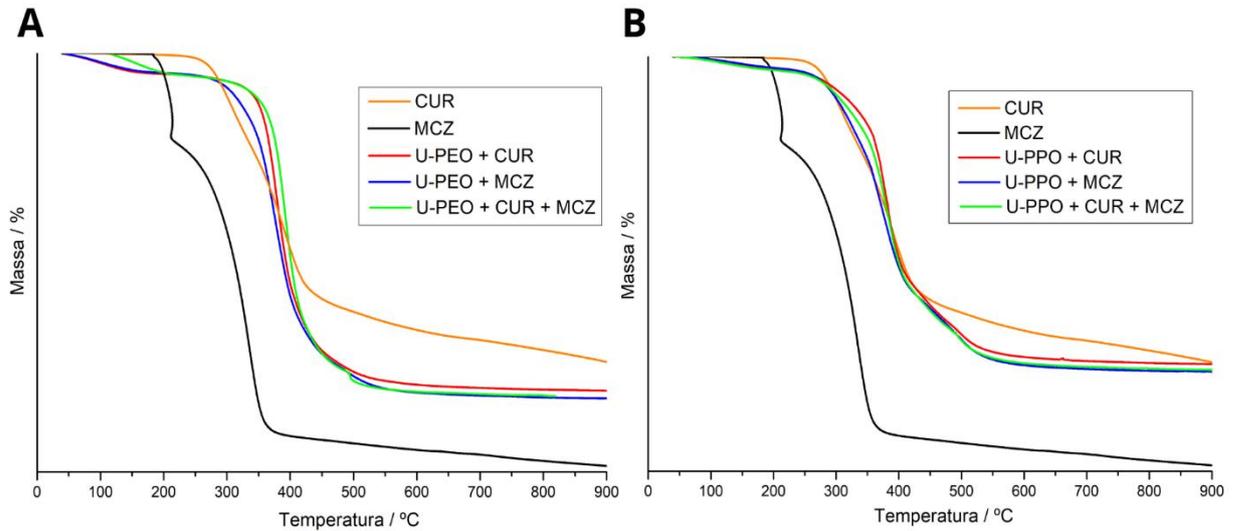
**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol.

As curvas de TG do U-PEO (Figura 9A) e U-PPO (Figura 9B) contendo CUR e MCZ apresentaram três eventos térmicos, sendo o primeiro referente à perda de água e solvente (40-63 °C), e o segundo e terceiro relacionados à decomposição térmica dos materiais incorporados, ocorrendo entre 230-273 °C e 435-900 °C, respectivamente. Não foram observados sinais de incompatibilidade entre os híbridos e os ativos. Além disso, a estabilidade térmica de ambos os fármacos aumentou após a dispersão nos materiais, o que é indicado pelo aumento da temperatura do evento de decomposição principal e da maior massa residual, especialmente de

MCZ, que tinha decomposição praticamente completa quando isolado. Tal melhora se deve à mais alta estabilidade dos materiais híbridos que, portanto, fornecem proteção térmica aos IFAs dispersos em suas matrizes.

**Figura 9.** Curvas de TG de CUR e MCZ incorporados no material híbrido U-PEO500 (A) e U-PPO400 (B).



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; U-PEO + CUR: Ureasil-polióxido de etileno contendo Curcumina; U-PEO + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno contendo Miconazol; U-PEO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno contendo Curcumina e Miconazol; U-PPO + CUR: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina; U-PPO + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Miconazol; U-PPO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de polipropileno contendo Curcumina e Miconazol.

**Tabela 2.** Parâmetros termogravimétricos de CUR, MCZ e dos materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO puros e incorporados com os IFAs. (continua)

Amostra	Evento	T <sub>Início</sub> -T <sub>Final</sub> (°C)	Perda de massa (%)
U-PEO500	Primeiro	57,49-161,37	13,41
	Segundo	268,33-431,39	58,45
	Terceiro	446,76-545,79	26,04
U-PPO400	Primeiro	42,08-223,93	3,31
	Segundo	228,31-489,47	57,74
	Terceiro	492,10-782,46	8,41
CUR	Primeiro	239,12-433,28	56,01
	Segundo	440,73-900	16,03

(conclusão)

<b>Amostra</b>	<b>Evento</b>	<b>T<sub>Início</sub>-T<sub>Final</sub> (°C)</b>	<b>Perda de massa (%)</b>
MCZ	Primeiro	180,42-214,16	20,49
	Segundo	219,42-356,58	65,72
	Terceiro	361,40-900	10,04
U-PEO500 + CUR 3%	Primeiro	45,08-272,08	5,67
	Segundo	273,01-436,85	62,71
	Terceiro	446,05-900	10,25
U-PEO500 + MCZ 3%	Primeiro	40,10-259,70	5,45
	Segundo	261,46-429,78	62,36
	Terceiro	435,04-900	13,33
U-PEO500 + CUR + MCZ 3%	Primeiro	43,50-266,66	6,44
	Segundo	267,54-502,98	69,65
	Terceiro	505,61-900	4,35
U-PPO400 + CUR 3%	Primeiro	51,95-247,66	3,88
	Segundo	250,29-487,16	61,05
	Terceiro	488,91-900	8,77
U-PPO400 + MCZ 3%	Primeiro	63,06-205,85	2,72
	Segundo	236,94-509,38	66,34
	Terceiro	511,13-900	6,08
U-PPO400 + CUR + MCZ 3%	Primeiro	51,23-226,34	3,55
	Segundo	230,28-489,01	62,77
	Terceiro	493,83-887,84	8,16

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; U-PEO + CUR: Ureasil-polióxido de etileno contendo Curcumina; U-PEO + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno contendo Miconazol; U-PEO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno contendo Curcumina e Miconazol; U-PPO + CUR: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina; U-PPO + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Miconazol; U-PPO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de polipropileno contendo Curcumina e Miconazol.

