



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

CAMPUS I

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BRENDA MARIA SILVA BEZERRA

**ÓVULOS VAGINAIS A BASE DE POLÍMEROS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÉTER
PARA COADMINISTRAÇÃO DE CURCUMINA E MICONAZOL PARA O
TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

CAMPINA GRANDE

2025

BRENDA MARIA SILVA BEZERRA

**ÓVULOS VAGINAIS A BASE DE POLÍMEROS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÉTER
PARA COADMINISTRAÇÃO DE CURCUMINA E MICONAZOL PARA O
TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

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

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

2025

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto em versão 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.

B574o Bezerra, Brenda Maria Silva.

Óvulos vaginais a base de polímeros híbridos ureasil-poliéter para coadministração de curcumina e miconazol para o tratamento da candidíase vulvovaginal [manuscrito] / Brenda Maria Silva Bezerra. - 2024.

103 f. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas".

1. Infecção vaginal. 2. Terapia antifúngica combinada. 3. Azol. 4. Polifenol. 5. Materiais orgânico-inorgânicos. I. Título

21. ed. CDD 615.19

BRENDA MARIA SILVA BEZERRA

**ÓVULOS VAGINAIS A BASE DE POLÍMEROS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÉTER
PARA COADMINISTRAÇÃO DE CURCUMINA E MICONAZOL PARA O
TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

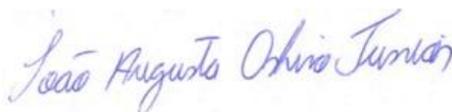
Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

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

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos

Aprovada em: 28/02/2025.

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dra. Fernanda Isadora Boni (Examinadora externa)
Universidade de São Paulo (USP)



Prof. Dr. Marlus Chorilli (Examinador externo)
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Marcos e Mariza, por apoiarem as minhas escolhas e decisões, por incentivarem os meus sonhos, e por terem me fortalecido e me amparado em todos os momentos dessa trajetória, especialmente naqueles inesperados e difíceis.

À minha família e amigos, pelo suporte e cuidado incondicionais, por torcerem pelo meu sucesso e por me sustentarem diante das adversidades, meu muito obrigada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior, agradeço pelo acolhimento, pela orientação, amizade e paciência, e pelas oportunidades que me permitiram evoluir enquanto pessoa, pesquisadora e acadêmica. Aos membros do grupo de pesquisa Inovação em Nanomateriais (I-Nano) por todos os conhecimentos, sonhos, conquistas e momentos compartilhados no convívio diário no laboratório.

Ao Prof. Dr. Emmanuel Ho da *University of Waterloo School of Pharmacy* (Kitchener, ON, Canadá), por gentilmente ter me recebido em seu grupo de pesquisa, provido todo o necessário para a realização de parte desta pesquisa, e por todos os ensinamentos transmitidos. Aos integrantes do *Ho Research Group*, especialmente Kaidy Orellana, Dr. Chen Sun e Jin Wang, pelo treinamento e suporte oferecidos para a realização dos experimentos. A todos que conheci durante o período no Canadá, agradeço pelas vivências, memórias e alegrias que marcaram a fase mais importante do meu mestrado.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPB, pelos ensinamentos que contribuíram para a minha formação pessoal, profissional e acadêmica.

Aos meus amigos das turmas de 2023, Analara, Jessé, Jonas, Kamilla, Misael, Sara e Yasmim, pelas experiências e conhecimentos que compartilhamos ao longo das disciplinas e por tornarem a rotina cansativa mais leve e alegre.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios em Medicamentos (UEPB), ao Laboratório de Desenvolvimento de Novos Materiais (UFCG) e ao Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (UFPE) pelo apoio na execução dos experimentos desta pesquisa.

À Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), pelas oportunidades de aprendizado e crescimento que, desde a graduação, foram essenciais para a minha trajetória acadêmica.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ) pelo apoio concedido na forma de bolsa no mestrado no país (Nº 1977/2023), fundamental para que eu me dedicasse exclusivamente à academia e à pesquisa científica; e pela bolsa de mestrado sanduíche (Nº 642/2024), viabilizado pelo Programa Paraíba Sem Fronteiras, que me permitiu concretizar o sonho de estudar no exterior.

“Ligue a sua magia, minha mãe, ela dizia
Tudo o que você quer está a um sonho de distância”.

Coldplay – Adventure of a Lifetime

RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção causada por fungos do gênero *Candida*. O tratamento padrão é limitado pela baixa eficácia das monoterapias e baixa adesão às formulações semissólidas comerciais. A eficácia clínica pode ser aumentada com a combinação de curcumina (CUR) e miconazol (MCZ). Esses ativos podem ser carregados em formulações sólidas, como óvulos vaginais a base de polímeros híbridos ureasil-poliéter. O objetivo deste trabalho foi desenvolver óvulos de ureasil-poli(óxido de etileno) (U-PEO500) e ureasil-poli(óxido de propileno) (U-PPO400) com CUR e MCZ para o tratamento da CVV. Os materiais híbridos foram obtidos pelo método sol-gel e moldados a frio em óvulos. A caracterização físico-química e morfológica foi realizada por ressonância magnética nuclear (RMN), termogravimetria (TGA), análise térmica diferencial (DTA), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e liberação *in vitro*. A atividade antifúngica foi verificada por microdiluição e por difusão em ágar. A biocompatibilidade dos fármacos e dos óvulos foi avaliada com *Lactobacillus jensenii* e com a linhagem celular VK2/E6E7. Na DTA, observou-se uma interação entre CUR e MCZ e os híbridos. A FTIR não mostrou interações químicas entre os ativos e os ureasil-poliéter. O caráter cristalino dos fármacos e amorfo dos híbridos foi observado na DRX, e também foram detectados cristais de CUR e MCZ nos óvulos, o que foi confirmado por MEV. A liberação *in vitro* mostrou que 80-90% de CUR e MCZ foram liberados de U-PEO500 em 144 horas, enquanto apenas 12,06% de CUR e 60,95% de MCZ foram liberados no mesmo período. As concentrações inibitórias mínimas de CUR foram iguais a 256, > 1024, 512, e 512 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, respectivamente. Para o MCZ, os valores foram 2,5; 2,5; 1,25; e 12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, na mesma ordem. O sinergismo foi observado para as três primeiras linhagens, que apresentaram índices de concentração inibitória fracionada iguais a 0,375; 0,265 e 0,265 (< 0,5). Na difusão em ágar, os óvulos contendo CUR e MCZ apresentaram zonas de inibição $\geq 16,5$ mm, características de sensibilidade. Os estudos de biocompatibilidade mostraram que concentrações de MCZ maiores que 95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 5,94 $\mu\text{g}/\text{mL}$ afetam o crescimento de *L. jensenii* e de VK2/E6E7, respectivamente. Os óvulos híbridos mostraram-se biocompatíveis e seguros nos ensaios pré-clínicos *in vitro*. Dessa forma, os óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 com CUR e MCZ são candidatos promissores para superar as limitações dos tratamentos convencionais da CVV.

Palavras-chave: infecção vaginal; terapia antifúngica combinada; azol; polifenol; materiais orgânico-inorgânicos.

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is an infection caused by fungi of the genus *Candida*. The low efficacy of monotherapies and poor compliance with commercial semisolid formulations limits standard treatment. The clinical efficacy can be increased with combining curcumin (CUR) and miconazole (MCZ). These actives can be loaded into solid formulations, such as vaginal ovules based on ureasil-polyether hybrid polymers. Thus, this work aimed to develop ureasil-poly(ethylene oxide) (U-PEO500) and ureasil-poly(propylene oxide) (U-PPO400) loaded with CUR and MCZ for the treatment of VCC. The hybrid materials were obtained by the sol-gel method and cold-molded into ovules. The physicochemical and morphological characterization was carried out through nuclear magnetic resonance (NMR), thermogravimetry (TGA), differential thermal analysis (DTA), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffractometry (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and *in vitro* release. The antifungal activity was verified by microdilution and agar diffusion assays. The biocompatibility of the drugs and the ovules was evaluated with *Lactobacillus jensenii* and the VK2/E6E7 cell line. DTA showed an interaction between CUR, MCZ, and the precursors. FTIR showed no chemical interactions between the drugs and the ureasil-polyethers. The crystalline nature of the drugs and the amorphous character of the hybrids were observed in XRD, and crystals of CUR and MCZ were also detected in the ovules, which SEM confirmed. *In vitro* release showed that 80-90% of CUR and MCZ were released from U-PEO500 in 144 hours, while only 12.06% of CUR and 60.95% of MCZ were released in the same period. The minimum inhibitory concentrations of CUR were equal to 256, > 1024, 512, and 512 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, and *C. glabrata*, respectively. For MCZ, the values were 2.5, 2.5, 1.25, and 12.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, in the same order. Synergism was observed for the first three mentioned strains, which presented fractional inhibitory concentration indices equal to 0.375, 0.265, and 0.265 (< 0.5). In agar diffusion, the ovules containing CUR and MCZ showed zones of inhibition ≥ 16.5 mm, characteristic of sensitivity. The biocompatibility studies showed that MCZ concentrations higher than 95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 5.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$ impact the growth of *L. jensenii* and VK2/E6E7, respectively. The hybrid ovules proved biocompatible and safe in the preclinical *in vitro* studies. Therefore, U-PEO500 and U-PPO400 ovules with CUR and MCZ are promising candidates for overcoming the limitations of conventional VVC treatments.

Keywords: vaginal infection; antifungal combination therapy; azol; polyphenol; organic-inorganic materials.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Estrutura química da forma dicetona e tautomerismo ceto-enólico da CUR.....	23
Figura 2	– Estrutura química do MCZ.....	24
Figura 3	– Estruturas químicas de U-PEO e U-PPO	28
Figura 4	– Esquema de montagem da microplaca para a determinação <i>in vitro</i> da atividade sinérgica da associação de curcumina e miconazol	37
Figura 5	– Disposição dos óvulos de (a) U-PEO500 e (b) U-PPO400 no ensaio de difusão em ágar	38
Figura 6	– Precursores híbridos (a) PEO500 e (b) PPO400	42
Figura 7	– Óvulos vaginais híbridos a base de ureasil-poliéter: (a) U-PEO500, (b) U-PEO500/CUR, (c) U-PEO500/MCZ, (d) U-PEO500/CUR/MCZ, (e) U-PPO400, (f) U-PPO400/CUR, (g) U-PPO400/MCZ e (h) U-PPO400/CUR/MCZ.....	43
Figura 8	– Espectros de RMN de ¹ H de (a) PEO500 e (b) PPO400.....	45
Figura 9	– Curvas de DTA de CUR, MCZ e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400	46
Figura 10	– Curvas de TGA de (a) CUR e de (b) MCZ.....	51
Figura 11	– Curvas de TGA da mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1	52
Figura 12	– Curvas de TGA de (a) U-PEO500 e de (b) U-PPO400	53
Figura 13	– Curvas de TGA de CUR, MCZ, da mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1 e dos óvulos vaginais de (a) U-PEO500 e (b) U-PPO400 brancos e incorporados com os ativos	54
Figura 14	– Espectros de FTIR de curcumina, miconazol e da mistura binária de curcumina e miconazol na proporção 1:1	56
Figura 15	– Espectros de FTIR de U-PEO500 e de U-PPO400.....	57
Figura 16	– Espectros de FTIR dos óvulos vaginais de (a) U-PEO500 e (b) U-PPO400 incorporados com curcumina e miconazol.....	58
Figura 17	– Difractogramas de raios X de CUR e MCZ.....	60
Figura 18	– Difractogramas de raios de X dos óvulos de U-PEO500, U-PEO500/CUR, U-PEO500/MCZ e U-PEO500/CUR/MCZ.....	61
Figura 19	– Difractogramas de raios de X dos óvulos de U-PPO400, U-PPO400/CUR, U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ	62
Figura 20	– Micrografias de MEV dos óvulos vaginais de (a) U-PEO500, (b) U-PEO500/CUR, (c) U-PEO500/MCZ e (d) U-PEO500/CUR/MCZ.....	63

Figura 21 – Micrografias de MEV dos óvulos vaginais de (a) U-PPO400, (b) U-PPO400/CUR, (c) U-PPO400/MCZ e (d) U-PPO400/CUR/MCZ	64
Figura 22 – Curvas de liberação <i>in vitro</i> de (a) MCZ, (b) CUR de U-PEO500; ajuste das curvas a diferentes modelos matemáticos: Weibull (curva verde), Korsmeyer-Peppas (curva vermelha), Higuchi (curva azul) e ordem zero (curva rosa)	66
Figura 23 – Curvas de liberação <i>in vitro</i> de (a) MCZ, (b) CUR de U-PPO400; ajuste das curvas a diferentes modelos matemáticos: Weibull (curva verde), Korsmeyer-Peppas (curva vermelha), Higuchi (curva azul) e ordem zero (curva rosa)	67
Figura 24 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. albicans</i> ATCC 10231: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	74
Figura 25 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. albicans</i> ATCC 10231: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	75
Figura 26 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	76
Figura 27 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	77
Figura 28 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. glabrata</i> ATCC 90030: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	78
Figura 29 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. glabrata</i> ATCC 90030: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	79
Figura 30 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. tropicalis</i> ATCC 13803: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS	80
Figura 31 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra <i>C. tropicalis</i> ATCC 13803: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição	81
Figura 32 – Efeito de diferentes concentrações de (a) CUR e (b) MCZ na viabilidade de <i>L. jensenii</i> ATCC 55920.....	83

Figura 33 – Avaliação da biocompatibilidade dos óvulos vaginais de U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ com <i>L. jensenii</i> ATCC 55920.....	84
Figura 34 – Impacto de diferentes concentrações de (a) CUR e de (b) MCZ na viabilidade celular de VK2/E6E7	85
Figura 35 – Citotoxicidade <i>in vitro</i> dos óvulos vaginais de U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ em VK2/E6E7.....	87
Figura 36 – Determinação da produção de interleucinas pró-inflamatórias (a) IL-6, (b) IL-8 e (c) IL-1 β pelas células VK2/E6E7 após o tratamento com U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros de DTA de CUR, MCZ e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 puros e combinados com os fármacos.....	47
Tabela 2 – Parâmetros de TGA de CUR, MCZ, e dos óvulos híbridos U-PEO500 e U-PPO400 brancos e combinados com os fármacos.....	49
Tabela 3 – Concentrações inibitórias mínimas de CUR e de MCZ frente a linhagens padrão de <i>Candida</i>	69
Tabela 4 – Concentrações fungicidas mínimas de CUR e de MCZ frente a linhagens padrão de <i>Candida</i>	70
Tabela 5 – Efeitos da associação entre CUR e MCZ pelo método checkerboard frente a linhagens padrão de <i>Candida</i>	71
Tabela 6 – Zonas de inibição dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e MCZ em linhagens padrão de <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i>	73
Tabela 7 – Zonas de inibição dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e MCZ em linhagens padrão de <i>C. glabrata</i> e <i>C. tropicalis</i>	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CFM	Concentração Fungicida Mínima
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
CIF	Concentração Inibitória Fracionada
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CNA	<i>Candida não-albicans</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
CUR	Curcumina
CVV	Candidíase Vulvovaginal
DMSO	Dimetilsufóxido
DP	Desvio Padrão
DRX	Difratometria de Raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
HCl	Ácido Clorídrico
ICIF	Índice de Concentração Inibitória Fracionada
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IL	Interleucina
IsoTrEOS	3-isocianatopropiltriétoxissilano
<i>L. jensenii</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>
MCZ	Nitrato de Miconazol
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NIS	Nistatina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PEO500	Poli(óxido de etileno)
PPO400	Poli(óxido de propileno)

RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPM	Rotações por minuto
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
T _{final}	Temperatura final
T _g	Temperatura de transição vítrea
TGA	Termogravimetria
T _{inicial}	Temperatura inicial
T _{pico}	Temperatura de pico
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
U-PEO500	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de etileno)
U-PEO500/CUR	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de etileno) contendo curcumina
U-PEO500/CUR/MCZ	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de etileno) contendo curcumina e miconazol
U-PEO500/MCZ	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de etileno) contendo miconazol
U-PPO400	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de propileno)
U-PPO400/CUR	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de propileno) contendo curcumina
U-PPO400/CUR/MCZ	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de propileno) contendo curcumina e miconazol
U-PPO400/MCZ	Óvulo vaginal de ureasil-poli(óxido de propileno) contendo miconazol
UV-vis	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	Candidíase vulvovaginal (CVV)	18
2.2	Tratamento da candidíase vulvovaginal	20
2.2.1	Terapia antifúngica combinada.....	21
2.2.2	Curcumina (CUR) e Miconazol (MCZ)	22
2.3	Óvulos vaginais	25
2.4	Materiais híbridos ureasil-poliéter	27
3	OBJETIVOS	30
3.1	Objetivos específicos	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	Materiais	31
4.2	Desenvolvimento dos óvulos vaginais híbridos de ureasil-poliéter	31
4.3	Caracterização físico-química e morfológica	32
4.3.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	32
4.3.2	Análise Térmica Diferencial (DTA)	32
4.3.3	Termogravimetria (TGA)	32
4.3.4	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	33
4.3.5	Difratometria de raios X (DRX)	33
4.3.6	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	33
4.4	Ensaio de liberação <i>in vitro</i>	33
4.5	Ensaio microbiológicos para avaliação da atividade antifúngica	34
4.5.1	Linhagens de fungos	34
4.5.2	Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIMs) e das concentrações fungicidas mínimas (CFMs) de curcumina e de miconazol	35
4.5.3	Determinação do efeito da associação de curcumina e miconazol.....	36
4.5.4	Avaliação da atividade antifúngica dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 por difusão em ágar.....	37
4.6	Determinação do efeito de CUR, MCZ e dos óvulos vaginais híbridos em <i>Lactobacillus</i> do trato genital feminino	39
4.7	Estudos de citotoxicidade em células epiteliais vaginais VK2/E6E7	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42

5.1	Desenvolvimento dos óvulos vaginais híbridos de ureasil-poliéter	42
5.2	Caracterização físico-química e morfológica	44
5.2.1	Ressonância magnética nuclear (RMN)	44
5.2.2	Análise Térmica Diferencial (DTA)	46
5.2.3	Termogravimetria (TGA)	49
5.2.4	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	54
5.2.5	Difratometria de raios X (DRX)	59
5.2.6	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	62
5.3	Ensaio de liberação <i>in vitro</i>	64
5.4	Ensaio microbiológicos para avaliação da atividade antifúngica	68
5.4.1	Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIMs) e das concentrações fungicidas mínimas (CFMs) de curcumina e de miconazol	68
5.4.2	Determinação do efeito da associação de curcumina e miconazol	70
5.4.3	Avaliação da atividade antifúngica dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 por difusão em ágar	72
5.5	Determinação do efeito de CUR, MCZ e dos óvulos vaginais híbridos em <i>Lactobacillus</i> do trato genital feminino	82
5.6	Estudos de citotoxicidade em células epiteliais vaginais VK2/E6E7	85
6	CONCLUSÃO	90
	REFERÊNCIAS	91

1 INTRODUÇÃO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção oportunista causada por fungos do gênero *Candida*, que afeta 75% das mulheres mundialmente ao menos uma vez na vida. No Brasil, a prevalência é estimada em 18%, mas acredita-se que o valor real seja maior, devido à subnotificação da doença e aos casos assintomáticos. A CVV desencadeia sinais e sintomas como prurido, queimação, corrimento vaginal, disúria e dispareunia, responsáveis por causar sofrimento intenso nas mulheres, que reflete em um impacto econômico estimado em 2,8 milhões de dólares por custos médicos e por perdas de horas trabalhadas apenas nos Estados Unidos (Carvalho *et al.*, 2021; Willems *et al.*, 2020).

A CVV pode ser classificada em não complicada e complicada. A forma não complicada compreende de 80 a 90% dos casos, é causada principalmente por *Candida albicans* em mulheres saudáveis e grávidas ou não, com gravidade leve a moderada. Por outro lado, 10 a 20% das pacientes apresentam a forma complicada da doença, que inclui episódios causados por espécies de *Candida não-albicans* (CNA), além do quadro recorrente, caracterizado por mais de quatro episódios por ano (Chatzivasileiou; Vyzantiadis, 2019; Gonçalves *et al.*, 2016).

O manejo clínico da CVV não complicada pode ser realizado pela administração tópica ou oral de antifúngicos. Dentre os medicamentos tópicos, são recomendados os cremes de miconazol a 2% e de nistatina a 100.000 UI. Por sua vez, a terapia oral compreende a administração de uma dose única de 150 mg de fluconazol ou de uma dose dupla de 100 mg de itraconazol. O tratamento padrão para casos de CVV complicada, causada por cepas CNA, e para a CVV recorrente, deve ser reforçado com uma terapia de manutenção com agentes azóis administrados por via oral ou tópica por um período que pode variar de 14 dias a 6 meses (Brasil, 2022).

Embora seja preferido por pacientes, o tratamento por via oral não é adequado para todos os casos de CVV e pode causar efeitos adversos de moderados a graves, como hepatotoxicidade, interações do citocromo P450 e danos fetais (Tverdek; Kofteridis; Kontoyiann, 2016). Em vista disso, a via tópica torna-se mais conveniente por permitir a concentração local do fármaco e reduzir a incidência de reações adversas sistêmicas. No entanto, a maioria dos tratamentos está disponível em formas farmacêuticas semissólidas, como cremes, géis e pomadas, que requerem administração frequente e possuem baixa retenção na cavidade vaginal, levando a extravasamento da formulação e desconforto para as pacientes (Palmeira-de-Oliveira *et al.*, 2022).

A fim de contornar esses inconvenientes, formas farmacêuticas sólidas podem ser utilizadas. Os óvulos vaginais são formas de dosagem única, que contêm um ou mais insumos farmacêuticos ativos (IFAs) dispersos em uma base adequada, e podem fundir ou dissolver quando inseridos na cavidade vaginal. Dentre suas vantagens, estão a administração fácil e indolor, maior retenção no local de administração e menor risco de extravasamento da formulação, e o fato de não exigirem alto volume de fluido biológico para a liberação dos ativos. No entanto, os óvulos são convencionalmente produzidos por moldagem por fusão, técnica que pode resultar em sedimentação dos fármacos na formulação (Domsta *et al.*, 2022; Farmacopeia..., 2019; Ham; Buckheit Jr, 2017).

O êxito no desenvolvimento de óvulos vaginais ainda requer a escolha apropriada da base de dispersão, que deve ser biocompatível com o trato genital feminino, e liberar o(s) fármaco(s) a uma taxa adequada no local de ação (Winfield, 2019). Os materiais híbridos orgânico-inorgânicos formados por poliéteres reticulados com ureasil (ureasil-poliéter), destacam-se pela flexibilidade, resistência térmica e mecânica, e biocompatibilidade. Esses materiais são atrativos para a indústria farmacêutica, pois podem atuar como bases versáteis para o carreamento de fármacos, uma vez que podem ser facilmente moldados a frio em diferentes formas farmacêuticas por processos de hidrólise e condensação (Chiavacci *et al.*, 2022; Souza *et al.*, 2013).

Os híbridos do tipo ureasil-poli(óxido de etileno) (U-PEO) e ureasil-poli(óxido de propileno) (U-PPO) podem modular a liberação de insumos farmacêuticos ativos lipofílicos ou hidrofílicos em taxas variáveis, como resultado de seus perfis de intumescimento e de massas moleculares distintos (Oshiro-Junior *et al.*, 2021). O potencial desses sistemas de carreamento de altas quantidades de substâncias solúveis ou insolúveis em água em sua matriz, ainda os torna atrativos para a produção de sistemas de entrega dupla de fármacos como recurso terapêutico para múltiplas adversidades à saúde (Caravieri *et al.*, 2019).

No tratamento farmacológico, a associação de dois ou mais IFAs constitui o princípio da terapia combinada. Esta é o último recurso para o tratamento de infecções fúngicas graves e invasivas, mas também pode oferecer um benefício para aumentar a eficácia clínica e a adesão ao tratamento tópico convencional da CVV. No momento em que dois agentes antifúngicos são combinados, estes podem atuar paralelamente inibindo vias bioquímicas comuns, aumentando a penetração celular um do outro, ou, pelo ataque a diferentes alvos nas células fúngicas (Ahmad *et al.*, 2017; Livengood; Drew; Perfect, 2020).

