



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

KAMMILA MARTINS NICOLAU COSTA

**ANEL VAGINAL MICELAR HÍBRIDO DE CURCUMINA ASSOCIADO A TERAPIA
FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

CAMPINA GRANDE-PB

2022

KAMMILA MARTINS NICOLAU COSTA

**ANEL VAGINAL MICELAR HÍBRIDO DE CURCUMINA ASSOCIADO A TERAPIA
FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

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.

C837a Costa, Kammila Martins Nicolau.

Anel vaginal micelar híbrido de curcumina associado a terapia fotodinâmica no tratamento da candidíase vulvovaginal [manuscrito] / Kammila Martins Nicolau Costa. - 2022.
72 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior, Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Candida albicans. 2. Material híbrido ureasil-poliéster. 3. Nanopartículas poliméricas. 4. Terapia medicamentosa. I.

Título

21. ed. CDD 616.951

KAMMILA MARTINS NICOLAU COSTA

**ANEL VAGINAL MICELAR HÍBRIDO DE CURCUMINA ASSOCIADO A TERAPIA
FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos

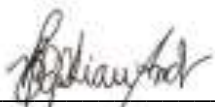
Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Aprovada em: **25/02/2022**

BANCA EXAMINADORA



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



Profa. Dra. Bruna Galdorfini Chiari Andréo
Universidade de Araraquara (UNIARA)



Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

Cursar o mestrado nos anos de 2020-2022 foi o maior desafio que eu poderia ter. Manter o esforço e a dedicação para realizar esse sonho foi muito difícil, mas nada é impossível quando não se está sozinho.

Dedico todo o meu esforço, todo o meu trabalho, e assim, todos os meus resultados e vitórias a Deus, minha família e aqueles que sempre estiveram ao meu lado. Para aqueles que sempre acreditaram e me motivaram a não desistir, a pular barreiras e realizar feitos. Eu amo vocês com todo o meu coração.

Agradeço imensamente ao meu orientador e amigo João. O pai científico que todos deveriam ter a oportunidade de possuir. Aquele que montou uma equipe incomparável de pessoas que assim como eu, buscam seu futuro na vida acadêmica e na pesquisa. Muito obrigada equipe I-nano. Vocês foram parte fundamental para que este mestrado acontecesse e para que eu me tornasse a profissional que hoje sou.

Sou grata a instituição que me abraçou desde o início da minha formação profissional, a Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), e o corpo docente nela presente. Foi pela forma de como fui tratada e direcionada por vocês que hoje estou inserida no meio acadêmico. Agradeço também a CAPES pelo incentivo financeiro que me permitiu dedicação exclusiva ao programa. E a todos os programas e laboratórios (LDCPF, LABDEM, UFCG, UNESP) que firmaram parceria e foram fundamentais para que este estudo acontecesse.

Gostaria de dedicar este trabalho também a todos os pesquisadores, profissionais de saúde e aqueles que trabalharam (e ainda trabalham) na linha de frente contra o COVID-19 no Brasil. Vocês são verdadeiros heróis. Mesmo com pouco ou nenhum apoio, vocês transformam vidas e buscam o melhor para a população. Para vocês, o meu muito obrigada.

RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção vulvar/vaginal que afeta aproximadamente 75% das mulheres em todo o mundo. O atual tratamento consiste em antimicrobianos com propriedades hepatotóxicas e elevadas probabilidades de interação medicamentosa. Por este motivo, este estudo visa desenvolver um novo tratamento para CVV à base de micelas contendo curcumina (CUR) dispersas em um híbrido ureasil-poliéter (U-PEO) apresentando uma forma farmacêutica de anel vaginal. A caracterização físico-química foi realizada a fim de observar o tamanho, forma, grau de cristalinidade e dispersão de partículas na formulação e foi obtida por meio do espalhamento dinâmico de luz (DLS), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX), estudo de liberação *in vitro*, além de testes microbiológicos em células planctônicas de *C. albicans*. Os resultados de DLS para micelas contendo CUR 0,5% exibiram micelas com valor médio de $35 \pm 3,50$ nm, já para as concentrações de 1 e 3% o gráfico passou de modomodal para bimodal e trimodal, respectivamente, provavelmente devido a presença de precipitados e aglomerados. O MEV realizado nas micelas brancas determinou tamanhos nanométricos entre 20 e 34 nm e uma faixa de 22 a 51 nm para micelas contendo CUR a 1 e 3%. Para a eficiência de encapsulação (EE) resultados demonstraram que para micelas contendo 0,1, 0,5, 1 e 3% de CUR, $96,2 \pm 3,5$, $86,4 \pm 5,7$, $62,9 \pm 2,2$ e $20,2 \pm 0,7\%$, respectivamente da CUR foi dispersa nas micelas. O aspecto visual do U-PEO não apresentou aglomerado ou precipitado tanto nas matrizes brancas, quanto naquelas contendo CUR 3%, o que foi confirmado pelo DRX. Os resultados da liberação mostraram que a CUR carregada em U-PEO foi de $70 \pm 0,43\%$ liberada após 10 dias, o que demonstra a aplicação potencial deste material, além de se apresentar como uma possibilidade de tratamento multidoso com base numa única aplicação, sugerindo uma taxa mais elevada de aderência do paciente. Em adição, os testes microbiológicos conduzidos com a micela contendo CUR com e sem exposição de luz revelaram um índice de redução de crescimentos de microrganismos de 3 a 5 logs, representando, segundo a FDA, 99,9% e 99,999% de redução do crescimento, respectivamente, o que leva a crer que esta pode se apresentar como uma possível alternativa para o tratamento de CVV.

Palavras-chave: *Candida albicans*. Material híbrido ureasil-poliéter. Nanopartículas poliméricas.

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is a vulvar/vaginal infection that affects approximately 75% of women worldwide. Current treatment consists of antimicrobials with hepatotoxic properties and high chances of drug interaction. Therefore, this study aims to develop a novel treatment for VVC based on micelles containing curcumin (CUR) dispersed in a ureasyl-polyether hybrid (U-PEO) presenting a vaginal ring pharmaceutical form. Physicochemical characterization was performed in order to observe the size, shape, degree crystallinity and dispersion of particles in the formulation and was obtained by dynamic light scattering (DLS), scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), *in vitro* release study, in addition to microbiological tests on planktonic cells. The DLS results for micelles containing CUR 0.5% exhibited micelles with an average value of 35 ± 3.50 nm, whereas for the 1 and 3% concentrations the graph went from modomodal to bimodal and trimodal, respectively, probably due to the presence of precipitates and agglomerates. The SEM performed on the white micelles determined nanometer sizes between 20 and 34 nm and a range of 22 to 51 nm for micelles containing CUR at 1 and 3%. For encapsulation efficiency (EE) results showed that for micelles containing 0.1, 0.5, 1 and 3% CUR, 96.2 ± 3.5 , 86.4 ± 5.7 , 62.9 ± 2.2 and $20.2 \pm 0.7\%$, respectively of the CUR was dispersed in the micelles. The visual appearance of U-PEO showed no agglomerate or precipitate in both the white matrices and those containing 3% CUR, which was confirmed by XRD. Release results showed that CUR loaded on U-PEO was $70 \pm 0.43\%$ released after 10 days, which demonstrates the potential application of this material, besides presenting itself as a possibility of multidose treatment based on a single application, suggesting a higher rate of patient adherence. In addition, microbiological testing of the micelle containing CUR with and without added light revealed a reduction rate of 3 to 5 logs, representing, according to the FDA, 99.9% and 99.999% reduction in the growth of microorganisms, respectively, leading to the belief that this may present itself as a possible alternative for the treatment of CVV.

Keywords: *Candida albicans*. Ureasyl-polyether hybrid material. Polymeric nanoparticles.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C-O-C	Grupo funcional Éter
cm	Centímetros
CMC	Concentração micelar crítica
CUR	Curcumina
CVV	Candidíase vulvovaginal
d nm	Diâmetro médio Hidrodinâmico
DLS	<i>Dynamic light scattering</i> (Espalhamento de Luz Dinâmico)
DRX	Difrações de Raios X
DMSO	Dimetilsulfóxido
EE%	Eficiência de Encapsulação
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FS	Agente fotossensibilizador
g	Gramas
h	Horas
HCl	Ácido clorídrico
IsoTrEOS	3-isocianatopropiltriétoxisilano
kg	Quilogramas
Log P	Coeficiente de partição
µg	Microgramas
µM	Micromolar
µl	Microlitros
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Min	Minutos
mg	Miligramas
ml	Mililitros
mm	Milímetros
NH	Grupo funcional amina
nm	Nanômetros
NPs	Nanopartículas
OH	Hidroxila

P127	Pluronic® F-127
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i> (Solução tampão fosfato-salino)
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
r^2	Coefficiente de correlação
rpm	Rotações por minuto
TFD	Terapia fotodinâmica
U-PEO	Ureasil-poliéter
UTI	Unidades de terapia intensivas
UV-vis	Espectroscopia de absorção no Ultravioleta e Visível
v/v	Volume/Volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistema reprodutor feminino.	15
Figura 2 – Esquema ilustrativo da vulva	17
Figura 3 – Representação esquemática da candidíase vulvovaginal.	20
Figura 4 – Estrutura química da Curcumina.....	24
Figura 5 – Esquema representativo da distribuição dos tratamentos na placa de 96 poços.....	34
Figura 6 – Aspecto visual das micelas poliméricas com e sem curcumina. (a) micela pura; (b) micela com curcumina 0,1%; (c) micela com curcumina 0,5%	35
Figura 7 – Aspecto visual das micelas poliméricas com curcumina. (a) micela com curcumina 1%; (b) micela com curcumina 3%	36
Figura 8 – Distribuição de partículas (%) em relação ao diâmetro das micelas contendo CUR 0,5% (a), micelas contendo CUR 1% (b) e micelas contendo CUR 3% (c).....	37
Figura 9 – Fotomicroscopia das micelas: (a) micela sem CUR; (b) micela com CUR 1% e (c) micela com CUR 3%, aumento de 100.000 ×.	39
Figura 10 – Material híbrido do tipo ureasil-poliéter (U-PEO 500) pura (a), com CUR 3% (b) e com micela CUR proporção de 3% (c).	40
Figura 11 – Padrões de DRX das amostras: (a) U-PEO puro, (b) U-PEO + CUR 3%, (c) U-PEO + micela pura, (d) U-PEO + micela + CUR 3%, (e) CUR pura, (f) micela pura e (g) CUR + micela 3%	42
Figura 12 – Curva analítica da CUR em tampão acetato pH 4,0.....	43
Figura 13 – Gráfico de resíduos.....	44
Figura 14 – Liberação da CUR presente em um material híbrido do tipo ureasil-poliéter (U-PEO) em função do tempo, tendo a liberação de curcumina pura (linha preta), U-PEO + curcumina 3% (linha azul) e U-PEO + micela + curcumina 3% (linha vermelha).	45
Figura 15 – Padrão microbiológico dos grupos de controle das amostras: (a) meio de cultura, (b) PBS puro, (c) nistatina, (d) PBS + inóculo.....	47
Figura 16 – Padrão microbiológico dos grupos das amostras: (a) CUR pura sem luz, (b) CUR pura com luz	48
Figura 17 – Padrão microbiológico dos grupos das amostras: (a) Micela + CUR sem luz, (b) Micela + CUR com luz.....	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Divisão dos grupos de tratamento para o ensaio microbiológico.....	34
--	-----------

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1	Fisiologia Vulvovaginal	15
2.2	<i>Candida albicans</i>	17
2.2.1	<i>Morfologia e características gerais</i>	17
2.2.2	<i>Epidemiologia</i>	18
2.2.3	<i>Células planctônicas e biofilmes</i>	18
2.3	Candidíase vulvovaginal (CVV)	19
2.3.1	<i>Características gerais</i>	19
2.3.2	<i>Tratamentos Convencionais</i>	20
2.3.3	<i>Vagina como via de administração</i>	21
2.3.4	<i>Materiais híbridos do tipo Ureasil-Poliéter</i>	23
2.4	Curcumina	23
2.4.1	<i>Características gerais</i>	23
2.4.2	<i>Aplicações da Curcumina</i>	24
2.5	Terapia Fotodinâmica	25
2.5.1	<i>Definição e mecanismo de ação</i>	26
2.5.2	<i>Aplicação</i>	26
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivo Geral	28
4	METODOLOGIA	29
4.1	Preparação das Micelas Poliméricas	29
4.2	Caracterização Físico-química das Micelas Carregadas com Curcumina	29
4.2.1	<i>Determinação do Diâmetro médio Hidrodinâmico (d nm)</i>	29
4.2.2	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	30
4.2.3	<i>Eficiência de Encapsulação (EE%)</i>	30
4.3	Preparação dos Materiais Híbridos do tipo Ureasil-Poliéter	30
4.4	Difrações de Raios X (DRX)	31
4.5	Curva analítica	31
4.6	Ensaio de Liberação <i>In Vitro</i>	31
4.7	Ensaio Microbiológico	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35

5.1	Preparação das Micelas Poliméricas com e sem Curcumina	35
5.2	Determinação do Diâmetro Médio Hidrodinâmico (d_{mn}) das Micelas	36
5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	38
5.4	Eficiência de Encapsulação (EE%).....	39
5.5	Obtenção das Membranas Híbridas do tipo Ureasil-Poliéter	40
5.6	Difração de Raios X (DRX)	41
5.7	Curva analítica	43
5.8	Ensaio de Liberação <i>In Vitro</i>	44
5.9	Ensaio Microbiológico.....	46
6	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	51
	ANEXO A- Curcumin-Loacelles Dispersed in Ureasil-Polyether	63
	ANEXO B - Pedido nacional de invenção, Modelo de utilidade, Certificado de invenção e entrada na fase nacional do PCT.....	64
	ANEXO C - Physicochemical characterization of bioactive compounds in nanocarriers.....	69
	ANEXO D - Arquivo de e-mail	70
	ANEXO E – Nanoparticle Synthesis and Administration Routes for Antiviral Uses	72

1 INTRODUÇÃO

Candidíase vulvovaginal (CVV) é conceituada como uma infecção da vulva e vagina, com ocorrências de coceira vulvar intensa, leucorreia, dispareunia, disúria, edema e eritema vulvovaginal, em que o prurido é o sintoma mais decisivo quando se compara CVV com vulvovaginite de outra etiologia (RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C. et al., 2019; WILLEMS, H. M. E, et al., 2020). A CVV afeta aproximadamente 75% das mulheres em todo o mundo pelo menos uma vez na vida, sendo que 50% apresentam recorrência em um ano. Leveduras do gênero *Candida*, principalmente da espécie *Candida albicans*, são consideradas os principais fungos causadores da CVV (SARDI et al., 2013; ZENG et al., 2018).

O tratamento de escolha para CVV emprega vários antifúngicos. Entre eles estão os medicamentos anfotericina B, nistatina e os azóis, que representam a classe com maior número de substâncias ativas, como fluconazol, cetoconazol, butoconazol, itraconazol e miconazol, comumente usados em suspensão, aplicados topicamente sobre a lesão, ou na forma de comprimidos e pomadas (SOBEL, J. D.; SOBEL, 2018). No entanto, esses medicamentos apresentam tempo de tratamento prolongado, retratam efeitos colaterais como hepatotoxicidade e promovem interações medicamentosas, que podem agravar o quadro. Além disso, estudos têm demonstrado que a organização de microrganismos em biofilme promove uma diminuição considerável da susceptibilidade aos antimicrobianos, inibindo a ação dos fármacos e aumentando a resistência aos referidos fármacos (ARAÚJO, G. M. F. et al., 2019; DAVIES, 2003).

Nesse contexto, pesquisas inovadoras se concentram no estudo, planejamento e desenvolvimento de tratamentos alternativos, incluindo o uso de terapia fotodinâmica (TFD) (CIEPLIK et al., 2014; QUISHIDA et al., 2015; SANTEZI; REINA; DOVIGO, 2018). A TFD é baseada no princípio de que um fotossensibilizador se liga à célula-alvo e é ativado por uma luz em um comprimento de onda específico. Nessa reação, espécies reativas de oxigênio extremamente tóxicas para os microrganismos são obtidas, conseqüentemente levando à sua morte e causando baixo dano ao hospedeiro, uma vez que a luz está irradiando para o alvo farmacológico do patógeno (CLÁUDIA; ISSA, 2010; KIKUCHI et al., 2015; OSHIRO-JUNIOR, J. A. et al., 2020; STRATEN, VAN et al., 2017).

A curcumina (CUR), um corante natural derivado de *Curcuma longa* L. que possui atividade antifúngica e antibacteriana, foi estudada como um agente fotossensibilizador na TFD e pode estimular a imunomodulação da resposta inflamatória do hospedeiro, melhorando o processo de cicatrização (DUSE et al., 2019; LEE et al., 2017; TSAI et al., 2018). Vários

estudos demonstraram a eficácia da CUR contra patógenos e em associação com TFD, os efeitos tornam-se mais efetivos contra fungos e bactérias resistentes aos medicamentos convencionais. No entanto, a CUR é um composto com características hidrofóbicas e pode sofrer degradação rápida na presença de luz e em meio aquoso (PREIS et al., 2019; SANTEZI; REINA; DOVIGO, 2018).

Devido aos efeitos tóxicos apresentados por solventes orgânicos, etanol e dimetilsulfóxido (DMSO) (SUN, M. et al., 2019; TRIGO GUTIERREZ et al., 2017), uma variedade de sistemas nanoestruturados para liberação controlada foram desenvolvidos para melhorar a biodisponibilidade, solubilidade e eficácia terapêutica da CUR (BARROS et al., 2020; CABRAL; KATAOKA, 2019; LIU et al., 2015; MANGOLIM et al., 2014; OLIVEIRA, DE et al., 2020; OSHIRO-JÚNIOR, J. A. et al., 2018; OSHIRO, J. A. et al., 2017; SARI et al., 2015; TALELLI et al., 2015; WANG et al., 2017; YALLAPU et al., 2012). Dentre os nanossistemas desenvolvidos para contornar a solubilidade da CUR, estão nanopartículas poliméricas, nanopartículas inorgânicas e lipossomas; no entanto, as micelas têm várias vantagens, como a capacidade de incorporar substâncias lipofílicas e aquelas solúveis em água, baixo custo e facilidade de produção em larga escala (CHENG et al., 2020; DUTTA et al., 2020; FENG et al., 2017; IURCIUC-TINCU, C.-E. et al., 2020; IURCIUC-TINCU, C. E. et al., 2020; IURCIUC et al., 2021).

Micelas são partículas de tamanho coloidal (10-100 nm) compostas por um polímero anfifílico que após uma certa concentração atingem uma concentração micelar crítica (CMC) e agrupam-se em esferas, onde as extremidades hidrofílicas se projetam para fora, criando um ambiente hidrofóbico no seu interior que interage com a curcumina, por meio de ligações de hidrogênio e/ou interações hidrofóbicas, melhorando sua solubilidade (CABRAL; KATAOKA, 2019; OSHIRO, J. A. et al., 2017; TALELLI et al., 2015). Recentemente, nosso grupo mostrou a atividade de micelas CUR (concentração de 270 μM) contra *S. mutans* e *C. albicans* biofilmes (DANTAS LOPES DOS SANTOS et al., 2021). No entanto, as micelas são muito fluidas, e podem causar rápida dispersão quando administradas na vagina. Portanto, a dispersão em material de ureasil-poliéter (U-PEO) pode ser uma alternativa para superar essa limitação.

Esses materiais híbridos U-PEO combinam sinergicamente as características físicas e químicas de seus componentes, proporcionando propriedades únicas e tornando esta classe de materiais excelente para o desenvolvimento de novos sistemas multifuncionais. A fase orgânica fornece propriedades físicas ou químicas específicas (ópticas, elétricas, reativas), enquanto a fase inorgânica aumenta a resistência mecânica, a estabilidade térmica e permite a modulação do índice de refração. Além disso, as propriedades reológicas favorecem o processamento do

material final com a possibilidade de formas e tamanhos variados, como anéis vaginais (OSHIRO, J. A. et al., 2018; OSHIRO, J. A. et al., 2017; OSHIRO JUNIOR, J. A. et al., 2015; OSHIRO, J. A. et al., 2016).