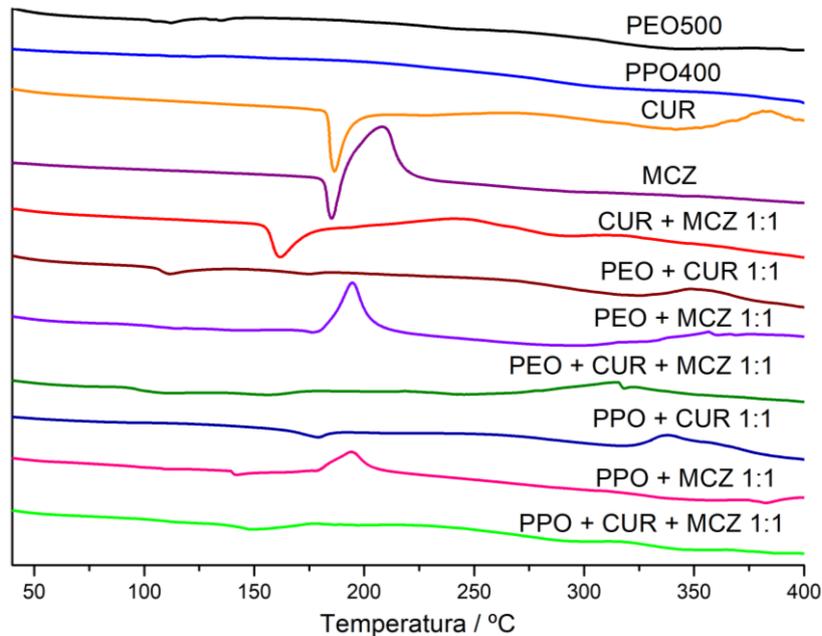
### 5.2.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A Figura 10 e a Tabela 3 mostram, respectivamente, as curvas e os parâmetros de DTA dos IFAs e dos precursores híbridos puros e incorporados com CUR e MCZ.

O PEO e o PPO têm caráter amorfo e não apresentam temperatura de fusão definida e nenhum pico de evento significativo foi observado em suas curvas (MOURA et al., 2015). Quando a combinação dos híbridos com a mistura binária dos ativos foi analisada, a

característica dos precursores predominou, o que sugere uma interação entre estes e CUR e MCZ.

**Figura 10.** Curvas de DTA de CUR, MCZ, mistura binária CUR + MCZ 1:1 e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 puros e combinados com os IFAs.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: PEO500: Precursor híbrido ureasil-polióxido de etileno; PPO400: Precursor híbrido ureasil-polióxido de propileno; CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de Curcumina e Miconazol; PEO + CUR 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de etileno e Curcumina na proporção 1:1; PEO + MCZ: Precursor híbrido ureasil-polióxido de etileno e Miconazol na proporção 1:1; PEO + CUR + MCZ 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de etileno e mistura binária de Curcumina e Miconazol na proporção 1:1; PPO + CUR 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de propileno e Curcumina na proporção 1:1; PPO + MCZ 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de propileno e Miconazol na proporção 1:1; PPO + CUR + MCZ 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de propileno e mistura binária de Curcumina e Miconazol na proporção 1:1.

A CUR apresenta um pico endotérmico em 186,41 °C com entalpia  $\Delta H = -77,11$  J/g, que corresponde ao seu ponto de fusão. O segundo evento é exotérmico, com  $T_{\text{pico}}$  igual a 381,34 °C e  $\Delta H = 23,79$  J/g. Segundo Fugita et al. (2012), esse evento está relacionado à decomposição térmica da CUR.

Na curva do MCZ, também foram observados um pico endotérmico e outro exotérmico. O primeiro, em 185,29 °C, refere-se à fusão do ativo, com entalpia igual a -42,81 J/g. O segundo pico, em 208,25 °C ( $\Delta H = 138,04$  J/g), é exotérmico e pode ser atribuído à recristalização parcial resultante de transição de segunda ordem para o estado fundido a partir de um estado amorfo (KENECHUKWU et al., 2018).

O termograma da mistura binária de CUR e MCZ 1:1 apresentou um único pico endotérmico único em 161,79 °C ( $\Delta H = -58,99$  J/g), referente à fusão dos ativos. A redução da

temperatura de fusão em mais de 20 °C, associada ao desaparecimento dos picos exotérmicos anteriormente apresentados pelos IFAs, pode indicar incompatibilidade física entre eles.

Na curva da mistura de CUR com os precursores híbridos, foi observado que o PEO antecipou o pico endotérmico da CUR ( $T_{\text{pico}} = 111,67$  °C), o que indica incompatibilidade térmica entre este híbrido puro e o composto. Contudo, no material PPO, o evento de fusão apresentou valores em 178,96 °C.

Na mistura do MCZ com os precursores híbridos, os picos exotérmicos do IFA foram sutilmente antecipados, enquanto os endotérmicos não foram registrados. Esse comportamento está em conformidade com o encontrado por Tejada et al. (2017), que explicam que o fármaco pode ter passado de um estado cristalino para um amorfo ou foi disperso na matriz polimérica.

**Tabela 3.** Parâmetros de DTA de CUR, MCZ e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 puros e combinados com os IFAs.