A terapia combinada de antifúngicos sintéticos com produtos naturais isolados mostrou-se promissora no aumento da suscetibilidade de cepas resistentes e não resistentes aos agentes

sintéticos e na redução das doses necessárias para impedir o crescimento patogênico de fungos (Ogidi *et al.*, 2021). A curcumina (CUR) é um composto bioativo extraído da *Curcuma longa* L. (açafraão-da-terra), que destaca-se pelo efeito anti-*Candida* resultante da indução de apoptose por geração de espécies reativas de oxigênio (EROs). A CUR também é capaz de potencializar a atividade biológica de antifúngicos azóis, como o miconazol, o que foi demonstrado pela ocorrência de efeito sinérgico em experimentos *in vitro* (Andrade *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2010).

O miconazol (MCZ) é um fármaco lipofílico, de baixa solubilidade em água, administrado no tratamento tópico padrão da CVV na forma de supositórios ou em cremes. O MCZ bloqueia a biossíntese do ergosterol e gera níveis tóxicos de metabólitos de esterol nocivos às células fúngicas. Contudo, as formas farmacêuticas disponíveis requerem administração frequente, o que reduz a adesão ao tratamento. A eficácia clínica deste agente no tratamento de casos de CVV complicada e recorrente também é reduzida (Fan; Liu; Liang, 2015; Salah; Awad; Makhoulouf, 2018). Desse modo, aumentar a atividade do MCZ pelo sinergismo com a CUR, um composto bioativo, mostra-se altamente relevante.

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de óvulos vaginais a base de dois polímeros híbridos ureasil-poliéter distintos, através da técnica de moldagem a frio, contendo curcumina e miconazol, para aplicação como um novo tratamento tópico da candidíase vulvovaginal causada por cepas de *C. albicans* e de *C. não-albicans*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Candidíase vulvovaginal (CVV)

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção oportunista ocasionada pelo crescimento patogênico de fungos do gênero *Candida* no trato genital inferior feminino. A CVV acomete 75% das mulheres uma vez na vida, das quais 40 a 50% experienciam um segundo episódio, e cerca de 5 a 10% podem apresentar o quadro recorrente, que cursa com quatro ou mais episódios ao ano. A maioria das pacientes afetadas está em idade fértil, especialmente entre os 20 e os 40 anos de idade, enquanto aquelas em idades antes da menarca raramente são acometidas. Após a menopausa, a incidência da CVV é baixa e estimada em 3 a 7% (Jafarzadeh *et al.*, 2022; Mtibaa *et al.*, 2017).

O quadro clínico da CVV está associado a inflamação vaginal, representada pelas sensações de coceira, queimação, e por vermelhidão, além dos sinais e sintomas característicos da infecção, como corrimento vaginal branco e espesso, semelhante ao queijo cottage, disúria e dispareúnia. Apesar da sintomatologia bem conhecida, o diagnóstico da CVV não deve ser baseado apenas no quadro clínico, uma vez que os sinais e sintomas se assemelham aos de outras vaginoses. Desse modo, o exame da secreção vaginal com hidróxido de potássio para a identificação de elementos de fungos e a posterior cultura microbiológica para o isolamento das espécies de *Candida* devem ser realizados para comprovar a CVV (Muthusamy; Elangovan, 2016; Yano *et al.*, 2019).

Dentre os agentes etiológicos da infecção, *Candida albicans* é a espécie responsável por aproximadamente 90% dos casos. Esse fungo é classificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um patógeno crítico prioritário fúngico e pode ser encontrado como colonizador natural da microbiota vaginal, mas desencadeia um quadro infeccioso em face de desequilíbrios no microambiente local, que decorrem do uso indiscriminado de antibióticos de amplo espectro, de corticosteroides e de contraceptivos orais. Os casos de CVV por *C. albicans* acometem especialmente mulheres saudáveis, grávidas e em pré-menopausa (Chatzivasilieou; Vyzantiadis, 2019; Fisher; Denning, 2023; Pereira *et al.*, 2021).

Por outro lado, as espécies de *Candida* não-*albicans* (CNA), como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. kruseii*, proliferam-se principalmente em pacientes imunodeprimidas, com diabetes mellitus descompensada, ou após a menopausa. As cepas de CNA são responsáveis por 10 a 20% dos casos de CVV complicada, que cursam com um quadro clínico mais brando que aquele causado por *C. albicans*, mas com implicações no diagnóstico

e no tratamento, devido as dificuldades de examinar as distinções entre as espécies e à resistência intrínseca apresentada por essas cepas aos fármacos aplicados na terapia convencional (Makanjuola; Bongomin; Fayemiwo, 2018).

A prevalência das espécies de CNA parece variar de acordo com a região, tendo sido reportadas *C. glabrata*, *C. kruseii* e *C. tropicalis* como as mais prevalentes na África, na Etiópia e na Índia. Em todas as ocasiões, a detecção das espécies de CNA está relacionada com a resistência *in vitro* a um ou mais antifúngicos sintéticos disponíveis para o tratamento da CVV, como o fluconazol, a nistatina e a anfotericina B. A resistência intrínseca dessas espécies parece estar relacionada a mutação ou a inativação de genes envolvidos na biossíntese de ergosterol, a superexpressão de genes responsáveis por bombas de efluxo, ou, com a formação de biofilmes (Bitew; Abebaw, 2018; Krishnasamy *et al.*, 2020; Waikhom *et al.*, 2020; Whaley *et al.*, 2017).

A proliferação patogênica das espécies de *Candida* na mucosa vaginal é atribuída a diversos fatores de virulência, que são considerados as estratégias dos patógenos para lidar com o sistema de defesa do hospedeiro. O mecanismo de adesão, mediado por proteínas denominadas adesinas, é um dos principais fatores que contribuem para a colonização da mucosa e o estabelecimento da infecção. A produção de enzimas extracelulares, como fosfolipases, coagulase e hemolisinas também desempenha papel crucial no desenvolvimento da CVV (Ciurea *et al.*, 2020; Fukazawa *et al.*, 2019).

As espécies do gênero ainda são capazes de formar biofilmes, um mecanismo de virulência de relevância médica, que contribui para o estabelecimento e a recorrência da infecção. Os biofilmes são definidos como comunidades de microrganismos embebidas em uma matriz extracelular, que surgem quando as células unitárias flutuantes, também chamadas de planctônicas, encontram-se e aderem-se a uma superfície abiótica ou biótica, modificando suas características fenotípicas e aproveitando-se dos nutrientes e das vantagens oferecidas por essa região para iniciar a formação de uma estrutura mais complexa, que confere alta resistência e proteção contra agentes externos (Rodríguez-Cerdeira *et al.*, 2019; Rodríguez-Cerdeira *et al.*, 2020).

Em infecções causadas por *C. albicans*, a patogênese também é resultado principal da mudança morfogênica da forma comensal de levedura para a forma invasiva de hifa, capaz de penetrar no tecido hospedeiro por penetração ativa e por endocitose induzida. As hifas são filamentos septados, que se desenvolvem após o processo de adesão às células epiteliais, como um mecanismo para atacar e escapar mais facilmente das células imunes, uma vez que são capazes de perfurar macrófagos e possuem tamanho considerável para o sistema imunológico enfrentar (Ciurea *et al.*, 2020; Talapko *et al.*, 2021).

A plasticidade morfológica nas cepas de CNA, contudo, parece ser menos relevante do que em *C. albicans*. A espécie *C. glabrata*, por exemplo, não forma hifas, e se beneficia de um sistema imunológico debilitado para se proliferar, o que explica a sua maior incidência em mulheres não saudáveis. Nessa espécie, outros fatores de virulência, como o mecanismo de adesão e a produção de hemolisinas, parecem ser mais relevantes. Em *C. tropicalis*, a formação de biofilmes se destaca, enquanto em *C. parapsilosis* a liberação de enzimas proteolíticas, favorecem o desenvolvimento da infecção (Deorukhkar; Saini; Mathew, 2014; Kalaiarasan; Singh; Chaturvedula, 2018).

2.2 Tratamento da candidíase vulvovaginal

A administração tópica ou oral de azóis estabelece a terapia padrão da CVV não complicada. Dentre os agentes tópicos, estão disponíveis o miconazol e outros derivados imidazóis, como o clotrimazol e o butaconazol. A aplicação local frequentemente é mais segura, mas pode desencadear efeitos adversos como irritação e queimação. Por sua vez, a terapia oral é realizada com a administração de uma dose única de 150 mg de fluconazol ou de uma dose dupla de 100 mg de itraconazol. Nesse caso, reações adversas moderadas a graves podem acontecer, como hepatotoxicidade e prejuízos ao desenvolvimento fetal em mulheres grávidas (Brasil, 2022; Satora *et al.*, 2023).

O uso de azóis no tratamento da CVV complicada, contudo, é limitado. A gravidez é uma condição clínica que restringe o uso desses fármacos. A administração de fluconazol não é recomendada, pois pode estar associada com aborto espontâneo e com a formação de anomalias congênitas. Em tal situação, apenas a terapia tópica com agentes imidazóis é recomendada, por um período de 7 dias (Bender *et al.*, 2021). Outro fator que prejudica o uso dos antifúngicos azóis na CVV complicada são as cepas de CNA, menos sensíveis a esses fármacos. O tratamento mais efetivo para essas espécies ainda permanece desconhecido, mas uma terapia tópica ou oral de 7 a 14 dias com agentes não-azóis é recomendada (Workowski *et al.*, 2021).

Diante do aumento do uso indiscriminado de antifúngicos e da alta incidência de espécies CNA, principalmente devido ao crescimento da aplicação de dispositivos intravasculares, responsáveis pelos casos de candidemia causados por espécies comensais da pele, o desenvolvimento de mecanismos de resistência pelas cepas de *Candida* se apresenta como um fator de relevância médica, que alerta para a necessidade de disponibilizar tratamentos a antifúngicos alternativos (Kaur *et al.*, 2016; Rodríguez-Cerdeira *et al.*, 2019).

2.2.1 Terapia antifúngica combinada

O arsenal terapêutico para o enfrentamento de infecções fúngicas é limitado a quatro classes farmacológicas distintas: os azóis, os polienos, as equinocandinas e as pirimidinas. Em face da eficácia reduzida da monoterapia com os agentes antifúngicos disponíveis, bem como da emergência da resistência intrínseca e adquirida, resultado do uso indevido e exacerbado dos antimicrobianos, a combinação de agentes farmacológicos surge como alternativa para promover resultados positivos após o tratamento. A terapia combinada é considerada atualmente o último recurso empírico de tratamento de infecções fúngicas graves (Chang *et al.*, 2017; Spitzer; Robbins; Wright, 2016; Van Daele *et al.*, 2019).

O objetivo desta terapia é que os agentes combinados apresentem efeito sinérgico e possam conferir benefícios contra cepas difíceis de tratar, através da inibição de diferentes estágios de vias bioquímicas comuns, da interação com transportadores do tipo bombas de efluxo ou mesmo pela atuação em alvos moleculares distintos, que potencializam o efeito esperado. Dessa forma, a combinação agentes sinérgicos pode refletir em uma melhora clínica que resulta de menores doses dos fármacos, menor toxicidade e maior e mais rápida resposta do paciente à terapia (Fohrer *et al.*, 2006; Johnson; Perfect, 2010).

O sinergismo entre dois antifúngicos é considerado uma resposta positiva que ocorre quando dois ou mais fármacos combinados resultam em um efeito cumulativo. Esse, por sua vez, é capaz de aumentar o espectro de ação de compostos com atividade conhecida, aumentar a taxa ou extensão de morte microbiana e reduzir as chances de falha terapêutica quando microrganismos resistentes são responsáveis por uma infecção. A ocorrência de efeito sinérgico entre antifúngicos de mesma classe, de classes distintas e com substâncias dotadas de outras atividades farmacológicas foi demonstrada em diversos estudos *in vitro* e apresenta potencial para superar as limitações das terapias convencionais (Belanger; Yang; Forrest, 2015; Carrillo Muñoz *et al.*, 2014).

A atividade anti-*Candida* de antifúngicos da classe dos azóis pode ser consideravelmente aumentada em associação com compostos sintéticos. O fluconazol e a fluoxetina exibiram sinergismo contra isolados clínicos de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* e a concentração necessária para inibir o crescimento fúngico pelo agente azol caiu 64 vezes na combinação (Oliveira *et al.*, 2014). Em outro estudo, a associação de MCZ com o antisséptico brometo de domifeno apresentou sinergismo com *C. albicans* e reduziu em até 1000 vezes o número de células de biofilmes viáveis do fungo (Tits *et al.*, 2020).

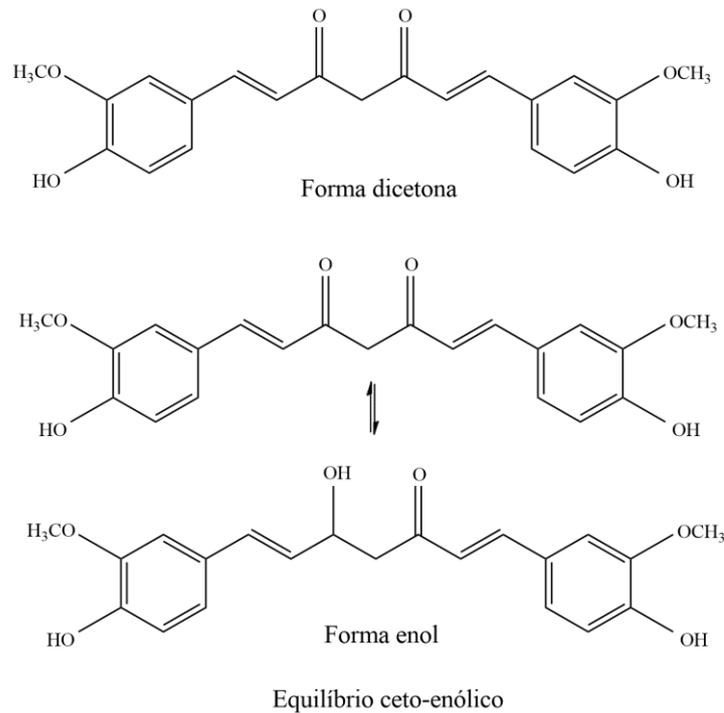
Os produtos naturais também podem contribuir significativamente para aumentar a eficácia de fármacos comercialmente disponíveis. O sinergismo entre o polifenol resveratrol e o cetoconazol reduziu a concentração necessária para inibir 50% do crescimento fúngico pelo azol em cerca de 8 vezes (Wang *et al.*, 2021). Por sua vez, a CUR e alguns de seus derivados quimicamente modificados apresentaram sinergismo com o fluconazol contra cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. kruseii* resistentes ao fármaco sintético (Dong *et al.*, 2020).

2.2.2 Curcumina (CUR) e Miconazol (MCZ)

A curcumina (CUR), (1E, 6E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, é o principal composto ativo extraído do rizoma de *Curcuma longa* L., popularmente conhecida como açafrão-da-terra. A CUR é um polifenol hidrofóbico, que apresenta log P igual a 3,29, fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_6$, massa molar igual a $368,38 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ e ponto de fusão de cerca de $183 \text{ }^\circ\text{C}$. É um pó cristalino de coloração amarelo-alaranjada insolúvel em água ($7,8 \text{ }\mu\text{g/mL}$), mas muito solúvel em etanol e em ácido acético glacial, e por isso, classificado na classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade) do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (Salehi *et al.*, 2019; Salem; Rohani; Gillies, 2014; Suresh; Nangia, 2018; Truzzi *et al.*, 2021).

A estrutura química da CUR é marcada por um grupo β -dicetona, que exhibe tautomerismo ceto-enólico, como apresentado na Figura 1. Esse comportamento químico confere a CUR uma estabilidade pH-dependente. Em meios ácidos aquosos e em membranas celulares, a forma dicetona predomina e pode atuar como um potente formador de ligação de hidrogênio, capaz de favorecer as interações biológicas e os efeitos farmacológicos do polifenol. Por outro lado, em condições alcalinas, a forma enol é favorecida e a CUR torna-se mais suscetível a degradação em ácido ferúlico, feruloilmetano e em vanilina. Esses produtos também são observados quando a CUR é submetida a temperaturas superiores a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ e sob exposição à luz, seu principal estímulo à degradação (Liu *et al.*, 2016; Sabet *et al.*, 2021).

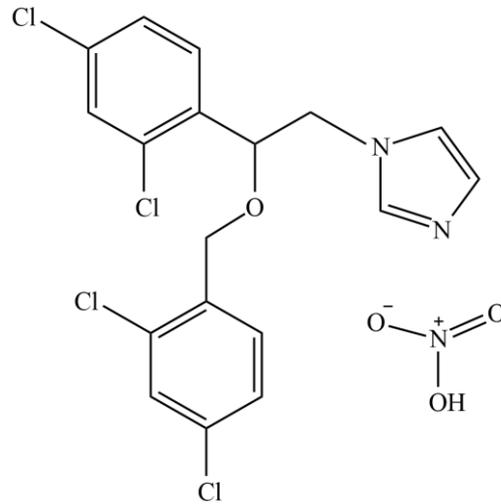
Figura 1 – Estrutura química da forma dicetona e tautomerismo cetona-enólico da CUR



Fonte: Adaptado de Salem; Rohani; Gillies (2014).

Os efeitos terapêuticos da CUR são atribuídos principalmente à presença de hidroxilas fenólicas, do grupo dicetona e dos alcenos em sua estrutura química, que conferem-a o seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, antidiabético, anticâncer, antimicrobiano, entre outros (Esmaeelzadeh *et al.*, 2018). A atividade antifúngica da CUR é resultado principal da apoptose provocada pela geração de EROs, mas mecanismos secundários também estão envolvidos, como a regulação negativa do alvo ERG3 e a depleção do ergosterol. Outros estudos mostraram que a CUR também altera a biossíntese da parede celular em *C. albicans* e ainda pode causar o extravazamento de componentes intracelulares através da disrupção da membrana plasmática fúngica (Kumar *et al.*, 2014; Lee; Lee, 2014; Sharma *et al.*, 2010a, 2012).

A associação da CUR com azóis ou polienos foi demonstrada como sinérgica e eficaz para intensificar a geração de EROs e os danos à célula fúngica (Sharma *et al.*, 2010b). O miconazol (MCZ), 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(2,4-diclorofenil)metoxi]etil]imidazol, é um antifúngico imidazol de primeira geração, convencionalmente formulado na forma de sal de nitrato, que apresenta fórmula química $C_{18}H_{15}Cl_4N_3O_4$ e massa molecular igual a 479,14 $g \cdot mol^{-1}$ (Kersten, 2018). O MCZ é um pó cristalino branco, que exhibe baixa solubilidade em água (0,7 $\mu g/mL$), mas boa solubilidade em solventes orgânicos como o dimetilsulfóxido (DMSO), que apresenta log P igual 5,86, e está elencado na classe II do SCB (Kelemen *et al.*, 2018). A estrutura química do MCZ está exposta na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura química do MCZ

Nitrato de Miconazol

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

O efeito antifúngico de amplo espectro do MCZ é atribuído principalmente ao bloqueio da biossíntese do ergosterol pela inibição da enzima lanosterol 14 α -desmetilase, que ocorre pela interação de um nitrogênio do anel imidazol com um grupo heme que compõe a enzima. O MCZ também provoca a inibição enzimática de catalase e peroxidase, gerando um acúmulo de EROs na célula fúngica e desencadeando a morte celular. Esse último mecanismo garante ao MCZ seu efeito fungicida, enquanto os outros imizadóis apresentam apenas potencial fungistático (Aljaeid; Hosny, 2016; Moraca *et al.*, 2014; Regidor *et al.*, 2023).

O MCZ é administrado por via tópica para o tratamento de infecções fúngicas superficiais na pele, na boca e na vagina. Para tratar a CVV, estão disponíveis formulações na forma de supositórios de 100 e 200 mg de MCZ, bem como cremes e pomadas, que podem ser aplicados por um período que varia de um a sete dias a depender da concentração do agenteazol. Devido a sua administração exclusivamente tópica e ao seu mecanismo de ação multidirecionado, a incidência da resistência adquirida ao MCZ permanece baixa, mas a formação de biofilmes e o aumento dos casos de CVV causados por cepas de CNA comprometem a sua eficácia e reduzem as taxas de cura após o seu uso (Amaral *et al.*, 2019; Fan; Liu; Liang, 2015).

2.3 Óvulos vaginais

O tratamento tópico de infecções vaginais pode ser realizado com a administração de diversas formas farmacêuticas, como as semissólidas, dentre as quais estão pomadas, cremes e géis, e as sólidas, que incluem supositórios, óvulos, cápsulas, comprimidos e anéis. Os óvulos são formas sólidas ovóides, de dosagem única, que contém um ou mais compostos bioativos dispersos em uma base que, a depender de sua natureza química, poderá se dissolver ou se fundir na cavidade vaginal, liberando os ativos (Farmacopeia..., 2019; Coben; Lieberman, 2001).

O efeito terapêutico dos óvulos é resultado da interação do(s) fármaco(s) com a base, que confere as propriedades mecânicas e estruturais necessárias para a estabilidade da forma farmacêutica. É fundamental que na produção convencional de óvulos, as bases apresentem características ideais, devendo desintegrar-se à temperatura corporal, solidificar rapidamente após a fusão, ser facilmente moldadas, liberar o IFA a uma taxa adequada, apresentar estabilidade frente à agentes atmosféricos e frente a microrganismos, e não ser tóxicas ou irritantes (Winfield, 2019; Prista *et al.*, 2014).

As bases empregadas na fabricação de óvulos podem ser lipossolúveis ou hidrossolúveis. Dentre os excipientes lipossolúveis estão glicerídeos semissintéticos, constituídos por misturas de triglicerídeos de ácidos graxos saturados com 12 a 18 carbonos, a exemplo das massas Witepsol. Contudo, óvulos obtidos com essas bases normalmente fundem na cavidade vaginal corporal e geram corrimento desagradável nas mulheres. Do contrário, as bases hidrodispersíveis, como aquelas de glicerina-gelatinada e de polioxietilenoglicóis, dissolvem-se facilmente no fluido vaginal sem ocasionar vazamentos, mas podem causar irritação devido a um efeito osmótico antifisiológico, resultante da hidrofilia dos excipientes (Melnik; Yarnykh; Herasymova, 2020).

Um requisito importante para os excipientes convencionais é que sejam capazes de produzir óvulos por compressão e por fusão. O primeiro método consiste em uma técnica antiga, baseada na mistura dos fármacos e excipientes, seguida da compressão do conteúdo em uma compressora específica. A compressão não é uma técnica popular na indústria, visto que apresenta consequências negativas, como a difícil homogeneização dos fármacos na base, a presença de ar nas massas, a exigência de uma máquina robusta e de mais mão-de-obra do que o processo de fusão (Coben; Lieberman, 2001; Prista *et al.*, 2014).

Por sua vez, a moldagem por fusão, é o método industrial para o fabrico de óvulos e supositórios, que promove a fusão da base à temperatura mais baixa possível e a incorporação

do IFA previamente triturado, devendo a mistura ser vertida em moldes para a solidificação da forma farmacêutica final. Apesar da extensa aplicabilidade, essa técnica frequentemente resulta em formulações não homogêneas e com teor de fármacos variável em um mesmo lote, decorrentes da distribuição não uniforme dos ativos ou pela sua sedimentação nas bases (Domsta *et al.*, 2022; Prista *et al.*, 2014).

Diante das limitações relacionadas às técnicas de produção existentes, pesquisas têm sido direcionadas para a solução desses problemas. A impressão 3D se apresenta como uma estratégia de produção que permite a personalização da terapia. Isso é alcançado através da impressão de moldes para o fabrico de óvulos em tamanhos e formatos variados, que podem ser adequados as preferências das pacientes, permitindo assim, a otimização da adesão ao tratamento (Krezić *et al.*, 2019; Tagami *et al.*, 2019). Ademais, com a impressão 3D ainda é possível desenvolver óvulos a partir de novas bases, capazes de promover liberação controlada dos ativos e reduzir o corrimento indesejado após a administração (Kocabas *et al.*, 2024).

Por outro lado, uma alternativa menos dispendiosa ao método de impressão, é o aproveitamento de excipientes com propriedades modificadas para produção de óvulos pelas técnicas de moldagem convencionais, a fim de contornar as limitações do método tradicional. O desenvolvimento de óvulos vaginais a base de gel de carragenina por moldagem a quente apresentou potencial para carrear o microbicida tefonavir e promover o controle de sua liberação, com 45 a 50% do ativo liberado em duas horas e cerca de 95% ao final de 24 horas. As formulações promoveram a liberação do fármaco para o fluido vaginal simulado sem sofrer desintegração, o que pode conferir maior aceitabilidade pelas pacientes por não provocar corrimento desagradável (Zaveri; Hayes; Ziegler, 2014).