Anéis vaginais são estruturas compostas principalmente por polímeros que apresentam um formato flexível de anel visando a liberação controlada de fármacos administrados pela via vaginal de forma local ou sistêmica. Diversas vantagens são citadas no decorrer do processamento dos anéis vaginais, como segurança de aplicação, efeitos adversos mínimos, liberação modificada, além de serem controlados de acordo com a necessidade da paciente, ou seja, podem permanecer no local de ação por meses, exercendo sua função terapêutica, sendo retirados pela própria usuária quando necessário (BOYD et al., 2019 ;FU; YU; JIN, 2018; KROVI et al., 2021; WELSH et al., 2019).

Portanto, as propriedades cedidas pela formulação contendo o material híbrido são interessantes pela facilidade de preparo e pela possibilidade de otimizar o tempo de contato da formulação final com a mucosa vaginal ou outros tecidos (oral e epidérmico) além de apresentar alternativas para burlar as desvantagens apresentadas pelos componentes isolados (ALMEIDA et al., 2019; ARAÚJO, P. R. de et al., 2019). Além disso, a captação e liberação de CUR de micelas já foi relatada na literatura sem sucesso de aumento de escala (GUPTA et al., 2020). Como tal, aqui incorporamos o CUR às micelas, adicionamos ao material U-PEO e analisamos seu perfil de liberação para fornecer uma opção concreta em uma forma farmacêutica.

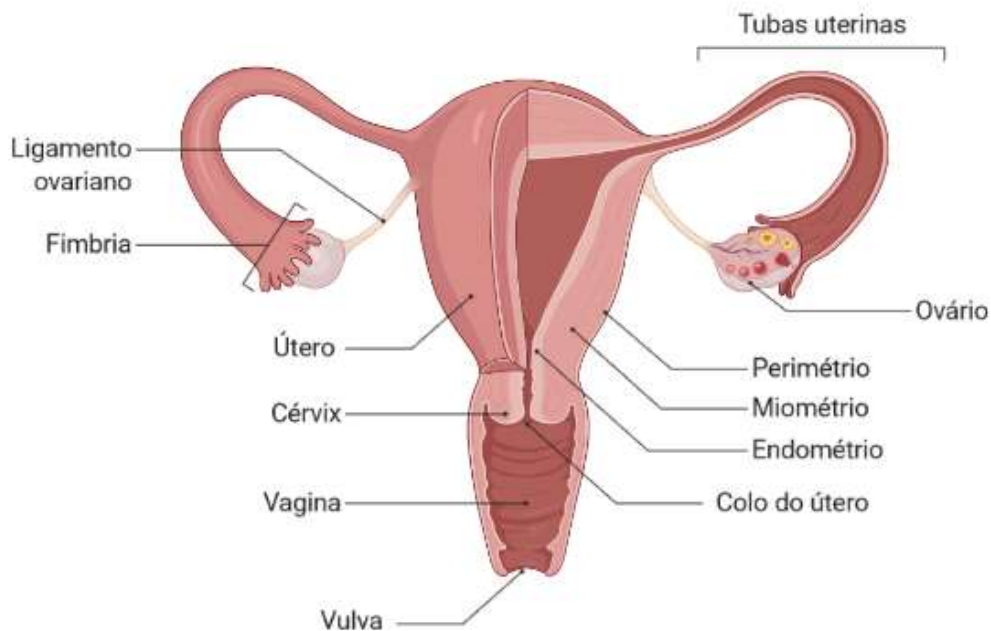
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Fisiologia Vulvovaginal

A vagina corresponde a uma porção daquilo que compõe o trato geniturinário feminino. Como um dos órgãos componentes do sistema reprodutor feminino, a vagina é caracterizada como um canal tubular que se estende desde a porção do colo do útero até a vulva e possui aproximadamente 10 cm de comprimento. Além disso, a vagina participa do canal de sustentação de órgãos proximais como a bexiga e uretra (ALSHIEK et al., 2020; APPELBAUM et al., 2018).

Assim como pode ser observado na Figura 1, a vulva está localizada na extremidade da vagina, e possui uma anatomia complexa, apresentando diversos componentes, se tornando assim um conjunto de órgãos complexo e elaborado.

Figura 1 – Sistema reprodutor feminino

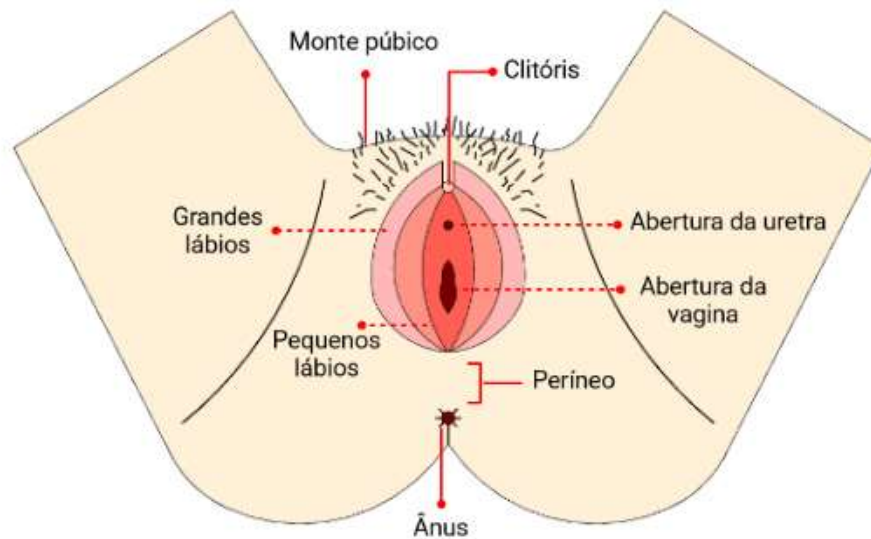


Fonte: Autoria própria, elaborado com auxílio do BioRender.

Possuindo uma região altamente inervada, a vulva pode ser dividida em regiões, sendo estas eréteis e não eréteis. Dentre as partes eréteis estão o clitóris, pequenos lábios, por exemplo. Já aqueles não eréteis são compostos pelo monte púbico ou monte do púbis, vestíbulo vulvar e grandes lábios (JACKSON et al., 2019; YEUNG; PAULS, 2016). A anatomia da vulva pode

ser descrita de acordo com a divisão de partes que compõem sua estrutura, mostrada na Figura 2.

Figura 2 – Esquema ilustrativo da vulva



Fonte: Autoria própria, elaborado com auxílio do BioRender.

O pH e a microbiota vaginal estão diretamente ligados a saúde da mulher, podendo se tornar uma ferramenta indispensável para diagnósticos e prognósticos de doenças relacionadas com as áreas acima citadas. O pH vaginal pode sofrer variações fisiológicas de acordo com o período de vida em que a mulher se encontra, se a mesma está em período reprodutivo ou não e durante o ciclo menstrual. Aquelas em período não reprodutivo possuem um pH de aproximadamente 4,5, entretanto, durante o período menstrual este número pode variar de 6 a 4. No período de menopausa e pós-menopausa este valor também pode sofrer mudanças, apresentando valores de 4,5 até >5. O valor considerado mediano pela indústria farmacêutica, entretanto, é o de 4,5 (GODHA et al., 2018; MILLER et al., 2016).

De maneira semelhante ao pH, a microbiota vaginal também sofre alterações ao longo da vida da mulher, porém, são influenciadas de acordo com as atividades realizadas no dia a dia. Possuindo, como grande parte dos microrganismos presentes (4 dos 5 grupos), os *Lactobacillus* spp. que são derivados da microbiota intestinal e em combinação com a acidez imposta pelo pH, ditam um ambiente desfavorável para a proliferação de bactérias patogênicas. A outra porção presente na microbiota são associadas a não-*Lactobacillus*, que por vezes podem

desencadear uma disfunção da homeostase vaginal, levando a um ambiente susceptível a infecções e até infertilidade (MILLER et al., 2016; SMITH; RAVEL, 2017; VENTOLINI, 2016). A escala referente a microbiota vaginal se refere principalmente a presença ou ausência destes *Lactobacillus* e acontece da seguinte forma: Flora Grau I corresponde a 100% de *Lactobacillus*; Flora Grau IIa corresponde a predominância de *Lactobacillus*, porém com presença de outras bactérias; Flora Grau IIb corresponde a microbiota mista com diminuição ou perda da predominância de *Lactobacillus*; Flora Grau III corresponde a predominância de outras bactérias não-*Lactobacillus* (DONDEERS et al., 2000; VLADAREANU et al., 2018).

Além da ação combinada do pH e da microbiota, as células imunes ligadas ao trato reprodutivo também exercem uma função diretamente ligada a proteção contra agentes patógenos tanto na vagina como no colo do útero, além de exercerem outras funções como o desempenho de uma tolerância direcionada aos espermatozoides e embrião, para que os mesmos não sejam eliminados. A ativação deste sistema ocorre pelo reconhecimento de patógenos, levando a ativação de linfócitos T e B e liberação de citocinas (SMITH; RAVEL, 2017; VENTOLINI, 2016). Das doenças mais comumente instaladas neste trato encontra-se sífilis, herpes genital, câncer e vulvovaginites, como a candidíase (originada a partir da *Candida*), tricomoníase e vaginose bacteriana.

2.2 *Candida albicans*

2.2.1 *Morfologia e características gerais*

Como uma levedura oportunista, a *Candida* é responsável por causar patologias que podem variar quanto ao grau de patogenicidade, podendo atingir a corrente sanguínea de pacientes imunossuprimidos e causar danos irreversíveis ao seu organismo. Quando descoberta, a mais de um século, a *Candida* era responsável apenas por infecções orais, entretanto, atualmente pode atingir a maioria dos tecidos do corpo humano (LU et al., 2021; PRASAD, 1991). É um gênero de fungo que possui a capacidade de gerar hifas e se apresenta como mais de 20 diferentes espécies patológicas em humanos, dentre estas as mais citadas são *C. albicans* como principal, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e representam uma grande porção de causas de doenças causadas por fungos (CHIN et al., 2016; SELLAM; WHITEWAY, 2016).

O gênero *Candida* apresenta dimorfismo, sofrendo modificações na sua morfologia no momento em que inicia uma nova infecção e após esta infecção estar instalada, além de apresentar uma variação de morfologia sob outras condições, inclusive ambientais.

Fisiologicamente presentes na pele e tratos gastrointestinal e geniturinário, a *Candida* inicialmente não causa dano algum ao hospedeiro, porém quando a imunidade deste se encontra comprometida e tanto o sistema imune e as barreiras anatômicas se tornam insuficientes, levando ao desequilíbrio da microbiota, há uma maior proliferação e aparecimento de sintomas, além disso, seu crescimento é favorecido em temperaturas menores que 33 °C e em pH próximo de 4 (PRASAD, 1991; VILA et al., 2017).

2.2.2 Epidemiologia

Dentro todas as espécies de *Candida* que representam perigo patológico a humanos, a *Candida albicans* é a mais prevalente (90% dos casos) tanto em quadros leves, como aqueles graves, contando com infecções da corrente sanguínea (candidemia). Três em cada quatro mulheres em idade reprodutiva já apresentaram pelo menos um evento de candidíase vulvovaginal e dentre estas, 5-10% apresentam infecções recorrentes, além de também serem responsáveis por casos de micoses profundas. Em adição a isto, possuem a mais alta taxa de incidência quando relacionado a pacientes internados em unidades de terapia intensivas (UTI), sendo responsável por até 15% das infecções adquiridas após a internação do paciente (CHIN et al., 2016; THEILL et al., 2016; VILA et al., 2017; ZIDA et al., 2017). No Brasil micoses sistêmicas não estão incluídas no objeto de vigilância epidemiológica de rotina, portanto, não há dados epidemiológicos diretamente ligados a grandiosidade da disseminação da doença no país (Ministério da Saúde - Governo Federal, 2021).

2.2.3 Células planctônicas e biofilmes

Muitos microrganismos são capazes de gerar biofilmes, mas no caso da *Candida*, este é um mecanismo comum aplicado. Células unitárias dispersas em um ambiente são denominadas planctônicas ou de flutuação livre. Quando essas células planctônicas aderem uma superfície tanto biótica quanto abiótica há o início do processo da produção do biofilme, processo este que possui quatro etapas, sendo a primeira etapa denominada “adesão inicial”, levando a formação de uma camada basal nesta superfície. Com o decorrer do tempo há uma proliferação das leveduras e posteriormente estas células se diferenciam resultando na formação de hifas e pseudohifas, seguida por sua maturação se tornando uma comunidade complexa dispersa em uma matriz extracelular que confere proteção as células de levedura. Finalmente, células superficiais do biofilme se desprendem da matriz e se tornam mais uma vez células planctônicas

que dão início a formação de um novo biofilme (dispersão) (CHIN et al., 2016; GULATI; NOBILE, 2016; LOHSE et al., 2018; LU et al., 2021; UPPULURI et al., 2018).

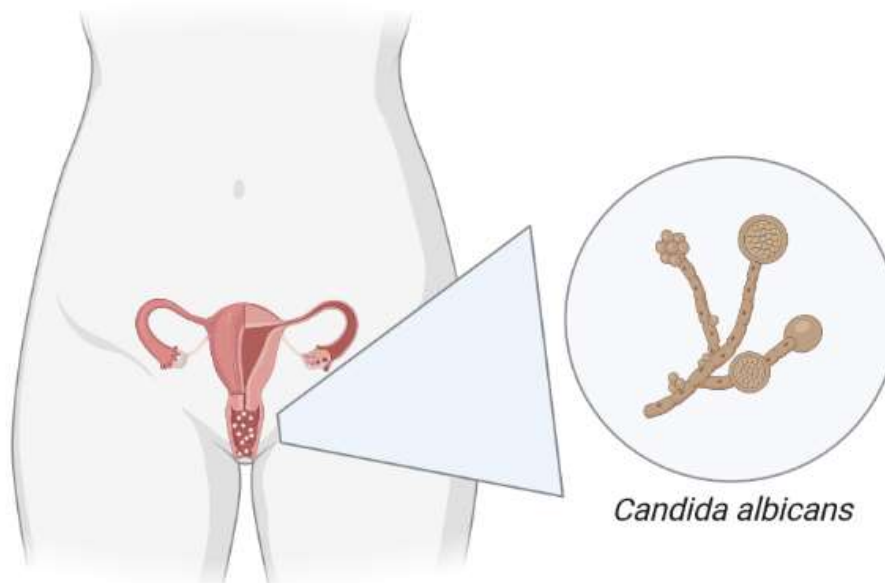
Assim, os biofilmes se tornaram uma potencial ameaça à saúde por apresentarem um alto grau de resistência medicamentosa, aumentarem a virulência do patógeno e por serem amplamente estruturados, e são responsáveis por um alto índice de infecções microbianas em humanos, apresentando um valor de cerca de 80% (LOHSE et al., 2018; LU et al., 2021; UPPULURI et al., 2018).

2.3 Candidíase vulvovaginal (CVV)

2.3.1 Características gerais

A candidíase vulvovaginal (CVV) se caracteriza por ser uma infecção localizada no trato geniturinário feminino, afetando cerca de 75% da população feminina, causada por diferentes espécies do gênero *Candida*, principalmente a *Candida albicans* (Figura 3), onde os pacientes apresentam sinais e/ou sintomas de anormalidade da microbiota vaginal que induz uma redução na qualidade de vida, além de apresentar uma alta taxa de episódios secundários (50%) e até recorrentes (5-10%) (BITEW; ABEBAW, 2018; BROWN et al., 2019; MATHESON; MAZZA, 2017). Diversos fatores podem desencadear sintomas referentes a candidíase, algumas vezes indetectáveis, mas outras podem ser geradas a partir do aumento na ingestão de carboidratos (glicose), troca de parceiros sexuais, ambiente rico em presença de prostaglandina (E2) e tromboxano (B2) e uso exacerbado de antibióticos. O mal uso de duchas higiênicas, uso excessivo de protetores íntimos, absorventes utilizados além do prazo recomendado e roupas apertadas são alguns dos fatores que contribuem para a colonização da *Candida*, além de aumentarem o risco de recorrência. Além disso, a CVV apresenta uma maior probabilidade de instalação em ambientes que possuem um alto teor de estrogênio presente, portanto, mulheres grávidas se apresentem susceptíveis a esta patologia (BITEW; ABEBAW, 2018; DENNING et al., 2016; MATHESON; MAZZA, 2017).

Figura 3 – Representação esquemática da candidíase vulvovaginal



Fonte: Autoria própria, elaborado com auxílio do BioRender.

Os sintomas apresentados pelos pacientes acometidos de CVV são de simples detecção e podem variar de nenhum a diversos, dentre eles é possível citar eritema, irritação, prurido, dor, escoriação, podendo ocorrer corrimento vaginal e mudança de odor. Porém um diagnóstico assertivo não deve ser baseado apenas na descrição dos sintomas pelos pacientes, já que muitos destes são inespecíficos e podem levar a um falso diagnóstico. Sendo assim, é necessário que ocorra um procedimento padrão realizado pelo médico ginecologista resultando na retirada de uma amostra do local afetado para análise laboratorial. O exame microscópico a partir do esfregaço vulvar irá mostrar leveduras do gênero *Candida*. Há pouca chance de alteração do pH vaginal no caso de candidíase, levando a crer que haja uma infecção mista, caso o paciente apresente este episódio. Culturas microbiológicas também se encaixam como um dos meios utilizados para diagnóstico de CVV, assim como métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR) (BLOSTEIN et al., 2017; DENNING et al., 2016; SOBEL, J. D., 2016).

2.3.2 Tratamentos Convencionais

Quando referente ao tratamento para CVV e CVV recorrente, os azóis, desde a sua liberação em 1967, são utilizados, dentre eles o miconazol (creme, óvulos vaginais), terconazol (creme vaginal), cetoconazol (creme e comprimidos), clotrimazol (creme vaginal), fenticonazol (óvulos vaginais). Além dos azóis, a nistatina (creme vaginal, suspensão oral) também é

observada como componente neste tratamento. Porém, o uso da automedicação, terapia prolongada, diabetes descontrolada e resistência intrínseca da espécie levaram a resistência medicamentosa e até a colonização de espécies não-albicans (BLOSTEIN et al., 2017; GONÇALVES et al., 2016; SOBEL, J. D., 2016).

O fluconazol, geralmente administrado via oral, é o fármaco mais utilizado dentre os azóis, porém apresenta inúmeras desvantagens destacadas, assim como os outros componentes desta mesma classe. Mesmo apresentando uma boa solubilidade, variados efeitos adversos podem ser observados, como comprometimento gastrointestinal e hepático, várias tomadas em um mesmo tratamento, resistência medicamentosa (LEYVA-G; DEL; ORTEGA-PEÑA, 2019). Estudos relatam que uma taxa maior que 57% dos pacientes que utilizaram este fármaco como tratamento para CVV apresentaram uma contaminação recidiva após 6 meses do tratamento realizado (ABDELLATIF; EL-TELBANY; ZAYED, 2019; MATHESON; MAZZA, 2017). Além das desvantagens apresentadas pelos azóis, a *Candida albicans* possui o mecanismo de resistência a partir de formação de biofilmes, podendo sofrer variação no grau de virulência apresentada dependendo do padrão da formação do mesmo (RODRÍGUEZ-CERDEIRA et al., 2019).