Amostra	$T_{\text{pico}}$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
CUR	186,41	-77,11
	381,34	23,79
MCZ	185,29	-42,81
	208,25	138,04
CUR + MCZ 1:1	161,79	-58,99
PEO + CUR 1:1	111,67	-4,66
	348,84	14,17
PEO + MCZ 1:1	194,52	337,25
PPO + CUR 1:1	178,96	-3,25
	338,13	4,03
PPO + MCZ 1:1	194,17	23,95

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

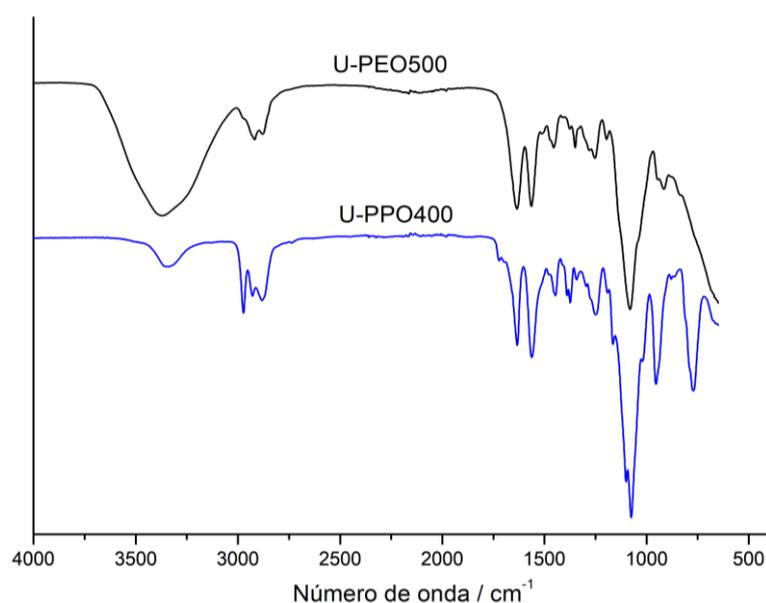
Legenda:  $T_{\text{pico}}$ : Temperatura de pico;  $\Delta H$ : Variação de entalpia; CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de Curcumina e Miconazol; PEO + CUR: Precursor híbrido ureasil-polióxido de etileno e Curcumina na proporção 1:1; PEO + MCZ: Precursor híbrido ureasil-polióxido de etileno e Miconazol na proporção 1:1; PPO + CUR 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de propileno e Curcumina na proporção 1:1; PPO + MCZ 1:1: Precursor híbrido ureasil-polióxido de propileno e Miconazol na proporção 1:1.

### 5.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR dos precursores híbridos U-PEO500 e U-PPO400 estão apresentados na Figura 11. As primeiras bandas são referentes ao estiramento N-H dos grupos ureia e aparecem em  $3370\text{ cm}^{-1}$  e  $3338\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Em cerca de  $2920\text{ cm}^{-1}$  e  $2870$

$\text{cm}^{-1}$  observa-se picos referentes a estiramento  $\text{CH}_2$  assimétrico e simétrico, em ambos os híbridos. O U-PPO apresenta um pico extra em  $3007 \text{ cm}^{-1}$  referente ao seu grupo  $\text{CH}_3$  adicional. As ligações ureia podem ser visualizadas por bandas nas regiões amida I, que aparecem em torno  $1635 \text{ cm}^{-1}$ , enquanto as bandas amida II aparecem em aproximadamente  $1560 \text{ cm}^{-1}$ . Por fim, o pico mais intenso nos dois espectros, em cerca de  $1080 \text{ cm}^{-1}$ , pode ser atribuído ao estiramento de ligações C-O. Esses dados estão em conformidade com aqueles encontrados por Mendes et al. (2021), confirmando a obtenção e caracterização correta desses materiais.

**Figura 11.** Espectros de FTIR dos precursores híbridos U-PEO500 e U-PPO400.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: FTIR: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; U-PEO500: Ureasil-polióxido de etileno; U-PPO400: Ureasil-polióxido de propileno.

Na varredura da curcumina (Figura 12), o espectro exibiu picos característicos de estiramento O-H de hidroxila fenólica em  $3509 \text{ cm}^{-1}$ , estiramento de grupo metilênico em  $2970\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ , estiramento de ligações C=C em  $1625 \text{ cm}^{-1}$ , vibrações C=O e C=C aromáticas em  $1500 \text{ cm}^{-1}$ , além de dobramento C-H em  $1427 \text{ cm}^{-1}$  e estiramento C-O em  $1150 \text{ cm}^{-1}$ . Esses dados estão em conformidade com aqueles encontrados na literatura (CHEN, J., et al., 2018; CHEN, X., et al., 2015).

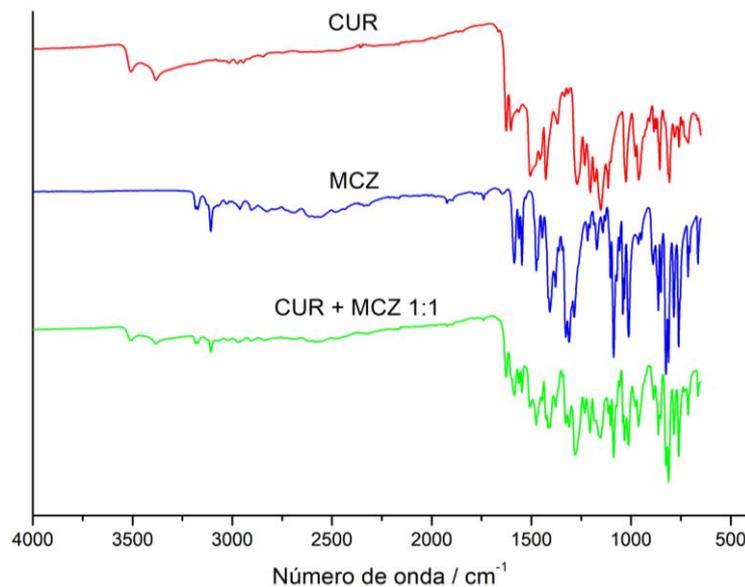
No espectro do miconazol, na Figura 12, o primeiro pico, visualizado em  $3180 \text{ cm}^{-1}$ , é atribuído ao estiramento C-N do anel imidazol, enquanto em  $3100 \text{ cm}^{-1}$  observou-se um pico de maior intensidade referente ao estiramento C-H aromático. Em  $2965$  e  $2905 \text{ cm}^{-1}$ , são visualizados picos de fraca intensidade que podem estar relacionados ao estiramento  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}$ , segundo a literatura (AL-BADR, 2005). Em  $1586 \text{ cm}^{-1}$  há um pico característico de estiramento

C=C aromático e, em sequência, outra banda de mesma intensidade referente ao estiramento C=C do anel imidazol, em  $1545\text{ cm}^{-1}$ , conforme descrito por Barillaro et al. (2005).