Bases que possuem efeito terapêutico próprio podem ser investigadas com a finalidade de aumentar a eficácia de um tratamento realizado por via vaginal. O sinergismo do óleo de coco com o clotrimazol foi explorado para produzir óvulos para o tratamento da CVV. Os óvulos produzidos pelo método de moldagem de fusão, contendo 100 mg do agente azol, 40% de óleo de coco solidificado com cera de abelha a 50%, apresentaram zonas de inibição iguais a 21 mm, 19 mm e 23 mm contra *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. kruseii*, em comparação aos halos de inibição de 13 mm a 18 mm observados para o clotrimazol isolado, e mostraram-se potencialmente aplicáveis no tratamento da CVV não complicada e complicada (Mustapha *et al.*, 2023).

2.4 Materiais híbridos ureasil-poliéter

Os materiais híbridos orgânico-inorgânicos são definidos como compostos multicomponentes que possuem duas fases, uma inorgânica e uma orgânica, misturadas em escala molecular, ou mais comumente, nanométrica. As propriedades únicas desses materiais resultam não apenas das características de ambos os componentes, mas também da sinergia criada pela interface híbrida disposta entre as fases. A interface orgânico-inorgânica confere os atributos finais dos materiais, como estabilidade mecânica, química e térmica (Faustini *et al.*, 2018).

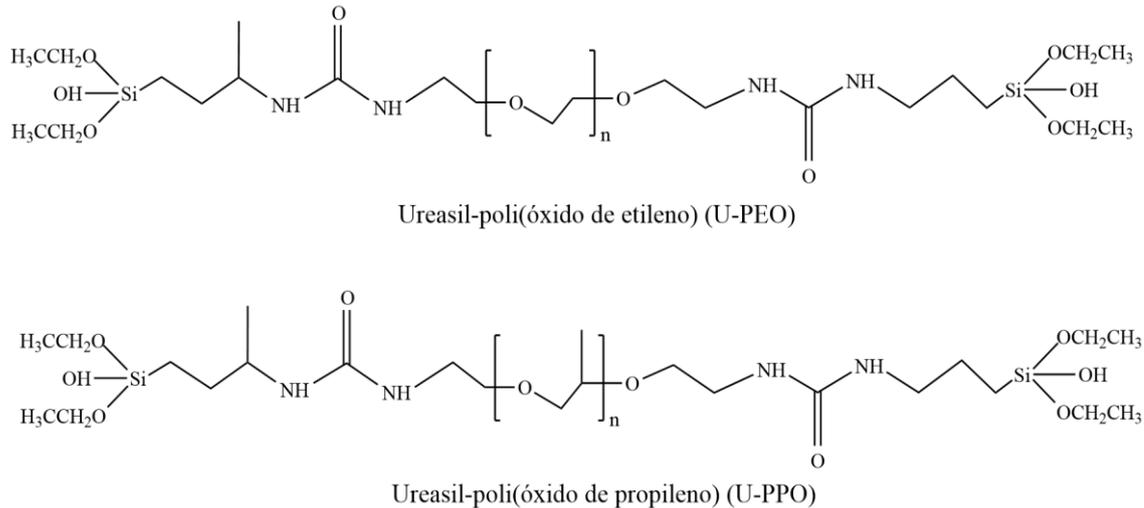
A depender da natureza da interface e das interações entre os componentes orgânico e inorgânico, esses materiais são categorizados em três classes. Os híbridos de classe I são formados por interações fracas entre as fases, como ligações de hidrogênio, ligações eletrostáticas ou forças de van der Waals. A classe II é representada por materiais nos quais os componentes orgânico e inorgânico interagem por ligações covalentes ou ionocovalentes. A associação das interações fracas e fortes das classes anteriores resulta nos materiais híbridos de classe III (Oshiro Junior *et al.*, 2016).

Os materiais híbridos obtidos pela funcionalização de polímeros orgânicos com componentes inorgânicos, como espécies a base de sílica ou siloxano, destacam-se pelo seu potencial de melhorar propriedades mecânicas e de barreira dos sistemas híbridos. As reações de funcionalização de cadeias poliméricas com alcóxidos metálicos pelo método sol-gel podem ocorrer em condições brandas de temperatura e de pressão, em solventes aquosos ou orgânicos de baixa toxicidade. Nessas condições, o processo sol-gel cursa com a formação de redes em duas etapas, a primeira consiste na funcionalização das fases orgânico-inorgânica para obtenção do sol, enquanto na segunda são realizadas reações com sol para a formação do gel (Pandey; Mishra, 2011).

Os sistemas orgânico-inorgânicos ureasil-poliéter são nanocompósitos de híbridos de classe II produzidos pelo método sol-gel, formados por unidades siloxanos ligados covalentemente a cadeias de poli(oxialquileno) através de pontes de ureia ($-\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{NH}-$). Os materiais do tipo ureasil-poli(óxido de etileno) (U-PEO) e ureasil-poli(óxido de propileno) (U-PPO), formados pela funcionalização de duas porções inorgânicas nas extremidades com os polímeros modificados com grupos amina poli(óxido de etileno) e poli(óxido de propileno), nesta ordem, são os mais explorados deste grupo. Quimicamente, esses sistemas diferenciam-se pela presença de um grupo metil adicional na cadeia polimérica de U-PPO, o que o torna

mais hidrofóbico do que U-PEO (De Jesus *et al.*, 2018; Molina *et al.*, 2014a). As estruturas de U-PEO e U-PPO estão expostas na Figura 3.

Figura 3 – Estruturas químicas de U-PEO e U-PPO



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Os híbridos ureasil-poliéter são materiais transparentes, flexíveis, mecanicamente e termicamente resistentes e insolúveis em água, capazes de carrear substâncias químicas solúveis e insolúveis, devido à presença de porções químicas polares nas extremidades e pela cadeia de poli(oxialquileno) central. Diante disso, os ureasil-poliéter apresentam-se como promissores para o carregamento de fármacos, que permitem a obtenção de perfis de liberação distintos e moduláveis para moléculas hidrofóbicas ou hidrofílicas, como resultado da formação de redes expansíveis (U-PEO) e não expansíveis em água (U-PPO) (Chiavacci *et al.*, 2022; Molina *et al.*, 2014b).

O controle da liberação promovido por matrizes híbridas resulta tanto do seu caráter químico hidrofílico ou lipofílico, como também da massa molecular da cadeia polimérica, que influencia em sua flexibilidade. As matrizes com maior teor hidrofóbico e com menor massa molecular, resultam em maior aprisionamento e em menor taxa de liberação dos ativos. Além de modificar a liberação de fármacos, a maleabilidade e a presença de grupos químicos capazes de formar ligações de hidrogênio nas cadeias de poli(oxialquilenos), como hidroxilas, carbonilas e ureias, tornam as matrizes ureasil-poliéter promissoras para aderir a sítios biológicos e originar formas farmacêuticas tópicas com boa retenção no local de administração (Souza *et al.*, 2013; Oshiro Junior *et al.*, 2018).

Na literatura, a primeira aplicação dos sistemas híbridos ureasil-poliéter para a entrega de fármacos por via vaginal foi descrita com o desenvolvimento de matrizes de U-PEO contendo curcumina e micelas de curcumina também para o tratamento da CVV causada por *C. albicans* (Costa *et al.*, 2021). Neste projeto, combinamos a curcumina com o miconazol no U-PEO e no U-PPO para melhorar a performance no tratamento da mesma condição e desenvolver novas estratégias terapêuticas para a CVV.

3 OBJETIVOS

O objetivo geral do estudo consiste em desenvolver óvulos vaginais a base de sistemas híbridos ureasil-poliéter contendo curcumina e miconazol aplicáveis no tratamento da candidíase vulvovaginal causada por cepas de *C. albicans* e de *C. não-albicans*.

3.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do trabalho incluem:

- a) produzir óvulos vaginais a base de ureasil-poli(óxido de etileno) (U-PEO500) e ureasil-poli(óxido de propileno) (U-PPO400) contendo curcumina e miconazol, por moldagem a frio;
- b) realizar a caracterização físico-química e morfológica dos óvulos vaginais;
- c) estudar o perfil e a cinética de liberação de curcumina e miconazol a partir dos óvulos vaginais ureasil-poliéter;
- d) determinar as concentrações inibitórias mínimas e a ocorrência de efeito sinérgico de curcumina e miconazol, e a atividade antifúngica dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 sem e com fármacos, em linhagens padrão de *C. albicans* e *C. não-albicans*;
- e) avaliar a citotoxicidade dos óvulos vaginais produzidos frente a linhagem de células epiteliais vaginais VK2/E6E7, a indução da produção de citocinas pró-inflamatórias pelas formulações e a biocompatibilidade na presença de espécie saudável de *Lactobacillus* da microbiota vaginal.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os reagentes, substâncias químicas e meios de cultura utilizados no presente trabalho e seus respectivos fornecedores estão descritos abaixo:

- a) O,O'-Bis (2-aminopropil) polipropilenoglicol-blocopolietilenoglicol-blocopolipropilenoglicol 500, Poli(propilenoglicol) bis(2-aminopropil éter), 3-(isocianatopropil)trietoxissilano 95% (IsoTrEOS), Curcumina ($\geq 94\%$ (teor de curcuminoide), $\geq 80\%$ (curcumina)), \pm Nitrato de Miconazol – Sigma Aldrich[®], Cajamar, SP, Brasil;
- b) etanol absoluto, lauril sulfato de sódio, Tween80, dimetilsulfóxido (DMSO), ácido acético glacial P.A. – Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil;
- c) ácido clorídrico (HCl) P.A. – Qhemis[®], Jundiá, SP, Brasil;
- d) resazurina, caldo de levedura à base de nitrogênio (YNB), D-(+)-glicose – Sigma Aldrich[®], Cajamar, SP, Brasil;
- e) caldo Sabouraud Dextrose, ágar Sabouraud Dextrose – Kasvi[®], Pinhais, PR, Brasil;
- f) dimetilsulfóxido-*d*₆ – Sigma Aldrich[®], Oakville, ON, Canadá;
- g) *phosphate buffered saline* (Dulbecco A) pH 7,3 \pm 0,2 (PBS) – Oxoid Ltd., Basingstoke, Reino Unido;
- h) caldo MRS, ágar bacteriológico, meio Gibco[™] *Keratinocyte serum-free* (K-SFM), Gibco[™] Penicilina/Estreptomomicina – Fischer Scientific, Mississauga, ON, Canadá.

4.2 Desenvolvimento dos óvulos vaginais híbridos de ureasil-poliéter

Os precursores híbridos PEO500 e PPO400 foram obtidos através da reação entre os polímeros funcionalizados poli(óxido de etileno), de massa molecular igual a 500 g/mol, e poli(óxido de propileno), de massa molecular igual a 400 g/mol (Sigma Aldrich[®], Cajamar, SP, Brasil), solubilizados em etanol absoluto, e o alcóxido modificado 3-isocianatopropiltriétoxisilano (IsoTrEOS) (Sigma Aldrich[®], Cajamar, SP, Brasil), na razão molar 1:2 (polímero:alcóxido). As misturas foram mantidas sob refluxo a 70 °C por 24 horas e, após esse período, o solvente foi evaporado em rotaevaporador sob vácuo a 80 °C.

Posteriormente, os precursores híbridos foram submetidos a reações de hidrólise e condensação para a formação dos óvulos de U-PEO500 e de U-PPO400. Para isso, 5,00 g dos precursores, 2,00 mL de etanol absoluto, 0,20 mL de água deionizada, 135 mg de curcumina e/ou miconazol foram misturados a temperatura ambiente e sob agitação magnética de 290 rpm. Após completa homogeneização, 0,08 mL do catalisador HCl 2M (Qhemis[®], Jundiáí, SP, Brasil) foi adicionado e o conteúdo foi agitado por mais um minuto. As misturas foram transferidas para formas plásticas para a moldagem no formato de óvulos vaginais. Os óvulos híbridos foram armazenados em dessecador para secagem a temperatura ambiente (± 25 °C).

4.3 Caracterização físico-química e morfológica

4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A obtenção das moléculas híbridas orgânico-inorgânicas foi avaliada por estudos de ressonância magnética nuclear de ¹H dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 solubilizados em DMSO-*d*6 (Sigma Aldrich[®], Oakville, ON, Canadá). Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Bruker Ultra-ShieldTM 300 MHz e analisados no software Bruker Topspin 4.4.1 (Bruker Corporation, Billerica, MA, EUA).

4.3.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A fim de analisar a compatibilidade entre os ativos e os precursores híbridos, as curvas de DTA foram obtidas em um analisador térmico simultâneo ShimadzuTM (DTG-60), sob atmosfera inerte de nitrogênio com razão de fluxo de 100 mL/min, sob aumento de temperatura até 400 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C/min, utilizando para isso, 2 mg das amostras acondicionadas em cadinhos de alumínio selados. As curvas de DTA foram analisadas com o software TA-60WS versão 2.2.1 (Shimadzu, Quioto, Japão).

4.3.3 Termogravimetria (TGA)

A análise da variação de massa e da estabilidade térmica de curcumina, miconazol e dos óvulos híbridos de U-PEO500 e de U-PPO400 foi realizada em um analisador térmico simultâneo ShimadzuTM (DTG-60). As amostras (10 mg) foram acondicionadas em cadinhos de alumina, e submetidas a aquecimento até 900 °C, a uma razão de 10 °C/min, sob atmosfera

inerte de nitrogênio com razão de fluxo de 100 mL/min. A aquisição e a interpretação dos dados foram realizadas utilizando o software TA-60WS versão 2.2.1 (Shimadzu, Quioto, Japão).

4.3.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos grupos químicos e a avaliação de interações intermoleculares entre os ativos e os materiais híbridos foi realizada através de um espectrofotômetro de infravermelho (Spectrum 400 – Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA) com dispositivo de refletância total atenuada com cristal de selênio, na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} e com resolução de 4 cm^{-1} . A análise dos dados foi realizada com auxílio do software Origin® versão 8.5 (OringLab, Northampton, MA, EUA).

4.3.5 Difratometria de raios X (DRX)

A determinação da cristalinidade dos fármacos e dos óvulos híbridos de U-PEO500 e de U-PPO400 foi realizada por difração de raios X. As medidas foram realizadas em um difratômetro de raios X Shimadzu™ XRD-6000, com varredura angular $3^\circ < 2\theta < 50^\circ$, na geometria Bragg-Brentano, sistema θ - 2θ , utilizando radiação de Cu ($K\alpha_1$) ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$), com varredura no passo de 0,02 (2θ) e um intervalo de 0,6 segundos por amostra.

4.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia de superfície dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 sem e com fármacos foi analisada por microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram revestidas por pulverização catódica com uma fina camada de ouro e as imagens de MEV foram obtidas em um Zeiss FESEM 1530 (Carl Zeiss AG, Jena, Alemanha), utilizando o modo de baixo vácuo e voltagem de aceleração de 20 kV.

4.4 Ensaio de liberação *in vitro*

O ensaio para determinação do perfil de liberação *in vitro* de curcumina e miconazol a partir dos óvulos vaginais foi realizado em triplicata. A liberação de CUR foi avaliada pela imersão dos óvulos em 900 mL de tampão acetato pH 4,2 contendo 15% de Tween80® e 5% de etanol absoluto (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil) para

manutenção das condições *sink*, sob agitação de 250 rpm a $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, conforme previamente validado (Costa *et al.*, 2021). Em intervalos de tempo previamente determinados (0,25; 0,50; 0,75; 1; 2; 3; 4; 6; 12; 24; 48; 72; 96; 120 e 144 horas), alíquotas de 3 mL do meio foram coletadas, filtradas em membranas de Nylon de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ e analisadas em espectrofotômetro UV-visível (UV-1900, Shimadzu, Barueri, SP, Brasil) a 424 nm. O mesmo volume de meio retirado foi posteriormente repostado com meio fresco.

A análise do MCZ liberado foi realizada pela imersão dos óvulos em 200 mL de tampão acetato pH 4,2 adicionado de 5% de lauril sulfato de sódio (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil), mantido sob agitação de 250 rpm a $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Nos mesmos intervalos de tempo especificados acima, alíquotas de 3 mL do meio foram coletadas, filtradas em membranas de Nylon de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ de poro e analisadas em espectrofotômetro UV-vis a 272 nm. O meio tamponado foi repostado ao béquer em volume equivalente ao da alíquota removida.

O mecanismo de liberação de curcumina e miconazol foi analisado pelo ajuste das curvas de liberação *versus* tempo aos modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Weibull, Higuchi e ordem zero, através do software SigmaPlot 10.0 (Systat Inc., San Jose, CA, EUA) (Bruschi, 2015).

4.5 Ensaios microbiológicos para avaliação da atividade antifúngica

4.5.1 Linhagens de fungos

As linhagens padrão de *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. tropicalis* ATCC 13803 foram obtidas da *American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD, EUA) e mantidas em caldo de levedura à base de nitrogênio (YNB, Sigma Aldrich®, Cajamar, SP, Brasil) suplementado com 100 mM de D-(+)-glicose (Sigma Aldrich®, Cajamar, SP, Brasil). Os microrganismos foram semeados em placas de Ágar Sabouraud Dextrose (Sigma Aldrich®, Cajamar, SP, Brasil) e incubados a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por 48 horas para crescimento de colônias.

4.5.2 Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIMs) e das concentrações fungicidas mínimas (CFMs) de curcumina e de miconazol

As concentrações inibitórias mínimas de CUR e MCZ contra as diferentes cepas padrões foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo em microplacas de 96 poços, em adaptação à norma M27 do Clinical and Laboratory Standards Institute (2017).

A princípio, preparou-se os inóculos das leveduras, pela suspensão de cinco colônias de 1 mm de diâmetro incubadas por 24 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, em caldo Sabouraud Dextrose (Kasvi[®], Pinhais, PR, Brasil). Posteriormente, os inóculos foram padronizados em espectrofotômetro a 530 nm para obter uma concentração de 1 a 5×10^6 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônia por Mililitro). As soluções-teste de CUR e MCZ foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO) (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil) a 10% e diluídas seriadamente em 100 μL de caldo Sabouraud Dextrose nas microplacas para obter concentrações entre 1024 a 0,0312 $\mu\text{g/mL}$ de CUR e 10 a 0,0781 $\mu\text{g/mL}$ de MCZ. Para *C. glabrata* ATCC 90030, as concentrações de MCZ testadas foram 25 a 0,1953 $\mu\text{g/mL}$. Em seguida, o inóculo padronizado foi diluído de 1:100 e um volume equivalente a 5 μL dos inóculos diluídos foi pipetado nos poços, de modo a atingir uma concentração entre 5×10^2 a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL por poço. O meio de cultura, o crescimento e o veículo (DMSO) foram controlados. A nistatina (Pharmácia Geranium, Barretos, SP, Brasil) foi utilizada como controle positivo. O ensaio foi realizado em triplicata na mesma microplaca ($n = 3$) em dois experimentos independentes.

As microplacas foram incubadas em estufa microbiológica a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Após esse período, o ensaio foi revelado com a adição de resazurina 0,01% (Sigma Aldrich[®], Cajamar, SP, Brasil) previamente filtrada em membrana PTFE de 0,22 μm de poro. Decorridas 2 horas de incubação, a mudança de coloração da resazurina de roxo para rosa evidenciou a presença de microrganismos viáveis. As CIMs foram definidas como as menores concentrações de curcumina e miconazol capazes de inibir o crescimento fúngico.

As concentrações fungicidas mínimas foram (CFMs) foram determinadas pelo semeio de uma alíquota de 10 μL do conteúdo dos poços das microplacas do teste de CIM em placas contendo ágar Sabouraud Dextrose. As placas foram incubadas por 24 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e as CFMs foram definidas como as menores concentrações de CUR e MCZ que impediram o crescimento de colônias em meio sólido.

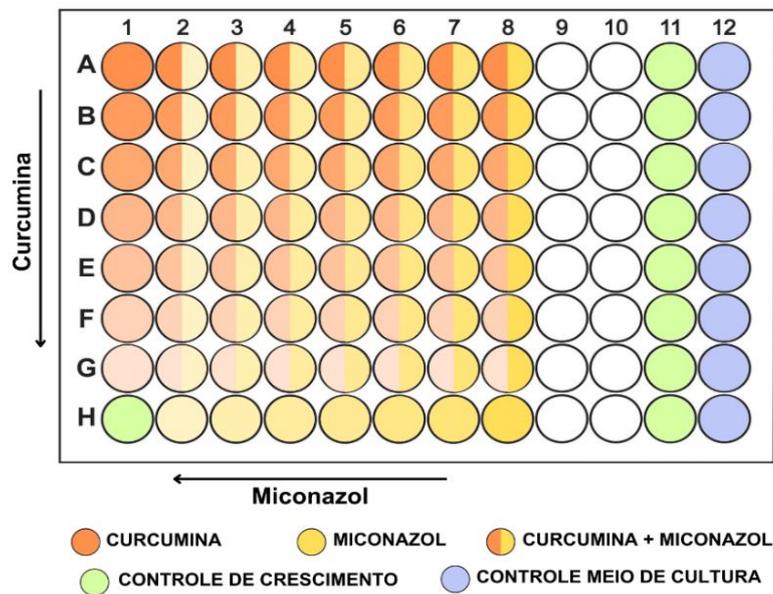
4.5.3 Determinação do efeito da associação de curcumina e miconazol

A avaliação do sinergismo entre curcumina e miconazol frente as linhagens de referência do gênero *Candida* foi realizada pelo método *checkerboard*, em conformidade com a metodologia descrita por Pillai; Moellering; Eliopoulos (2005), com adaptações.

Os inóculos de fungos foram preparados e padronizados conforme descrito anteriormente de modo a obter 1 a 5×10^6 UFC/mL. Curcumina e miconazol foram solubilizados em DMSO a 10% para o preparo das soluções-teste que, posteriormente foram diluídas em caldo Sabouraud Dextrose nas concentrações avaliadas. A CUR foi diluída em concentrações subinibitórias de 1024 a 16 $\mu\text{g/mL}$ para *C. parapsilosis* ATCC 22019, de 512 a 8 $\mu\text{g/mL}$ para *C. glabrata* ATCC 90030 e para *C. tropicalis* ATCC 13803, de 256 a 4 $\mu\text{g/mL}$ para *C. albicans* ATCC 10231. O MCZ foi diluído de 2,5 a 0,0390 $\mu\text{g/mL}$ para *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. albicans* ATCC 10231, de 12,5 a 0,1953 $\mu\text{g/mL}$ para *C. glabrata* ATCC 9003, e de 1,25 a 0,0195 $\mu\text{g/mL}$ para *C. tropicalis* ATCC 13803.

Posteriormente, adicionou-se 100 μL das diluições de curcumina na coluna 1 da microplaca de 96 poços e 100 μL das concentrações de miconazol foram dispostas na coluna H. Nos poços das colunas 2 a 8 e das linhas A a G foram acrescidos 50 μL de cada diluição dos IFAs, a fim de estruturar um modelo de tabuleiro de xadrez, no qual as maiores e menores concentrações dos fármacos se cruzam. Ao final, um volume equivalente a 100 μL do inóculo padronizado e diluído a uma concentração de aproximadamente 5×10^2 a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL foi acrescidos aos poços. O ensaio foi realizado em duplicata ($n = 2$). A Figura 4 mostra o esquema de montagem da microplaca para a realização do método *checkerboard*.

Figura 4 – Esquema de montagem da microplaca para a determinação *in vitro* da atividade sinérgica da associação de curcumina e miconazol



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Após a incubação da microplaca por 24 horas a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, o ensaio foi relevado com resazurina 0,01%. O Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) foi calculado a partir das concentrações inibitórias fracionadas (CIF), como indicador do sinergismo, conforme a Equação 1 apresentada abaixo.

$$\text{ICIF} = \text{CIF}_{\text{MCZ}} + \text{CIF}_{\text{CUR}} = \frac{\text{CIM}_{\text{MCZ COMBINADO}}}{\text{CIM}_{\text{MCZ ISOLADO}}} + \frac{\text{CIM}_{\text{CUR COMBINADA}}}{\text{CIM}_{\text{CUR ISOLADA}}} \quad (1)$$

Valores de $\text{ICIF} \leq 0,5$ confirmam a atividade sinérgica, enquanto $0,5 < \text{ICIF} < 1$ indica efeito aditivo, e $1 < \text{ICIF} < 2$ e $\text{ICIF} \geq 2$ correspondem a efeito indiferente e antagônico, respectivamente (Pillai; Moellering; Eliopoulos, 2005).