2.3.3 Via de administração vaginal

Desde a antiguidade, a mucosa vaginal vem sendo utilizada como rota de administração para medicamentos tanto locais como sistêmicos. A via oral é a via mais utilizada para administração de insumos farmacêuticos ativos, porém, passa por processos que podem reduzir a biodisponibilidade (devido ao metabolismo de primeira passagem) do mesmo. A via vaginal é caracterizada pela administração de insumos na cavidade vaginal, previamente conhecida pelo seu alto índice de vascularização local, o que leva a uma satisfatória absorção do fármaco, garantindo efeito sistêmico e local. Esta via tem sido utilizada como rota alternativa para o tratamento de diversas patologias, como aquelas geradas por fungos, bactérias, condições locais, além de procedimentos de indução de parto. É uma alternativa indolor, que apresenta menos danos hepáticos quando em comparação com a via oral, por não apresentar mecanismo de primeira passagem e conseqüentemente gera um aumento de biodisponibilidade ligada ao insumo, uma vez que este não precisará passar pelo trato gastrointestinal. Além disso, é um local de fácil administração e possui uma ampla superfície de contato, mesmo que menor que estômago e intestino, levando a uma rápida absorção. As formas farmacêuticas que se encaixam para administração por meio desta via são géis, cremes, óvulos, soluções, cápsulas, anéis

vaginais, entre outros (ARAÚJO, P. R. de et al., 2019; EL-HAMMADI; ARIAS, 2020; FERREIRA et al., 2017; IQBAL; DILNAWAZ, 2019; LALAN; PATEL; MISRA, 2021; LEYVA-G; PIÑ; ID, 2018).

Os anéis vaginais são dispositivos formulados com o intuito de obedecerem aos padrões de liberação vaginal convencional. São flexíveis, possuem forma de anel com 5,5 cm de diâmetro e espessura de 4 mm visando conforto na aplicação. Foram desenhados para liberação controlada de fármacos, atingindo efeitos tanto locais quanto sistêmicos e podem realizar a incorporação de mais de um fármaco em seu interior, se tornando um sistema multidrogas, além de apresentarem a alternativa de remoção em caso de período menstrual. Normalmente seus principais componentes são polímeros. Atualmente sete diferentes tipos de anéis vaginais são aplicados na clínica médica incluindo Nuvaring® (contraceptivo), Progering® (suplemento de fase lútea, contendo apenas progesterona), Ornibel® (contraceptivo), Estring® (tratamento de vaginite atrófica), Femring® (alívio de sintomas associados a menopausa), Fertiring® (suplemento de fase lútea, contendo apenas progesterona) e Annovera® (contraceptivo), além de diversos outros em fases de estudos pré-clínicos e clínicos (BOYD et al., 2019; FU; YU; JIN, 2018; HUSSAIN; AHSAN, 2005; JOHAL; GARG; RATH; GOYAL, 2016; MALCOLM et al., 2016; MCCOY et al., 2019).

Apesar de todas estas vantagens apresentadas pela via vaginal, esta também desencadeia desvantagens significativas e que afetam diretamente na ação terapêutica do insumo administrado. A vagina possui um mecanismo de ação autolimpante, que se dá pela produção de muco, que acaba promovendo a expulsão de algumas formas farmacêuticas, levando a uma diminuição do tempo de contato do insumo com a mucosa, afetando sua absorção. Seu pH também pode influenciar neste quesito, estimulando uma instabilidade significativa para o insumo. A atividade das enzimas presentes na mucosa vaginal também se torna um fator influenciável na ação terapêutica do tratamento, uma vez que as enzimas podem degradar peptídeos e proteínas, comprometendo o resultado, porém esta atividade enzimática ainda é menor quando comparada com a que ocorre no trato gastrointestinal. O ciclo menstrual e mudanças hormonais também exercem influência na rota de administração vaginal (ARAÚJO, P. R. de et al., 2019; EL-HAMMADI; ARIAS, 2020; FERREIRA et al., 2017; JOHAL; GARG; RATH; GOYAL et al., 2016).

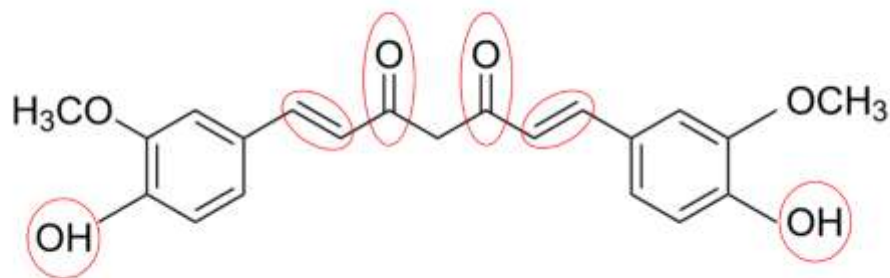
2.3.4 Materiais híbridos do tipo Ureasil-Poliéter

Materiais orgânicos-inorgânicos a base de ureasil são híbridos com características que possuem a capacidade de desviar algumas das desvantagens apresentadas pelo ambiente vaginal, além de se apresentarem como uma alternativa promissora no ambiente fisiológico por não apresentar um alto teor de citotoxicidade e um alto índice de mucoadesão. Estes materiais híbridos são baseados em uma estrutura composta por siloxano-poliéter, possuindo então suas bases orgânicas e inorgânicas ligadas através de uma ligação de ureasil. Sua composição mista favorece para o desenvolvimento de diversas características convenientes para a entrega de fármacos, dentre elas a capacidade de hospedar uma grande carga de insumo, sendo este hidrofóbico (como a curcumina), hidrofílico ou até mesmo um metal; flexibilidade, estabilidade, capacidade de alterar o molde da forma final da formulação, transparência; biocompatibilidade com o meio fisiológico; possuem uma capacidade de intumescimento devido à composição da matriz de óxido de polietileno (PEO). Estas propriedades podem sofrer variações de acordo com o peso molecular do poliéter e, até mesmo, sua estrutura, podendo variar para o óxido de propileno (U-PPO) (CARAVIERI et al., 2019; MARIANO et al., 2021; MENDES et al., 2021; NICOLAU COSTA et al., 2021; OSHIRO-JUNIOR, J. A. et al., 2021; OSHIRO, J. A. et al., 2021; OSHIRO, J. A. et al., 2017; PALÁCIO et al., 2018; SANTANA, DE et al., 2021).

2.4 Curcumina

2.4.1 Características gerais

A curcumina, também conhecida como açafrão-da-terra ou açafrão-da-índia, é obtida através de extração dos rizomas da *Curcuma longa* L. (popularmente conhecida como cúrcuma) que é facilmente encontrada na Índia e no sul da Ásia, gerando um pó de coloração amarelo-alaranjado e apresentando uma fórmula molecular de $C_{21}H_{20}O_6$, assim como mostra a Figura 4. Devido a sua composição, a curcumina apresenta um log P de aproximadamente 3,2, portanto, se encaixa nas características de uma molécula hidrofóbica, apresentando praticamente insolubilidade em água (0.00575 mg/ml) e solubilidade em álcool e ácido acético glacial. Possui um ponto de fusão de 179-182 °C, além de se encaixar nos padrões de moléculas fotossensíveis e possuindo uma dose máxima diária de 8 g (BHAT et al., 2019; NEBRISI, EL, 2021; NOCITO et al., 2021; SALEHI et al., 2018).

Figura 4 – Estrutura química da Curcumina

Fonte: Autoria própria, elaborado com auxílio do ChemDraw.

Possuindo uma má absorção pelo trato gastrointestinal, a curcumina pode sofrer metabolismo tanto no intestino como no fígado, se ingerido por via oral ela formará produtos de metabolismo de fase 2, já no caso de administração por via intravenosa os produtos são gerados a partir de metabólitos de redução. A variação de pH também interfere de maneira direta na estrutura química da CUR devido a presença de hidrogênios ácidos, localizados próximos ao grupamento carbonila. A modificação do pH gera uma alteração do seu comprimento de onda de máxima absorção, deixando-a solúvel em solventes básicos, modificando consequentemente a sua coloração, passando a ser avermelhada. Este fenômeno é atribuído devido a retirada de um próton ácido que leva a um aumento de densidade da molécula. Sua rota de eliminação é principalmente composta pelas fezes, atingindo 75% de eliminação por esta rota e uma quantidade considerada insignificante é excretada pela urina, a porção restante passa pela rota de excreção biliar. Estudos relatam que seu potencial terapêutico seja atribuído aos grupos hidroxila nos anéis aromáticos, gerando fenóis, sua porção dicetona de localização central e duplas ligações na porção alceno (LIU et al., 2017; MIRZAEI et al., 2017 ;NEBRISI, EL, 2021; SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

2.4.2 Aplicações da Curcumina

Desde tempos antigos a CUR vem sendo utilizada de diversas maneiras, dentre estas, como condimento alimentar. A CUR foi implementada na dieta de pessoas ao redor de todo o mundo, funcionando como corante, além de melhorar o sabor de alguns alimentos, já que possui uma característica ligeiramente amarga e possuir uma boa estabilidade de armazenamento, pois estudos apontam que a mesma tenha capacidade antimicrobiana. Muitos adicionaram o

composto em sua dieta por ela apresentar um potencial antioxidante. Sua concentração utilizada em alimentos pode variar de acordo com o uso, mas encontra-se entre 5-500 mg/kg. Adicionalmente, a indústria cosmética também vem aplicando este insumo em suas formulações, uma vez que são encontradas ações anti-inflamatórias e *anti-aging*, além das já citadas anteriormente. Dentre os cosméticos estão máscaras faciais, bases, protetores labiais, xampus, produtos para combate de acne, géis para o tratamento de psoríase, entre outros (SHARIFI-RAD et al., 2020; STANIĆ, 2017).

Considerando as atividades farmacológicas e terapêuticas, a curcumina é descrita como uma substância que possui propriedades, incluindo atividade antifúngica, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, cicatrizante, antidiabética, antitrombótica, antirreumática, antiviral, entre outras (SALEHI, B. et al. 2018). Um dos mecanismos exercidos pela CUR é de inibição de citocinas pró-inflamatórias, agindo assim diretamente em doenças como artrite reumatoide e doenças oculares inflamatórias. Doenças como Alzheimer, diabetes, alergias, câncer e feridas também estão entre as beneficiadas pelas atividades terapêuticas da CUR, podendo apresentar diversas formas farmacêuticas para a administração, como sabonetes, pomadas, cosméticos, comprimidos, cápsulas, pó e até bebidas à base de CUR (HEWLINGS; KALMAN, 2017; LIU et al., 2017; SALEHI et al., 2018; SHARIFI-RAD et al., 2020; STANIĆ, 2017).

Assim como mencionado anteriormente, a CUR apresenta uma baixa solubilidade e baixa absorção oral, afetando diretamente na sua biodisponibilidade, com isso, algumas estratégias precisaram ser traçadas para contornar esta desvantagem. Dentre as abordagens utilizadas, os nanossistemas estão em crescimento exponencial para a estratégias com esta finalidade, podendo ser citados as nanopartículas poliméricas e lipídicas como as mais empregadas. Somado a isto, os efeitos adversos que já eram escassos se tornaram ainda menores (HEWLINGS; KALMAN, 2017; MIRZAEI et al., 2017; SHARIFI-RAD et al., 2020; STANIĆ, 2017). Estando incorporada nestes nanossistemas, a CUR passa a ser explorada de maneiras alternativas, como por exemplo, por sua função fotossensibilizadora, podendo ser ativada por um comprimento de onda específico para a molécula (426 nm), gerando assim espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem ser nocivas para as células alvo (AILIOAIE; AILIOAIE; LITSCHER, 2021; AL-ASMARI; MEREDDY; SULTANBAWA, 2018; OSHIRO-JUNIOR, J. A. et al., 2020).

2.5 Terapia Fotodinâmica

2.5.1 Definição e mecanismo de ação

A terapia fotodinâmica (TFD) vem sendo amplamente utilizada como forma de terapia alternativa para patologias que apresentam resistência ao tratamento convencional. Vendo sendo aplicada para os mais diversos fins, dentre eles câncer e patologias provenientes de fungos e bactérias, além de ser uma técnica não invasiva. A TFD se caracteriza pela ativação de um agente fotossensibilizador (FS) por meio de um comprimento de onda pré-determinado de maior absorção. Esta ativação gera radicais livres e EROs como oxigênios singletos que são nocivos para a célula alvo, levando a apoptose e até necrose celular. Além disso, os FS podem se acumular nos tecidos alvo, levando a uma entrega mais seletiva do tratamento, sendo este ativado apenas na presença da luz que será aplicada especificamente no local desejado (CHEN et al., 2020; CHILAKAMARTHI; GIRIBABU, 2017; LIANG et al., 2016; ULRICH E., 2014).

O dano causado pela TFD nas células saudáveis é mínimo, uma vez que assim que o FS é administrado e absorvido pelo organismo ele é direcionado para a célula alvo e ativado pela luz. Esta ativação vai fazer com que o FS gere um estresse oxidativo, dando origem a EROs localizados atingindo especialmente a célula alvo e parcialmente células vizinhas, porém com uma intensidade significativamente menor. Além disso o tempo de vida útil do oxigênio singlete é curta, variando de 10 a 320 nanosegundos, limitando assim a sua capacidade de difundir-se no meio. O mecanismo de geração de EROs pode ser separado em dois tipos, o tipo I que é responsável pela geração de radicais livres (superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais de hidroxila reativos); e o tipo II que é responsável pela geração de oxigênio singlete, ambos citotóxicos. A via escolhida dependerá de fatores como a concentração do FS, características físico-químicas atreladas a ele e propriedades do alvo (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016; CHILAKAMARTHI; GIRIBABU, 2017; CIEPLIK et al., 2018; KESSEL, 2019; LIANG et al., 2016; ULRICH E., 2014).

2.5.2 Aplicação

TFD vem sendo aplicada principalmente com o uso concomitante de nanossistemas, causando otimização dos efeitos terapêuticos e redução da frequência dos efeitos adversos. Por este modo, pesquisas em variados ramos estão sendo desenvolvidas envolvendo o uso da TFD. Estudos direcionados a câncer são os pioneiros, porém atividades antibióticas, antifúngicas também estão sendo avaliadas. A maioria dos estudos envolvendo microrganismos abordam células planctônicas, porém, foi observado que a TFD vem se mostrando eficaz no tratamento

de patologias causadas por biofilmes, incluindo os do gênero *Candida* (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016; CHEN et al., 2020; CIEPLIK et al., 2018; LIANG et al., 2016).

Desta forma, a TFD aplicada em conjunto com a administração das membranas híbridas contendo curcumina podem apresentar-se como uma promissora alternativa para aqueles pacientes que apresentaram resistência medicamentosa ao tratamento convencional da CVV, além de apresentar características de aplicação mais confortáveis e uma aplicação mais espaçada, auxiliando na adesão do tratamento.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar micelas contendo curcumina dispersas em matrizes híbridas do tipo ureasil-poliéter para aplicação na forma farmacêutica de anéis vaginais no tratamento da candidíase vulvovaginal em associação com a aplicação da terapia fotodinâmica.

4 METODOLOGIA

4.1 Preparação das Micelas Poliméricas

A metodologia utilizada para obtenção das micelas poliméricas foi baseada na técnica de evaporação de solvente ou “filme polimérico”, com adaptações. Primeiramente pesou-se 1,00 g Pluronic® F-127 (P127) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) para as micelas brancas (sem CUR) e Pluronic® + CUR (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) em diferentes concentrações (0,10, 0,50, 1 e 3%). Os pós foram transferidos para um balão de fundo redondo de 50 ml. Esta quantidade foi solubilizada em 25 ml do solvente clorofórmio (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) que foi evaporado com o auxílio de um rotaevaporador Ika® RV 8 por 10 min a 45 °C. Após a formação do filme polimérico, este foi reidratado com 30 ml de água purificada buscando atingir a CMC e posteriormente a formulação foi levada para o agitador magnético (SL-92 SOLAB) por 30 min com agitação de 700 rpm. A quantidade de 1,00 g do polímero em 30 ml de água é baseada em sua concentração micelar crítica ($2,8 \times 10^{-6}$ M) (KABANOV; BATRAKOVA; MILLER, 2003).

Após o processo de agitação, a formulação foi levada ao homogeneizador ultrassônico (UNIQUE®, São Paulo, Brasil) sendo aplicada amplitude de 35% por 5 ciclos de 1 min, em intervalos de 30 segundos, com o objetivo da obtenção das micelas em escala nanométrica. As amostras foram separadas em alíquotas e levadas a centrífuga (Hettich – MIKRO 220 R, Tuttlingen, Alemanha) por 30 min a 5000 rpm para que fossem retirados todos os possíveis contaminantes que foram desprendidos da haste de titânio presente no homogeneizador ultrassônico.

4.2 Caracterização Físico-química das Micelas Carregadas com Curcumina

4.2.1 Determinação do Diâmetro médio Hidrodinâmico (d_{nm})

As análises dos tamanhos das partículas foram realizadas após o desenvolvimento das micelas, utilizando a técnica do espalhamento de luz do raio hidrodinâmico ou *dynamic light scattering* (DLS) das partículas em suspensão utilizando o equipamento Nanotracs (Nanotracs Wave Model MN401, São Paulo, Brasil). As medidas foram realizadas em triplicata com temperatura de 25°C.

4.2.2 *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Para a análise do diâmetro médio e forma das micelas contendo ou não CUR e obter informações sobre a diferença de tamanho com a presença de CUR, a técnica utilizada foi a microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG) em equipamento JEOL JSM-7500F. Para isto, uma gota do material foi disposta sobre suporte metálico e seco em temperatura ambiente por três dias em dessecador. O suporte foi então revestido com material condutor (carbono) e as fotomicrografias foram obtidas.

4.2.3 *Eficiência de Encapsulação (EE%)*

A eficiência de encapsulação das micelas contendo CUR foi realizada após estas serem centrifugadas a 5000 rpm por 30 min. O sobrenadante foi retirado e a quantificação da CUR encapsulada foi baseada no seu espectro de absorção, onde foi utilizado o UV-Vis *Spectrophotometer* SHIMADZU UV-1900 (Kyoto, Japão) e lido em um comprimento de onda de 426 nm. Assim, a eficiência de encapsulação (EE%) foi determinada através da Equação 1:

$$EE\% = \frac{M1}{MT} \times 100 \quad (1)$$

tendo EE referente a eficiência de encapsulação; M1 = absorbância da CUR encapsulada na micela; MT = absorbância teórica da CUR usada na micela.

4.3 **Preparação dos Materiais Híbridos do tipo Ureasil-Poliéter**

Os precursores foram obtidos a partir da reação de um alcoóxido modificado 3-isocianatopropiltriétoxisilano (IsoTrEOS) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e polímeros modificados (NH₂-POE-NH₂) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) com massas moleculares de 500 g/mol. A mistura alcoóxido e polímero modificado foi mantida sob refluxo em etanol absoluto à temperatura de 80 °C por 24 horas. Posteriormente, o solvente de síntese foi eliminado por aquecimento e pressão reduzida (OSHIRO JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014).

Em seguida, as reações de hidrólise e condensação foram promovidas pela adição controlada de 0,750 g do precursor, 50 µl de água purificada, 500 µl de etanol e 100 µl de um

agente catalisador de caráter ácido (HCl 2M) e agitação de 250 rpm em agitador magnético por 1 min, levando à formação de um gel. As micelas contendo as proporções de 0,10, 0,50, 1,0 e 3,0% de CUR foram incorporadas nesta etapa de hidrólise e condensação. Posteriormente, o sistema obtido permaneceu em dessecador para secagem em temperatura ambiente (30 ± 2 °C) por 72 h (OSHIRO-JUNIOR, 2019).

4.4 Difrações de Raios X (DRX)

Os difratogramas foram obtidos com o difratômetro de raios X modelo XRD 6000 (Shimadzu®, São Paulo, Brasil), com varredura angular $5^\circ < 2\theta < 35^\circ$, na montagem de Bragg-Brentano, sistema θ - 2θ , utilizando radiação de Cu ($K\alpha_1$) com varredura no passo de 0,02 (2θ), com intervalo de 0,6 segundo para cada amostra.