O espectro da mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1 também é mostrado na Figura 12. É possível observar que os picos característicos de ambos os IFAs foram preservados, mas aparecem com menor intensidade, o que pode ocorrer pela diminuição da quantidade dos compostos na mistura frente aos espectros deles isolados. Sendo assim, não houve indícios de incompatibilidade química entre os ativos.

A incompatibilidade de misturas binárias é visualizada no FTIR pelo desaparecimento de picos existentes, pelo aparecimento de novas bandas ou por alteração de intensidade ou da região em que o pico de um dos compostos aparece originalmente no espectro. Contudo, é comum que bandas localizadas na mesma região do espectro se sobreponham e dificultem a análise da varredura (ROJEK; WESOŁOWSKI, 2019).

**Figura 12.** Espectros de FTIR de curcumina, miconazol e da mistura binária CUR + MCZ 1:1.



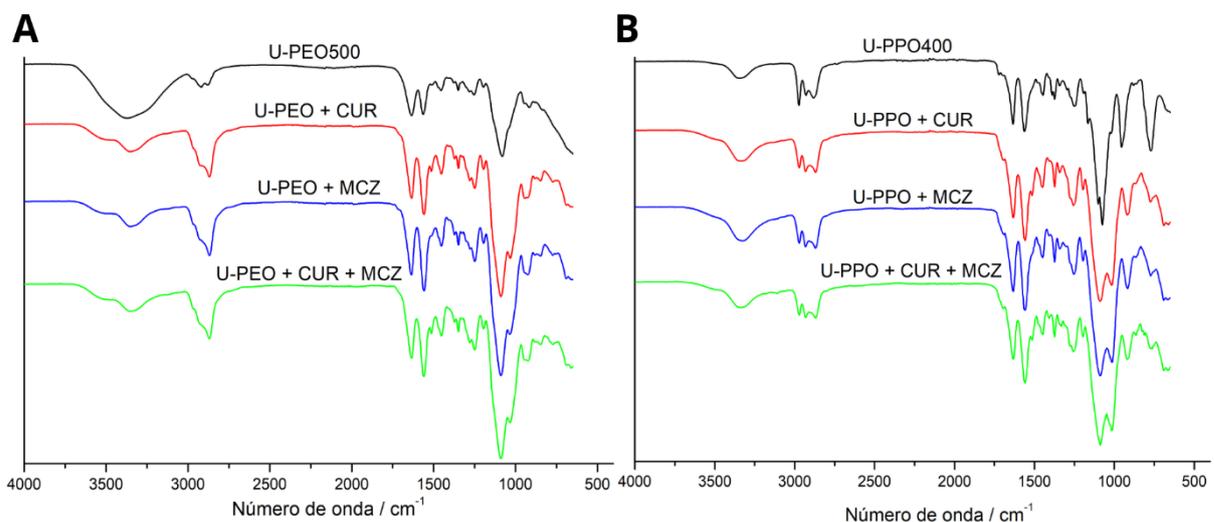
**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: FTIR: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de Curcumina e Miconazol.

Nos espectros de U-PEO incorporado com curcumina, miconazol e ambos, Figura 13A, a modificação das bandas referentes ao estiramento N-H do material e o aumento da intensidade das bandas amida I e II sugere interação dos grupos químicos dos IFAs com os grupos ureia do híbrido por ligações de hidrogênio. Além disso, a observação de um novo pico em cerca de  $2870\text{ cm}^{-1}$ , região referente ao estiramento de grupos  $\text{CH}_2$ , sugere que a estrutura do U-PEO está sendo alterada com a incorporação de CUR e MCZ.

Nas varreduras de U-PPO incorporado com os ativos, Figura 13B, não foram observadas alterações dos picos de estiramento N-H, mas o aumento da intensidade das bandas de amida, em especial amida II, associado a mudança na intensidade das bandas de estiramento C-H também evidenciam mudanças na estrutura do material após a incorporação dos ativos. O aparecimento de um pico em  $1010\text{ cm}^{-1}$  pode indicar interação que os IFAs interagem com este híbrido na região dos grupos oxietilenos, diferentemente de quando incorporados no U-PEO.

**Figura 13.** Espectros de FTIR de U-PEO500 (A) e U-PPO400 (B) incorporados com CUR, MCZ e CUR + MCZ.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: FTIR: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; U-PEO500: Ureasil-polióxido de polietileno; U-PEO + CUR: Ureasil-polióxido de polietileno incorporado com Curcumina; U-PEO + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Miconazol; U-PEO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de etileno incorporado com Curcumina e Miconazol; U-PPO400: Ureasil-polióxido de propileno; U-PPO + CUR: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina; U-PPO + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Miconazol; U-PPO + CUR + MCZ: Ureasil-polióxido de propileno contendo Curcumina e Miconazol.