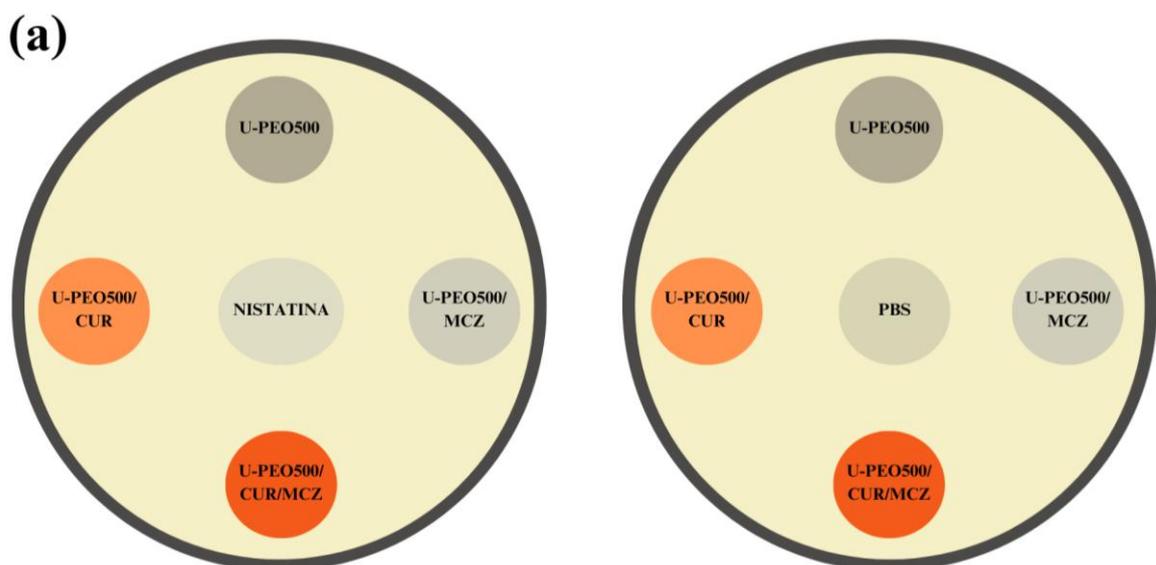
4.5.4 Avaliação da atividade antifúngica dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 por difusão em ágar

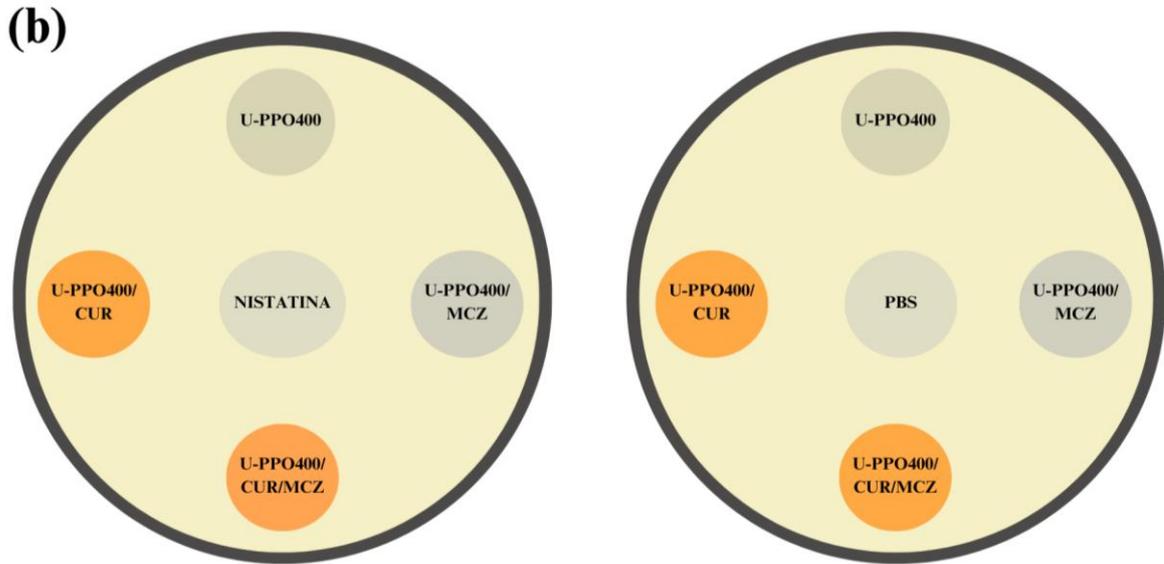
A atividade antifúngica dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e MCZ foi realizada a fim de avaliar o efeito das formulações em meio sólido contra as cepas de *Candida* nas quais a associação dos ativos demonstrou efeito sinérgico, em adaptação da norma M44 do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018).

Inicialmente, os inóculos das linhagens teste de *Candida* foram preparados em caldo Sabouraud Dextrose, a partir de colônias cultivadas em ágar Sabouraud Dextrose por 24 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e padronizados em espectrofotômetro para atingir uma concentração de $1\text{ a }5 \times 10^6$ UFC/mL. Com o auxílio de um swab estéril, os inóculos foram semeados em placas de ágar Sabouraud Dextrose e espalhados em todas as direções, de modo a garantir que não houvessem espaços sem deposição da suspensão fúngica.

Em seguida, os óvulos de U-PEO500, U-PEO500/CUR, U-PEO500/MCZ, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400, U-PPO400/CUR, U-PPO400/MCZ, U-PPO400/CUR/MCZ foram seccionados em porções circulares medindo 6 mm de diâmetro e realizou-se a assepsia dos fragmentos com álcool a 70%. Os segmentos dos óvulos foram depositadas nas placas de Petri, com auxílio de uma pinça metálica previamente flambada. Em um grupo para cada cepa testada ($n = 3$), após a aplicação dos segmentos de óvulos no ágar, um volume de $100\text{ }\mu\text{L}$ de tampão fosfato estéril $\text{pH } 7,3 \pm 0,2$ (PBS; Oxoid Ltd., Basingstoke, Reino Unido) para auxiliar a liberação dos fármacos das formulações. No segundo grupo ($n = 3$), não houve deposição de PBS. Os grupos controles foram PBS e nistatina a $100\text{ }\mu\text{g/mL}$, depositados a $100\text{ }\mu\text{L}$ em poços perfurados no ágar. Após 24 horas de incubação a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, os halos de inibição formados pelos grupos testados foram medidos com um paquímetro. A disposição das secções dos óvulos nas placas de Petri está apresentada na Figura 5.

Figura 5 – Disposição dos óvulos de (a) U-PEO500 e (b) U-PPO400 no ensaio de difusão em ágar





Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

4.6 Determinação do efeito de CUR, MCZ e dos óvulos vaginais híbridos em *Lactobacillus* do trato genital feminino

O efeito de diferentes concentrações de CUR e MCZ em *Lactobacillus jensenii* ATCC 55920 foi avaliado pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com a norma M7-A10 do CLSI (2015).

Inicialmente, o inóculo da bactéria foi preparado ao suspender, em 10 mL de caldo MRS, colônias frescas crescidas em ágar MRS a 37 °C em 5% de CO₂ por 24 horas. A suspensão foi padronizada em espectrofotômetro para obter uma concentração igual a 1 x 10⁸ UFC/mL e foi subsequentemente diluída para atingir 5 x 10⁶ UFC/mL. Em seguida, preparou-se a microplaca pela adição de 100 µL de caldo MRS aos poços, e as soluções-teste de CUR e MCZ foram serialmente diluídas no meio de cultura de 256 a 2 µg/mL e 380 a 2,97 µg/mL, respectivamente. Ao final, adicionou-se 10 µL da suspensão bacteriana a 5 x 10⁶ UFC/mL aos poços. O meio de cultura e o crescimento foram controlados. Uma solução de penicilina/estreptomicina a 100 µg/mL foi utilizada como controle positivo. A microplaca foi incubada a 37 °C em 5% de CO₂ por 24 horas e, após esse período, a absorbância dos poços foi analisada a 600 nm utilizando um leitor de microplaca (Varioskan LUX Multiplate reader, Thermo Fisher Scientific, Mississauga, ON, Canadá). O ensaio foi realizado em triplicata na mesma microplaca (n = 3) em dois experimentos independentes.

Visando avaliar o efeito dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 na mesma linhagem, um ensaio de eluição foi conduzido (Traore *et al.*, 2015). Os óvulos foram primeiramente assepsiados por imersão em isopropanol a 70% por 30 segundos e mantidos em cabine de biossegurança estéril até completa secagem. Posteriormente, os óvulos foram transferidos para tubos estéreis contendo 10 mL de caldo MRS e mantidos em incubadora a 37 °C sob agitação de 100 rpm por 1, 3 e 7 dias (Incu-Shaker Mini, Benchmark Scientific, Sayreville, NJ, EUA). Após o período de ensaio, os meios foram coletados, filtrados em uma membrana de polietersulfona (PES) de 0,45 µm e adicionados a 100 µL aos poços de microplacas de 96 poços. Em seguida, adicionou-se 10 µL do inóculo de *L. jensenii* ATCC 55920 a 5×10^6 UFC/mL aos poços. O caldo MRS e penicilina/estreptomicina a 100 µg/mL representaram os controles negativo e positivo. As microplacas foram incubadas a 37 °C em 5% de CO₂ por 24 horas e absorbância dos poços foi analisada a 600 nm após esse período.

4.7 Estudos de citotoxicidade em células epiteliais vaginais VK2/E6E7

A avaliação da citotoxicidade foi performada com células epiteliais vaginais VK2/E6E7 obtidas da ATCC (Rockville, MD, EUA) e mantidas em meio Gibco™ *Keratinocyte serum-free* (K-SFM, Thermo Fischer Scientific, Mississauga, ON, Canadá) suplementado com 0,1 ng/mL de fator de crescimento epidérmico, 0,05 mg/mL de extrato de hipófise bovina, 0,4 mM de cloreto de cálcio e 1% de penicilina/estreptomicina (Sigma Aldrich®, Oakville, ON, Canadá) a 37% e 5% de CO₂ antes dos experimentos.

A princípio, as células foram cultivadas em microplacas de 96 poços a $1,25 \times 10^5$ células/poço e incubadas a 37 °C em 5% de CO₂ por 24 horas. Sequencialmente, soluções-teste de CUR e MCZ foram preparadas e diluídas em meio K-SFM para atingir concentrações na faixa de 256 a 2 µg/mL e 380 a 2,97 µg/mL, respectivamente, que foram adicionadas a 100 µL aos poços das microplacas para tratar as células por 24 horas. Após esse período, os meios de tratamento foram removidos, repostos por 100 µL de K-SFM fresco e 20 µL de MTS ([3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio) (CellTiter 96® Aqueous One Solution; Promega Corporation, Wisconsin, EUA) e a microplaca foi incubada a 37 °C em 5% de CO₂ por 2 horas. A absorbância dos poços foi medida a 490 nm em um leitor de microplaca (Varioskan LUX Multiplate reader, Thermo Fisher Scientific, Mississauga, ON, Canadá).

O efeito dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 sem e com fármacos na viabilidade de VK2/E6E7 foi determinado por ensaio de eluição em conformidade com a

ISO10993 (ISO, I. 2009) e com o descrito por Chen *et al.* (2022). Inicialmente, os óvulos foram assepsiados por imersão em isopropanol a 70% por 30 segundos e mantidos em cabine de biossegurança estéril até completa secagem. Posteriormente, as formulações foram transferidas para tubos estéreis contendo 10 mL de meio K-SFM e incubados por 1, 3 e 7 dias a 37 °C e 100 rpm em incubadora orbital (VWR® Incubating Orbital Shaker, VWR, Mississauga, ON, Canadá). Após o período de eluição, os meios foram coletados, filtrados em membrana de PES de 0,45 µm de poro e adicionados a 100 µL aos poços das microplacas para tratar as células VK2/E6E7 ($1,25 \times 10^5$ células/poço). Decorridas 24 horas de incubação a 37 °C em 5% de CO₂, os meios sobrenadantes foram coletados dos poços e a viabilidade celular foi determinada a 490 nm após reação com o MTS.

Os meios sobrenadantes previamente coletados foram utilizados para determinar a produção dos mediadores pró-inflamatórios interleucinas (IL) IL-6, IL-8 e IL-1β pelas células, utilizando kits de ELISA sanduíche (R&D Systems, Toronto, ON, Canadá).

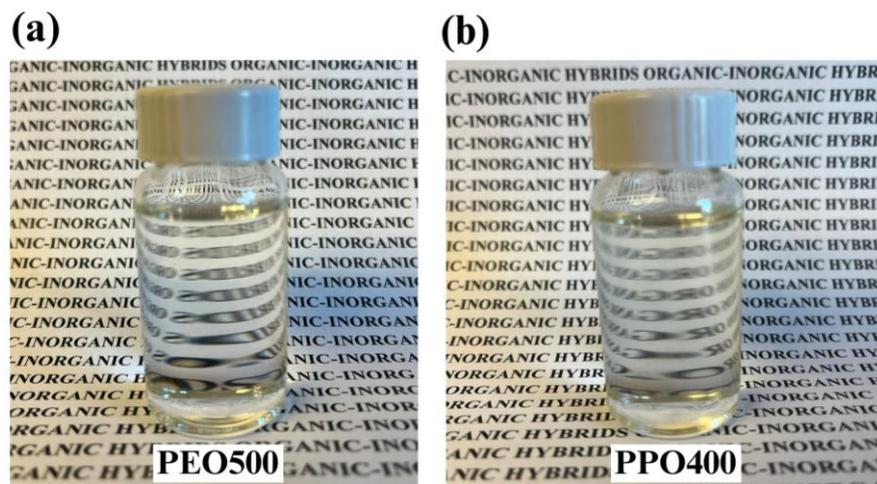
A análise estatística dos resultados desse ensaio e daqueles descritos nas seções 4.5.4 e 4.6 foi realizada por análise de variância (ANOVA) unidirecional e teste de comparações múltiplas de Tukey, com auxílio do software GraphPad Prism® versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento dos óvulos vaginais híbridos de ureasil-poliéter

Utilizando o método sol-gel, materiais híbridos do tipo ureasil-poliéter foram inicialmente obtidos. Nessa rota de síntese, um alcóxido metálico é funcionalizado com cadeias poliméricas sob condições brandas de temperatura e utilizando solventes aquosos, a fim de obter um sol, também chamado de precursor híbrido. Os precursores híbridos obtidos com a funcionalização dos polímeros modificados e o IsoTrEOS estão expostos na Figura 6. Macroscopicamente, esses sóis se apresentam como líquidos com aspecto translúcido e viscoso, de coloração branca a amarelada.

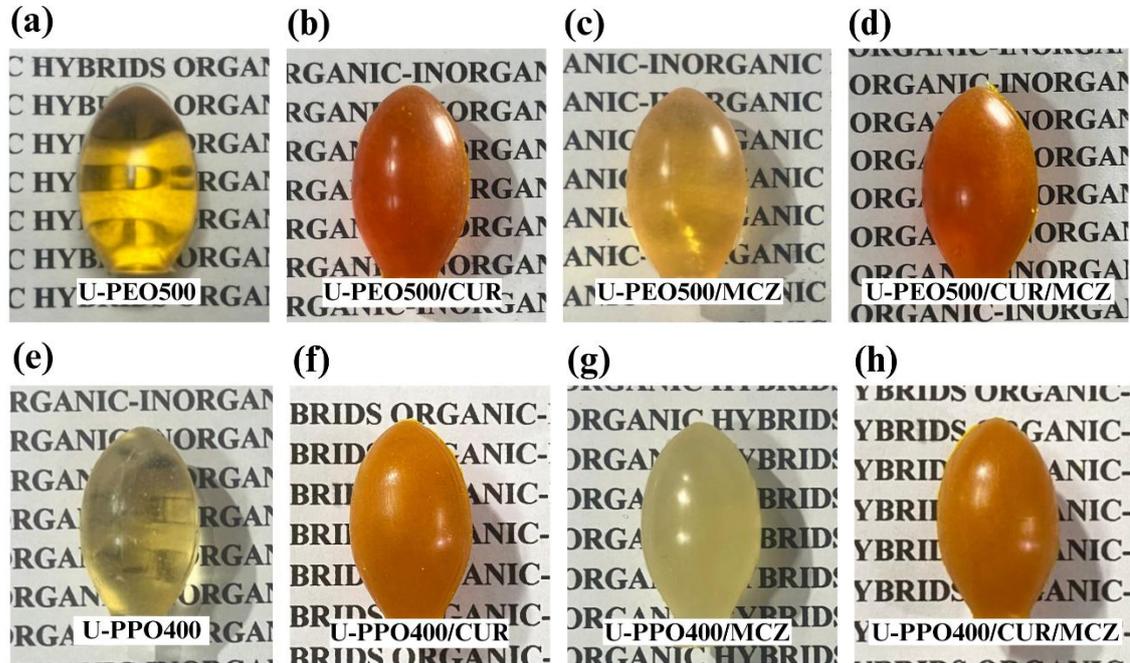
Figura 6 – Precursores híbridos (a) PEO500 e (b) PPO400



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Após a obtenção, os precursores híbridos foram submetidos a reações de hidrólise e condensação para a formação do gel, seguidas de moldagem a frio em formas plásticas para a formação do gel no formato de óvulos vaginais. Decorrido o processo de secagem em dessecador à temperatura ambiente, os óvulos foram retirados das formas e apresentaram-se límpidos, homogêneos, sem fissuras ou rachaduras. As formulações finais apresentaram média de peso de 3,5 g, altura média de 2 cm e diâmetro central de 1,5 cm. Os óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com curcumina e miconazol estão expostos na Figura 7.

Figura 7 – Óvulos vaginais híbridos a base de ureasil-poliéter: (a) U-PEO500, (b) U-PEO500/CUR, (c) U-PEO500/MCZ, (d) U-PEO500/CUR/MCZ, (e) U-PPO400, (f) U-PPO400/CUR, (g) U-PPO400/MCZ e (h) U-PPO400/CUR/MCZ



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Em relação a formulações vaginais, os atributos visuais e macroscópicos desempenham um papel importante na aceitabilidade e na vontade de tentar usar das pacientes e, conseqüentemente, influenciam a performance clínica do medicamento. Estudos de avaliação sensorial *in mano* (na mão) demonstraram que óvulos ovais, como os obtidos com ureasil-poliéter, estão entre a segunda preferência de formato pelas mulheres, em reflexo ao tamanho cômodo e a semelhança com outros produtos de uso vaginal (Primorse *et al.*, 2016; Zaveri *et al.*, 2018). Esta propensão sugere uma boa aceitabilidade dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 pelo público-alvo.

Outra característica que influencia a preferência de mulheres é a coloração das formas farmacêuticas sólidas. Óvulos vaginais transparentes ou claros, com tons variando do amarelo ao cinza, parecem ser mais acetáveis (Palmeira-de-Oliveira *et al.*, 2022). Nesse sentido, os óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 incorporados apenas com miconazol teriam maior apelo visual na vontade de tentar usar as formulações, enquanto aqueles contendo curcumina, devido à coloração alaranjada pronunciada, poderiam limitar a aceitabilidade. Contudo, seria necessário conduzir estudos organolépticos com potenciais pacientes para determinar as preferências em relação aos óvulos produzidos neste trabalho.

A produção de óvulos vaginais a base de ureasil-poliéter permite adequar as preferências das pacientes, especialmente quanto ao formato, uma vez que esses materiais podem ser moldados a frio em diferentes formas, que variam com a disponibilidade de moldes plásticos ou metálicos disponíveis para o preparo dessas formas farmacêuticas. O processo de moldagem a frio permite contornar as limitações da moldagem por fusão convencional, que envolve a dispersão do fármaco em uma base hidrofílica ou lipofílica previamente fundida, sob forma adequada, seguida de resfrieração. Contudo, o aquecimento e agitação inadequados podem levar à distribuição não-homogênea dos ingredientes ativos na base, enquanto a mudança de temperatura durante o resfriamento pode resultar em sedimentação dos fármacos por alteração de sua solubilidade na base (Domsta *et al.*, 2022; Kalmar *et al.*, 2014).

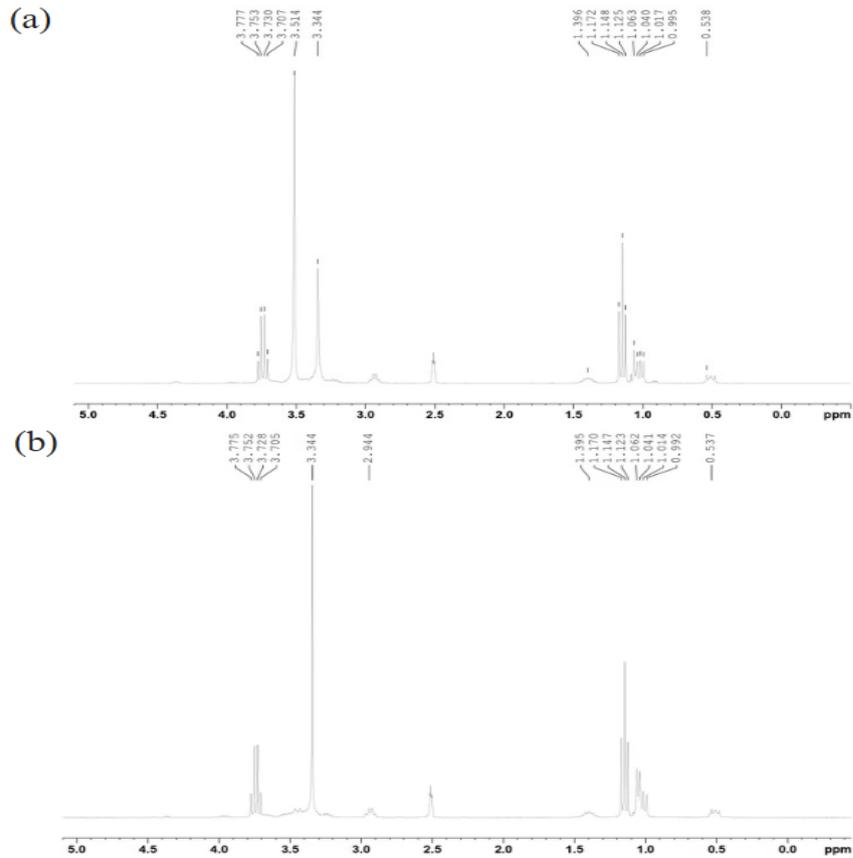
Além disso, a moldagem por fusão é uma técnica impeditiva à incorporação de fármacos termossensíveis, uma vez que há necessidade de empregar aquecimento a temperaturas minimamente moderadas. Nessa perspectiva, a obtenção de óvulos por reações de hidrólise e condensação de ureasil-poliéteres é eficaz para permitir o carreamento de insumos farmacêuticos ativos sensíveis ao calor. Esses materiais ainda destacam-se por comportar alta carga de ativos hidrofílicos ou lipofílicos. Os óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 desenvolvidos neste trabalho incorporaram uma quantidade máxima de 2,7% de CUR e MCZ concomitantemente. Isso confirma o potencial desses materiais de atuarem como sistemas para a entrega dupla de fármacos.

5.2 Caracterização físico-química e morfológica

5.2.1 Ressonância magnética nuclear (RMN)

A ressonância magnética nuclear é uma técnica de caracterização fundamental para o entendimento da conectividade atômica entre compostos orgânicos e inorgânicos e, portanto, é crucial para validar a estrutura química de compostos híbridos novos ou conhecidos, permitindo dessa forma, confirmar o êxito na obtenção de moléculas híbridas orgânico-inorgânicas (Goodman; Zhou; Cargnello, 2020). Os espectros de RMN de ^1H dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 foram registrados a fim de comprovar a formação das moléculas de ureasil-poliéter e estão apresentados nas Figura 8.

Figura 8 – Espectros de RMN de ^1H de (a) PEO500 e (b) PPO400



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: ppm: partes por milhão.