4.5 Curva analítica

A curva analítica foi determinada por meio do UV-Vis utilizando o comprimento de onda de 426 nm. O meio empregado para a realização desta etapa foi composto de tampão acetato pH 4,0 (80%) como meio simulador do ambiente vaginal acrescido de tween 80 (15%) e etanol absoluto (5%) para garantir a condição Sink (BUI, H. T. et al., 2014; LI, J. et al., 2015; LI, X. et al., 2015; SUBTAWEE SIN, C. et al., 2018). A linearidade do método foi alcançada a partir de uma solução estoque, composta pelo meio acrescido de CUR na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$, foram preparadas diluições nas concentrações de 0,5, 1, 2, 4, 6, e 10 $\mu\text{g/ml}$. As análises foram feitas em sextuplicata, com analistas diferentes, em dias alternados e analisadas no programa Excel.

4.6 Ensaio de Liberação *In Vitro*

O estudo de liberação *in vitro* foi realizado utilizando três grupos: i) U-PEO com micela e CUR, ii) U-PEO com CUR e iii) CUR livre. Estes foram imersos separadamente em uma solução receptora composta por tampão acetato pH 4,0 acrescida de 15% de tween 80 e 5% de etanol absoluto contida em um béquer apresentando um total de 750 ml do mesmo, sob agitação constante em agitador magnético SL-92 SOLAB em 100 rpm a 37 °C. Todo o sistema estava protegido da luz. Decorridos os intervalos de tempo pré-determinados (15, 30, 45 min, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 e 240 horas) uma alíquota de 3,00 ml da solução

foi coletada e analisada no espectrofotômetro UV-vis, no comprimento de onda de 426 nm. Posteriormente, uma alíquota de 3,00 ml da solução receptora foi reposta ao béquer para preservar o meio e evitar concentração do mesmo. O experimento foi realizado em triplicata.

4.7 Ensaio Microbiológico

Diferentes operações foram executadas na preparação do ensaio microbiológico, sendo estas as seguintes.

- (1) Todo o material utilizado foi esterilizado e preparado. Os meios de cultura foram preparados. Em seguida o repique dos microrganismos foi feito em placas Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Sigma Aldrich®, EUA) e deixados em estufa de circulação de ar a 35 ± 2 °C por 24 horas. A cepa utilizada foi *C. albicans* (ATCC 90028);
- (2) O inóculo foi preparado em solução salina a 0,85% a partir das colônias retiradas do repique e, posteriormente, padronizado utilizando 5 colônias, colocando-as no tubo de ensaio com 5 ml de PBS e levados para um agitador vórtex por 15 segundos com posterior leitura no espectrofotômetro a 530 nm encontrando uma faixa de absorbância de 0,08 – 0,1 para garantir a concentração adequada do inóculo de $5,0 \times 10^6$ células por ml. Em seguida, esta concentração de células passou por uma diluição 1:100 e seguida de uma diluição 1:20 levando ao resultado de uma concentração de $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células por ml²;
- (3) Seguindo, os grupos foram pré-determinados como mostra o Quadro 1, levados a placa de 96 poços contendo PBS, onde o ensaio foi realizado através do método de microdiluição em placa diluições seriadas de 20 µl e foram expostos ou não a luz por um período de 5 minutos e ao final do procedimento. O esquema representativo da placa e da distribuição dos grupos foi descrito na Figura 5. As placas foram levadas a estufa por 24 horas;

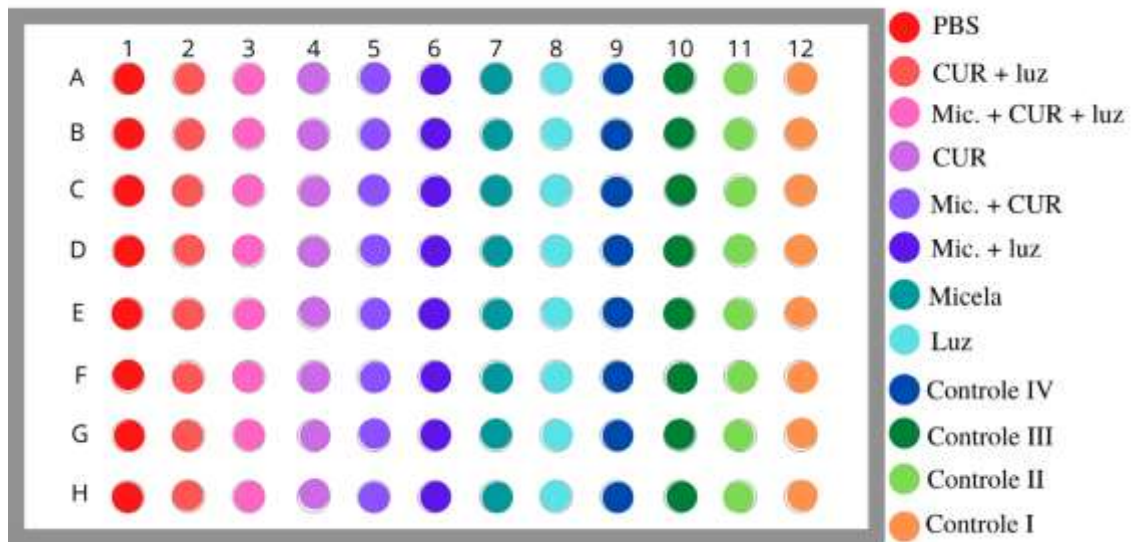
Quadro 1 – Divisão dos grupos de tratamento para o ensaio microbiológico.

Grupos	Tratamento	Composição
a	Grupo controle I	200 µL de meio de cultura
b	Grupo controle II (negativo)	100 µL de DMSO e água purificada + 100 µL do inóculo
c	Grupo controle III (negativo)	100 µL de PBS + 100 µL do inóculo
d	Grupo Controle IV (positivo)	100 µL de Nistatina 4 µg/mL + 100 µL do inóculo
e	Luz	100 µL de PBS + 100 µL do inóculo + luz
f	Micela	100 µL de micela + 100 µL do inóculo
g	Micela + Luz	100 µL de micela + 100 µL do inóculo + luz
h	Micela + CUR	100 µL de micela com CUR + 100 µL do inóculo
i	CUR	100 µL de CUR + 100 µL do inóculo
j	Micela + CUR + Luz	100 µL de micela com CUR + 100 µL do inóculo + luz
k	CUR + Luz	100 µL de CUR + 100 µL de inóculo + luz
l	Grupo controle V	200 µL de PBS

Fonte: Autoria própria, .2021.

- (4) Após o período de incubação, as placas de 96 poços foram retiradas da estufa. As placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud foram divididas em 8 seções, onde 10 µl de cada alíquota da placa de 96 poços foi depositada sob sua superfície seguidas de uma nova incubação por 24 horas para posterior leitura. O experimento foi realizado em triplicata.

Figura 5 – Esquema representativo da distribuição dos tratamentos na placa de 96 poços



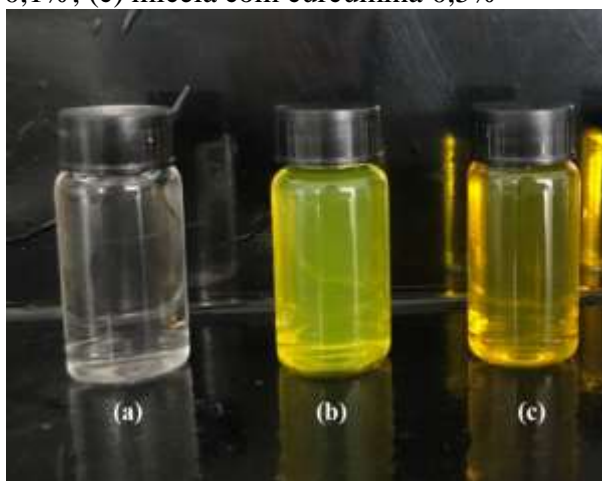
Fonte: Autoria própria, 2021

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Preparação das Micelas Poliméricas com e sem Curcumina

As micelas com e sem CUR (Figura 6) foram preparadas pelo método do filme polimérico que permite a incorporação de altas concentrações de substâncias ativas hidrofóbicas. Após essa etapa, o material foi reidratado e levado ao homogeneizador ultrassônico, método de alta energia que possibilita a obtenção de partículas de tamanho manométrico.

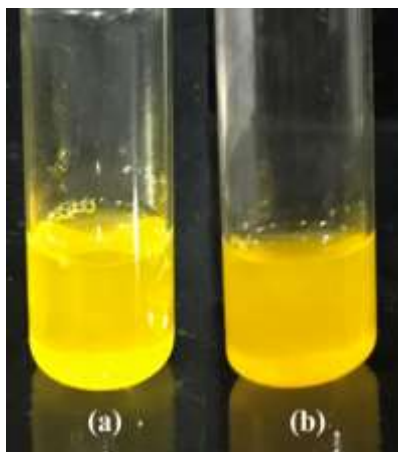
Figura 6 – Aspecto visual das micelas poliméricas com e sem curcumina. (a) micela pura; (b) micela com curcumina 0,1%; (c) micela com curcumina 0,5%



Fonte: Autoria própria, 2021

O material obtido na forma de micela branca, que não contém CUR (Figura 6a), foi caracterizado como um líquido fluido e translúcido, no qual foi observado o efeito Tyndall, levantando a possibilidade da solução se encontrar na faixa de tamanho desejada, uma vez que este efeito ocorre quando há dispersão de luz pelas partículas coloidais (WU et al., 2020). Por outro lado, foi observada uma coloração amarelo-clara característica nas micelas que apresentavam CUR nas concentrações de 0,1 e 0,5% (Figura 6b e 6c), que escurecia gradativamente com o aumento da concentração de CUR. Já na Figura 7, é possível observar um padrão destoante com concentrações de CUR superiores como em 1 e 3%.

Figura 7 – Aspecto visual das micelas poliméricas com curcumina. (a) micela com curcumina 1%; (b) micela com curcumina 3%



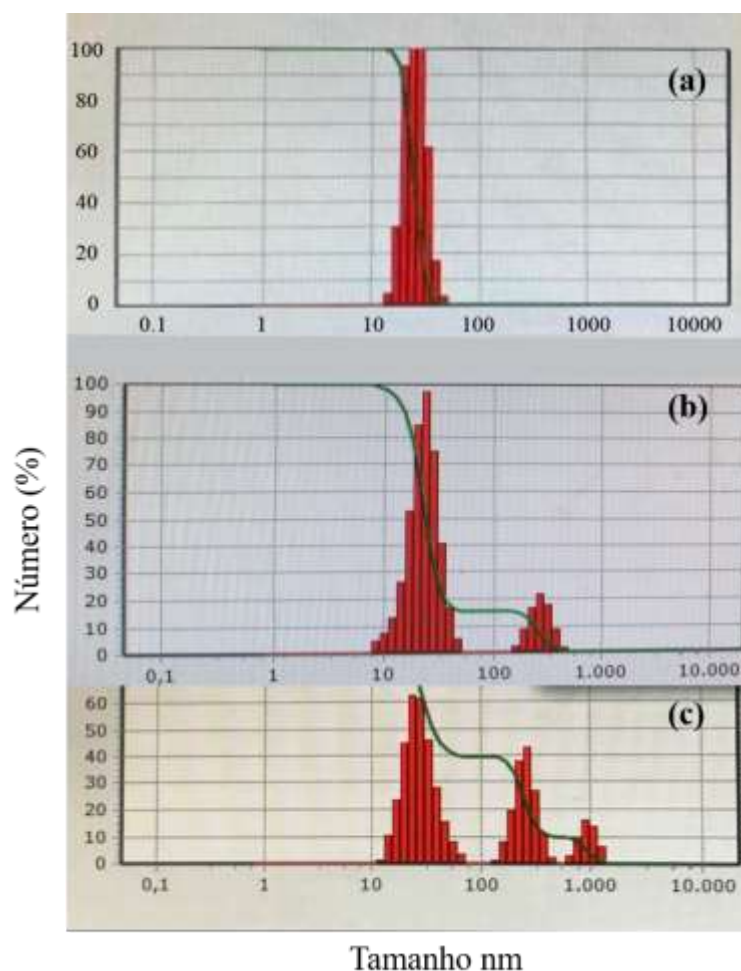
Fonte: Autoria própria, 2021

As características visuais revelam que ambas (Figura 7a e 7b) possuem um padrão de cor mais forte, em comparação com aquelas de menor concentração. Além disso, também possível observar um padrão turvo que se intensifica à medida que a concentração da CUR aumenta, indicando que parte da CUR não foi encapsulada nas micelas.

5.2 Determinação do Diâmetro Médio Hidrodinâmico (d_{mn}) das Micelas

Os resultados revelados na Figura 8 são referentes as distribuições das partículas através da técnica de DLS.

Figura 8 – Distribuição de partículas (%) em relação ao diâmetro das micelas contendo CUR 0,5% (a), micelas contendo CUR 1% (b) e micelas contendo CUR 3% (c)



Fonte: Autoria própria, 2021

As análises determinam que as micelas com CUR referentes a concentração de 0,5% apresentou valores médios numa faixa de tamanho entre 20 e 60 nm, com grande parte das distribuições do número de partículas em $35 \pm 3,50$ nm, o que está de acordo com estudos realizados por VAIDYA et al. (2019), onde os pesquisadores obtiveram resultados de DLS que, através da aplicação do mesmo método de preparação de micelas, mostraram que todas as micelas carregadas com CUR em concentração semelhante obtiveram uma distribuição de tamanho estreita, mas semelhante à encontrada neste estudo. Além disto, esta faixa de tamanho apresentada pelas micelas em adição com outras características confere uma maior afinidade com biofilmes de *C. albicans* e uma facilitação da penetração da sua biomassa, gerando uma melhora na atividade antifúngica. Podendo esta, ser ainda mais intensificada de acordo com o polímero escolhido, uma vez que a carga catiônica pertencente no polímero pode gerar um direcionamento a parede do biofilme devido aos constituintes glicoproteicos aniônicos

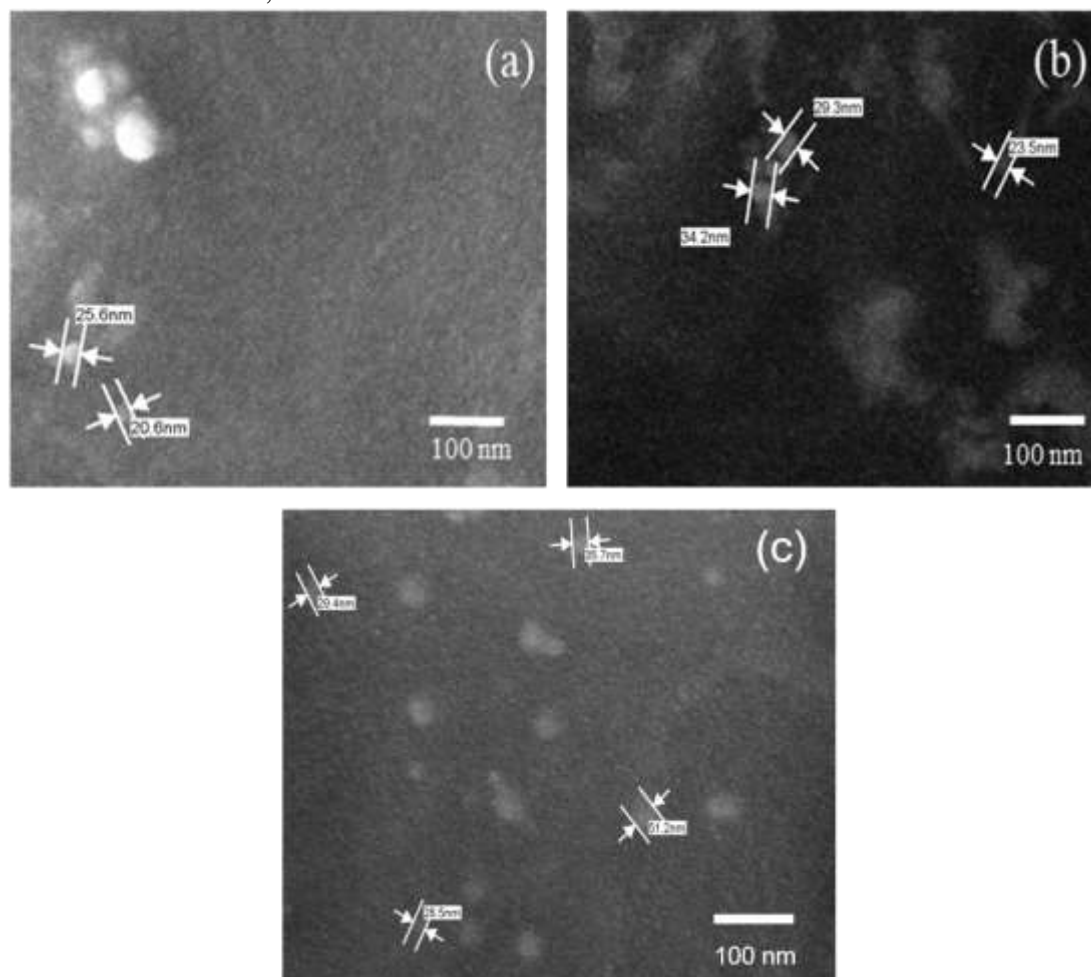
presentes em sua superfície, gerando uma interação eletrostática (ALBAYATY, Y. N. et al., 2020).

Por outro lado, as concentrações de 1 e 3% (Figura 8b e 8c) o gráfico passa de monomodal para bimodal e trimodal, respectivamente, provavelmente devido a presença de precipitação e aglomerados, onde para ambas a população alfa (de menor diâmetro) está se sobrepondo a população beta (maior diâmetro) em termos de quantidade de partículas, indicando uma faixa de tamanho dentro da faixa coloidal, diferindo da faixa de tamanho apresentada pela população beta.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

MEV é uma técnica usada para analisar o tamanho de partícula e a morfologia de micelas (Figura 9), além de estabelecer uma comparação para determinar se a presença de uma determinada substância como a CUR gera alteração destes padrões.

Figura 9 – Fotomicroscopia das micelas: (a) micela sem CUR; (b) micela com CUR 1% e (c) micela com CUR 3%, aumento de $100.000\times$



Fonte: Autoria própria, 2021

Assim, os resultados de MEV mostram que a adição de CUR (Figura 9b e 9c) não causou alterações significativas no tamanho e na morfologia das micelas, demonstrando um padrão contendo micelas esféricas com tamanhos nanométricos entre 20 e 34 nm para micelas brancas e entre 22 e 51 nm para micelas contendo CUR a 1 e 3%. A modificação do estado hidratado das micelas pela técnica de MEV não apresenta uma taxa significativa de mudança no tamanho médio das partículas.

5.4 Eficiência de Encapsulação (EE%)

Micelas com diferentes concentrações de CUR foram analisadas após os processos de centrifugação. Os resultados revelaram que a EE para micelas contendo 0,1, 0,5, 1 e 3% de CUR foram $96,2 \pm 3,5$, $86,4 \pm 5,7$, $62,9 \pm 2,2$ e $20,2 \pm 0,7\%$, respectivamente. No resultado apresentado por GANGULY et al. (2017), a EE da CUR incorporado nas micelas a 1% foi de

46%, quando aplicado uma metodologia distinta de aquecimento, levando a crer que a metodologia aplicada neste trabalho exerce uma eficiência de encapsulação significativamente maior em relação às micelas apresentando esta concentração.

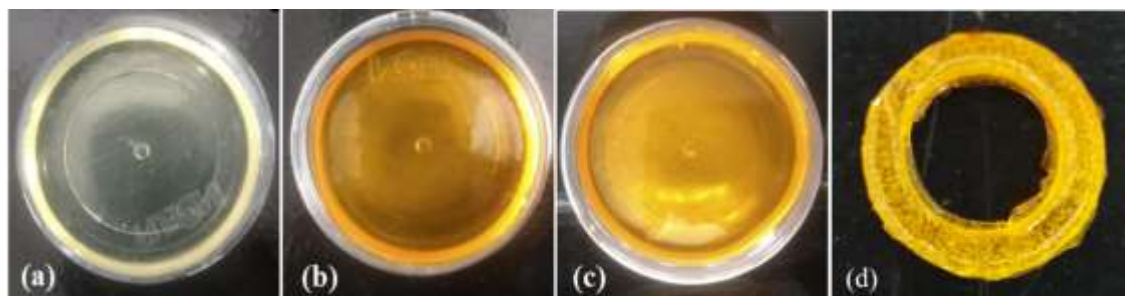
5.5 Obtenção das Membranas Híbridas do tipo Ureasil-Poliéter

Os filmes compostos pelo material híbrido são formados pelo processo sol-gel, que envolve reações de hidrólise e condensação. A velocidade dessas reações (tempo de formação do filme) é controlada pela variação da proporção precursor/catalisador (OSHIRO, J. A. et al., 2018; OSHIRO, J. A. et al., 2017; OSHIRO JUNIOR, J. A. et al., 2015; OSHIRO, J. A. et al., 2016).