### 5.3 Ensaios de atividade antimicrobiana

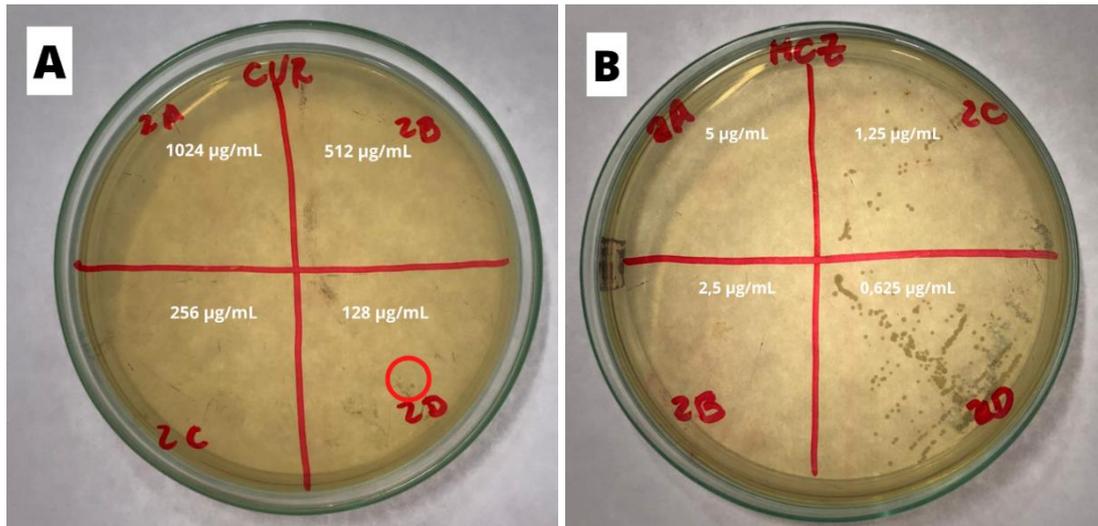
#### 5.3.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antifúngica de CUR e MCZ foi avaliada pelo método de microdiluição com revelação utilizando resazurina a 0,01%. Os resultados dos testes de CIM para ambos os ativos estão expostos na Tabela 4.

As menores concentrações de CUR e MCZ capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* ATCC 10231 foram  $256\text{ }\mu\text{g/mL}$  e  $2,5\text{ }\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Os controles negativo, positivo e de crescimento apresentaram-se adequados. Não houve diferença nos resultados entre as revelações realizadas após 24 e 48 horas de incubação.

Além disso, os valores de CIMs revelados com resazurina foram comprovados pela ausência de crescimento fúngico nas placas de ágar Sabouraud-Dextrose 24 horas após o semeio (Figura 14) e demonstraram a atividade fungicida das CIMs, visto que as concentrações abaixo dos valores inibitórios mínimos encontrados já permitiram mínima proliferação de *C. albicans*.

**Figura 14.** Semeio das concentrações das microplacas de CUR (A) e MCZ (B) em placas de ágar Sabouraud-Dextrose.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; µg/mL: Micrograma por mililitros.

**Tabela 4.** Concentrações inibitórias mínimas (CIM) de CUR e MCZ, representadas em µg/mL.

Microrganismo	Substância teste	CIM (µg/mL)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	CUR	256
	MCZ	2,5

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; µg/mL: Micrograma por mililitros.

Segundo Sartoratto et al. (2004), para compostos naturais, valores de CIM entre 50 e 500 µg/mL são indicativos de excelente atividade antimicrobiana, enquanto valores acima de 600 e 1500 µg/mL indicam atividade moderada e fraca, respectivamente. Aplicando-se esses critérios, é possível denotar que CUR isolada apresentou boa atividade antifúngica no presente estudo.

A CIM do MCZ também apresentou valores compatíveis com o encontrado na literatura, como no estudo de Mo et al. (2020), em que a CIM<sub>50</sub> do ativo foi igual a 2 µg/mL e a CIM<sub>80</sub> igual a 4 µg/mL contra *C. albicans* ATCC 10231.

### 5.3.2 Ensaio checkerboard para avaliação de sinergismo

A interação do efeito de CUR e MCZ frente a *C. albicans* ATCC 10231 foi avaliada pelo método de microdiluição denominado *checkerboard*. Os resultados do teste estão expostos na Tabela 5.

A CIM encontrada CUR isolada, igual a 256 µg/mL, caiu 8 vezes na combinação com MCZ, resultando em 32 µg/mL. Por sua vez, a CIM de MCZ puro, 2,5 µg/mL, apresentou redução de 4 vezes, atingindo um valor igual a 0,625 µg/mL quando o antifúngico azólico foi combinado com o polifenol.

O índice de concentração inibitória fracionada (ICIF), obtido pela soma das CIFs de CUR e MCZ foi calculado em 0,375 e comprovou o efeito sinérgico entre os ativos, que ocorre quando esse valor é menor ou igual a 0,5.

**Tabela 5.** Avaliação do efeito sinérgico entre CUR e MCZ contra *C. albicans*.

Microrganismo	Substância teste	CIM (µg/mL)		ICIF	Resultado
		Isolado	Combinado		
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	CUR	256	32	0,375	Sinergismo
	MCZ	2,5	0,625		

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2022.

Legenda: CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CIM: Concentração Inibitória Mínima; µg/mL: Micrograma por mililitros; ICIF: Índice de Concentração Inibitória Fracionada.

O sinergismo entre CUR e MCZ contribui para o aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelo polifenol em células de *C. albicans*, em concentrações muito menores do que quando isolado. O efeito sinérgico também está associado a apoptose precoce das formas viáveis do fungo. Assim, atuando em diversas vias de sinalização, a terapia combinada com esses agentes também pode ser favorável para evitar a resistência aos azólicos desenvolvida por *Candida* (SHARMA et al., 2010).

Outra vantagem promovida pela associação de CUR e MCZ está relacionada à capacidade do fitoconstituente de modular bombas de efluxo expressas por *C. albicans*, como CaCdr1p e CaCdr2p, sem servir como alvo, mas conseguindo sensibilizar as células fúngicas ao imidazol, evitando sua eliminação pelo microrganismo e a consequente falha na terapia, que também pode contribuir para a emergência de resistência (SHARMA et al., 2009).