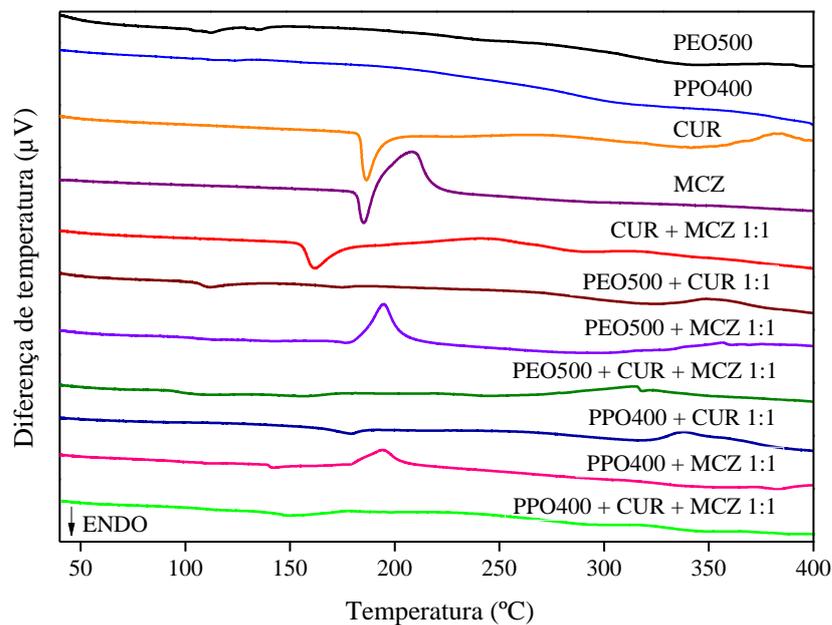
Nos espectros de RMN de ^1H de PEO500 e PPO400, na Figura 8, os primeiros picos, visualizados em aproximadamente 0,53 ppm, representam os prótons dos grupos $-\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$. Em sequência, entre 0,99 e 1,06 ppm, picos que sugerem a presença de hidrogênios de metil dos grupos $-\text{O}-\text{CH}(-\text{CH}_3)-\text{CH}_2$ em ambos os precursores, e do metil adicional na cadeia polimérica de PPO400, foram observados. Na região de 1,12 a 1,17 ppm, visualizou-se nos dois espectros picos mais intensos que os anteriores, que representam os prótons de $-\text{Si}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$. Em cerca de 1,40 ppm, um singlete de baixa intensidade denotou a presença dos prótons $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Si}$. Em 2,94 ppm no espectro de PPO400, os hidrogênios de $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ foram detectados. Para PEO500, os grupos metilenos de $-\text{O}-\text{CH}(-\text{CH}_3)-\text{CH}_2$ foram observados com deslocamento de 3,34 ppm. Os sinais entre 3,51 e 3,34 ppm para PEO500 e PPO400, respectivamente, indicaram os prótons de $-\text{O}-\text{CH}_2$. Por fim, os multipletos detectados em torno de 3,70 ppm em ambos os espectros referem-se aos hidrogênios dos grupos $-\text{Si}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$. Esses dados corroboram com aqueles presentes na literatura e confirmam a obtenção dos precursores híbridos orgânico-inorgânicos ureasil-poliéter (Mendes *et al.*, 2021; Nunes *et al.*, 2020).

5.2.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A análise térmica diferencial é uma técnica que realiza a medição da variação de temperatura entre uma amostra e um material inerte de referência enquanto ambos são submetidos a um programa de aquecimento controlado. As alterações de fluxo de calor da amostra em relação à referência refletem mudanças físicas ou químicas sofridas por esta durante o aquecimento (Akash; Rehman, 2020). A DTA pode fornecer informações a respeito de interações que podem ocorrer quando amostras combinadas são submetidas a aquecimento e permite estimar a compatibilidade entre diferentes compostos.

As curvas de DTA dos precursores híbridos PEO500 e PPO400, de CUR e MCZ, e das combinações binárias entre os ativos e os precursores estão apresentadas na Figura 9. Os parâmetros de fluxo de calor estão expostos na Tabela 1.

Figura 9 – Curvas de DTA de CUR, MCZ e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 puros e combinados com os fármacos



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PEO500: Precursor híbrido poli(óxido de etileno) de massa molecular 500 g/mol; PPO400: Precursor híbrido poli(óxido de propileno) de massa molecular 400 g/mol; CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de curcumina e miconazol; PEO500 + CUR 1:1: Mistura binária de PEO500 e curcumina; PEO500 + MCZ 1:1: Mistura binária de PEO500 e miconazol; PEO500 + CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de PEO500 com curcumina e miconazol; PPO400 + CUR 1:1: Mistura binária de PPO400 e curcumina; PPO400 + MCZ 1:1: Mistura binária de PPO400 e miconazol; PPO400 + CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de PPO400 com curcumina e miconazol.

Tabela 1 – Parâmetros de DTA de CUR, MCZ e dos precursores híbridos PEO500 e PPO400 puros e combinados com os fármacos

Amostra	Evento 1		Evento 2	
	T _{pico} (°C)	ΔH (J/g)	T _{pico} (°C)	ΔH (J/g)
CUR	186,41	-77,11	381,34	23,79
MCZ	185,29	-42,81	208,25	252,56
CUR + MCZ 1:1	161,79	-58,99	–	–
PEO500 + CUR 1:1	111,67	-4,66	348,84	14,17
PEO500 + MCZ 1:1	–	–	194,52	97,19
PPO400 + CUR 1:1	178,96	-3,25	338,13	4,03
PPO400 + MCZ 1:1	142,04	-2,83	194,17	45,27

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: T_{pico}: Temperatura de pico; ΔH: Variação de entalpia; CUR: Curcumina; MCZ: Miconazol; CUR + MCZ 1:1: Mistura binária de curcumina e miconazol; PEO500 + CUR 1:1: Mistura binária de PEO500 e curcumina; PEO500 + MCZ 1:1: Mistura binária de PEO500 e miconazol; PPO400 + CUR 1:1: Mistura binária do precursor híbrido PPO400 e curcumina; PPO400 + MCZ 1:1: Mistura binária do precursor híbrido PPO400 e miconazol.

Os precursores híbridos PEO500 e PPO400 são materiais amorfos e, por isso, não apresentaram picos endotérmicos ou exotérmicos bem definidos, sugestivos de eventos químicos ou físicos, em suas curvas de DTA (Figura 9, curvas azul e preta, nesta ordem). O caráter amorfo desses materiais confere-os uma temperatura de transição vítrea (T_g), que demarca a transição das cadeias poliméricas de um estado vítreo, rígido, para um estado borrachoso, em que a fase amorfa possui mobilidade. Contudo, a determinação dos valores de T_g por DTA é incerta e limitada, sendo convencionalmente realizada por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Através da aplicação dessa técnica em estudos da literatura, foram encontrados valores de T_g de PEO500 e PPO400 iguais a -30,40 °C e 22 °C, respectivamente, estando estes abaixo da faixa de temperatura aplicada na DTA deste trabalho, não sendo possível detectá-los na análise (Da Silva *et al.*, 2022; De Santana *et al.*, 2021).

A curva de DTA da CUR (Figura 9, curva laranja) apresentou um pico endotérmico agudo em 186,41 °C, referente ao ponto de fusão, que reflete o seu caráter cristalino. Em 381,34 °C, observou-se um evento exotérmico, que pode estar relacionado à degradação da CUR durante o aquecimento, assim como demonstrado nos estudos de Fujita *et al.* (2012) e De Moura *et al.* (2021), que observaram e relacionaram tal transformação exotérmica aos eventos primários de decomposição térmica do polifenol na termogravimetria. Por sua vez, o MCZ (Figura 7, curva roxa) apresentou o pico endotérmico agudo característico do seu ponto de fusão

em 185,29 °C. Em seguida, o fármaco passa por uma recristalização parcial resultante de uma transição de segunda ordem, que resulta em um pico exotérmico em 208,25 °C na sua curva DTA. Esse comportamento também foi observado e relatado em estudos de DSC do MCZ encontrados na literatura (Kenechukwu *et al.*, 2017; Uronnachi *et al.*, 2020).

Na análise da mistura binária 1:1 de CUR e MCZ (Figura 9, curva vermelha), observou-se um único pico endotérmico agudo em 161,79 °C, relacionado à fusão dos fármacos. A redução na temperatura e na intensidade deste, além da ausência dos picos exotérmicos característicos dos compostos isolados podem indicar uma interação entre CUR e MCZ pela formação de uma mistura eutética. Isso pode ser resultado de ligações de hidrogênio formadas entre o nitrogênio do anel imidazol ou o oxigênio do éter presentes na estrutura do MCZ e as hidroxilas fenólicas ou carbonilas que compõe quimicamente a CUR.

A curva da combinação binária de PEO500 e PPO400 com CUR exibiu alterações em relação à curva do ativo isolado. Na mistura com PEO500 (Figura 9, curva marrom), o evento de fusão da CUR foi antecipado para 111,67 °C e o pico teve sua intensidade reduzida. Isso pode sugerir uma interação, possivelmente através de ligações de hidrogênio intramolecular entre as hidroxilas fenólicas ou diacetonas da CUR com os grupamentos ureia ou oxietileno de PEO500. No entanto, a alteração no ponto de fusão do IFA não apresenta relevância clínica ou tecnológica, uma vez que a fusão ainda ocorre a temperatura superior a 100 °C e isso não implica a administração ou a produção dos óvulos vaginais de U-PEO500.

Por sua vez, em PPO400 + CUR 1:1 (Figura 9, curva azul roial), o pico referente à fusão do polifenol foi sutilmente antecipado para 178,96 °C, mas observou-se uma redução de intensidade. O mesmo foi observado para o evento exotérmico. Assim como para PEO500, as modificações nos eventos originais da CUR podem estar relacionadas à interações com o precursor híbrido PPO400, que podem ser menos acentuadas devido à presença de um grupo metil, que protege estericamente alguns grupos formadores de ligações de hidrogênio no material.

As curvas de DTA das combinações de MCZ com PEO500 e PPO400 exibiram comportamentos distintos. Em PEO500 + MCZ 1:1 (Figura 9, curva violeta), o pico endotérmico do fármaco foi suprimido, enquanto o evento exotérmico foi antecipado para 194,52 °C ao passo em que teve sua intensidade reduzida. Esse comportamento pode indicar que o MCZ transitou do estado cristalino para o amorfo e, em sequência, retornou ao estado cristalino, o que justifica a observação apenas da exoterma de cristalização (Tejada *et al.*, 2017). Na combinação com PPO400 (Figura 9, curva rosa), os eventos endotérmico e exotérmico do MCZ foram observados com menor intensidade em 142,04 °C e em 194,17 °C, nesta ordem.

Desse modo, o fármaco não transitou para o estado amorfo, como observado com PEO500, mas pode ter interagido com o precursor, o que resultou em modificações nos seus eventos térmicos originais.

As curvas de CUR e MCZ com PEO500 ou PPO400 (Figura 9, curvas verde escuro e verde claro, nesta ordem) apresentaram-se semelhantes as dos precursores isolados, nas quais não foram detectados picos endotérmicos ou exotérmicos referentes aos eventos térmicos originais dos fármacos e o caráter amorfo dos precursores foi dominante. Essa observação indica que os ativos podem ter se dissolvido ou disperso nos precursores líquidos e isso reduziu a cristalinidade de ambos para níveis indetectáveis pelo analisador térmico.

5.2.3 Termogravimetria (TGA)

A termogravimetria (TGA) é uma técnica quantitativa de análise térmica que analisa a variação de massa de uma amostra enquanto esta é submetida a um programa controlado de temperatura crescente. A TGA fornece informações a respeito dos processos de decomposição de um composto e pode ser utilizada para avaliar a estabilidade térmica de diferentes materiais (Saadatkhah *et al.*, 2020). As curvas de TGA e os parâmetros de perda de massa de curcumina, miconazol e dos óvulos ureasil-poliéter brancos e incorporados com ativos estão apresentadas na Tabela 2 e nas Figuras 10–13.

Tabela 2 – Parâmetros de TGA de CUR, MCZ, e dos óvulos híbridos U-PEO500 e U-PPO400 brancos e combinados com os fármacos (continua)

Amostra	T _{inicial} -T _{final} (°C)	Perda de massa (%)
CUR	239,12–433,28	56,01
	440,73–900,00	17,71
MCZ	180,42–214,16	20,49
	219,42–356,58	65,72
	361,40–900,00	10,04
CUR + MCZ 1:1	180,59–376,90	50,40
	380,00–900,00	29,27

Tabela 2 – Parâmetros de TGA de CUR, MCZ, e dos óvulos híbridos U-PEO500 e U-PPO400 brancos e combinados com os fármacos (conclusão)

Amostra	T _{início} -T _{final} (°C)	Perda de massa (%)
U-PEO500	50,20–200,70	7,53
	268,33–431,39	56,24
	446,76–545,79	12,78
U-PEO500/CUR	45,08–272,08	5,67
	273,00–436,85	62,71
	446,05–900,00	10,25
U-PEO500/MCZ	40,10–259,70	5,45
	261,46–429,78	62,36
	435,05–900,00	13,33
U-PEO500/CUR/MCZ	43,50–266,65	6,44
	267,54–502,98	69,65
	505,60–900,00	4,35
U-PPO400	42,08–223,93	3,31
	228,31–489,47	57,74
	492,10–782,46	8,41
U-PPO400/CUR	51,95–247,66	3,88
	250,29–487,16	61,05
	488,91–900,00	8,77
U-PPO400/MCZ	63,06–205,85	2,72
	236,94–509,38	66,34
	511,13–900,00	6,08
U-PPO400/CUR/MCZ	51,23–226,34	3,55
	230,28–489,02	62,77
	493,83–887,84	8,16

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

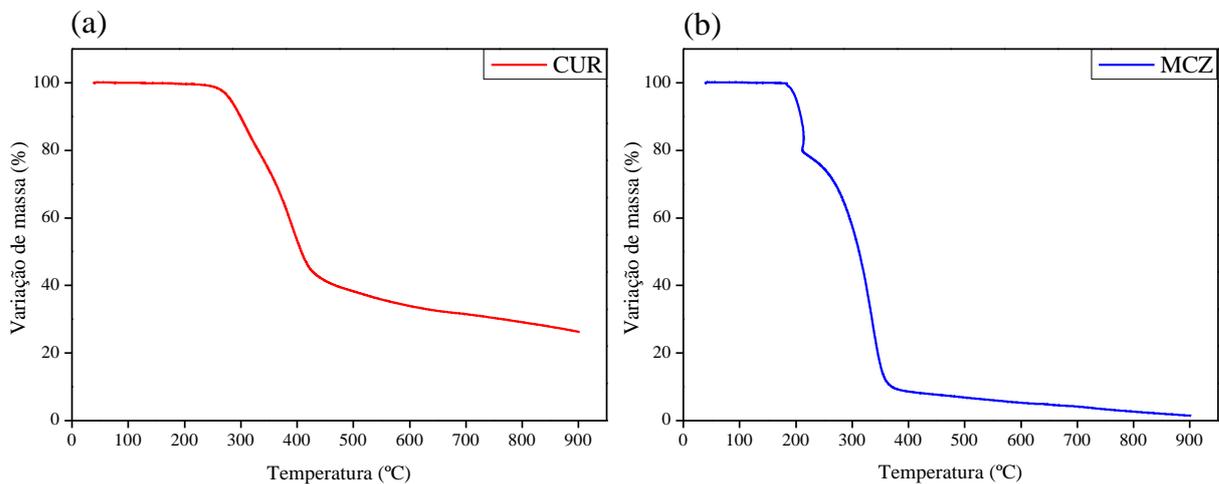
Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; CUR + MCZ 1:1: mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol.

A CUR (Figura 10a) apresentou decomposição térmica em dois estágios, o primeiro entre 239,12 °C e 443,28 °C, e o segundo entre 440,70 °C e 900 °C, com perda de massa de

56,01% e 16,03%, nesta ordem. É possível observar que não foi observada perda de massa em temperaturas de até 150 °C, o que indica que a amostra de fármaco não apresentava umidade residual. Além disso, ao final do processo, observou-se um resíduo de 27,95%, referente a cinzas não voláteis. Em ensaios realizados na literatura nas mesmas condições que as do presente trabalho também observou-se um perfil termogravimétrico semelhante para a CUR, com dois estágios de decomposição, e um resíduo de cinzas de mais de 20% (Ju *et al.*, 2021; Vaz *et al.*, 2020). As duas etapas de decomposição da CUR parecem estar relacionadas primeiramente à decomposição dos grupos substituintes e, em sequência, dos grupos aromáticos da sua estrutura química (Chen *et al.*, 2014).

O MCZ (Figura 10b) exibiu decomposição em três eventos térmicos, mas manteve-se estável até 180 °C, não havendo indícios da presença de umidade ou de voláteis na amostra. O primeiro evento térmico foi observado entre 180,42 °C e 214,16 °C, com 20,49% de perda de massa. O segundo, entre 219,42 °C e 356,56 °C, é visualizado como um pico com ombro, que representa o principal estágio de decomposição térmica do fármaco (Tejada *et al.*, 2018). Após o último estágio térmico, detectado de 361,40 °C a 900 °C, o MCZ foi decomposto com uma perda de massa final de 10,01%.

Figura 10 – Curvas de TGA de (a) CUR e de (b) MCZ



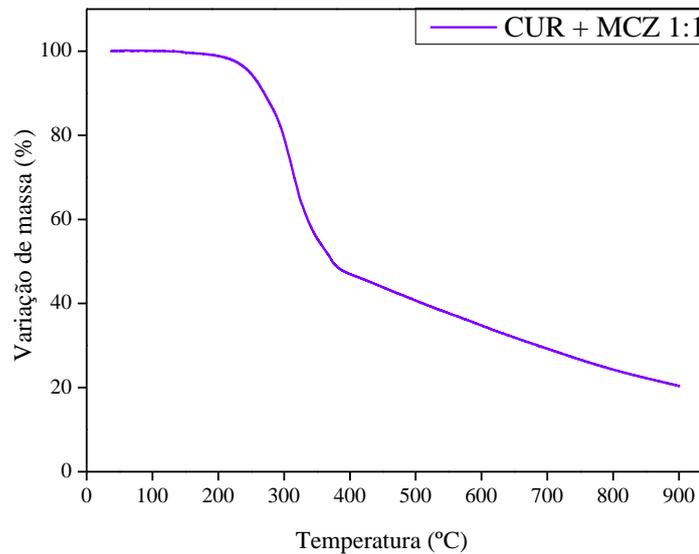
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol.

Na curva TGA da mistura binária na proporção 1:1 de CUR e MCZ (Figura 11), foram visualizados dois eventos térmicos. A primeira perda de massa de 50,40% ocorreu entre 180,59 °C e 376,90 °C, e a segunda, entre 380 °C e 900 °C, com perda de 29,27% em massa e um resíduo final de 20,33%. Observou-se que a curva da mistura binária não apresentou mudanças

significativas em relação aos parâmetros de TGA de CUR e de MCZ isolados, e que representa, portanto, a soma das curvas de ambos os fármacos isolados, e não sugere alterações nos perfis de variação de massa dos compostos quando submetidos a aquecimento em associação.

Figura 11 – Curvas de TGA da mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1

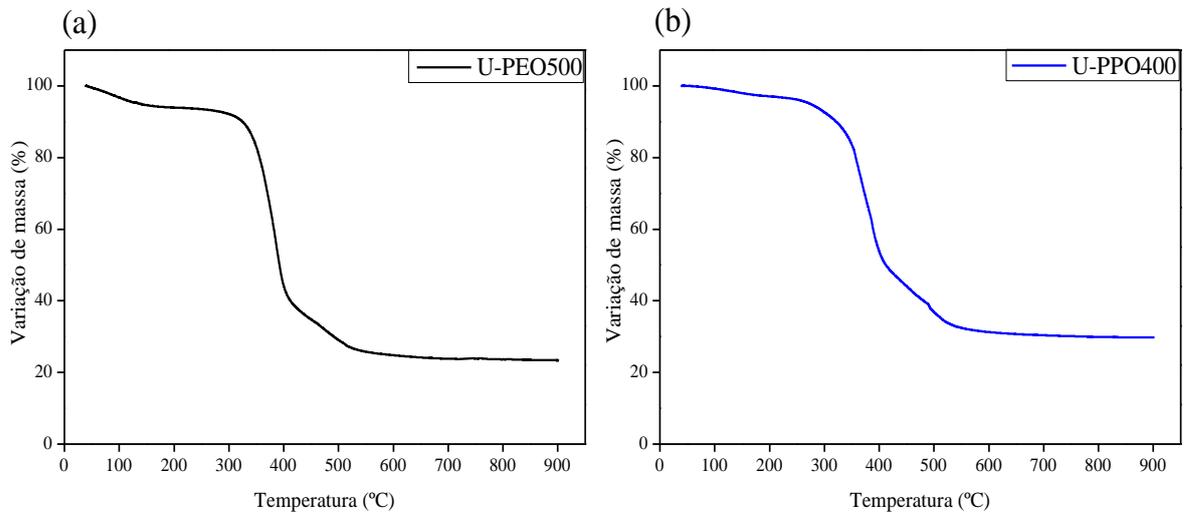


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; CUR + MCZ 1:1: mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1.

As curvas TGA de U-PEO500 (Figura 12a) e de U-PPO400 (Figura 12b) apresentaram três eventos de perda de massa. O primeiro estágio, detectado entre 50,20 °C e 200,70 °C para U-PEO500, e entre 42,08 °C e 223,93 °C para U-PPO400, representa a perda de voláteis, como o etanol, e de água. No segundo evento térmico, de 268,33 °C a 431,39 °C para U-PEO500 e 228,31 °C e 489,47 °C para U-PPO400, observou-se a maior perda de massa, referente à decomposição de ambos os materiais, com 56,24% e 57,47% de perda para o híbrido de maior e para o de menor massa molecular, nesta ordem. Esse evento é atribuído à decomposição das unidades ureasil desses materiais, que ocorre em temperaturas máximas próximas a 400 °C nos híbridos produzidos com HCl como catalisador. Após o término da análise, observou-se um resíduo de material carbonizado de 23,44% para U-PEO500 e 30,53% para U-PPO400 (Paredes Zaldivar *et al.*, 2017).

Figura 12 – Curvas de TGA de (a) U-PEO500 e de (b) U-PPO400

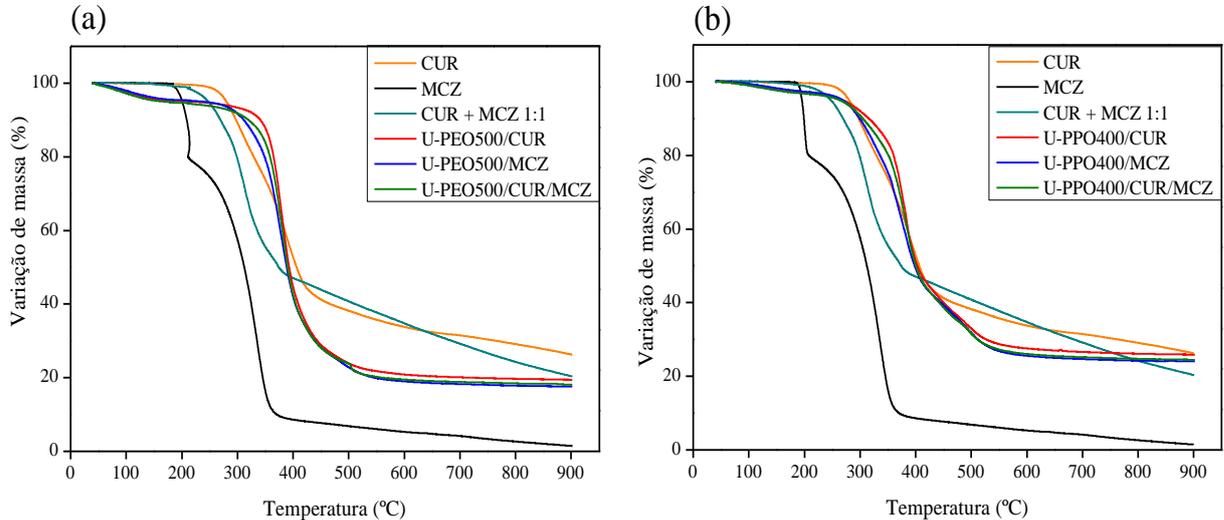


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: U-PEO500: material híbrido ureasil-poliéter de PEO500; U-PPO400: material híbrido ureasil-poliéter de PPO400.