No resultado final, após a secagem, a membrana deve mostrar-se homogênea e apresentar flexibilidade, por este motivo sua obtenção deve ser realizada de forma metódica, uma vez que fatores como a pressão e a temperatura do ambiente podem interferir, resultando em rachaduras, fissuras e membranas quebradiças.

Visando verificar se o sistema híbrido seria capaz de aumentar a capacidade de solubilização ou aprisionamento da CUR, a concentração de micela-CUR 3% foi escolhida. A Figura 10 apresenta as características visuais das membranas U-PEO desenvolvidas contendo as micelas com e sem CUR.

Figura 10 – Material híbrido do tipo ureasil-poliéter (U-PEO 500) pura (a), com CUR 3% (b), com micela CUR proporção de 3% (c) e anel vaginal (d)



Fonte: Autoria própria, 2021

Os resultados visuais revelam que a presença do fármaco e da micela na membrana não alterou as propriedades mecânicas do material. Além disso, é possível observar que, quando incorporada no U-PEO, a micela contendo 3% de CUR (Figura 10c) apresenta-se visualmente homogênea, sem presença de aglomerados ou precipitados. O U-PEO, devido aos diferentes grupamentos (OH, C-O-C e N-H), é capaz de auxiliar na solubilização de diferentes moléculas

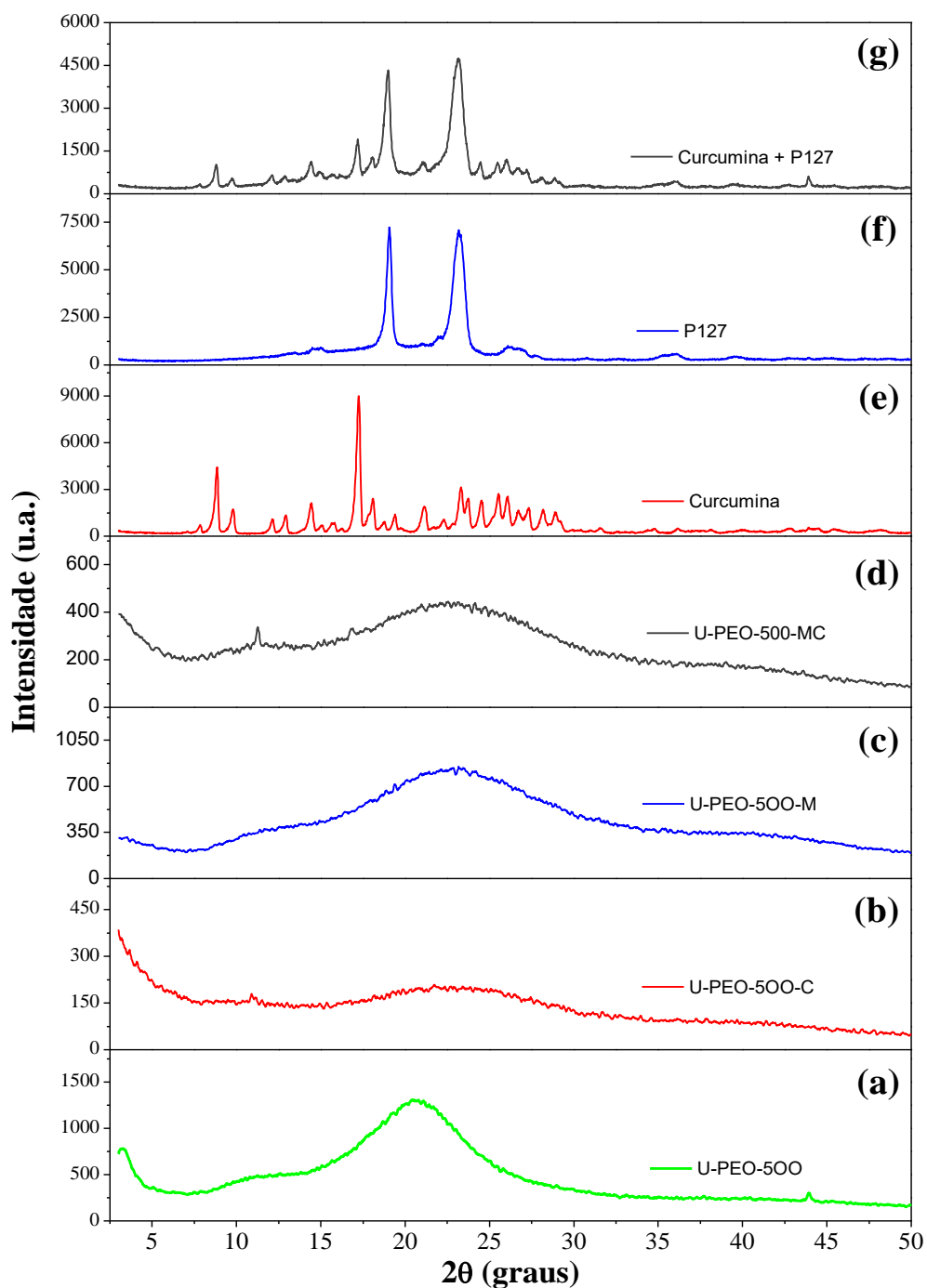
(hidrofílicas, hidrofóbicas e metais) se tornando um promissor meio de entrega para fármacos. O processo sol-gel permite ao manipulador produzir uma variação de formas, sendo essas apenas dependentes da matriz, sendo assim de fácil e acessível reprodutibilidade (OSHIRO, João Augusto et al., 2016).

Sendo assim, verificando se o sistema híbrido é capaz de contribuir com a encapsulação, mesmo que a EE% da CUR presente na micela na concentração de 3% seja de 20,2%, a sua incorporação no material híbrido acaba atingindo os 100% garantindo a presença da CUR no sistema, devido a presença dos diferentes grupamentos presentes na matriz, que auxiliam na solubilização da própria.

5.6 Difração de Raios X (DRX)

A Figura 11 apresenta os padrões de DRX das amostras sendo elas, o U-PEO puro, U-PEO contendo CUR pura, U-PEO contendo micela pura, U-PEO contendo micela com CUR, CUR pura, micela pura e micela contendo CUR a 3%.

Figura 11 – Padrões de DRX das amostras: (a) U-PEO puro, (b) U-PEO + CUR 3%, (c) U-PEO + micela pura, (d) U-PEO + micela + CUR 3%, (e) CUR pura, (f) micela pura e (g) CUR + micela 3%



Fonte: Autoria própria, 2021

Nos resultados da análise de DRX da CUR pura (Figura 11e), pode-se observar a sua forma cristalina com reflexões cristalinas características, onde sua maior visibilidade foi na faixa de 16°. SUN, X. Z. et al. (2013), citam em sua pesquisa que a CUR pura existe em um estado cristalino, exibindo um número de reflexões características entre 10 e 30 ° 2θ. O P127 (Figura 11f) apresentou dois pontos característicos na faixa de 19° e 23°, permanecendo

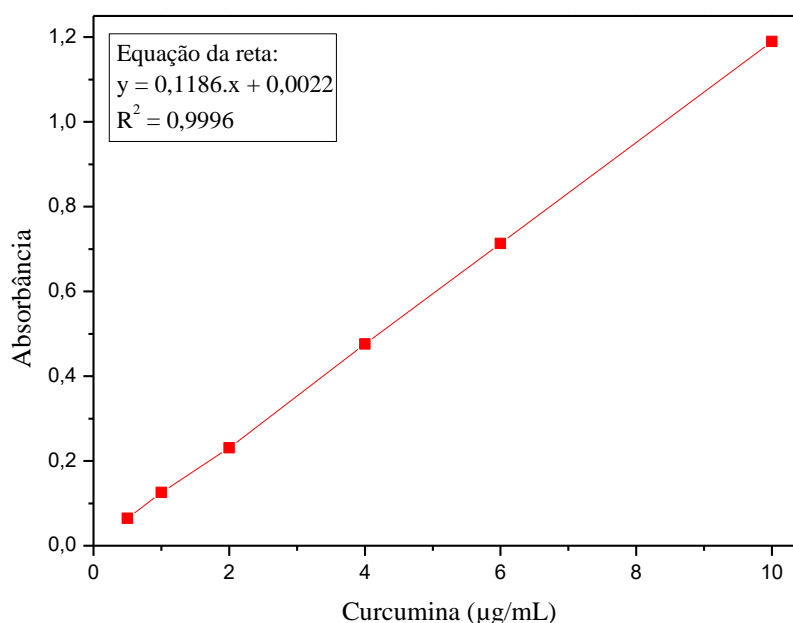
inalterados mesmo após a incorporação da CUR na micela (Figura 11g), assim como ocorre em outros trabalhos, como na pesquisa realizada por SAHU et al. (2011), onde os resultados foram similares aos apresentados neste estudo (NAIKOO et al., 2016).

Os padrões de raios-X dos materiais sintetizados a partir do U-PEO, CUR e micela (P127) demonstram um padrão amorfo e o desaparecimento dos picos da CUR e do Pluronic®, sugerindo dispersão de ambos no material, portanto, corroborando com as características visuais apresentadas.

5.7 Curva analítica

A linearidade do método para quantificar a eficiência de encapsulação e liberação de CUR por espectroscopia na região do UV na faixa de absorvância de 426 nm foi determinada pela construção de uma regressão linear usando uma concentração de CUR variando entre 0,5 e 10 µg/ml. A linha gerada foi $y = 0,1186x + 0,0022$ e o coeficiente de correlação (r^2) foi 0,9996, que é linear, conforme mostrado na Figura 12.

Figura 12 – Curva analítica da CUR em tampão acetato pH 4,0



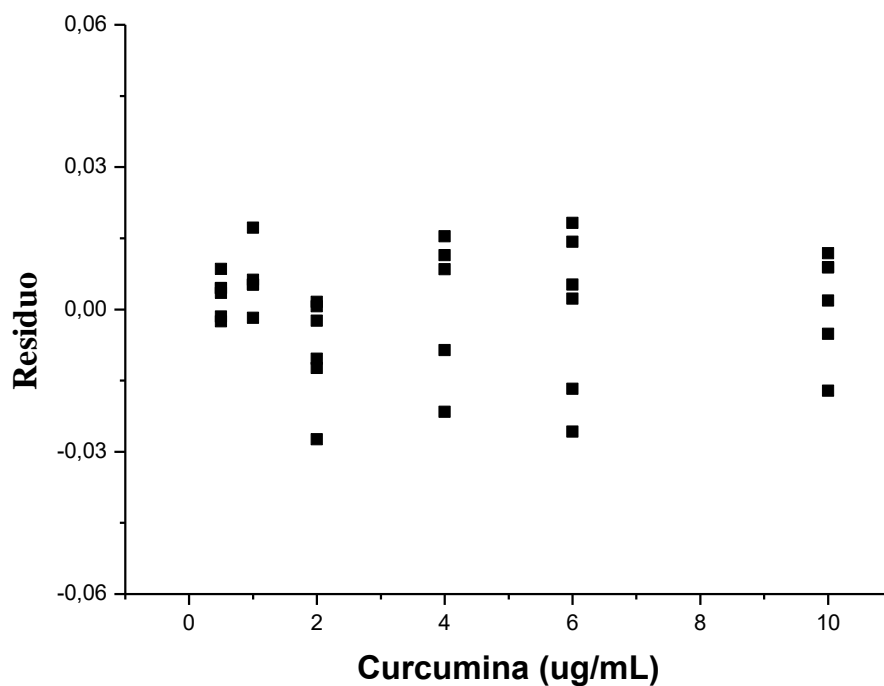
Fonte: Autoria própria, 2021

Assim, os dados da regressão linear foram submetidos a uma análise de variância (falta de ajuste e significância da regressão) utilizando o teste Snedecor F para avaliar o ajuste do modelo. Os resultados revelaram que neste modelo não houve falta de ajuste (falta de ajuste

obtido = 1,17 <Ft = 2,68) e apresentou regressão significativa (~ 9.500 vezes), validando o modelo dado pela equação da reta.

O gráfico de resíduos (Figura 13) permitiu verificar o comportamento das variâncias dos dados na regressão linear em relação ao aumento da concentração, que é homocedástica. Além disso, o limite de detecção e o limite de quantificação foram determinados a partir dos parâmetros da regressão linear, obtendo-se resultados de 0,010 e 0,032, respectivamente.

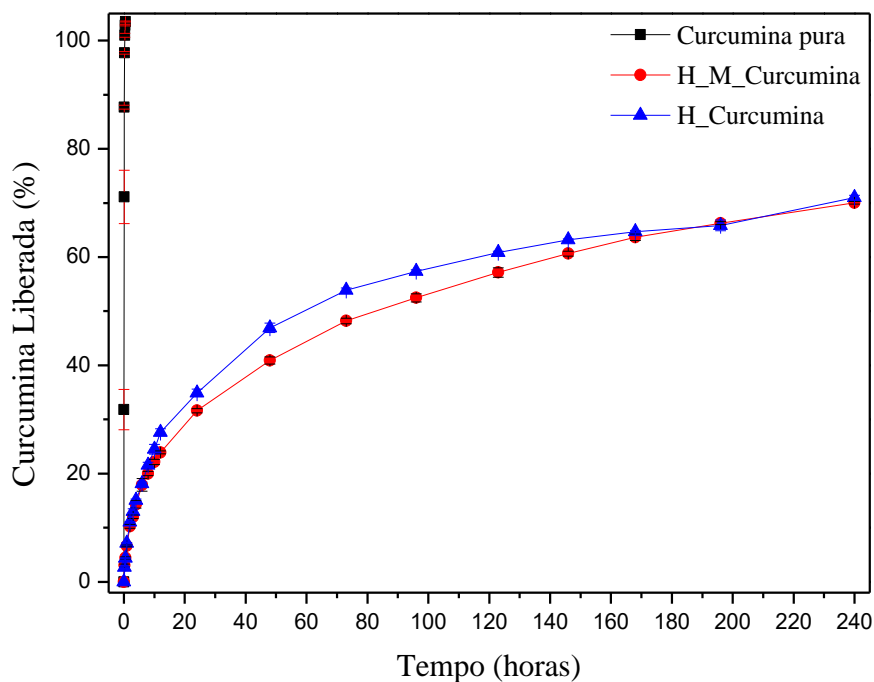
Figura 13 – Gráfico de resíduos



Fonte: Autoria própria, 2021

5.8 Ensaio de Liberação *In Vitro*

Figura 14 – Liberação da CUR presente em um material híbrido do tipo ureasil-poliéter (U-PEO) em função do tempo, tendo a liberação de curcumina pura (linha preta), U-PEO + curcumina 3% (linha azul) e U-PEO + micela + curcumina 3% (linha vermelha)



Fonte: Autoria própria.

A Figura 14 apresenta o perfil de liberação da CUR pura (preto), U-PEO com CUR (azul) e U-PEO com micela e CUR (vermelho). É possível observar que a CUR atingiu 100% de liberação em torno de 15 minutos. O U-PEO com CUR e U-PEO com micela e CUR apresentaram outro perfil, a liberação ocorre de forma controlada e modificada, liberando após 10 dias cerca de $70 \pm 0,43$ % da CUR, demonstrando que esse sistema desenvolvido pode ser utilizado em tratamento prolongado, reduzindo as flutuações no local de ação dos níveis da CUR o que diminui os efeitos adversos e aumenta a adesão do paciente ao tratamento (USHERWOOD, 2017).

A liberação modificada da CUR em baixas concentrações garante que o seu efeito local seja realizado de maneira satisfatória e que as flutuações locais não sejam significativas ao ponto de levarem a um efeito sistêmico e conseqüentemente a efeitos adversos. As micelas não apresentaram influência significativa nas ligações químicas envolvendo U-PEO e CUR. Características intrínsecas do U-PEO em possuir caráter hidrofílico-hidrofóbico que afetam na habilidade de englobar e liberar a CUR juntamente com as micelas. Entretanto, a vantagem da presença das micelas no sistema está relacionada com a sua influência na solubilidade da CUR,

aumentando-a através da sua encapsulação, já que no ambiente fisiológico a sua solubilidade é significativamente menor, assim como a sua biodisponibilidade.

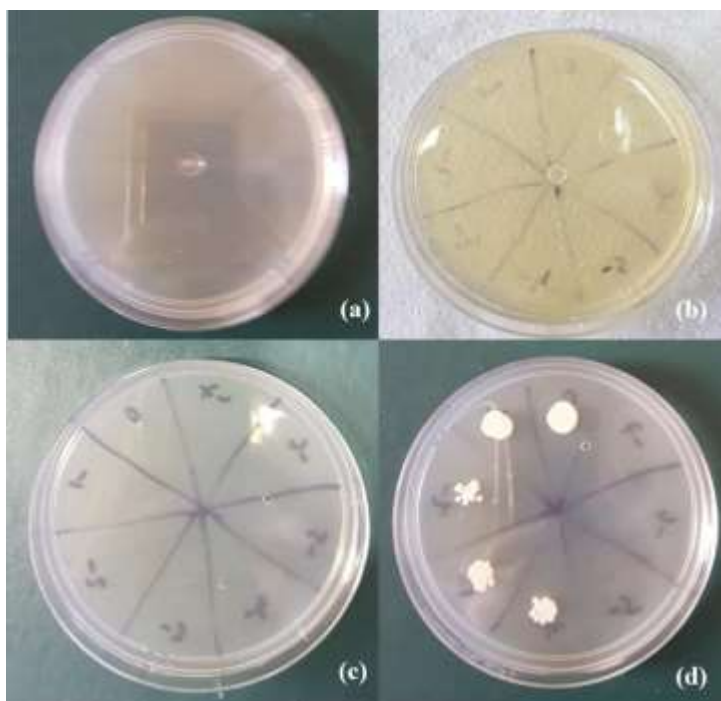
Na literatura, vários sistemas nanoestruturados tem sido utilizados para melhorar o perfil de liberação da CUR, como a pesquisa realizada por ANITHA et al., (2011), utilizando nanopartículas (NPs) como novo sistema de liberação. Os autores mencionaram que o padrão de liberação do fármaco mostrou um pico de liberação nas primeiras 3 horas, seguidas por uma liberação controlada da CUR ao longo de um período de uma semana, na qual cerca de 70% do fármaco foi liberado durante este período. A CUR que é absorvida na superfície das NPs e aquela presa próxima a superfície podem ser o motivo do pico inicial de liberação. Uma vez que a taxa de dissolução do polímero que se localiza próximo a superfície é alta, a quantidade de fármaco liberado também será alta. Para SAHU et al. (2011), que usaram micelas poliméricas como fonte de um novo sistema de liberação, uma liberação relativamente rápida ocorreu no estágio inicial, seguida de uma liberação lenta e sustentada durante um período superior a 10 dias. Durante as primeiras 4 horas, obteve-se uma taxa de liberação de 5% das micelas de Pluronic® F127. Após isto, a liberação se apresentou lenta e sustentada, onde finalmente, às 240 horas, 63% do fármaco foi liberado das micelas de Pluronic® F127.

Uma vez que a vagina possui diversos mecanismos que dificultam a ação de medicamentos, como a presença de enzimas, ação autolimpante, pH ácido, entre outros, a formulação aplicada deve possuir alternativas para burlar essas dificuldades. As fases orgânicas e inorgânicas que compõem o U-PEO apresentam propriedades físicas e químicas que aumentam a resistência do material, estabilidade térmica e física, além da possibilidade de modulação da forma farmacêutica e apresentar características de mucoadesão, aumentando o contato com a mucosa alvo (OSHIRO, J. A. et al., 2018).