O óleo essencial de *Curcuma longa*, da qual a CUR é obtida, também apresentou efeito sinérgico com formulações de cremes antifúngicos comerciais, como clotrimazol 1% (ICIF = 0,5) e terbinafina 1% (ICIF = 0,4). A associação não diminuiu a atividade dos fármacos contra

*C. albicans*, mas complementou sua eficácia clínica, sugerindo que a combinação dos compostos bioativos da planta com os agentes sintéticos pode viabilizar a obtenção de formulações cosméticas para o tratamento de micoses (OGIDI et al., 2021).

A combinação de dois ativos sinérgicos é uma estratégia em potencial para reduzir a dose de um medicamento de eficácia conhecida e, conseqüentemente, sua toxicidade e os efeitos adversos associados ao seu uso. Além disso, a possibilidade de atingir dois ou mais alvos é capaz de proporcionar um controle vigoroso das infecções fúngicas e retardar o desenvolvimento de resistência (CUI et al., 2015).

## 6 CONCLUSÃO

A candidíase vulvovaginal é uma infecção fúngica que afeta mulheres em todo o mundo e está atrelada a impactos econômicos e na saúde pública. Os tratamentos convencionais para candidíase estão associados a efeitos adversos indesejados e podem ser comprometidos pela resistência microbiana. Como uma alternativa terapêutica segura e eficaz, neste trabalho, curcumina e miconazol foram incorporados em sistemas híbridos do tipo ureasil-poliéter para futuro desenvolvimento de formas farmacêuticas de administração vaginal. Os resultados de caracterização físico-química demonstraram que os híbridos aumentaram a estabilidade térmica dos ativos, e que CUR e MCZ apresentam incompatibilidade física, enquanto CUR e PEO têm incompatibilidade térmica. No entanto, nenhuma incompatibilidade química foi observada. A atividade antifúngica contra *C. albicans* foi comprovada por valores de CIM iguais a 256 e 2,5 µg/mL para CUR e MCZ, respectivamente, que foram reduzidos 8 e 4 vezes em relação aos ativos isolados. Além disso, o sinergismo demonstrado (ICIF = 0,375) pelo método *checkerboard* entre CUR e MCZ, favorecem a combinação dos dois ativos nesses sistemas visando a redução de doses, de efeitos adversos e o aumento da eficácia do tratamento.

## REFERÊNCIAS

- ABD EL-HALIM, Hanan F. et al. Synthesis, spectroscopic, thermal characterization, and antimicrobial activity of miconazole drug and its metal complexes. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 109, n. 2, p. 883-892, 2012.
- ABDELLATIF, Menna M. et al. Formulation and characterization of sertaconazole nitrate mucoadhesive liposomes for vaginal candidiasis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 4079, 2020.
- AHMAD, Aijaz et al. Synergistic antifungal effect of cyclized chalcone derivatives and fluconazole against *Candida albicans*. **Medchemcomm**, v. 8, n. 12, p. 2195-2207, 2017.
- AL-BADR, Abdullah A. Miconazole nitrate: comprehensive profile. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, v. 32, p. 3-65, 2005.
- AL-MAGHRABI, Passant M. et al. Influence of formulation variables on miconazole nitrate-loaded lipid based nanocarrier for topical delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 193, p. 111046, 2020.
- AMARAL, Andre Correa et al. Miconazole loaded chitosan-based nanoparticles for local treatment of vulvovaginal candidiasis fungal infections. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 409-415, 2019.
- ANDERSON, Deborah J.; MARATHE, Jai; PUDNEY, Jeffrey. The structure of the human vaginal stratum corneum and its role in immune defense. **American journal of reproductive immunology**, v. 71, n. 6, p. 618-623, 2014.
- ANDRADE, Jessica Tauany et al. Efficacy of curcumin in the treatment of experimental vulvovaginal candidiasis. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 36, n. 4, p. 192-199, 2019.
- BARILLARO, Valéry et al. Effect of acidic ternary compounds on the formation of miconazole/cyclodextrin inclusion complexes by means of supercritical carbon dioxide. **J Pharm Pharm Sci**, v. 7, n. 3, p. 378-388, 2004.
- BHATTACHARYA, Somanon; SAE-TIA, Sutthichai; FRIES, Bettina C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 312, 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST)**. 2020. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2015/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-atencao-integral-pessoas-com-infecoes>. Acesso em: 11 jun. 2022.
- CAMPITELLI, Marco et al. Combination antifungal therapy: a review of current data. **Journal of clinical medicine research**, v. 9, n. 6, p. 451, 2017.
- CARRILLO MUÑOZ, ALFONSO JAVIER et al. Combination antifungal therapy: A strategy for the management of invasive fungal infections. 2014.