A análise termogravimétrica dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 incorporados com CUR e MCZ (Figura 13) exibiu curvas semelhantes as dos óvulos sem os ativos. As curvas apresentaram três eventos térmicos, sendo o primeiro referente à evaporação de etanol e de água das matrizes híbridas, o segundo e terceiro eventos relacionado ao estágio principal de decomposição das unidades ureasil de U-PEO500 e U-PPO400, bem como de CUR e MCZ. Esse resultado pode sugerir que os fármacos estavam solubilizados no material e estes se degradaram concomitantemente, mas também pode estar relacionado a menor sensibilidade de detecção do analisador frente as menores massas de IFAs incorporadas nos óvulos.

Figura 13 – Curvas de TGA de CUR, MCZ, da mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1 e dos óvulos vaginais de (a) U-PEO500 e (b) U-PPO400 brancos e incorporados com os ativos



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; CUR + MCZ 1:1: mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol.

5.2.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier é uma técnica que baseia-se na absorção de radiação infravermelha para fornecer informações sobre a estrutura química de uma amostra. A FTIR pode ser utilizada na avaliação de interações intermoleculares entre ingredientes ativos e excipientes, refletidas nas alterações vibracionais entre um ou mais componentes de uma amostra (Rojek; Wesolowski, 2016). Os espectros de FTIR de curcumina, miconazol, da mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1, e dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com os insumos farmacêuticos ativos estão apresentados nas Figuras 14–16.

No espectro da CUR (Figura 14, curva vermelha), as bandas visualizadas em 3508 cm^{-1} e 3380 cm^{-1} , representam o estiramento de ligações O-H e estão relacionadas as hidroxilas fenólicas presentes em sua estrutura química. Os grupos químicos dicetona foram observados em 1625 cm^{-1} , indicando o estiramento de ligações C=O e C=C. A banda referente as vibrações de estiramento C=C dos anéis aromáticos do ativo foi visualizada em 1600 cm^{-1} . Ademais, destacaram-se as vibrações de dobramento de C-H e de estiramento C-O em 1427 cm^{-1} e 1273

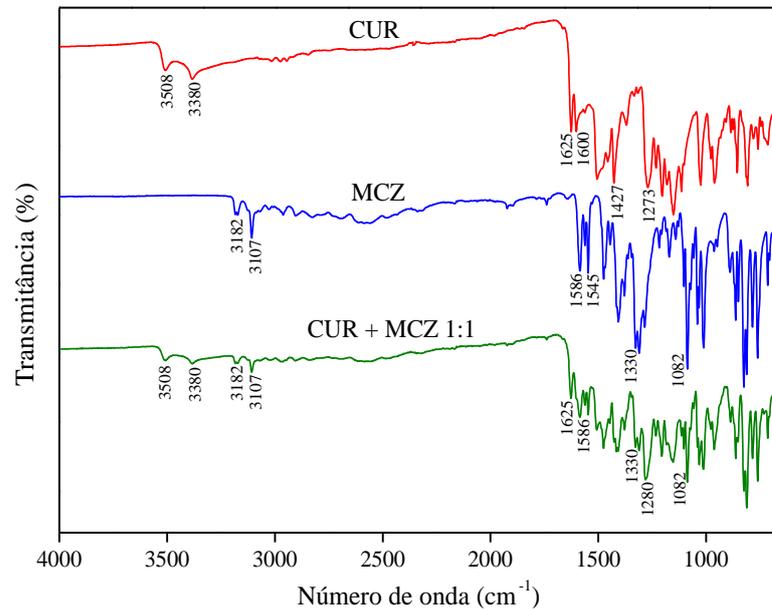
cm^{-1} , respectivamente. Os dados obtidos estão em conformidade com aqueles encontrados na literatura (Sun *et al.*, 2018).

A varredura do MCZ, apresentada na Figura 14 (curva azul), exibiu bandas de vibração de estiramento de ligações C-N e C-H referentes aos anéis imidazólico e aromático do fármaco em 3182 cm^{-1} e 3107 cm^{-1} , respectivamente. O estiramento de ligações C=C das estruturas cíclicas aromáticas e imidazólica foi observado por bandas em 1586 cm^{-1} e 1545 cm^{-1} , respectivamente. As vibrações de estiramento de C=N e de C-O do miconazol foram detectadas em 1330 cm^{-1} e 1082 cm^{-1} , nesta ordem. A concordância destes resultados com os dispostos em outros estudos confirmam a identidade do fármaco (Rai *et al.*, 2014; Rasool *et al.*, 2023).

A mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1 (Figura 14, curva verde), apresentou em seu espectro de FTIR todas as bandas originais de ambos os ativos. As vibrações de estiramento O-H, C=C e C=O da CUR, foram visualizadas em 3508 cm^{-1} , 3380 cm^{-1} e 1625 cm^{-1} , sem deslocamento. A banda de vibração C=C aromática em 1600 cm^{-1} não foi detectada, enquanto aquela referente ao estiramento C-O, em 1273 cm^{-1} , foi sutilmente deslocada para 1280 cm^{-1} . Isso pode ser devido ao fato do MCZ também apresentar bandas características na mesma região, que podem ter se sobreposto as de CUR.

Em relação aos espectros dos fármacos isolados, ao analisar a varredura da mistura binária de CUR e MCZ, nenhuma nova banda foi detectada e nem bandas originais foram consideravelmente deslocadas ou substituídas. Essa observação aponta para a ausência da formação de interações intermoleculares entre os ativos e, portanto, para a compatibilidade entre eles. Assim, é possível confirmar que a interação detectada entre CUR e MCZ na DTA, acontece sob estresse térmico e não limita o processo de formulação dos óvulos vaginais com ambos os fármacos, uma vez que a mistura acontece sem a necessidade de aquecimento.

Figura 14 – Espectros de FTIR de curcumina, miconazol e da mistura binária de curcumina e miconazol na proporção 1:1

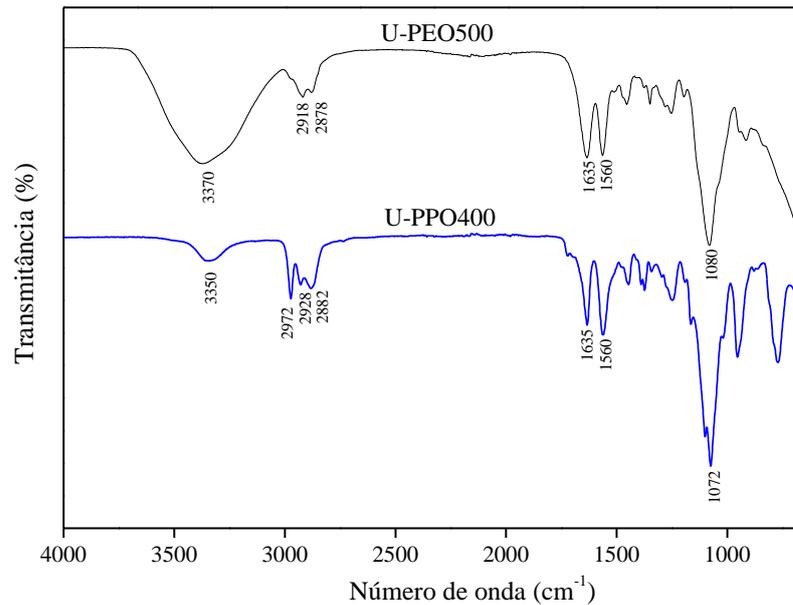


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; CUR + MCZ 1:1: mistura binária de CUR e MCZ na proporção 1:1.

A análise dos espectros de FTIR de U-PEO500 e U-PPO400 (Figura 15) permitiu concluir a respeito da correta obtenção dos materiais, com base no que está disposto na literatura (Mendes *et al.*, 2021). Em 3370 cm^{-1} e 3350 cm^{-1} , observou-se bandas referentes ao estiramento de ligações N-H dos grupos ureia para ambos os híbridos. Na faixa entre 2918 cm^{-1} e 2878 cm^{-1} , foram visualizadas bandas de estiramento de ligações CH_2 assimétrico e simétrico para U-PEO500. O mesmo padrão foi detectado por bandas em 2928 cm^{-1} e 2882 cm^{-1} em U-PPO400, que ainda apresenta uma banda em 2972 cm^{-1} , que pode estar relacionado a presença de um grupo CH_3 a mais em sua estrutura química. As contribuições das ligações ureia foram visualizadas por bandas de média intensidade em 1635 cm^{-1} (amida I) e 1560 cm^{-1} (amida II). Em 1080 cm^{-1} e 1072 cm^{-1} , as bandas referentes as vibrações de estiramento C-O foram observadas para U-PEO500 e U-PPO400, respectivamente.

Figura 15 – Espectros de FTIR de U-PEO500 e de U-PPO400



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: U-PEO500: material híbrido ureasil-poliéter de PEO500; U-PPO400: material híbrido ureasil-poliéter de PPO400.

Nos espectros dos óvulos de U-PEO500 com CUR e/ou MCZ, exibidos na Figura 16a, foi possível observar mudanças nos padrões de estiramento que refletem a alterações estruturais no material após a incorporação dos fármacos. A exemplo disso, a banda de estiramento de ligação N-H, em 3370 cm^{-1} , foi sutilmente dividida em duas de menor intensidade. Ademais, a banda de estiramento CH_2 simétrico, em 2878 cm^{-1} , aumentou de intensidade, enquanto a banda de contribuição assimétrica, em 2918 cm^{-1} , teve sua intensidade reduzida. A banda larga referente ao estiramento C-O, foi sutilmente deslocada para 1090 cm^{-1} , e apresentou um ombro em 1030 cm^{-1} . Isso pode resultar da interferência de bandas vibracionais dos ativos com aquelas da região característica do material híbrido.

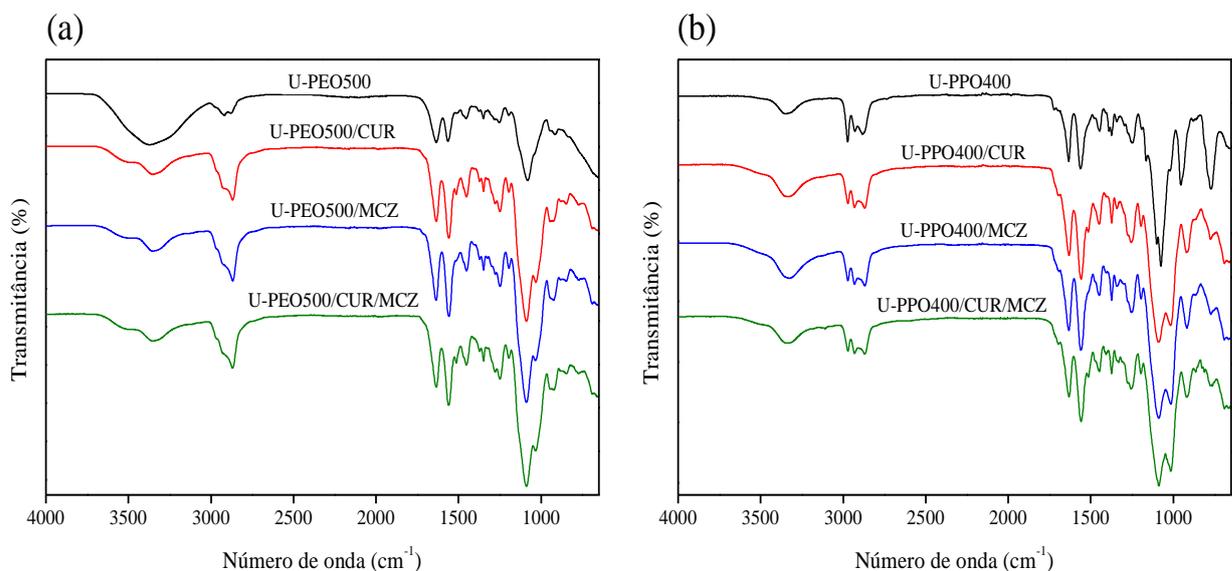
Nas varreduras de U-PPO400 com os fármacos (Figura 16b), alterações que sugerem modificações estruturais em relação ao material híbrido puro também foram observadas. A banda referente ao estiramento de grupo metilênico, em 2972 cm^{-1} , teve sua intensidade reduzida, e isso pode inferir que CUR e MCZ podem estar estruturalmente acomodados em regiões próximas a esses grupos e, por isso, a detecção das ligações C-H foi diminuída. Isso é corroborado pela antecipação da banda de vibração de estiramento C-O também para 1090 cm^{-1} , e pela observação de uma segunda banda em 1015 cm^{-1} , após a incorporação dos fármacos, que podem sugerir a formação de interações intermoleculares do tipo ligações de

hidrogênio entre grupos doadores de CUR e MCZ e os grupos aceptores do tipo oxietileno presentes no material.

Em ambos os espectros apresentados na Figura 16, as bandas amida I e II, relacionadas aos grupos ureia e as interações entre estes dentro das matrizes, aumentaram de intensidade após a incorporação de CUR e/ou MCZ nos ureasil-poliéter. Enquanto a banda amida I é multicomponente e inclui o estiramento e a deformação de ligações C-N e o estiramento de grupos C=O que não estão envolvidos nas interações ureia-ureia, a amida II reflete a vibração de flexão de N-H e está relacionada à conformação da cadeia e as ligações de hidrogênio intermoleculares (De Santana *et al.*, 2021; Palácio *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a redução da intensidade das bandas amida I infere que a incorporação de CUR e MCZ resulta em diminuição das carbonilas de ureia livres, possivelmente porque os fármacos realizam interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio com tais grupamentos. Por sua vez, o aumento da intensidade observada nas bandas amida II nos óvulos carregados de U-PEO500 e U-PPO400 sugere a modificação das cadeias poli(oxietilênicas) e poli(oxipropilênicas) e do seu perfil de interação intermolecular para comportar a presença dos fármacos.

Figura 16 – Espectros de FTIR dos óvulos vaginais de (a) U-PEO500 e (b) U-PPO400 incorporados com curcumina e miconazol



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol.

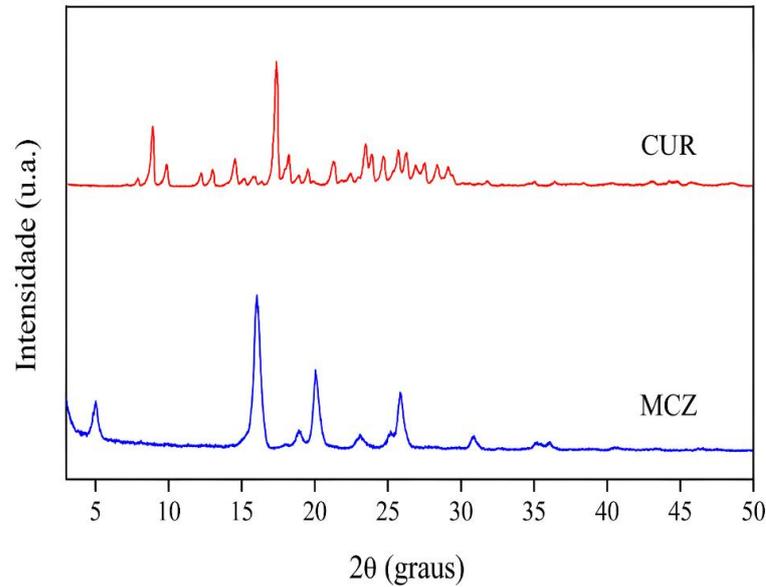
5.2.5 Difractometria de raios X (DRX)

A difratometria de raios X é uma técnica que aplica o princípio da difração, que ocorre quando uma onda é espalhada por um arranjo estrutural ordenado que se repete periodicamente, produzindo interferência construtiva em ângulos específicos, para determinar com eficiência as características de uma estrutura cristalina. A DRX é utilizada no campo farmacêutico na caracterização de novos fármacos e de compostos polimorfos, de novas formulações e, também, na identificação de materiais amorfos, que não geram um padrão de difração (Bunaciu *et al.*, 2015; Chauhan; Chauhan, 2014). Os difratogramas de raios X de MCZ, CUR, e dos óvulos vaginais brancos e incorporados com os fármacos de U-PEO500 e U-PPO400 estão nas Figuras 17–19.

O MCZ (Figura 17, curva azul) exibiu picos de difração em diferentes ângulos (2θ), como 5° ; $16,02^\circ$, o pico de maior intensidade no difratograma; $18,93^\circ$; $20,05^\circ$; $23,08^\circ$; $25,18^\circ$, um pico pequeno, visualizado como um ombro da reflexão maior em $25,86^\circ$; $30,87^\circ$; $35,22^\circ$ e $36,03^\circ$, o que confirma a sua estrutura cristalina, assim como observado pelo seu pico de fusão bem definido na curva de DTA. O perfil observado se refere a um sistema cristalino do tipo ortorrômbico, característico do sal de nitrato do fármaco (Kersten, 2018). O padrão de difração deste trabalho corrobora com o estudo de Tsutsumi *et al.* (2011), que destacou as reflectâncias entre 16° , 20° e 26° , assim como com o trabalho de Arshad *et al.* (2024), no qual os picos de difração em $15,70^\circ$; $19,50^\circ$; $22,70^\circ$; $23,40^\circ$ e $25,40^\circ$ foram evidenciados.

O difratograma da CUR (Figura 17, curva vermelha) mostrou-se característico de uma estrutura cristalina com vinte e três picos de difração apresentados em ângulos (2θ) entre $8,36^\circ$ e $29,55^\circ$, com aqueles de maior intensidade em $9,46^\circ$ e $17,70^\circ$. A quantidade de picos observadas pode estar relacionada à presença de outros curcuminoides na amostra. A CUR pura pode existir como três formas cristalinas, sendo uma delas monoclinica, que ocorre quando o composto está como na forma de pó, e as outras duas formas como cristais ortorrômbicos (Araki *et al.*, 2019; Thorat; David, 2014). O perfil de difração observado neste trabalho é comparável com o de estudos relatados na literatura que destacam os picos entre $8,89^\circ$; $9,08^\circ$; $17,25^\circ$; $18,53^\circ$; $25,60^\circ$; $28,53^\circ$ e $29,54^\circ$ para a CUR em pó (Paranthaman; Moses; Anandharamakrishnan, 2022; Yu *et al.*, 2020).

Figura 17 – Difratomogramas de raios X de CUR e MCZ

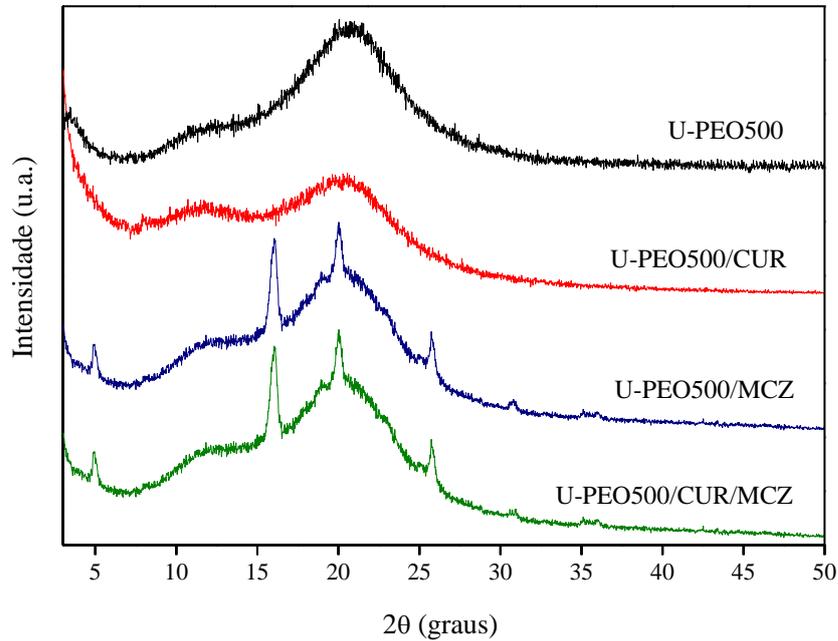


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol.

O padrão de difração de U-PEO500 branco (Figura 18, curva preta) não apresentou picos bem definidos de cristalinidade, apenas um pico largo em formato Gaussiano com centro localizado em $2\theta = 20,70^\circ$, o que aponta para o caráter amorfo deste material atribuído à rede siloxana, conforme relatado na literatura (Da Fonsêca *et al.*, 2024; Paredes *et al.*, 2014). No difratograma de U-PEO500/CUR (Figura 18, curva vermelha), observou-se que o perfil amorfo característico do material híbrido predominou, sugerindo a ausência de cristais do polifenol. Por sua vez, nos difratogramas de U-PEO500/MCZ e U-PEO500/CUR/MCZ (Figura 18, curvas azul e verde), os picos largos referentes à estrutura cristalina do MCZ foram detectados em $4,90^\circ$; $16,02^\circ$; $20,05^\circ$ e $25,75^\circ$ e assumiu-se a presença de cristais não solubilizados doazol dentro das matrizes híbridas, não detectados na observação visual dos óvulos.

Figura 18 – Difratomogramas de raios de X dos óvulos de U-PEO500, U-PEO500/CUR, U-PEO500/MCZ e U-PEO500/CUR/MCZ



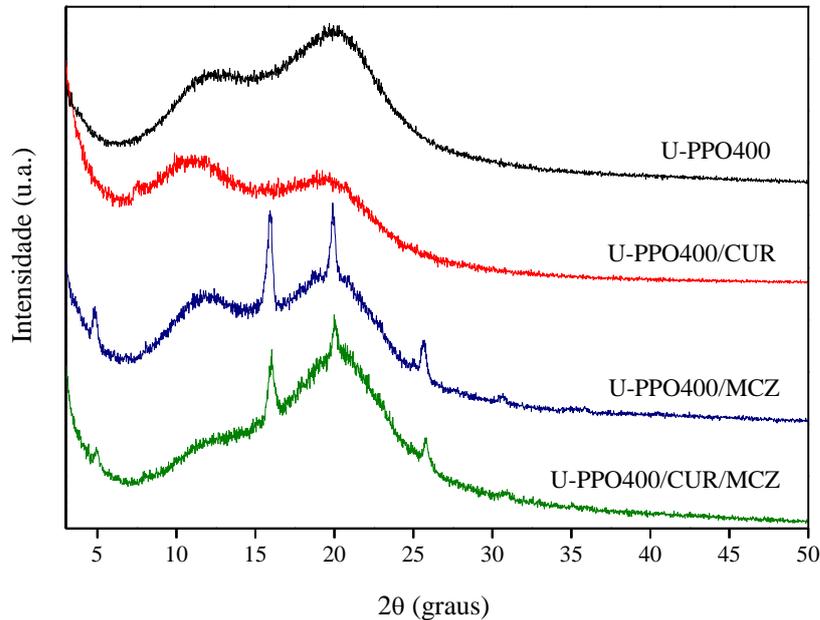
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol.

O difratograma de U-PPO400 (Figura 19, curva preta) também exibiu um caráter amorfo, com o pico Gaussiano largo em $2\theta = 20,05^\circ$, e um ombro visualizado em $12,42^\circ$, relacionado à organização de domínios intra-siloxano no plano (Nunes *et al.*, 2020). Em U-PPO400/CUR, observou-se que, assim como para U-PEO500 incorporado com o ativo, o pico largo do material teve sua intensidade reduzida. Isso pode estar relacionado ao fato da presença da CUR nas matrizes alterar os seus padrões de difração e a visualização dos picos de amorfização característicos dos grupos siloxano.

Na análise dos difratogramas de U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ (Figura 19, curvas azul e verde), os picos de difração do MCZ em $4,98^\circ$; $16,04^\circ$; $19,99^\circ$ e $25,75^\circ$ foram visualizados, aparecendo com menor intensidade no material incorporado com ambos os fármacos. Contudo, os picos largos e bem definidos nas regiões de difração do azol indicam a presença de cristais do fármaco na matriz, sugerindo que nem toda a concentração visivelmente incorporado estava solubilizada no material.