5.9 Ensaio Microbiológico

O ensaio microbiológico foi realizado de acordo com os grupos preestabelecidos. A Figura 15 mostra o padrão microbiológico dos grupos de controle das amostras, sendo estes o meio de cultura, PBS puro, a nistatina como controle positivo e PBS + inóculo como controle de crescimento.

Figura 15 – Padrão microbiológico dos grupos de controle das amostras: (a) meio de cultura, (b) PBS puro, (c) nistatina, (d) PBS + inóculo

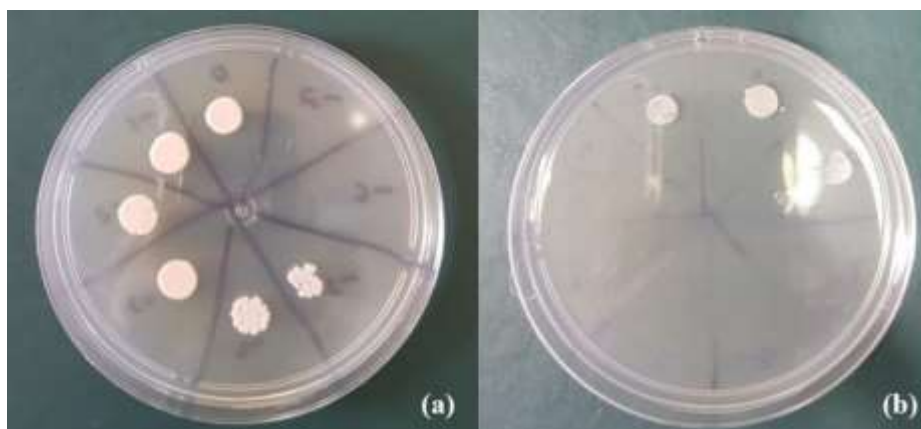


Fonte: Autoria própria.

Os grupos de controle apresentaram resultados esperados, onde as placas referentes ao meio de cultura, PBS e nistatina não houve crescimento microbiológico, e a placa referente ao PBS + inóculo apresentou crescimento de 5 logs, atuando como o controle de crescimento do microrganismo.

Já na Figura 16, é mostrado os grupos referentes a CUR isolada, contendo ou não a presença da luz, para a determinar se a CUR, quando não é ativada pela luz, exerce alguma atividade fungicida no composto.

Figura 16 – Padrão microbiológico dos grupos das amostras: (a) CUR pura sem luz, (b) CUR pura com luz

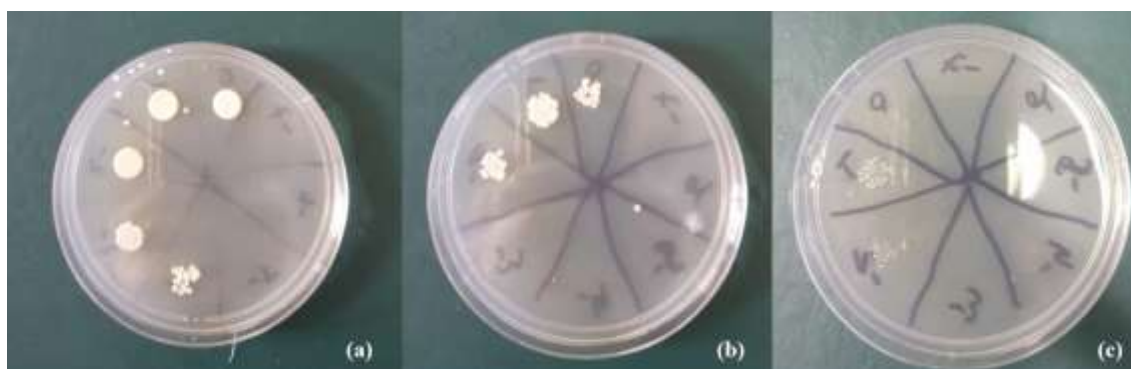


Fonte: Autoria própria.

No grupo referente a CUR sem luz, pode-se observar um crescimento de 6 log, demonstrando que a CUR isolada não possui capacidade fungicida. Contudo, quando adicionado a luz, os resultados revelam uma redução de 3 log, ou seja, foi capaz de reduzir em 99,9% a concentração fúngica. Na literatura, estudos demonstram que há inibição do crescimento de *Candida* na presença de CUR e luz, apresentando uma inibição concentração dependente e sendo capaz de inibir tanto células planctônicas como biofilmes (MA et al., 2019; TRIGO-GUTIERREZ et al., 2021).

Assim como na Figura 16, a Figura 17a se refere a possível atividade apresentada pela micela isolada, sem a presença da CUR em seu interior, para verificar se a sua presença irá influenciar da redução de crescimento microbiológico.

Figura 17 – Padrão microbiológico dos grupos das amostras: (a) Micela, (b) Micela + CUR sem luz, (c) Micela + CUR com luz



Fonte: Autoria própria.

O grupo contendo apenas micela apresentou um crescimento de 5 log, representando que a micela isolada não exerce atividade sobre a redução de crescimento da *Candida*, porém, diversos nanossistemas já foram testados de acordo com a literatura para a inibição do crescimento das distintas espécies de *Candida*, como nanopartículas metálicas, lipossomas, nanoemulsões, nanopartículas lipídicas sólidas, carreadores lipídicos nanoestruturados, entre outros. Entretanto, as micelas apresentam uma alta taxa de biocompatibilidade, baixo custo e produção facilitada, além de influenciar na formulação aumentando a solubilidade e biodisponibilidade da CUR (ARAÚJO et al., 2020; TRIGO-GUTIERREZ et al., 2021)

Quando referente ao sistema contendo CUR incorporada nas micelas sem luz, há uma inibição significativa do crescimento da *Candida* em ambas as placas (b,c). Houve uma redução de 3 logs referentes a comparação entre a CUR pura sem luz e a micela + CUR sem luz, representando uma redução de 99,9% do crescimento, isto quer dizer que a CUR encapsulada pode ter sido capaz de permear a célula fúngica de maneira mais eficaz, exercendo assim uma melhor atividade farmacológica por meio do mecanismo de ataque do DNA do fungo, gerando quebras totais da cadeia (FREITAS, D., 2015).

A aplicação da luz se apresenta como um diferencial potencializador que causa uma ação sinérgica benéfica podendo provavelmente dissipar cepas resistentes e até a formação de biofilmes, porém, mais estudos referentes a estes pontos específicos são necessários. Além disso, de acordo com a FDA, para argumentar que a eficácia da formulação é significativa deverá ocorrer uma redução mínima de 3 logs (redução percentual de 99,9%), sendo assim, observado uma diminuição de 4 logs (99,99%) quando comparados o grupo de controle de crescimento (PBS + inóculo) com o grupo de tratamento contendo micela + CUR e de 5 logs (99,999%) quando comparado com a CUR pura (CANTÓN et al., 2009; MELO et al., 2015).

6 CONCLUSÃO

Esta pesquisa permitiu concluir que a síntese das micelas contendo CUR foi realizada de forma adequada, visto que os resultados de DLS e MEV confirmaram a não alteração das propriedades hidrodinâmicas de tamanho do micelas. O resultado da eficiência de encapsulação demonstrou que a CUR não apresentou uma incorporação tão satisfatória nas micelas, porém, através dos resultados de DRX foi possível observar que a porção da CUR que não estava encapsulada nas micelas passou a estar encapsulada na matriz híbrida, confirmando que a matriz é um meio promissor para incorporação de uma alta concentração de insumos hidrofóbicos. Os resultados da liberação *in vitro* demonstram que esta combinação foi capaz de se apresentar como um sistema de liberação modificada, onde, após 10 dias, aproximadamente 70% da CUR foi liberada, além de demonstrar que a presença da micela no sistema não interfere de maneira significativa na liberação, porém, apresenta um papel fundamental para a aplicação da terapia. Am adição, o ensaio microbiológico apresentou uma ação sinérgica entre a TFD e a CUR incorporada nas micelas, resultando em uma redução de até 5 logs (99,999%) no crescimento dos microrganismos, levando a crer que a terapia pode ser aplicada tanto em células planctônicas quando em biofilmes causados pela espécie *Candida albicans*, porém, mais estudos são necessários para a confirmação desta teoria. Por fim, esses resultados demonstram o potencial dos sistemas em ser um tratamento multidose baseado em uma única aplicação, visto a sua liberação modificada, sugerindo um maior índice de adesão e um menor índice de abandono pelo paciente. Este trabalho gerou um pedido de depósito de patente que pode ser encontrado no ANEXO II.

REFERÊNCIAS

ABDELLATIF, A. A. H.; EL-TELBANY, D. F. A.; ZAYED, G. **Hydrogel Containing PEG-Coated Fluconazole Nanoparticles with Enhanced Solubility and Antifungal Activity**. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, [s.l.], p. 112–122, 2019.

ABRAHAMSE, H.; HAMBLIN, M. R. **New photosensitizers for photodynamic therapy**. *Biochemical Journal*, [s.l.], v. 473, n° 4, p. 347–364, 2016. ISSN: 14708728, DOI: 10.1042/BJ20150942.

AILIOAIE, L. M.; AILIOAIE, C.; LITSCHER, G. **Latest innovations and nanotechnologies with curcumin as a nature-inspired photosensitizer applied in the photodynamic therapy of cancer**. *Pharmaceutics*. [s.l.]: [s.n.], 2021. v. 13, 1–35 p. ISBN: 4331638583907, ISSN: 19994923, DOI: 10.3390/pharmaceutics13101562.

ALBAYATY, Y. N. et al. **pH-responsive copolymer micelles to enhance itraconazole efficacy against *Candida albicans* biofilms**. *Journal of Materials Chemistry B*. v. 8. n. 8. 2020. DOI: 10.1039/C9TB02586C

AL-ASMARI, F.; MEREDDY, R.; SULTANBAWA, Y. **The effect of photosensitization mediated by curcumin on storage life of fresh date (*Phoenix dactylifera* L.) fruit**. *Food Control*, [s.l.], v. 93, n° June, p. 305–309, 2018. ISSN: 09567135, DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.06.005.

ALMEIDA, L. et al. **Tablet of *Ximenia americana* L. developed from mucoadhesive polymers for future use in oral treatment of fungal infections**. *Polymers*, [s.l.], v. 11, n° 2, p. 1–21, 2019. ISSN: 20734360, DOI: 10.3390/POLYM11020379.

ALSHIEK, J. et al. **Vaginal Energy Based Devices - AUGS Clinical Consensus Statement**. *Female Pelvic Medicine & Reconstructive Surgery*, [s.l.], v. 26, n° 5, p. 287–298, 2020. ISBN: 00000000000000, ISSN: 2151-8378, DOI: 10.1097/SPV.

ANITHA, A. et al. **Preparation, characterization, *in vitro* drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles**. *Carbohydrate Polymers*, [s.l.], v. 84, n° 3, p. 1158–1164, 2011. ISSN: 01448617, DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.01.005.

APPELBAUM, A. H. et al. **Vaginal Anatomy on MRI: New Information Obtained Using Distention**. *Southern Medical Journal*, [s.l.], v. 111, n° 11, p. 691–697, 2018. ISBN: 00000000000000, ISSN: 15418243, DOI: 10.14423/SMJ.00000000000000889.

ARAÚJO, G. M. F. et al. **Nanoemulsions Loaded with Amphotericin B: Development, Characterization and Leishmanicidal Activity**. *Current Pharmaceutical Design*, [s.l.], v. 25, n° 14, p. 1616–1622, 2019. ISSN: 13816128, DOI: 10.2174/1381612825666190705202030.

ARAÚJO, P. R. De et al. **Mucoadhesive *In Situ* Gelling Liquid Crystalline Precursor System to Improve the Vaginal Administration of Drugs**. *AAPS PharmSciTech*, [s.l.],

2019. DOI: 10.1208/s12249-019-1439-3.

ARAUJO, V. H. S. et al. **Nanosystems against candidiasis: a review of studies performed over the last two decades.** *Critical Reviews in Microbiology*, [s.l.], v. 46, n° 5, p. 508–547, 2020. ISSN: 15497828, DOI: 10.1080/1040841X.2020.1803208.

BARROS, R. M. et al. **Physicochemical Characterization of Bioactive Compounds in Nanocarriers.** *Current Pharmaceutical Design*, [s.l.], v. 26, n° 33, p. 4163–4173, 2020. ISSN: 13816128, DOI: 10.2174/1381612826666200310144533.

BHAT, A. et al. **Benefits of curcumin in brain disorders.** *BioFactors*, [s.l.], v. 45, n° 5, p. 666–689, 2019. ISSN: 18728081, DOI: 10.1002/biof.1533.

BITEW, A.; ABEBAW, Y. **Vulvovaginal candidiasis : species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern.** *Bitew and Abebaw BMC Women's Health*, [s.l.], p. 1–10, 2018.

BLOSTEIN, F. et al. **Annals of Epidemiology Recurrent vulvovaginal candidiasis.** *Annals of Epidemiology*, [s.l.], v. 27, n° 9, p. 575-582.e3, 2017. ISSN: 1047-2797, DOI: 10.1016/j.annepidem.2017.08.010.

BOYD, P. et al. **In vitro release testing methods for drug-releasing vaginal rings.** *Journal of Controlled Release*, [s.l.], v. 313, n° October, p. 54–69, 2019. ISSN: 18734995, DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.10.015.

BROWN, S. E. et al. **The vaginal microbiota and behavioral factors associated with genital *Candida albicans* detection in reproductive-age women.** *Sex Transm Dis*, [s.l.], v. 46, n° 11, p. 753–758, 2019. ISBN: 0000000000, DOI: 10.1097/OLQ.0000000000001066.The.

BUI, H. T. et al. **Fabrication of electrospun antibacterial curcumin-loaded zein nanofibers.** *Polymer (Korea)*, v. 38, n. 6, p. 744-75, 2014. <https://doi.org/10.7317/pk.2014.38.6.744>

CABRAL, H.; KATAOKA, K. **Progress of Drug-loaded Polymeric Micelles into Clinical Studies.** *Journal of Controlled Release*, [s.l.], v. 190, p. 465–476, 2019.

CANTÓN, E. et al. **In vitro activities of echinocandins against *Candida krusei* determined by three methods: MIC and minimal fungicidal concentration measurements and time-kill studies.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, [s.l.], v. 53, n° 7, p. 3108–3111, 2009. ISSN: 00664804, DOI: 10.1128/AAC.00160-09.

CARAVIERI, B. B. et al. **Ureasil Organic-Inorganic Hybrid as a Potential Carrier for Combined Delivery of Anti-Inflammatory and Anticancer Drugs.** *ACS Applied Bio Materials*, [s.l.], v. 2, n° 5, p. 1875–1883, 2019. ISSN: 25766422, DOI: 10.1021/acsabm.8b00798.

CHEN, J. et al. **Advances in nanomaterials for photodynamic therapy applications: Status and challenges.** *Biomaterials*, [s.l.], v. 237, n° October 2019, p. 119827, 2020. ISSN: 18785905, DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.119827.

CHENG, Z. et al. **Preparation and characterization of dissolving hyaluronic acid composite microneedles loaded micelles for delivery of curcumin.** *Drug Delivery and Translational Research*, [s.l.], v. 10, n° 5, p. 1520–1530, 2020. ISSN: 21903948, DOI: 10.1007/s13346-020-00735-2.

CHILAKAMARTHI, U.; GIRIBABU, L. **Photodynamic Therapy: Past, Present and Future.** *Chemical Record*, [s.l.], v. 17, n° 8, p. 775–802, 2017. ISBN: 9140271609, ISSN: 15280691, DOI: 10.1002/tcr.201600121.

CHIN, V. K. et al. **Dissecting *Candida albicans* infection from the perspective of *C. albicans* virulence and omics approaches on host–pathogen interaction: A review.** *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 17, n° 10, 2016. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/ijms17101643.

CIEPLIK, F. et al. **Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens.** *Frontiers in Microbiology*, [s.l.], v. 5, n° AUG, p. 1–17, 2014. ISSN: 1664302X, DOI: 10.3389/fmicb.2014.00405.

CIEPLIK, F. et al. **Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't.** *Critical Reviews in Microbiology*, [s.l.], v. 44, n° 5, p. 571–589, 2018. ISSN: 15497828, DOI: 10.1080/1040841X.2018.1467876.

CLÁUDIA, M.; ISSA, A. **Photodynamic therapy : a review of the literature and image documentation.** *Anais Brasileiros de Dermatologia*, [s.l.], v. 85, n° 4, p. 501–511, 2010.

DANTAS LOPES DOS SANTOS, D. et al. **Curcumin-loaded Pluronic® F-127 Micelles as a Drug Delivery System for Curcumin-mediated Photodynamic Therapy for Oral Application.** *Photochemistry and Photobiology*, [s.l.], p. 0–1, 2021. ISSN: 17511097, DOI: 10.1111/php.13433.

DAVIES, D. **Understanding biofilm resistance to antibacterial agents.** *Nature Reviews Drug Discovery*, [s.l.], v. 2, n° 2, p. 114–122, 2003. ISSN: 14741776, DOI: 10.1038/nrd1008.

DENNING, D. W. et al. **Review Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis : a systematic review.** *The Lancet Infectious Diseases*, [s.l.], v. 18, n° 11, p. e339–e347, 2016. ISSN: 1473-3099, DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30103-8.

DONDERS, G. G. G. et al. **Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora.** *Am J Obstet Gynecol*, [s.l.], p. 872–878, 2000. DOI: 10.1067/mob.2000.105195.

DUSE, L. et al. **Photodynamic therapy of ovarian carcinoma cells with curcumin-loaded biodegradable polymeric nanoparticles.** *Pharmaceutics*, [s.l.], v. 11, n° 6, 2019. ISSN: 19994923, DOI: 10.3390/pharmaceutics11060282.

DUTTA, B. et al. **Micellar assisted aqueous stabilization of iron oxide nanoparticles for curcumin encapsulation and hyperthermia application.** *Nano-Structures and Nano-Objects*, [s.l.], v. 22, p. 100466, 2020. ISSN: 2352507X, DOI: 10.1016/j.nanoso.2020.100466.

EL-HAMMADI, M. M.; ARIAS, J. L. **Nanotechnology for vaginal drug delivery and**

targeting. *Nanoengineered Biomaterials for Advanced Drug Delivery*. [s.l.]: Elsevier Ltd., 2020. 647–682 p. ISBN: 9780081029855, DOI: 10.1016/B978-0-08-102985-5.00026-7.

FENG, T. et al. **Liposomal curcumin and its application in cancer Physical property.** *International Journal of Nanomedicine*, [s.l.], v. 12, p. 6027–6044, 2017.

FERREIRA, N. N. et al. **A Novel pH-responsive Hydrogel Based on Calcium Alginate Engineered by the Previous Formation of Polyelectrolyte Complexes (PECs) Intended to Vaginal Administration.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*, [s.l.], v. 0, n° 0, p. 000, 2017. ISSN: 0363-9045, DOI: 10.1080/03639045.2017.1328434.

FREITAS, DANIEL DOMINGUES. **AVALIAÇÃO IN VITRO DA CURCUMINA FRENTE ÀS CEPAS DE *Candida* spp. E *Cryptococcus neoformans* RESISTENTES AO FLUCONAZOL.** Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

FU, J.; YU, X.; JIN, Y. **3D printing of vaginal rings with personalized shapes for controlled release of progesterone.** *International Journal of Pharmaceutics*, [s.l.], v. 539, n° 1–2, p. 75–82, 2018. ISSN: 18733476, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.036.

GANGULY, R.; KUNWAR, A.; DUTTA, B.; KUMAR, S.; et al. **Heat-induced solubilization of curcumin in kinetically stable pluronic P123 micelles and vesicles: An exploit of slow dynamics of the micellar restructuring processes in the aqueous pluronic system.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. v. 152, p. 176-182, 2017. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.01.023

GODHA, K. et al. **Human vaginal pH and microbiota: an update.** *Gynecological Endocrinology*, [s.l.], v. 34, n° 6, p. 451–455, 2018. ISSN: 14730766, DOI: 10.1080/09513590.2017.1407753.