- CERDEIRA, Ana M.; MAZZOTTI, Marco; GANDER, Bruno. Miconazole nanosuspensions: influence of formulation variables on particle size reduction and physical stability. **International journal of pharmaceutics**, v. 396, n. 1-2, p. 210-218, 2010.
- CHEN, Jianping et al. Characterization of curcumin/cyclodextrin polymer inclusion complex and investigation on its antioxidant and antiproliferative activities. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1179, 2018.
- CHEN, Xing et al. The stability, sustained release and cellular antioxidant activity of curcumin nanoliposomes. **Molecules**, v. 20, n. 8, p. 14293-14311, 2015.
- CHEN, Zhipeng et al. Thermal degradation kinetics study of curcumin with nonlinear methods. **Food chemistry**, v. 155, p. 81-86, 2014.
- CHEW, Shu Yih; THAN, Leslie Thian Lung. Vulvovaginal candidosis: contemporary challenges and the future of prophylactic and therapeutic approaches. **Mycoses**, v. 59, n. 5, p. 262-273, 2016.
- COLOMBO, Arnaldo Lopes et al. Brazilian guidelines for the management of candidiasis—a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 283-312, 2013.
- COOK, Michael T.; BROWN, Marc B. Polymeric gels for intravaginal drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 270, p. 145-157, 2018.
- CUI, Jinhui et al. Synergistic combinations of antifungals and anti-virulence agents to fight against *Candida albicans*. **Virulence**, v. 6, n. 4, p. 362-371, 2015.
- CZECHOWICZ, Paulina; NOWICKA, Joanna; GOŚCINIAK, Grażyna. Virulence Factors of *Candida* spp. and Host Immune Response Important in the Pathogenesis of Vulvovaginal Candidiasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5895, 2022.
- DADAR, Maryam et al. *Candida albicans*-Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control—An update. **Microbial pathogenesis**, v. 117, p. 128-138, 2018.
- DAY, Jeremy N. et al. Combination antifungal therapy for cryptococcal meningitis. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 14, p. 1291-1302, 2013.
- DE BERNARDIS, Flavia et al. *Candida* vaginitis: virulence, host response and vaccine prospects. **Medical mycology**, v. 56, n. suppl\_1, p. S26-S31, 2018.
- DE CÁSSIA ORLANDI SARDI, Janaina et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiology and risk factors, pathogenesis, resistance, and new therapeutic options. **Current Fungal Infection Reports**, v. 15, n. 1, p. 32-40, 2021.
- DÍAZ, Urbano; CORMA, Avelino. Organic-Inorganic Hybrid Materials: Multi-Functional Solids for Multi-Step Reaction Processes. **Chemistry—A European Journal**, v. 24, n. 16, p. 3944-3958, 2018.
- DOVNIK, Andraž et al. Treatment of vulvovaginal candidiasis: a review of the literature. **Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat**, v. 24, n. 1, p. 5-7, 2015.
- EDWARDS JR, John E. et al. A fungal immunotherapeutic vaccine (NDV-3A) for treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis—a phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, n. 12, p. 1928-1936, 2018.

- ESATBEYOGLU, Tuba et al. Curcumin—from molecule to biological function. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 22, p. 5308-5332, 2012.
- FAROOQUI, Tahira; FAROOQUI, Akhlaq A. Curcumin: historical background, chemistry, pharmacological action, and potential therapeutic value. **Curcumin for Neurological and Psychiatric Disorders**, p. 23-44, 2019.
- FAUSTINI, Marco et al. History of organic–inorganic hybrid materials: prehistory, art, science, and advanced applications. **Advanced Functional Materials**, v. 28, n. 27, p. 1704158, 2018.
- FUGITA, R. A. et al. Thermal behaviour of curcumin. **Braz J Therm Anal**, v. 1, n. 1, p. 19-23, 2012.
- GONÇALVES, Bruna et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical reviews in microbiology**, v. 42, n. 6, p. 905-927, 2016.
- GRAZIOTTIN, Alessandra; GAMBINI, Dania. Anatomy and physiology of genital organs—women. **Handbook of Clinical neurology**, v. 130, p. 39-60, 2015.
- HATIPOGLU, Nevin; HATIPOGLU, Husem. Combination antifungal therapy for invasive fungal infections in children and adults. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 11, n. 5, p. 523-535, 2013.
- HEWLINGS, Susan J.; KALMAN, Douglas S. Curcumin: A review of its effects on human health. **Foods**, v. 6, n. 10, p. 92, 2017.
- KENECHUKWU, Franklin C. et al. Surface-modified mucoadhesive microgels as a controlled release system for miconazole nitrate to improve localized treatment of vulvovaginal candidiasis. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 111, p. 358-375, 2018.
- KHAN, Arif et al. Coadministration of ginger extract and fluconazole shows a synergistic effect in the treatment of drug-resistant vulvovaginal candidiasis. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 1585, 2021.
- KUMAR, Amresh et al. Mucoadhesive formulations: Innovations, merits, drawbacks, and future outlook. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 25, n. 7, p. 797-814, 2020.
- KUMAR, Awanish et al. Curcumin targets cell wall integrity via calcineurin-mediated signaling in *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 167-175, 2014.
- LEE, Yunjin et al. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical reviews**, v. 121, n. 6, p. 3390-3411, 2020.
- LEYVA-GÓMEZ, Gerardo et al. Modifications in vaginal microbiota and their influence on drug release: Challenges and opportunities. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 5, p. 217, 2019.
- LI, Ting et al. Local probiotic *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus delbrueckii* exhibit strong antifungal effects against vulvovaginal candidiasis in a rat model. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1033, 2019.
- LÍRIO, Juliana et al. Antifungal (oral and vaginal) therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review protocol. **BMJ open**, v. 9, n. 5, p. e027489, 2019.