Figura 19 – Difratomogramas de raios de X dos óvulos de U-PPO400, U-PPO400/CUR, U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

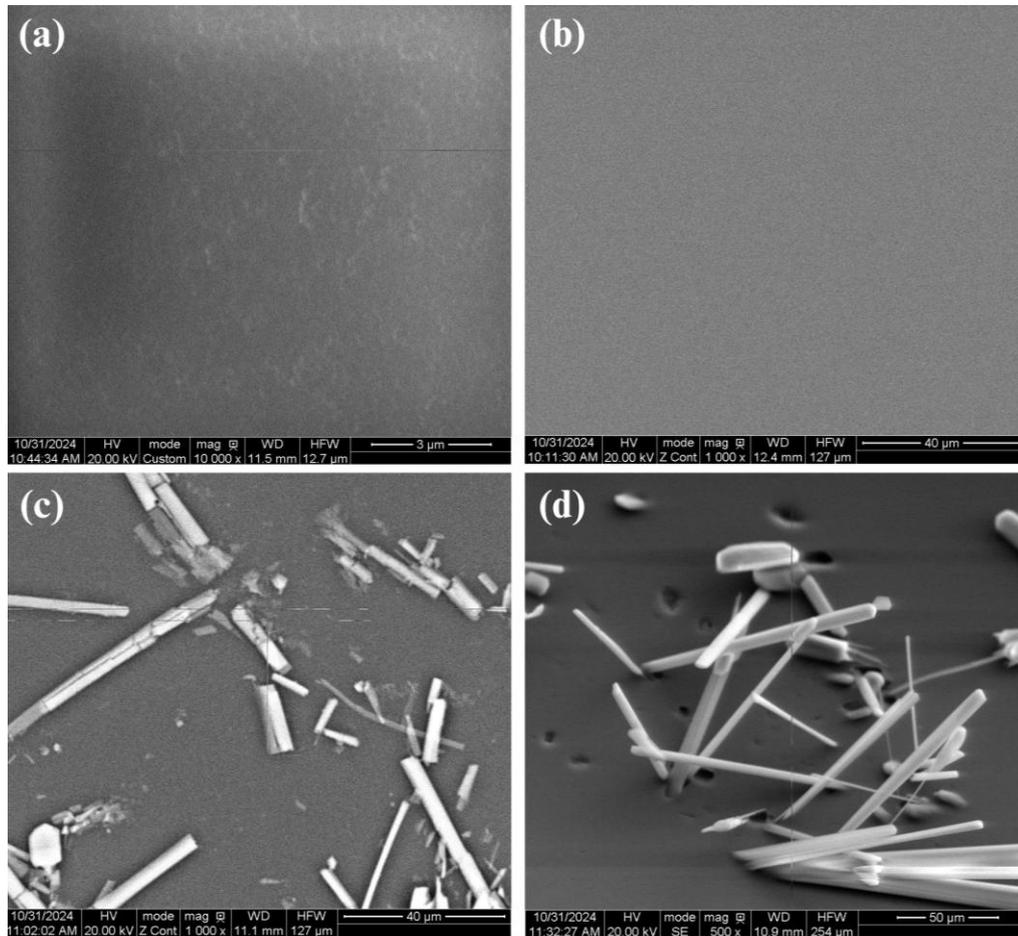
Legenda: U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol.

5.2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que permite investigar a morfologia de superfície de diferentes materiais através da incidência de um feixe de elétrons em na amostra. Esse feixe é varrido através do material analisado e a interação dos elétrons com a matéria gera sinais que são emitidos e coletados por detectores, responsáveis por interpretá-los na forma de imagens de alta resolução (Inkson, 2016). As micrografias de MEV dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e carregados com curcumina e miconazol estão apresentadas nas Figuras 20 e 21.

Na Figura 20a, observou-se que a superfície de U-PEO500 apresentou-se regular e homogênea. Com a incorporação da CUR (Figura 20b), a superfície manteve seu aspecto e não foram observados cristais do fármaco. Contudo, quando o MCZ foi incorporado nos óvulos de U-PEO500/MCZ e U-PEO500/CUR/MCZ (Figura 20c,d), cristais em formato de agulha, com distribuição de tamanho variável entre 10 e 40 μm , foram observados sob a superfície, o que corrobora com os resultados de DRX, que demonstrou picos de cristalinidade de MCZ e sugere a solubilidade incompleta ou a recristalização do agente azol no material.

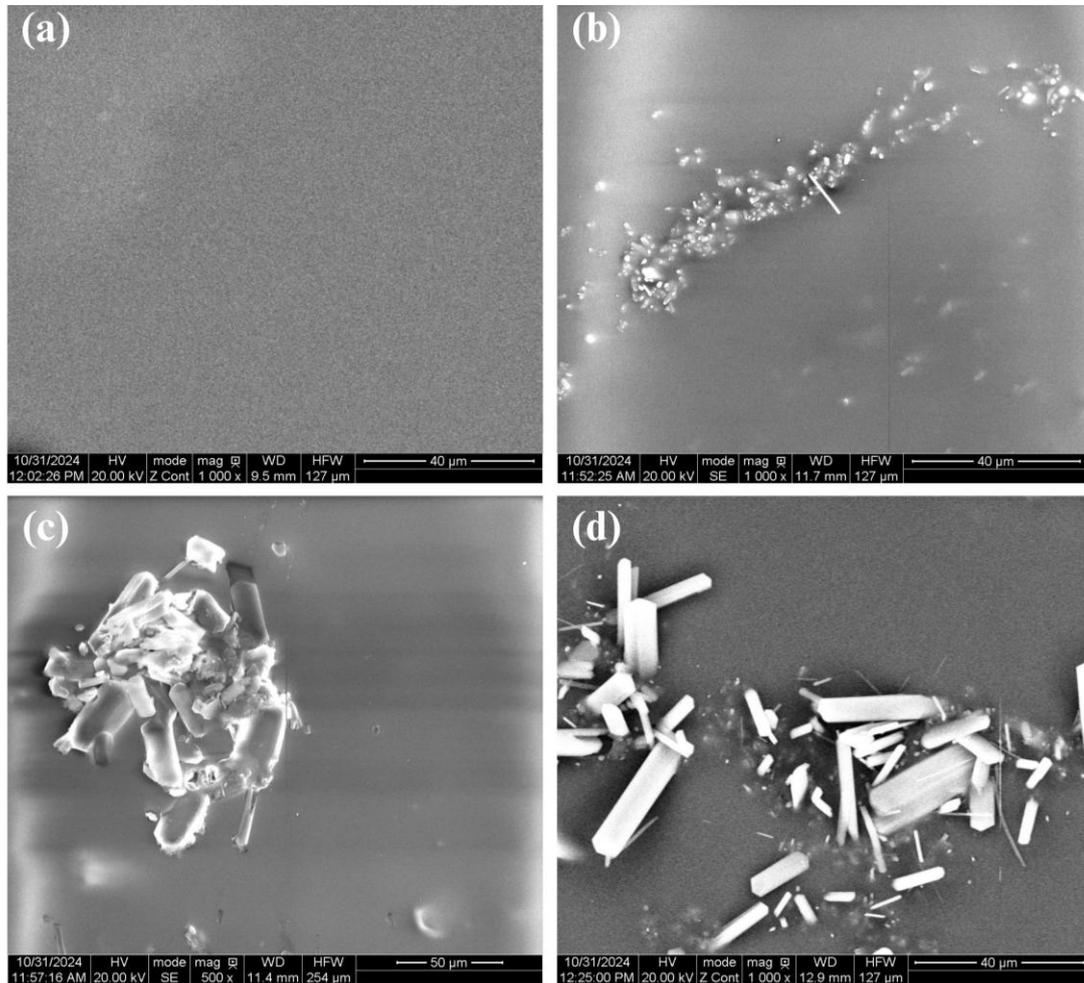
Figura 20 – Micrografias de MEV dos óvulos vaginais de (a) U-PEO500, (b) U-PEO500/CUR, (c) U-PEO500/MCZ e (d) U-PEO500/CUR/MCZ



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Os óvulos de U-PPO400 (Figura 21a), também apresentaram superfície homogênea, lisa e sem poros. Na Figura 21b, embora na análise de DRX não tenham sido visualizados picos que indicassem a presença de cristais em U-PPO400/CUR, esses foram observados em formato variável, mas com distribuição de tamanho homogênea, entre 2 e 8 µm. Em U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ, cristais em forma de agulha foram visualizados sob à superfície e embebidos no material. Na Figura 21d, os cristais mostraram-se alongados e com distribuição de tamanho variável, também compreendida entre 10 e 40 µm. Esses achados confirmam os resultados de DRX, que detectaram picos de cristalinidade dos ativos, especialmente nos óvulos de U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ. Adicionalmente, pode-se inferir que a visualização de cristais agrupados possivelmente está relacionada com uma interação interparticular entre os fármacos, bem como com o próprio material híbrido.

Figura 21 – Micrografias de MEV dos óvulos vaginais de (a) U-PPO400, (b) U-PPO400/CUR, (c) U-PPO400/MCZ e (d) U-PPO400/CUR/MCZ



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

5.3 Ensaio de liberação *in vitro*

Os sistemas de liberação modificada têm atraído interesse da indústria farmacêutica por apresentarem vantagens frente aos esquemas terapêuticos convencionais. O controle da taxa e do período de liberação de um fármaco é vantajoso, pois permite reduzir doses e frequência de administração e favorece o aumento da adesão dos pacientes ao tratamento, ao torná-lo mais cômodo (Das; Prakash, 2021; Davoodi *et al.*, 2018). Os perfis de liberação de MCZ e de CUR a partir dos óvulos híbridos formados por U-PEO500 e U-PPO400 estão expostos nas Figuras 22 e 23.

O perfil de liberação de U-PEO500/MCZ (Figura 22a) mostrou uma liberação inicial de 57,18% em 24 horas, totalizando 69,09% de fármaco liberado em 48 horas. Ao final do experimento, no tempo equivalente a 144 horas, o platô foi alcançado e 94,87% de MCZ foi

liberado da matriz híbrida de U-PEO500. O ajuste da curva de liberação de U-PEO500/MCZ foi realizado frente a diferentes modelos matemáticos e demonstrou melhor relação com o modelo de Korsmeyer-Peppas, definido pela Equação 2, que possuiu o maior coeficiente de regressão (R^2), ao aplicar os primeiros 60% da curva de liberação para a análise estatística.

$$M_t = kt^n \quad (2)$$

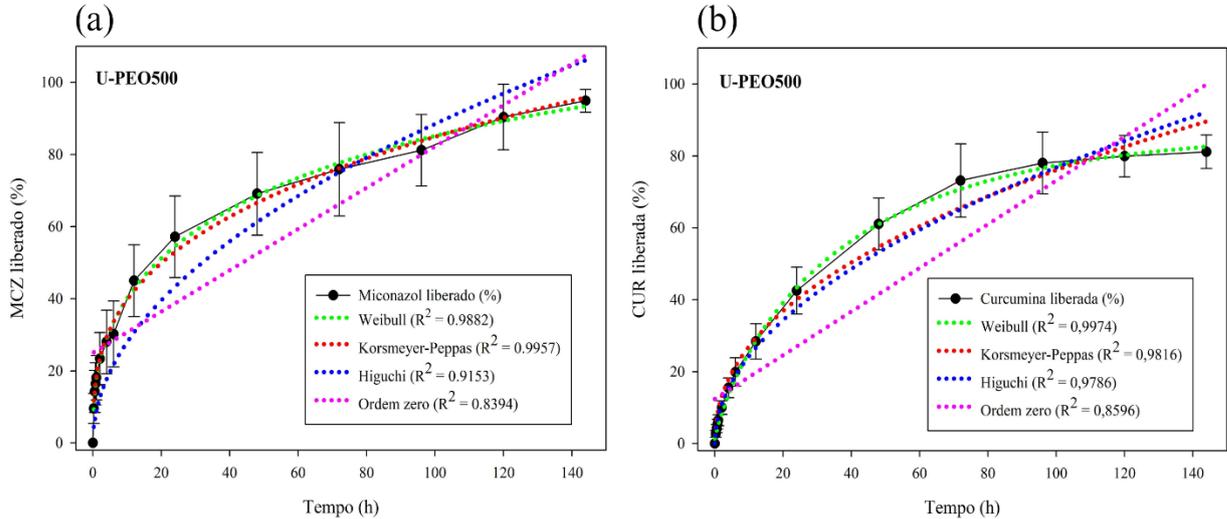
De acordo com essa equação, M_t corresponde ao total de fármaco liberado no tempo t , k é a constante do modelo e n é o expoente relacionado ao mecanismo de transporte do soluto através da matriz polimérica (Askarizadeh *et al.*, 2023). Para os dados de liberação de U-PEO500/MCZ, o valor calculado de n foi igual a 0,3303, que indica que o transporte anômalo, governado principalmente pelo intumescimento da matriz e pela difusão do soluto, está relacionado ao perfil de liberação controlada observado (Korsmeyer *et al.*, 1983).

Na curva de liberação da CUR de U-PEO500 (Figura 22b), observou-se que 42,53% do ingrediente ativo foi liberado nas primeiras 24 horas de ensaio, e que 61,07% de liberação foi alcançada após 48 horas. Decorridas 144 horas, 81,16% de CUR foi liberada dos óvulos de U-PEO500. Ao analisar o ajuste de diferentes modelos matemáticos à curva de U-PEO500/CUR, o modelo de Weibull, representado pela Equação 3, apresentou o maior valor de R^2 e foi definido como o de melhor ajuste.

$$M_t = 1 - \exp(-at^b) \quad (3)$$

Nesse caso, M_t é a quantidade total de fármaco liberada, a e t são constantes, e o expoente b é o parâmetro de forma relacionado ao tipo de curva. Embora o modelo de Weibull não tenha sido estabelecido para definir cinéticas de liberação, o expoente b possui relação linear com o n do modelo de Korsmeyer-Peppas e o seu valor pode indicar o tipo de transporte de liberação. Neste trabalho, o valor de b foi igual a 0,5515, sugerindo que o mecanismo de transporte relacionado ao perfil de liberação observado foi a difusão Fickiana ($b \leq 0,75$), em que o movimento das partículas ocorre a favor do gradiente de concentração (Atiyah; Albayati; Atiya, 2022).

Figura 22 – Curvas de liberação *in vitro* de (a) MCZ, (b) CUR de U-PEO500; ajuste das curvas a diferentes modelos matemáticos: Weibull (curva verde), Korsmeyer-Peppas (curva vermelha), Higuchi (curva azul) e ordem zero (curva rosa)



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; U-PEO500: óvulo vaginal de U-PEO500. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão (DP) (n = 3).

A liberação de ambos os fármacos dos óvulos vaginais de U-PEO500 apresentou um perfil prolongado, com cerca de 42 a 57% de CUR e MCZ liberados em 24 horas e o restante do teor alcançando o meio de dissolução ao final de seis dias. A concentração inicialmente liberada resulta da difusão das moléculas dispostas superficialmente na matriz, enquanto a fração prolongada pode ser consequência da penetração de água no híbrido e da dissolução de partículas dispostas no interior da matriz.

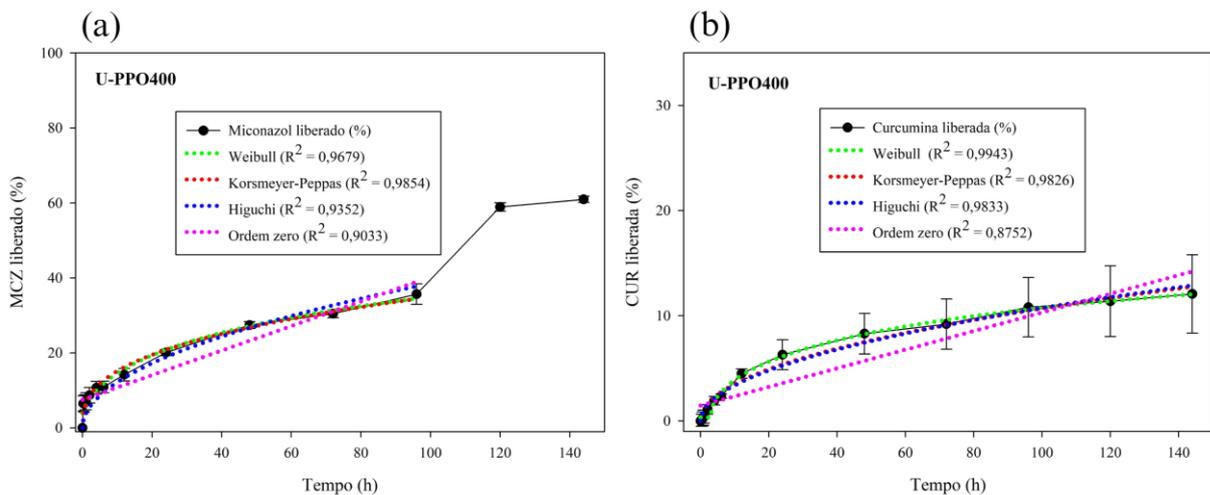
A quantidade de CUR e MCZ que é libertada em 24 horas é importante pois pode promover o alívio dos sintomas causados pela proliferação fúngica, enquanto a manutenção da liberação atua no controle e na erradicação da infecção. Esse perfil pode contribuir para reduzir a frequência de administração da formulação frente aos medicamentos disponíveis para tratar a CVV, que necessitam aplicação diária por um período de sete dias (Workowski; Bachmann, 2022).

Por sua vez, a taxa de liberação de MCZ a partir de U-PPO400 (Figura 23a) mostrou-se consideravelmente menor do que em U-PEO500. Em 24 horas, 20,10% de MCZ foi liberado da matriz e 27,44% de liberação foram alcançados em dois dias. No final do experimento, observou-se um aumento no teor de fármaco no meio, que atingiu 60,95%. Esse crescimento na curva pode ser resultado da liberação e solubilização de cristais de MCZ, que se dissolveram após a hidratação do material híbrido. Analisando o ajuste da curva abaixo de 60% de MCZ

liberado aos modelos matemáticos propostos, o de Korsmeyer-Peppas também mostrou-se o mais adequado, e o valor de n foi calculado em 0,3625, indicando que o fármaco é liberado da matriz por transporte anômalo.

Em relação à CUR (Figura 23b), o perfil de liberação observado foi do tipo sustentado, com 6,30% liberados de U-PPO400 em 24 horas e, após 48 horas, a concentração de ativo no meio de dissolução atingiu 8,30%. Ao término do experimento, 12,06% de CUR haviam sido liberados da matriz híbrida. O modelo de Weibull apresentou maior valor de R^2 para essa curva de liberação e o valor do expoente b , igual a 0,5232, sugere que a difusão do meio para o interior da matriz, seguida da solubilização e difusão do ativo para o meio são os limitantes para a liberação. Nesse caso, a menor taxa de liberação pode estar associada à maior interação e afinidade da CUR pela matriz híbrida, que pode ser visualizada na MEV, com a presença de cristais agrupados em U-PPO400, que tendem a ficar retidos no material, reduzindo o índice de fármaco liberado em relação à U-PEO500.

Figura 23 – Curvas de liberação *in vitro* de (a) MCZ, (b) CUR de U-PPO400; ajuste das curvas a diferentes modelos matemáticos: Weibull (curva verde), Korsmeyer-Peppas (curva vermelha), Higuchi (curva azul) e ordem zero (curva rosa)



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; U-PPO400: óvulo vaginal de U-PPO400. Os resultados estão apresentados como média \pm DP ($n = 3$).

Além disso, a taxa de liberação através da matriz de U-PPO400 é menor e mais lenta do que a de U-PEO500, uma vez que o primeiro híbrido apresenta hidrofília e capacidade de intumescimento reduzidas em relação ao segundo, o que dificulta a entrada de água na matriz e os processos de difusão e de dissolução dos fármacos. Ademais, apesar da massa molecular

de ambos os poliéters utilizados neste trabalho serem comparáveis, o menor valor de massa de U-PPO400 reflete em maior densidade dos nós de reticulação de siloxano no material híbrido final e também resulta em menor mobilidade da porção orgânica e em taxa de hidratação da matriz diminuída (Barros *et al.*, 2022; Santilli *et al.*, 2008).

As propriedades físico-químicas de CUR e MCZ, especialmente sua lipofilia elevada ($\log P > 3$), também são fatores que influenciam as diferenças observadas nos perfis de liberação entre os materiais híbridos. Uma vez que ambos os IFAs apresentam maior afinidade pelo híbrido lipofílico U-PPO400, eles tendem a permanecer retidos em sua matriz, estabelecendo um sistema de liberação termodinamicamente estável, que tende a liberar o fármaco de forma lenta e prolongada, o que foi denotado pela não observação do plateau em ambas as curvas.

Dessa forma, para o tratamento da CVV, os óvulos de U-PEO500/CUR/MCZ mostraram-se adequados por apresentarem um perfil de liberação prolongado com um maior teor de liberação de CUR e MCZ. Do contrário, a liberação limitada dos fármacos através de U-PPO400/CUR/MCZ poderia ser aplicável para um esquema de terapia de manutenção, uma vez que as concentrações de ativos liberadas no período de um tratamento convencional poderiam não ser suficientes para efetivamente eliminar a infecção.

5.4 Ensaios microbiológicos para avaliação da atividade antifúngica

5.4.1 Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIMs) e das concentrações fungicidas mínimas (CFMs) de curcumina e de miconazol

A CVV pode ser causada por diversas espécies do gênero *Candida*, dentre as quais se destacam por ordem de incidência *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kruseii*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. A ocorrência de uma infecção mista causada por duas espécies diferentes também já foi demonstrada (Intra *et al.*, 2022; Jannati *et al.*, 2024). Os dados epidemiológicos apontam para a necessidade de tratamentos que sejam igualmente eficazes para tratar os distintos agentes etiológicos da CVV. Nesse sentido, a atividade antifúngica de CUR e MCZ frente a três linhagens de referência de *Candida* foi determinada pelo método de microdiluição em caldo revelado com resazurina e as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) estão apresentadas na Tabela 3.

As menores concentrações de CUR capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. tropicalis* ATCC 13803 foram 256, 512, >1024 $\mu\text{g/mL}$, e 512 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Na literatura, o mesmo

valor de CIM foi encontrado para a mesma linhagem de *C. albicans* (Xue *et al.*, 2023). Para *Candida* não-*albicans*, o estudo de Narayanan *et al.* (2020) apresentou 500 µg/mL como CIM de *C. glabrata* ATCC 90030, enquanto para a cepa padrão de *C. parapsilosis*, o valor foi igual a 400 µg/mL. Não foram observadas diferenças nas CIMs das triplicatas.

Para o MCZ, as CIMs foram 2,5; 12,5; 2,5 e 1,25 µg/mL, na mesma ordem de linhagens padrão. Como não há valores de referência de atividade para o azol MCZ disponibilizados pelo CLSI, esses dados foram comparados e corroboram com o encontrado na literatura, como no estudo de Arias *et al.* (2020), em que as CIMs de *C. albicans* ATCC 10231 e *C. glabrata* ATCC 90030, foram 1,56 e 3,12-6,25 µg/mL. As maiores CIMs para *C. glabrata* podem ser justificadas pela baixa suscetibilidade intrínseca dessa espécie aos agentes azóis (Whaley; Rogers, 2016).

Tabela 3 – Concentrações inibitórias mínimas de CUR e de MCZ frente a linhagens padrão de *Candida*

Microrganismo teste	Concentração inibitória mínima (µg/mL)	
	CUR	MCZ
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	256	2,5
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	512	12,5
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	> 1024	2,5
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	512	1,25

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; µg/mL: microgramas por mililitro.

A capacidade de inibição do crescimento em meio sólido pelas concentrações de CUR e MCZ testadas também foi avaliada e os valores de concentrações fungicida mínimas (CFMs) estão expostos na Tabela 4. Em *C. albicans* ATCC 10231, as CIMs de CUR e MCZ apresentaram efeito fungicida. No caso de *C. glabrata* ATCC 90030, a CFM de CUR foi o dobro da concentração que inibiu o crescimento na microplaca, igual a 1024 µg/mL, mas a CIM de MCZ também foi eficaz para impedir o crescimento em meio sólido. Em *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. tropicalis* ATCC 13803, as CFMs do azol foram o dobro das CIMs, enquanto as CFMs da CUR não foram determinadas e consideradas maiores que 1024 µg/mL.

Tabela 4 – Concentrações fungicidas mínimas de CUR e de MCZ frente a linhagens padrão de *Candida*

Microrganismo teste	Concentração fungicida mínima (µg/mL)	
	CUR	MCZ
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	256	2,5
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	1024	12,5
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	> 1024	5
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	> 1024	2,5

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; µg/mL: microgramas por mililitro.