GONÇALVES, B. et al. **Critical Reviews in Microbiology Vulvovaginal candidiasis : Epidemiology , microbiology and risk factors.** *Critical Reviews in Microbiology*, [s.l.], v. 7828, 2016. DOI: 10.3109/1040841X.2015.1091805.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. ***Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms.** *Microbes and Infection*, [s.l.], v. 18, n° 5, p. 310–321, 2016. ISSN: 1769714X, DOI: 10.1016/j.micinf.2016.01.002.

GUPTA, A.; COSTA, A. P.; XU, X.; LEE, S.; CRUZ, C. N.; BAO, Q.; BURGESS, D. J. **Formulation and characterization of curcumin loaded polymeric micelles produced via continuous processing.** *International Journal of Pharmaceutics*. v. 583, p. 119340, 2020. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119340

HEWLINGS, S. J.; KALMAN, D. S. **Curcumin: A review of its effects on human health.** *Foods*, [s.l.], v. 6, n° 10, p. 1–11, 2017. ISBN: 1321377452, ISSN: 23048158, DOI: 10.3390/foods6100092.

HUSSAIN, A.; AHSAN, F. **The vagina as a route for systemic drug delivery.** *Journal of Controlled Release*, [s.l.], v. 103, n° 2, p. 301–313, 2005. ISSN: 01683659, DOI: 10.1016/j.jconrel.2004.11.034.

IQBAL, Z.; DILNAWAZ, F. **Nanocarriers for Vaginal Drug Delivery**. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, [s.l.], v. 13, n° 1, p. 3–15, 2019. ISBN: 1872211313, DOI: 10.2174/1872211313666190215141507.

IURCIUC-TINCU, C.-E. et al. **Drug Delivery System Based on pH-Sensitive Biocompatible Poly(2-vinyl pyridine)-b-poly(ethylene oxide) Nanomicelles Loaded with Curcumin and 5-Fluorouracil**. *Polymers*, [s.l.], v. 12, p. 1–19, 2020.

IURCIUC-TINCU, C. E. et al. **Curcumin-loaded polysaccharides-based complex particles obtained by polyelectrolyte complexation and ionic gelation. I-Particles obtaining and characterization**. *International Journal of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 147, p. 629–642, 2020. ISSN: 18790003, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.247.

IURCIUC, C. E. et al. **Polysaccharides-based complex particles' protective role on the stability and bioactivity of immobilized curcumin**. *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 22, n° 6, p. 1–26, 2021. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/ijms22063075.

JACKSON, L. A. et al. **Anatomy, histology, and nerve density of clitoris and associated structures: clinical applications to vulvar surgery**. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, [s.l.], v. 221, n° 5, p. 519.e1-519.e9, 2019. ISSN: 10976868, DOI: 10.1016/j.ajog.2019.06.048.

JOHAL, H. S.; GARG, T.; RATH, G.; GOYAL, A. K. **Advanced topical drug delivery system for the management of vaginal candidiasis**. *Drug Delivery*, [s.l.], v. 23, n° 2, p. 550–563, 2016. ISSN: 15210464, DOI: 10.3109/10717544.2014.928760.

KABANOV, A. V; BATRAKOVA, E. V; MILLER, D. W. **P luronidase block copolymers as modulators of drug efflux transporter activity in the BBB**. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, [s.l.], v. 55, p. 151–164, 2003.

KESSEL, D. **Photodynamic therapy: A brief history**. *Journal of Clinical Medicine*, [s.l.], v. 8, n° 10, 2019. ISSN: 20770383, DOI: 10.3390/jcm8101581.

KIKUCHI, T. et al. **Adjunctive application of antimicrobial photodynamic therapy in nonsurgical periodontal treatment: A review of literature**. *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 16, n° 10, p. 24111–24126, 2015. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/ijms161024111.

KROVI, S. A. et al. **Advances in long-acting injectables, implants, and vaginal rings for contraception and HIV prevention**. *Advanced Drug Delivery Reviews*, [s.l.], v. 176, p. 113849, 2021. ISSN: 18728294, DOI: 10.1016/j.addr.2021.113849.

LALAN, M. S.; PATEL, V. N.; MISRA, A. **POLYMERS IN VAGINAL DRUG DELIVERY: RECENT ADVANCEMENTS**. *Applications of Polymers in Drug Delivery*. [s.l.]: INC, 2021. 281–304 p. ISBN: 9780128196595, DOI: 10.1016/B978-0-12-819659-5.00010-0.

LEE, H. J. et al. **Antibacterial photodynamic therapy with curcumin and *Curcuma xanthorrhiza* extract against *Streptococcus mutans***. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, [s.l.], v. 20, n° May, p. 116–119, 2017. ISSN: 18731597, DOI:

10.1016/j.pdpdt.2017.09.003.

LEYVA-G, G.; DEL, L.; ORTEGA-PEÑA, S. **Modifications in Vaginal Microbiota and Their Influence on Drug Release : Challenges and Opportunities.** *Pharmaceutics*, [s.l.], 2019. ISBN: 5255562238.

LEYVA-G, G.; PIÑ, E.; ID, N. M. **Approaches in Polymeric Nanoparticles for Vaginal Drug Delivery : A Review of the State of the Art.** *Int. J. Mol. Sci.*, [s.l.], p. 1–19, 2018. DOI: 10.3390/ijms19061549.

LI, J. et al. **Curcumin-EudragitE PO solid dispersion: A simple and potent method to solve the problems of curcumin.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. v. 94, p. 322–332, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.06.002>

LI, X. et al. **Silk fibroin/poly (vinyl alcohol) blend scaffolds for controlled delivery of curcumin.** *Regenerative Biomaterials*, p. 97–105, 2015. doi: 10.1093/rb/rbv008

LIANG, Y. et al. **Photodynamic therapy as an antifungal treatment (Review).** *Experimental and Therapeutic Medicine*, [s.l.], v. 12, n° 1, p. 23–27, 2016. ISSN: 17921015, DOI: 10.3892/etm.2016.3336.

LIU, Y. et al. **Temperature-dependent structure stability and *in vitro* release of chitosan-coated curcumin liposome.** *Food Research International*, [s.l.], v. 74, p. 97–105, 2015. ISSN: 09639969, DOI: 10.1016/j.foodres.2015.04.024.

LIU, Y. et al. **Improved antioxidant activity and physicochemical properties of curcumin by adding ovalbumin and its structural characterization.** *Food Hydrocolloids*, [s.l.], v. 72, p. 304–311, 2017. ISSN: 0268005X, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.06.007.

LOHSE, M. B. et al. **Development and regulation of single-and multi-species *Candida albicans* biofilms.** *Nature Reviews Microbiology*, [s.l.], v. 16, n° 1, p. 19–31, 2018. ISSN: 17401534, DOI: 10.1038/nrmicro.2017.107.

LU, H. et al. ***Candida albicans* targets that potentially synergize with fluconazole.** *Critical Reviews in Microbiology*, [s.l.], v. 47, n° 3, p. 323–337, 2021. ISSN: 15497828, DOI: 10.1080/1040841X.2021.1884641.

MA, J. et al. **Antifungal effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on *Candida albicans* biofilms in vitro.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, [s.l.], v. 27, n° June, p. 280–287, 2019. ISSN: 18731597, DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.06.015.

MALCOLM, R. K. et al. **Microbicide vaginal rings: Technological challenges and clinical development.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, [s.l.], v. 103, p. 33–56, 2016. ISSN: 18728294, DOI: 10.1016/j.addr.2016.01.015.

MANGOLIM, C. S. et al. **Curcumin- β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application.** *Food Chemistry*, [s.l.], v. 153, p. 361–370, 2014. ISSN: 18737072, DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.12.067.

MARIANO, G. H. et al. **Characterization of novel human intragenic antimicrobial peptides, incorporation and release studies from ureasil-polyether hybrid matrix.** *Materials Science and Engineering C*, [s.l.], v. 119, n° July 2020, p. 111581, 2021. ISSN: 18730191, DOI: 10.1016/j.msec.2020.111581.

MATHESON, A.; MAZZA, D. **Recurrent vulvovaginal candidiasis : A review of guideline recommendations.** *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, [s.l.], p. 1–7, 2017. DOI: 10.1111/ajo.12592.

MCCOY, C. F. et al. **Mechanical testing methods for drug-releasing vaginal rings.** *International Journal of Pharmaceutics*, [s.l.], v. 559, n° September 2018, p. 182–191, 2019. ISSN: 18733476, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.026.

MELO, M. A. S. et al. **Photodynamic antimicrobial chemotherapy and ultraconservative caries removal linked for management of deep caries lesions.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, [s.l.], v. 12, n° 4, p. 581–586, 2015. ISSN: 18731597, DOI: 10.1016/j.pdpdt.2015.09.005.

MENDES, J. F. et al. **Synthesis of ureasil-polyether film forming materials by using environmentally friendly solvent.** *Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada*, [s.l.], v. 42, p. 1–10, 2021. ISSN: 2179443X, DOI: 10.4322/2179-443X.0730.

MILLER, E. A. et al. **Lactobacilli dominance and vaginal pH: Why is the human vaginal microbiome unique?** *Frontiers in Microbiology*, [s.l.], v. 7, n° DEC, p. 1–13, 2016. ISSN: 1664302X, DOI: 10.3389/fmicb.2016.01936.

MIRZAEI, H. et al. **Phytosomal curcumin: A review of pharmacokinetic, experimental and clinical studies.** *Biomedicine and Pharmacotherapy*, [s.l.], v. 85, p. 102–112, 2017. ISSN: 19506007, DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.098.

NAIKOO, G. A. et al. **Hierarchically macroporous silver monoliths using Pluronic F127: Facile synthesis, characterization and its application as an efficient biomaterial for pathogens.** *Journal of Saudi Chemical Society*, [s.l.], v. 20, n° 2, p. 237–244, 2016. ISSN: 13196103, DOI: 10.1016/j.jscs.2015.12.002.

NEBRISI, E. EL. **Neuroprotective activities of curcumin in parkinson's disease: A review of the literature.** *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 22, n° 20, p. 1–16, 2021. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/ijms222011248.

NICOLAU COSTA, K. M. et al. **Curcumin-loaded micelles dispersed in ureasil-polyether materials for a novel sustained-release formulation.** *Pharmaceutics*, [s.l.], v. 13, n° 5, p. 1–10, 2021. ISSN: 19994923, DOI: 10.3390/pharmaceutics13050675.

NOCITO, M. C. et al. **Antitumoral Activities of Curcumin and Recent Advances to Improve Its Oral Bioavailability.** *Biomedicines*, [s.l.], v. 9, n° 10, p. 1476, 2021. ISSN: 22279059, DOI: 10.3390/biomedicines9101476.

OLIVEIRA, M. S. DE et al. **An Overview of the Antimicrobial Activity of Polymeric Nanoparticles Against Enterobacteriaceae.** *Current Pharmaceutical Design*, [s.l.], v. 27, n° 10, p. 1311–1322, 2020. ISSN: 13816128, DOI: 10.2174/1381612826666201029095327.

OSHIRO-JUNIOR, J. A. et al. **Produto farmacêutico baseado em micelas dispersas em hidrogel híbrido para tratamento de enfermidades vaginais**. Depositante: Universidade Estadual da Paraíba. BR n. 10 2019 026216 8. Depósito: 11 Dez 2019.

OSHIRO-JÚNIOR, J. A. et al. **Stimuli-responsive Drug Delivery Nanocarriers in the Treatment of Breast Cancer**. *Current Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 27, n° 15, p. 2494–2513, 2018. ISSN: 09298673, DOI: 10.2174/0929867325666181009120610.

OSHIRO-JUNIOR, João A. et al. **Phthalocyanine-loaded nanostructured lipid carriers functionalized with folic acid for photodynamic therapy**. *Materials Science and Engineering C*, [s.l.], v. 108, n° July 2019, p. 110462, 2020. ISSN: 18730191, DOI: 10.1016/j.msec.2019.110462.

OSHIRO-JUNIOR, João Augusto et al. **In vivo effectiveness of hybrid membranes with osteogenic growth peptide for bone regeneration**. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, [s.l.], v. 15, n° 8, p. 722–731, 2021. ISSN: 19327005, DOI: 10.1002/term.3226.

OSHIRO, Joao Augusto et al. **Bioactive Molecule-loaded Drug Delivery Systems to Optimize Bone Tissue Repair**. *Current Protein & Peptide Science*, [s.l.], v. 18, n° 8, p. 1–3, 2017. ISSN: 13892037, DOI: 10.2174/1389203718666170328111605.

OSHIRO, João Augusto et al. **Nanostructural arrangements and surface morphology on ureasil-polyether films loaded with dexamethasone acetate**. *Nanomaterials*, [s.l.], v. 11, n° 6, p. 1–19, 2021. ISSN: 20794991, DOI: 10.3390/nano11061362.

OSHIRO, Joaõ Augusto et al. **Study of triamcinolone release and mucoadhesive properties of macroporous hybrid films for oral disease treatment**. *Biomedical Physics and Engineering Express*, [s.l.], v. 4, n° 3, 2018. ISSN: 20571976, DOI: 10.1088/2057-1976/aaa84b.

OSHIRO, João Augusto et al. **Drug delivery systems obtained from silica based organic-inorganic hybrids**. *Polymers*, [s.l.], v. 8, n° 4, 2016. ISSN: 20734360, DOI: 10.3390/polym8040091.

OSHIRO, João Augusto et al. **Development of ureasil–polyether membranes for guided bone regeneration**. *Biomedical Physics & Engineering Express*, [s.l.], v. 3, n° 1, p. 015019, 2017. ISSN: 2057-1976, DOI: 10.1088/2057-1976/aa56a6.

OSHIRO JUNIOR, J. A. et al. **Development of cutaneous bioadhesive ureasil-polyether hybrid films**. *International Journal of Polymer Science*, [s.l.], v. 2015, 2015. ISSN: 16879430, DOI: 10.1155/2015/727324.

OSHIRO JUNIOR, J. A. et al. **Assessment of biocompatibility of ureasil-polyether hybrid membranes for future use in implantodontology**. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, [s.l.], v. 65, n° 13, p. 647–652, 2016. ISSN: 1563535X, DOI: 10.1080/00914037.2016.1157796.

OSHIRO JUNIOR, J. A.; SHIOTA, L. M.; CHIAVACCI, L. A. **Desenvolvimento de formadores de filmes poliméricos orgânico-inorgânico para liberação controlada de**

fármacos e tratamento de feridas. *Revista Materia*, [s.l.], v. 19, n° 1, p. 24–32, 2014. ISSN: 15177076, DOI: 10.1590/S1517-70762014000100005.

PALÁCIO, G. et al. **Coupling Photoluminescence and Ionic Conduction Properties Using the Different Coordination Sites of Ureasil-Polyether Hybrid Materials.** *ACS Applied Materials and Interfaces*, [s.l.], v. 10, n° 43, p. 37364–37373, 2018. ISSN: 19448252, DOI: 10.1021/acsami.8b11149.

PRASAD, R. ***Candida albicans: cellular and molecular biology.*** [s.l.]: Springer International Publishing, 1991. v. 35, 1–273 p. ISBN: 9783642752551, ISSN: 1678-9946, DOI: 10.1590/s0036-46651993000400022.

PREIS, E. et al. **Spray dried curcumin loaded nanoparticles for antimicrobial photodynamic therapy.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, [s.l.], v. 142, n° July, p. 531–539, 2019. ISSN: 18733441, DOI: 10.1016/j.ejpb.2019.07.023.

QUISHIDA, C. C. C. et al. **Susceptibility of multispecies biofilm to photodynamic therapy using Photodithazine®.** *Lasers in Medical Science*, [s.l.], v. 30, n° 2, p. 685–694, 2015. ISSN: 1435604X, DOI: 10.1007/s10103-013-1397-z.

RATHOD, S. D. et al. **Epidemiologic features of vulvovaginal candidiasis among reproductive-age women in india.** *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, [s.l.], v. 2012, 2012. ISSN: 10647449, DOI: 10.1155/2012/859071.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C. et al. **Biofilms and vulvovaginal candidiasis.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, [s.l.], v. 174, n° May 2018, p. 110–125, 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.11.011.

SAHU, A. et al. **Encapsulation of curcumin in Pluronic block copolymer micelles for drug delivery applications.** *Journal of Biomaterials Applications*, [s.l.], v. 25, n° 6, p. 619–639, 2011. ISSN: 08853282, DOI: 10.1177/0885328209357110.

SALEHI, B. et al. **The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 163, p. 527–545, 2018. ISSN: 17683254, DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.12.016.

SANTANA, W. M. O. S. DE et al. **Ureasil-Polyether-CoFe₂O₄Nanocomposites: Coupling a Drug Delivery System and Magnetic Hyperthermia.** *ACS Applied Polymer Materials*, [s.l.], v. 3, n° 10, p. 4837–4848, 2021. ISSN: 26376105, DOI: 10.1021/acsapm.1c00496.

SANTEZI, C.; REINA, B. D.; DOVIGO, L. N. **Curcumin-mediated Photodynamic Therapy for the treatment of oral infections—A review.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, [s.l.], v. 21, n° October 2017, p. 409–415, 2018. ISSN: 18731597, DOI: 10.1016/j.pdpdt.2018.01.016.

SARDI, J. C. O. et al. ***Candida* species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options.** *Journal of Medical Microbiology*, [s.l.], v. 62, n° PART1, p. 10–24, 2013. ISSN: 00222615, DOI: 10.1099/jmm.0.045054-0.

SARI, T. P. et al. **Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin.** *Food Hydrocolloids*, [s.l.], v. 43, p. 540–546, 2015. ISSN: 0268005X, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.07.011.

SELLAM, A.; WHITEWAY, M. **Recent advances on *Candida albicans* biology and virulence.** *F1000Research*, [s.l.], v. 5, n° 0, p. 1–7, 2016. ISSN: 1759796X, DOI: 10.12688/f1000research.9617.1.

SHARIFI-RAD, J. et al. **Turmeric and Its Major Compound Curcumin on Health: Bioactive Effects and Safety Profiles for Food, Pharmaceutical, Biotechnological and Medicinal Applications.** *Frontiers in Pharmacology*, [s.l.], v. 11, n° September, p. 1–23, 2020. ISSN: 16639812, DOI: 10.3389/fphar.2020.01021.

SMITH, S. B.; RAVEL, J. **The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology.** *Journal of Physiology*, [s.l.], v. 595, n° 2, p. 451–463, 2017. ISSN: 14697793, DOI: 10.1113/JP271694.

SOBEL, J. D.; SOBEL, R. **Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species.** *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, [s.l.], v. 19, n° 9, p. 971–977, 2018. ISSN: 17447666, DOI: 10.1080/14656566.2018.1476490.

SOBEL, Jack D. **Recurrent vulvovaginal candidiasis.** *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*, [s.l.], v. 214, n° 1, p. 15–21, 2016. ISSN: 0002-9378, DOI: 10.1016/j.ajog.2015.06.067.

STANIĆ, Z. **Curcumin, a Compound from Natural Sources, a True Scientific Challenge – A Review.** *Plant Foods for Human Nutrition*, [s.l.], v. 72, n° 1, 2017. ISSN: 15739104, DOI: 10.1007/s11130-016-0590-1.

STRATEN, D. VAN et al. **Oncologic photodynamic therapy: Basic principles, current clinical status and future directions.** *Cancers*, [s.l.], v. 9, n° 2, p. 1–54, 2017. ISSN: 20726694, DOI: 10.3390/cancers9020019.

SUBTAWEESIN, C. et al. **Characteristics of Curcumin-Loaded Bacterial Cellulose Films and Anticancer Properties against Malignant Melanoma Skin Cancer Cells.** *Appl. Sci.* v. 8, p. 1188, 2018. doi:10.3390/app8071188

SUETH-SANTIAGO, V. et al. **Curcumin, The Golden Powder From Turmeric: Insights Into Chemical And Biological Activities.** *Quim. Nova*, [s.l.], v. 38, n° 4, p. 538–552, 2015.