- MARTINS, C. V. B. et al. Curcumin as a promising antifungal of clinical interest. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 337-339, 2009.
- MARTINS, Natália et al. Candidiasis: predisposing factors, prevention, diagnosis and alternative treatment. **Mycopathologia**, v. 177, n. 5, p. 223-240, 2014.
- MENDES, Juliana Fernandes et al. Synthesis of ureasil-polyether film forming materials by using environmentally friendly solvent. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 42, p. 1-10, 2021.
- MO, Fei et al. *In vitro* and *in vivo* effects of the combination of myricetin and miconazole nitrate incorporated to thermosensitive hydrogels, on *C. albicans* biofilms. **Phytomedicine**, v. 71, p. 153223, 2020.
- MOURA, André LA et al. Influence of the hydrophilic/hydrophobic nature of polyetheramines on the interaction between amine–alcohol–silicate hybrids and anionic dyes for effective water cleaning. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 31, p. 16020-16032, 2015.
- NEVES, José das et al. Vaginal mucosa and drug delivery. **Mucoadhesive materials and drug delivery systems**, p. 99-132, 2014.
- NICOLAU COSTA, Kammila Martins et al. Curcumin-loaded micelles dispersed in ureasil-polyether materials for a novel sustained-release formulation. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 5, p. 675, 2021.
- OGIDI, Clement Olusola et al. Synergistic antifungal evaluation of over-the-counter antifungal creams with turmeric essential oil or *Aloe vera* gel against pathogenic fungi. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2021.
- OSHIRO, João Augusto et al. Study of triamcinolone release and mucoadhesive properties of macroporous hybrid films for oral disease treatment. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 4, n. 3, p. 035009, 2018.
- OSHIRO JUNIOR, João Augusto et al. Development of cutaneous bioadhesive ureasil-polyether hybrid films. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, 2015.
- OSHIRO JUNIOR, João Augusto et al. Drug delivery systems obtained from silica based organic-inorganic hybrids. **Polymers**, v. 8, n. 4, p. 91, 2016a.
- OSHIRO JUNIOR, João Augusto et al. Assessment of biocompatibility of ureasil-polyether hybrid membranes for future use in implantodontology. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 65, n. 13, p. 647-652, 2016b.
- PANDEY, Manisha et al. Promising drug delivery approaches to treat microbial infections in the vagina: a recent update. **Polymers**, v. 13, n. 1, p. 26, 2020.
- PEREIRA, Lívia Custódio et al. Vulvovaginal candidiasis and current perspectives: new risk factors and laboratory diagnosis by using MALDI TOF for identifying species in primary infection and recurrence. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 40, n. 8, p. 1681-1693, 2021.
- PIÉRARD, Gérald E. et al. Miconazole, a pharmacological barrier to skin fungal infections. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 13, n. 8, p. 1187-1194, 2012.
- PILLAI, Satish K.; MOELLERING, R. C.; ELIOPOULOS, George M. Antimicrobial combinations. **Antibiotics in laboratory medicine**, v. 5, p. 365-440, 2005.

- POULAIN, Daniel. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. **Critical reviews in microbiology**, v. 41, n. 2, p. 208-217, 2015.
- PRIYADARSINI, Kavirayani Indira. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 20091-20112, 2014.
- RENÇBER, Seda et al. Mucoadhesive in situ gel formulation for vaginal delivery of clotrimazole: formulation, preparation, and *in vitro/in vivo* evaluation. **Pharmaceutical development and technology**, v. 22, n. 4, p. 551-561, 2017.
- ROBBINS, Nicole; WRIGHT, Gerard D.; COWEN, Leah E. Antifungal drugs: the current armamentarium and development of new agents. **Microbiology spectrum**, v. 4, n. 5, p. 4.5. 19, 2016.
- RODRÍGUEZ-CERDEIRA, Carmen et al. Pathogenesis and clinical relevance of *Candida* biofilms in vulvovaginal candidiasis. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 544480, 2020.
- ROJEK, Barbara; WESOLOWSKI, Marek. FTIR and TG analyses coupled with factor analysis in a compatibility study of acetazolamide with excipients. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 208, p. 285-293, 2019.
- ROSATI, Diletta et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis: an immunological perspective. **Microorganisms**, v. 8, n. 2, p. 144, 2020.
- ROSSI, Silvia et al. Rheological analysis and mucoadhesion: A 30 year-old and still active combination. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 156, p. 232-238, 2018.
- SARTORATTO, Adilson et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.
- SHAH, Rohan M. et al. Microwave-assisted microemulsion technique for production of miconazole nitrate-and econazole nitrate-loaded solid lipid nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 117, p. 141-150, 2017.
- SHARMA, Monika et al. Antifungal curcumin induces reactive oxygen species and triggers an early apoptosis but prevents hyphae development by targeting the global repressor TUP1 in *Candida albicans*. **Bioscience reports**, v. 30, n. 6, p. 391-404, 2010.
- SHARMA, Monika et al. Curcumin modulates efflux mediated by yeast ABC multidrug transporters and is synergistic with antifungals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 8, p. 3256-3265, 2009.
- SHARMA, Monika et al. Synergistic anticandidal activity of pure polyphenol curcumin I in combination with azoles and polyenes generates reactive oxygen species leading to apoptosis. **FEMS yeast research**, v. 10, n. 5, p. 570-578, 2010.
- SLIKA, Layal; PATRA, Digambara. A short review on chemical properties, stability and nano-technological advances for curcumin delivery. **Expert opinion on drug delivery**, v. 17, n. 1, p. 61-75, 2020.
- SOBEL, Jack D. Vulvovaginal candidosis. **The Lancet**, v. 369, n. 9577, p. 1961-1971, 2007.
- SOBEL, J. D.; SOBEL, R. Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 19, n. 9, p. 971-977, 2018.

STANIĆ, Zorka. Curcumin, a compound from natural sources, a true scientific challenge—a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 72, n. 1, p. 1-12, 2017.

TEJADA, G. et al. Composite microparticles based on natural mucoadhesive polymers with promising structural properties to protect and improve the antifungal activity of miconazole nitrate. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 8, p. 3712-3722, 2018.

TEJADA, G. et al. Formulation and in-vitro efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for the delivery of miconazole nitrate. **Materials Science and Engineering: C**, v. 79, p. 140-150, 2017.

TITS, Jana et al. Combination of miconazole and domiphen bromide is fungicidal against biofilms of resistant *Candida* spp. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 64, n. 10, p. e01296-20, 2020.

TVERDEK, Frank P.; KOFTERIDIS, Diamantis; KONTOYIANNIS, Dimitrios P. Antifungal agents and liver toxicity: a complex interaction. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 14, n. 8, p. 765-776, 2016.

WILLEMS, Hubertine ME et al. Vulvovaginal candidiasis: a current understanding and burning questions. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 27, 2020.

WU, Xueqing et al. Biofilm formation of *Candida albicans* facilitates fungal infiltration and persister cell formation in vaginal candidiasis. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1117, 2020.

ZAIDI, K. U. et al. Anticandidal synergistic activity of *Ocimum sanctum* and fluconazole of azole resistance strains of clinical isolates. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 28, n. 2, p. 289-293, 2018.

ZIDA, A. et al. Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. **Journal de mycologie medicale**, v. 27, n. 1, p. 1-19, 2017.