SUN, M. et al. **Green synthesis of carrier-free curcumin nanodrugs for light-activated breast cancer photodynamic therapy.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, [s.l.], v. 180, n° April, p. 313–318, 2019. ISSN: 18734367, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.04.061.

SUN, X. Z. et al. **Electrospun curcumin-loaded fibers with potential biomedical applications.** *Carbohydrate Polymers*, [s.l.], v. 94, n° 1, p. 147–153, 2013. ISSN: 01448617, DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.064.

TALELLI, M. et al. **Core-crosslinked polymeric micelles: Principles, preparation, biomedical applications and clinical translation.** *Nano Today*, [s.l.], v. 10, n° 1, p. 93–117,

2015. ISSN: 1878044X, DOI: 10.1016/j.nantod.2015.01.005.

THEILL, L. et al. **Argentina Prevalencia y sensibilidad a los antifúngicos de *Candida albicans* y sus especies relacionadas, *Candida dubliniensis* y *Candida africana* aisladas de muestras vulvovaginales en un hospital de Argentina.** *Revista Argentina de Microbiología*, [s.l.], v. 48, n° 1, p. 43–49, 2016. ISSN: 03257541, DOI: 10.1016/j.ram.2015.10.003.

TRIGO-GUTIERREZ, J. K. et al. **Antimicrobial activity of curcumin in nanoformulations: A comprehensive review.** *International Journal of Molecular Sciences*. [s.l.]: [s.n.], 2021. v. 22. ISBN: 5516330165, ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/ijms22137130.

TRIGO GUTIERREZ, J. K. et al. **Encapsulation of curcumin in polymeric nanoparticles for antimicrobial Photodynamic Therapy.** *PLoS ONE*. [s.l.]: [s.n.], 2017. v. 12. ISBN: 1111111111, ISSN: 19326203, DOI: 10.1371/journal.pone.0187418.

TSAI, W. H. et al. **EGFR-targeted photodynamic therapy by curcumin-encapsulated chitosan/TPP nanoparticles.** *International Journal of Nanomedicine*, [s.l.], v. 13, p. 903–916, 2018. ISSN: 11782013, DOI: 10.2147/IJN.S148305.

ULRICH E., S. **Fundamentals of photophysics, photochemistry and photobiology.** *Photodynamic therapy from theory to application*. [s.l.]: [s.n.], 2014. 25–58 p. ISBN: 9783642396281.

UPPULURI, P. et al. ***Candida albicans* Dispersed Cells Are Developmentally Distinct.** *mBio*, [s.l.], v. 9, n° 4, p. 1–16, 2018.

USHERWOOD, T. **Encouraging adherence to long-term medication.** *Aust Prescr*. v. 40, n. 4, p. 147-150, 2017.

VAIDYA, F. U. et al. **Pluronic micelles encapsulated curcumin manifests apoptotic cell death and inhibits pro-inflammatory cytokines in human breast adenocarcinoma cells.** *Cancer Reports*, [s.l.], v. 2, n° 1, p. 1–17, 2019. ISSN: 25738348, DOI: 10.1002/cnr2.1133.

VENTOLINI, G. **Progresses in vaginal microflora physiology and implications for bacterial vaginosis and candidiasis.** *Women's Health*, [s.l.], v. 12, n° 3, p. 283–291, 2016. ISSN: 17455065, DOI: 10.2217/whe.16.5.

VILA, T. et al. **Targeting *Candida albicans* filamentation for antifungal drug development.** *Virulence*, [s.l.], v. 8, n° 2, p. 150–158, 2017. ISSN: 21505608, DOI: 10.1080/21505594.2016.1197444.

VLADAREANU, R. et al. **New evidence on oral *L. plantarum* P17630 product in women with history of recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC): a randomized double-blind placebo-controlled study.** *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, [s.l.], p. 262–267, 2018.

WANG, F. et al. **Pharmacokinetic studies and anticancer activity of curcumin-loaded nanostructured lipid carriers.** *Acta Pharmaceutica*, [s.l.], v. 67, n° 3, p. 357–371, 2017. ISSN: 18469558, DOI: 10.1515/acph-2017-0021.

WELSH, N. R. et al. **Dapivirine-releasing vaginal rings produced by plastic freeforming**

additive manufacturing. *International Journal of Pharmaceutics*, [s.l.], v. 572, n° September, p. 118725, 2019. ISSN: 18733476, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118725.

WILLEMS, H. M. E. et al. **Vulvovaginal Candidiasis: A Current Understanding and Burning Questions.** *Journal of Fungi*, v. 6, n. 27, 2020. doi:10.3390/jof6010027

WU, S.; GENG, F.; HE, S.; LIU, W.; LIU, H.; HUANG, M.; ZHU, C. **Amphiphilic poly(caprolactone-b-N-hydroxyethyl acrylamide) micelles for controlled drug delivery.** *RSC Adv.*, v. 10, p. 29668-29674, 2020, DOI: 10.1039/D0RA01473G

YALLAPU, M. M. et al. **Curcumin-loaded magnetic nanoparticles for breast cancer therapeutics and imaging applications.** *International Journal of Nanomedicine*, [s.l.], v. 7, p. 1761–1779, 2012. ISSN: 11769114, DOI: 10.2147/IJN.S29290.

YEUNG, J.; PAULS, R. N. **Anatomy of the Vulva and the Female Sexual Response.** *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, [s.l.], v. 43, n° 1, p. 27–44, 2016. ISSN: 15580474, DOI: 10.1016/j.ogc.2015.10.011.

ZENG, X. et al. **Risk Factors of Vulvovaginal Candidiasis among Women of Reproductive Age in Xi'an: A Cross-Sectional Study.** *BioMed Research International*, [s.l.], v. 2018, 2018. ISSN: 23146141, DOI: 10.1155/2018/9703754.

ZIDA, A. et al. **Substances naturelles actives sur *Candida albicans*, sources de nouveaux médicaments antifongiques : revue de la littérature.** *Journal de Mycologie Medicale*, [s.l.], v. 27, n° 1, p. 1–19, 2017. ISSN: 17730449, DOI: 10.1016/j.mycmed.2016.10.002.

ANEXO A Curcumin-Loacelles Dispersed in Ureasil-Polyether



Article

Curcumin-Loaded Micelles Dispersed in Ureasil-Polyether Materials for a Novel Sustained-Release Formulation

Kamilla Martins Nicolau Costa ¹, Mariana Rillo Sato ², Tellys Lins Almeida Barbosa ³,
Meiry Gláucia Freire Rodrigues ³, Ana Cláudia Dantas Medeiros ¹, Bolivar Ponciano Goulart de Lima Damasceno ¹
and João Augusto Oshiro-Júnior ^{1,4,*}

¹ Pharmaceutical Sciences Postgraduate Program, Center for Biological and Health Sciences, State University of Paraíba, Av. Juvêncio Arruda, 5/N, Campina Grande 58429-600, Paraíba, Brazil; kamillamartins@hotmail.com (K.M.N.C.); anaclaudia@uepb.edu.br (A.C.D.M.); bolivarpgd@servidor.uepb.edu.br (B.P.G.L.L.D.)

² School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (UNESP), Araraquara 14800-903, São Paulo, Brazil; mari_sato@hotmail.com

³ Postgraduate Program in Chemical Engineering, Federal University of Campina Grande, Aprígio Veloso, 882, Campina Grande 58429-970, Paraíba, Brazil; tellyslins@hotmail.com (T.L.A.B.); meirygfr@hotmail.com (M.G.F.R.)

⁴ UNIFACISA University Center, Manoel Cardoso Palhano, Campina Grande 58408-326, Paraíba, Brazil

* Correspondence: joaoshiro@yahoo.com.br; Tel.: +55-83-3315-3300 (ext. 3526)



Citation: Nicolau Costa, K.M.; Sato, M.R.; Barbosa, T.L.A.; Rodrigues, M.G.F.; Medeiros, A.C.D.; Damasceno, B.P.G.; Oshiro-Júnior, J.A. Curcumin-Loaded Micelles Dispersed in Ureasil-Polyether Materials for a Novel Sustained-Release Formulation. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 675. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050675>

Academic Editor: Thierry Vanclamme

Received: 26 April 2021

Accepted: 5 May 2021

Published: 8 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Vulvovaginal candidiasis (VVC) is a vulvar/vaginal infection that affects approximately 75% of women worldwide. The current treatment consists of antimicrobials with hepatotoxic properties and high drug interaction probabilities. Therefore, this study aimed to develop a new treatment to VVC based on micelles containing curcumin (CUR) dispersed in a ureasil-polyether (U-PEO) hybrid. The physical-chemical characterization was carried out in order to observe size, shape, crystallinity degree and particle dispersion in the formulation and was performed by dynamic light scattering (DLS), scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD) and through in vitro release study. The results of DLS and SEM exhibited micelles with 35 nm, and encapsulation efficiency (EE) results demonstrated 100% of EE to CUR dispersed in the U-PEO, which was confirmed by the DRX. The release results showed that CUR loaded in U-PEO is 70% released after 10 days, which demonstrates the potential application of this material in different pharmaceutical forms (ovules and rings), and the possibility of multidose based on a single application, suggesting a higher rate of adherence.

Keywords: *Candida albicans*; technological innovation; nanostructured dispersed

1. Introduction

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is conceptualized as an infection of the vulva and vagina, with occurrences of intense vulvar itching, leukorrhea, dyspareunia, dysuria, edema and vulvovaginal erythema, in which itching is the most decisive symptom when comparing VVC to vulvovaginitis of another etiology [1]. VVC affects approximately 75% of women around the world at least once in their lifetime, where 50% present a recurrence within one year. Yeasts of the genus *Candida*, mainly of the species *Candida albicans*, are considered the main fungus that causes VVC (about 85%) [2,3].

The treatment of choice for VVC employs the use of several antifungals. Among them are the amphotericin B, nystatin and azole drugs, which represent the class with the highest number of active substances, such as fluconazole, ketoconazole, butoconazole, itraconazole and miconazole, which are commonly used in suspension form, applied topically over the lesion, or in the form of tablets and ointments [4]. However, these drugs have a prolonged treatment time, portray side effects such as hepatotoxicity and perform drug interactions, which can aggravate the condition. Additionally, studies have shown

ANEXO B – Pedido nacional de invenção, Modelo de utilidade, Certificado de invenção e entrada na fase nacional do PCT



11/12/2019 870190131424
09:16

29409161912673001

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 026216 8

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAIBA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 12671814000137

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Baraúnas, 351

Cidade: Campina Grande

Estado: PB

CEP: 58429-500

País: Brasil

Telefone: (83) 3315 3383

Fax:

Email: inovateuepb@uepb.edu.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 11/12/2019 às 09:16, Petição 870190131424.

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PRODUTO FARMACÊUTICO BASEADO EM MICELAS DISPERSAS EM HIDROGEL HÍBRIDO PARA TRATAMENTO DE ENFERMIDADES VAGINAIS

Resumo: A presente invenção trata do desenvolvimento de um produto farmacêutico na forma farmacêutica de óvulo vaginal e/ou anel vaginal compreendendo micelas dispersas em hidrogel híbrido para liberação prolongada e controlada de substâncias ativas de caráter hidrofílico, hidrofóbico ou metal sendo este de origem natural, semissintética ou sintética para uso no tratamento de enfermidades vaginais.

Figura a publicar: 00

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 11/12/2019 às 09:16, Petição 870190131424.

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 4**Nome:** JOÃO AUGUSTO OSHIRO JUNIOR**CPF:** 32661623825**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** Rua Emiliano Rosendo da Silva, 120 A, Novo Bodocongó**Cidade:** Campina Grande**Estado:** PB**CEP:** 58431-000**País:** BRASIL**Telefone:** (16) 997 201228**Fax:****Email:** joaoshiro@yahoo.com.br**Inventor 2 de 4****Nome:** KAMMILA MARTINS NICOLAU COSTA**CPF:** 10940356457**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Estudante de Graduação**Endereço:** Rua Cícero Galdino Sobrinho, 300, Centro**Cidade:** Esperança**Estado:** PB**CEP:** 58135-000**País:** BRASIL**Telefone:** (83) 998 034871**Fax:****Email:** kammilamartins@gmail.com**Inventor 3 de 4****PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 11/12/2019 às 09:16, Petição 870190131424.

Nome: BOLÍVAR PONCIANO GOULART DE LIMA DAMASCENO

CPF: 91616751487

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Av. Marechal Floriano Peixoto, 5255 – Cond. Serraville – Casa P12 –
Malvinas

Cidade: Campina Grande

Estado: PB

CEP: 58434-500

País: BRASIL

Telefone: (83) 331 53300

Fax:

Email: bolivarpgld@hotmail.com

Inventor 4 de 4

Nome: ANA CLÁUDIA DANTAS DE MEDEIROS

CPF: 92956467468

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Desembargador Trindade, 250, apt. 1003, Centro

Cidade: Campina Grande

Estado: PB

CEP: 58400-260

País: BRASIL

Telefone: (83) 993 23717

Fax:

Email: anaclaudia@uepb.edu.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 11/12/2019 às
09:16, Petição 870190131424.

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	Comprovante GRU.pdf
Contrato de trabalho	Comprovante de Vínculo - Oshiro.pdf
Contrato de trabalho	Comprovante de Vínculo - Bolivar.pdf
Contrato de trabalho	Comprovante de Vínculo - Kammila.pdf
Contrato de trabalho	Comprovante de Vínculo - Ana Cláudia.pdf
Reivindicação	Reivindicação_091219final.pdf
Relatório Descritivo	Relatorio_091219_final.pdf
Resumo	Resumo_091219final.pdf
Desenho	Figuras_091219final.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 11/12/2019 às 09:16, Petição 870190131424.

ANEXO C – Physicochemical characterization of bioactive compounds in nanocarriers

Firefox

<https://capes-primo.ez121.periodicos.capes.gov.br/primo-explore/fulldisp...>

Physicochemical Characterization of Bioactive Compounds in Nanocarriers

- **Autor:** Rafaella M. Barros ; MaÃasa S. de Oliveira ; Kammila M. N. Costa ; Mariana R. Sato ; Karen L. M. Santos ; BolÃavar P. G. de L. Damasceno ; Teresa Cuberes ; JoÃo A. Oshiro-Junior
- **Assuntos:** Drug Carriers ; Humans ; Nanoparticles ; Nanotechnology ; Reproducibility of Results
- **É parte de:** Current pharmaceutical design, 2020, Vol.26 (33), p.4163-4173
- **Descrição:** The encapsulation of bioactive compounds is an emerging technique for finding new medicines since it provides protection against ambient degradation factors before reaching the target site. Nanotechnology provides new methods for encapsulating bioactive compounds and for drug carrier development. Nanocarriers satisfactorily impact the absorption, distribution, metabolism, and excretion rate when compared to conventional carriers. The nanocarrier material needs to be compatible and bind to the drug and be bio-resorbable. In this context, the physicochemical characterization of encapsulated bioactive compounds is fundamental to guarantee the quality, reproducibility, and safety of the final pharmaceutical product. In this review, we present the physicochemical techniques most used today by researchers to characterize bioactive compounds in nanocarriers and the main information provided by each technique, such as morphology, size, degree of crystallinity, long-term stability, the efficacy of drug encapsulation, and the amount released as a function of time.
- **Editor:** United Arab Emirates: Bentham Science Publishers Ltd
- **Idioma:** Inglês
- **Identificador:** ISSN: 1381-6128; EISSN: 1873-4286; DOI: 10.2174/1381612826666200310144533; PMID: 32156229
- **Fonte:** BenthamDirect

ANEXO D – Arquivo de e-mail

----- Mensagem encaminhada -----

De: Current Medicinal Chemistry <admin@bentham.manuscriptpoint.com>

Para: "joaooshiro@yahoo.com.br" <joaooshiro@yahoo.com.br>

Cc: "cmc@benthamscience.net" <cmc@benthamscience.net>

Enviado: quarta-feira, 5 de janeiro de 2022 01:52:51 BRT

Assunto: Manuscript Provisional Acceptance letter | BMS-CMC-2021-458

Reference#: BMS-CMC-2021-458

Submission Title: Potential Application of Cephalosporins Carried in Organic or Inorganic Nanosystems Against Gram-negative Pathogens

Dear Dr. João Augusto Oshiro-Junior,

I am pleased to inform you that your article Reference No. "BMS-CMC-2021-458" entitled "**Potential Application of Cephalosporins Carried in Organic or Inorganic Nanosystems Against Gram-negative Pathogens**" has been provisionally approved for publication in "**Current Medicinal Chemistry**" journal.

Please note that the final acceptance of your article is subject to a detailed scrutiny and approval of the following:

- a. The standard of English language in the articles should be suitable.
- b. "IMRAD" Structure: Headings such as Introduction/background, Methods and Materials, Experimental, Result and Discussion are mandatory for research articles.
- c. Abstract should be in the format of a STRUCTURED ABSTRACT, having explicit headings such as background, introduction, method, result and conclusion.

Firefox

<https://outlook.live.com/mail/0/id/AQQkADAwATY3ZmYAZS1iZTAzL...>

- d. References should be in the correct format. This will vary from journal to journal.
- e. All references mentioned in the reference list should be cited in the text, and vice versa.
- f. The quality of the figures in the articles should be as per Publisher's standard mentioned on the website.
- g. Permission should have been obtained, for use of copyright material from the appropriate sources (including the Internet) and submitted to us.
- h. There should be no difference in the list of Authors in the revised manuscript, from what was submitted at the time of submission of the article. Please remember that the author list cannot be modified at a later stage.
- i. If your study involves human or animal subjects, you should have obtained ethical approval. Please state whether Ethical Approval was given, by whom and the relevant Judgement's reference number.

- Ethical Committee Name:
- Guidelines for Human or Animal:

Please ensure that all the above points have been properly taken care of to avoid delays in final acceptance and publication. For any further clarifications, please send your query to info@benthamscience.net

We wish to thank you for submission of the manuscript to "**Current Medicinal Chemistry**" and look forward to continued collaboration in the future.

With warm regards,

Editorial Office
Current Medicinal Chemistry
Bentham Science Publishers

Note: For complaints contact: complaint@benthamscience.net

To unsubscribe from MPS and stop receiving emails further. Please send an email to unsubscribe@bentham.manuscriptpoint.com.

Powered by [Bentham Manuscript Processing System](#)

ANEXO E - Nanoparticle Synthesis and Administration Routes for Antiviral Uses

Nanoparticle Synthesis and Administration Routes for Antiviral Uses |

[https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781003136644-5/...](https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781003136644-5/)

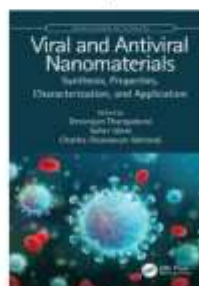
Search for keywords, authors, titles, ISBN 

[Advanced Search \(/search/advance-search?context=ubx\)](#)

< [Viral and Antiviral Nanomaterials \(https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781003136644/viral-antiviral-nanomaterials?refId=e10fadce-074b-4cd3-9745-dc135d1b5002&context=ubx\)](https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781003136644/viral-antiviral-nanomaterials?refId=e10fadce-074b-4cd3-9745-dc135d1b5002&context=ubx)

[Show Path](#) 

Chapter



Nanoparticle Synthesis and Administration Routes for Antiviral Uses

By *João Augusto Oshiro-Júnior, Kamilla Martins Nicolau Costa, Isadora Frigieri, Bruna Galdorfini Chiari-Andréo*

Book: [Viral and Antiviral Nanomaterials \(https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781003136644/viral-antiviral-nanomaterials?refId=e10fadce-074b-4cd3-9745-dc135d1b5002&context=ubx\)](https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781003136644/viral-antiviral-nanomaterials?refId=e10fadce-074b-4cd3-9745-dc135d1b5002&context=ubx)

Edition	1st Edition
First Published	2022
Imprint	CRC Press
Pages	24
eBook ISBN	9781003136644

 Share

ABSTRACT