5.4.2 Determinação do efeito da associação de curcumina e miconazol

A combinação de dois ou mais fármacos em um esquema terapêutico pode resultar em respostas sinérgica, quando a combinação é mais potente do que os compostos isolados; aditiva, em que o efeito combinado é a soma das respostas individuais; indiferente, quando não há interação; e antagônica, na qual a associação é menos potente do que os fármacos isolados (Fouquier; Guedj, 2016). Neste trabalho, o efeito da interação de CUR e MCZ foi avaliado pelo método de microdiluição *checkerboard* e pelo cálculo do ICIF (Bidaud *et al.*, 2021), e os resultados estão apresentados na Tabela 5.

A combinação de CUR e MCZ apresentou efeito sinérgico frente a linhagem de *C. albicans* ATCC 10231, como um ICIF calculado em 0,375. Observou-se redução de 8 vezes na CIM da CUR, de 256 µg/mL para 32 µg/mL, e de 4 vezes na do MCZ, de 2,5 µg/mL para 0,625 µg/mL, quando os ativos foram associados, o que mostra a potencialização do efeito frente ao uso quando isolados. A mesma resposta foi observada contra *C. parapsilosis* ATCC 22019, com ICIF calculado em 0,265, e demonstrando uma redução na CIM da CUR de > 1024 para 16 µg/mL na combinação com o MCZ, que teve sua CIM reduzida para 0,625 µg/mL. Em *C. tropicalis* ATCC 13803 o sinergismo também foi observado com na CIM da CUR de 512 µg/mL para 8 µg/mL, e do MCZ de 1,25 µg/mL para 0,312 µg/mL, e o valor de ICIF foi calculado em 0,265.

Por sua vez, na linhagem de *C. glabrata* ATCC 90030 a combinação de CUR e MCZ exibiu efeito aditivo, com um valor de ICIF igual a 0,521. Apesar da CIM da CUR ter sido consideravelmente reduzida na associação de 512 para 16 µg/mL, a do MCZ decaiu apenas pela metade, de 12,5 para 6,125 µg/mL. Essa resposta indica que o efeito da combinação resultou

apenas da soma das ações dos ativos individuais, não havendo potencialização como apresentado para as duas linhagens anteriores. O mesmo resultado foi observado em duplicata para todas as cepas testadas.

Tabela 5 – Efeitos da associação entre CUR e MCZ pelo método checkerboard frente a linhagens padrão de *Candida*

Microorganismo teste	Concentração inibitória mínima (µg/mL)				ICIF	Efeito
	CUR		MCZ			
	Isolada	Combinada	Isolado	Combinado		
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	256	32	2,5	0,625	0,375	Sinérgico
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	512	16	12,5	6,125	0,521	Aditivo
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	> 1024	16	2,5	0,625	0,265	Sinérgico
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	512	8	1,25	0,312	0,265	Sinérgico

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; µg/mL: microgramas por mililitro; ICIF: Índice de Concentração Inibitória Fracionada.

O efeito sinérgico entre CUR e agentes azóis, incluindo o MCZ, foi previamente demonstrado *in vitro* frente a *C. albicans* e está relacionado a geração de EROs, o principal mecanismo de ação antifúngica do polifenol e um mecanismo secundário relacionado à atividade farmacológica do MCZ. Esse agente azol, além de inibir a biossíntese do ergosterol, é o único da classe que apresenta um efeito fungicida por geração de EROs. Através desse mecanismo, a associação de CUR e MCZ resulta em apoptose das células fúngicas e em dano celular em concentrações menores do que quando os fármacos são usados isoladamente (Lam *et al.*, 2022; Sharma *et al.*, 2010b).

Em relação as espécies de CNA, a combinação de fármacos aprovados para uso clínico, como o fluconazol e a anfotericina B, com a CUR, também mostrou-se positiva para potencializar os efeitos dos agentes isolados. Em isolados clínicos de *C. parapsilosis* e *C. glabrata*, a interação de CUR e fluconazol exibiu efeito sinérgico *in vitro* e atividade fungicida mais pronunciada do que quando os fármacos foram analisados de forma isolada (Tsao; Yin, 2000). Em estudos clínicos, o benefício da terapia combinada em infecções graves causadas por

CNA foi demonstrado pela melhora do quadro clínico de pacientes com endocardite de válvula protésica causada por *C. parapsilosis* após administração de azóis e equinocandinas (Guo *et al.*, 2021).

A melhora clínica relacionada ao desaparecimento dos sintomas e a cultura negativa de um quadro de CVV causado por *C. glabrata* resistente ao tratamento com azóis e nistatina também foi registrada na literatura após a administração tópica de um gel contendo uma associação de flucitosina e anfotericina B por 14 noites (Shann; Wilson, 2003). Esses resultados apontam para o potencial da terapia combinada no desenvolvimento de novos tratamentos direcionados para a resolução de infecções causadas não somente por *C. albicans*, como também por cepas CNA, que apresentam um perfil de suscetibilidade variável capaz de comprometer o uso de agentes antifúngicos convencionais em monoterapia (Brescini *et al.*, 2020).

A terapia combinada com fármacos sinérgicos também apresenta benefícios na redução do surgimento de resistência a fármacos convencionais. Estudos prévios demonstraram que a CUR é capaz de inibir bombas de efluxo, chamadas transportadores ABC, responsáveis pela expulsão de agentes azóis da célula fúngica em *C. albicans* (Sharma *et al.*, 2009). Contudo, alguns autores sugerem que enquanto o uso de agentes sinérgicos pode aumentar a taxa de morte microbiana em relação aos compostos isolados, o risco do surgimento de cepas multirresistentes também deve ser levado em consideração (Torella; Chait; Kishony, 2010).

De maneira geral, a associação de um ou mais agentes com atividade antimicrobiana que atuam por mecanismos de ação distintos ou similares é uma estratégia empregada há mais de 70 anos para o tratamento de infecções como a tuberculose e HIV/AIDS, e baseia-se na potencialização das respostas dos ativos isolados e, conseqüentemente, no aumento do efeito microbicida, no espectro do antibiótico e na redução de doses e de efeitos adversos indesejados. Assim, é uma estratégia que permite aumentar a eficácia clínica e a segurança da terapia, enquanto possibilita a reformulação de ingredientes ativos disponíveis para uso clínico e acelera a aprovação de novos tratamentos (Sullivan *et al.*, 2020; Twarog; Connelly; Shelat, 2020).

5.4.3 Avaliação da atividade antifúngica dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 por difusão em ágar

A análise da atividade de formas farmacêuticas sólidas e do efeito da interação de fármacos também pode ser realizada *in vitro* em meios de cultura sólido, ensaio conhecido por difusão em ágar. Neste trabalho, esse teste foi realizado para verificar a ocorrência de efeito

antifúngico dos materiais híbridos puros e se estes interferiam com a atividade de CUR ou MCZ, bem como para avaliar o efeito antifúngico das formulações finais dos óvulos incorporados com os ativos. Os resultados foram expressos em zona de inibição em milímetros (mm) e estão apresentados nas Tabela 6 e 7 e nas Figuras 24–31.

Tabela 6 – Zonas de inibição dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e MCZ em linhagens padrão de *C. albicans* e *C. parapsilosis*

Amostra	Zonas de inibição (mm)			
	<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	
	Sem PBS	Com PBS	Sem PBS	Com PBS
U-PEO500/CUR	2,25 ± 0,86	15,00 ± 5,77	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
U-PEO500/MCZ	22,50 ± 2,88	29,50 ± 0,57	26,50 ± 0,57	28,50 ± 1,73
U-PEO500/CUR/MCZ	18,50 ± 0,57	24,50 ± 2,88	24,50 ± 0,57	26,50 ± 2,88
U-PPO400/CUR	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
U-PPO400/MCZ	9,50 ± 0,57	12,00 ± 3,46	16,50 ± 0,57	17,50 ± 0,57
U-PPO400/CUR/MCZ	17,00 ± 1,15	11,50 ± 0,57	21,00 ± 1,15	19,50 ± 0,57

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; mm: milímetros; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média ± DP (n = 3).

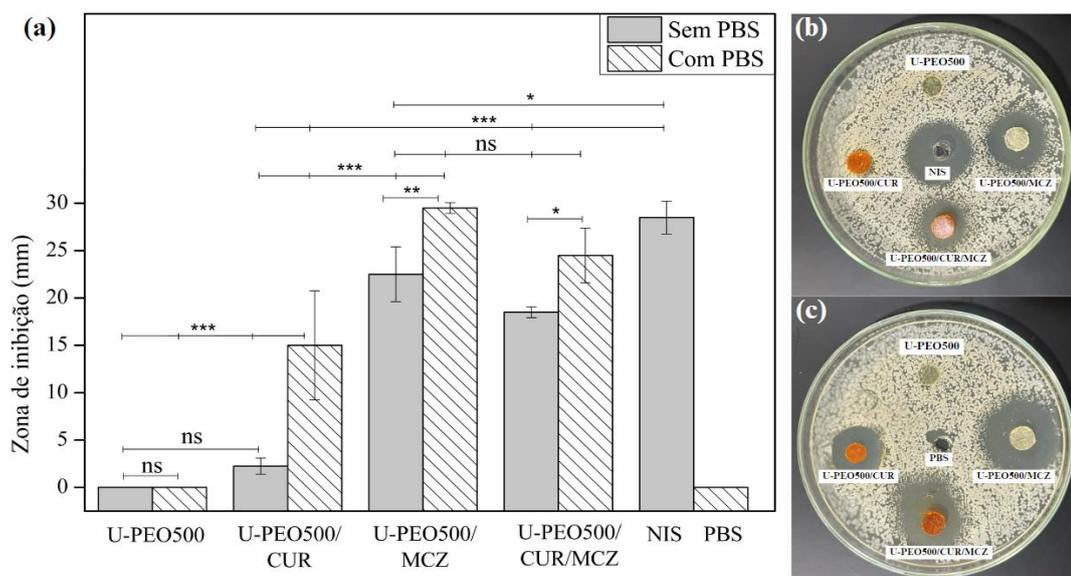
Em todos os grupos e cepas de *Candida* analisadas, os fragmentos dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos não apresentaram zonas de inibição e, portanto, não possuem atividade antifúngica capaz de interferir com o efeito dos fármacos incorporados. Há poucos dados disponíveis na literatura a respeito de ensaios antimicrobianos conduzidos com materiais híbridos ureasil-poliéter, apenas um estudo em meio líquido com filmes produzidos com copolímero tribloco de ureasil/PPO-PEO-PPO que não exibiram atividade contra a bactéria *Escherichia coli* (Mariano *et al.*, 2021). Isso pode sustentar a afirmação de que os sistemas híbridos dessa classe não apresentem efeito antimicrobiano inerente quando em sua forma final de gel.

Por sua vez, nos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 incorporados com CUR e/ou MCZ, halos de inibição de tamanhos variados foram observadas, indicando a atividade dos fármacos. Contra *C. albicans* ATCC 10231 (Figura 24), em U-PEO/CUR a zona de inibição foi 2,25 mm ± 0,86 mm e não exibiu diferença estatística com U-PEO branco. Isso indica que, dada a sua

natureza hidrofóbica, a liberação da CUR para o meio ágar hidrofílico é difícil e a atividade antifúngica é reduzida. Após a aplicação de PBS, a difusão do polifenol para o meio foi melhorada e o halo de inibição mediu $15,00 \text{ mm} \pm 5,77 \text{ mm}$.

Ainda em relação à mesma cepa, os óvulos de U-PEO500/MCZ (Figura 24) apresentaram halos de inibição consideráveis sem e com a aplicação de PBS, iguais a $22,5 \text{ mm} \pm 2,88 \text{ mm}$ e $29,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$, respectivamente. Quando ambos os ativos foram incorporados, em U-PEO500/CUR/MCZ (Figura 24), foram observadas zonas de inibição de $18,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$ e $24,50 \text{ mm} \pm 2,88 \text{ mm}$, antes e após a deposição de PBS, nesta ordem. Os grupos nos quais o tampão foi aplicado demonstraram atividade antifúngica comparável a da nistatina, que exibiu inibição medida em $28,5 \text{ mm} \pm 1,73 \text{ mm}$, sem diferença estatística.

Figura 24 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. albicans* ATCC 10231: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS



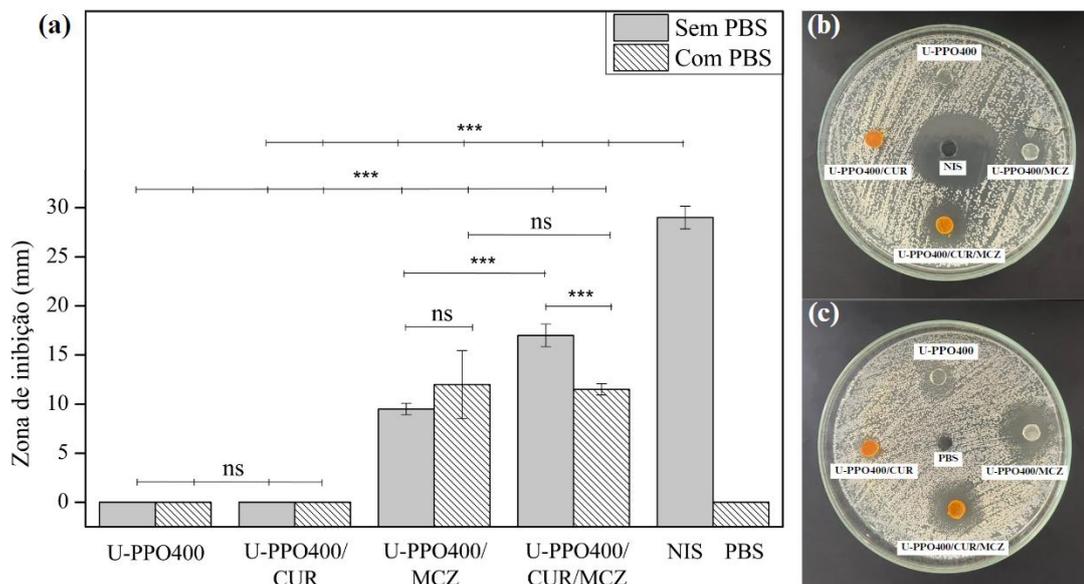
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

Todavia, nos óvulos de U-PPO400 (Figura 25) foram observados halos de inibição reduzidos. O grupo U-PPO400/CUR não apresentou efeito contra *C. albicans* ATCC 10231 e isso pode estar relacionado a sua liberação insuficiente da matriz para o meio de cultura. Do mesmo modo, U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ apresentaram halos de atividade menores sem e com a aplicação de PBS, iguais a $9,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$ e $12,00 \text{ mm} \pm 3,46 \text{ mm}$,

e 17,00 mm \pm 1,15 mm e 11,50 mm \pm 0,57 mm, nesta ordem. Esses dados corroboram com o estudo de liberação *in vitro* que demonstrou uma menor taxa de liberação de ambos os fármacos da matriz hidrofóbica de menor massa molecular. O efeito da nistatina foi medido em 29,00 mm \pm 1,15 mm e mostrou-se significativamente maior do que a dos óvulos testados neste grupo.

Figura 25 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. albicans* ATCC 10231: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS

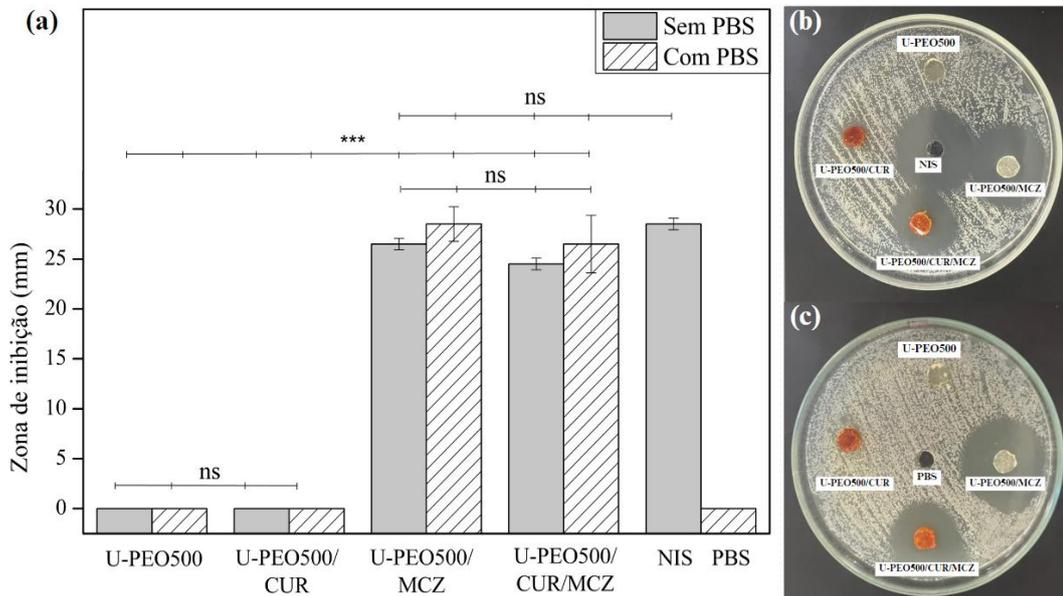


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

Em *C. parapsilosis* ATCC 22019, como exposto na Figura 26, U-PEO500/CUR não apresentou atividade antifúngica e nenhum halo de inibição foi observado nos grupos avaliados. Por outro lado, U-PEO/MCZ apresentou atividade medida em 26,50 mm \pm 0,57 mm e 28,50 mm \pm 1,73 mm, nos grupos sem e com PBS, respectivamente. Nos óvulos de U-PEO500/CUR/MCZ, halos de inibição iguais a 24,50 mm \pm 0,57 mm e 26,50 mm \pm 2,88 mm foram medidos antes e após a aplicação do fluido tamponante. Esses grupos não apresentaram diferença significativa entre si e nem com a nistatina, que apresentou zona de inibição de 28,50 mm \pm 0,57 mm.

Figura 26 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. parapsilosis* ATCC 22019: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS

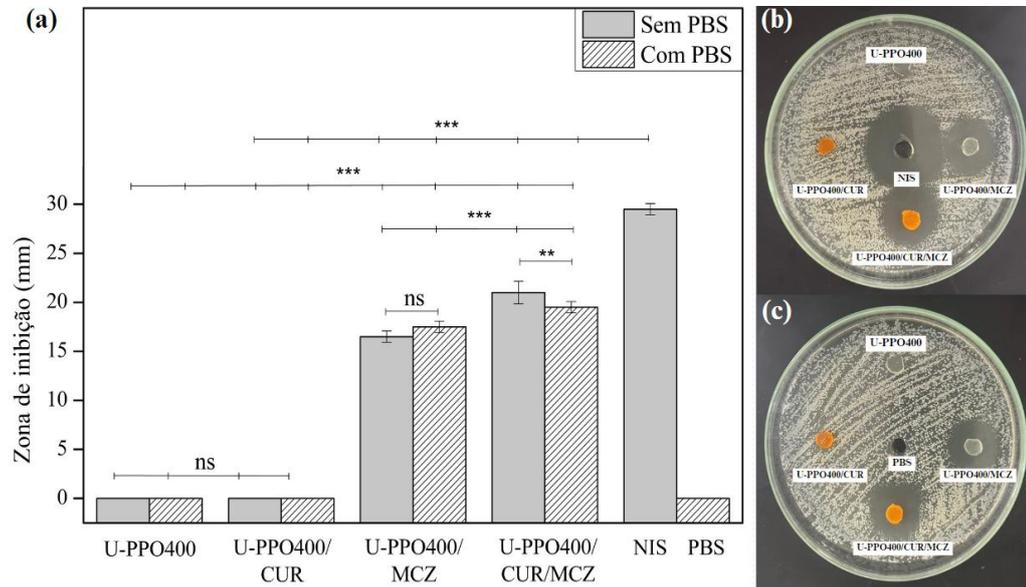


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

Os halos de inibição observados nos óvulos de U-PPO400 em *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram consideravelmente menores, como mostrado na Figura 27. Enquanto U-PPO400/CUR não apresentou halos de inibição, os de U-PPO400/MCZ foram medidos em $16,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$ e $17,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$, sem e com deposição de PBS. A atividade de U-PPO400/CUR/MCZ foi medida em $21,00 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ sem tampão fosfato, e em $19,50 \text{ mm} \pm 0,57$ com o PBS, apresentando diferença estatística entre si e com os óvulos contendo apenas o MCZ. Mais uma vez, devido a menor liberação dos fármacos pela matriz hidrofóbica, o efeito das formulações foi estatisticamente diferente do da nistatina, que exibiu zonas de inibição medindo $29,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$.

Figura 27 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. parapsilosis* ATCC 22019: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

Na Tabela 7 e nas Figura 28-31, a atividade dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 e seus respectivos halos de inibição em *C. glabrata* ATCC 90030 e em *C. tropicalis* ATCC 13803 está demonstrada.

Apesar do sinergismo entre CUR e MCZ não ter sido observado em *C. glabrata* ATCC 90030, o efeito antifúngico no meio sólido foi evidenciado após o tratamento com os óvulos. Analisando a Figura 28, nota-se que novamente não foram observados halos para U-PEO500 e U-PEO500/CUR. Em U-PEO500/MCZ, o halo médio foi medido em $31,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$ sem PBS e aumentou $0,5 \text{ mm}$ após a aplicação do tampão. Em U-PEO500/CUR/MCZ, os halos foram observados com $29,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$ e $31,50 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ sem e com PBS, respectivamente. Com a maior liberação dos ativos provocada pelo PBS esses dois últimos grupos apresentaram atividade estatisticamente maior que a da nistatina, que exibiu halo médio com $27,50 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$.

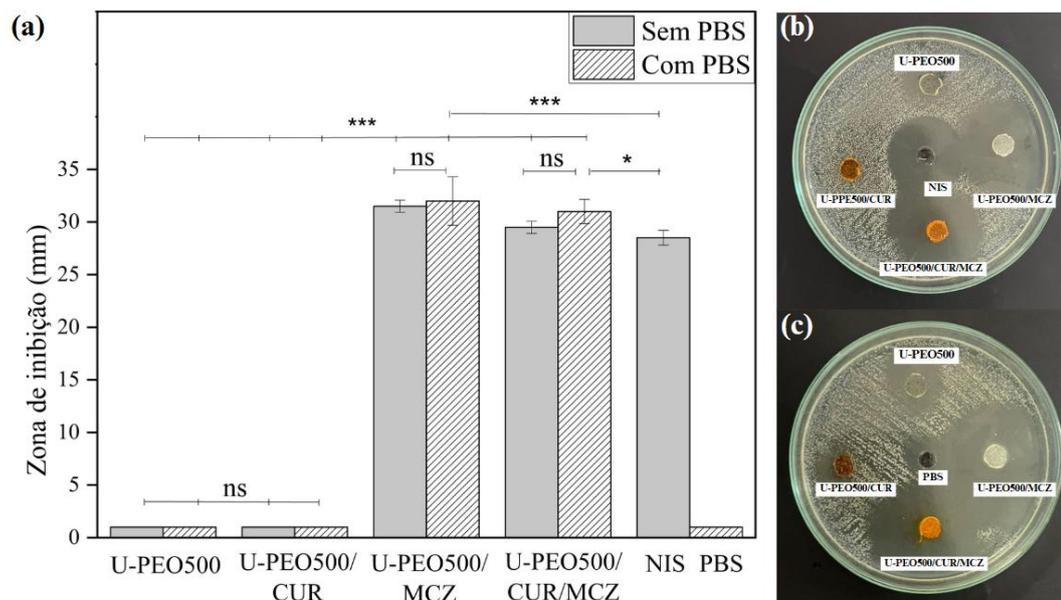
Tabela 7 – Zonas de inibição dos óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e MCZ em linhagens padrão de *C. glabrata* e *C. tropicalis*

Amostra	Zonas de inibição (mm)			
	<i>C. glabrata</i> ATCC 90030		<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	
	Sem PBS	Com PBS	Sem PBS	Com PBS
U-PEO500/CUR	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
U-PEO500/MCZ	31,50 ± 0,57	32,00 ± 2,31	27,50 ± 0,57	29,50 ± 0,57
U-PEO500/CUR/MCZ	29,50 ± 0,57	31,50 ± 1,15	28,00 ± 2,31	31,00 ± 1,15
U-PPO400/CUR	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
U-PPO400/MCZ	23,00 ± 1,15	26,50 ± 1,73	18,00 ± 1,15	21,00 ± 1,15
U-PPO400/CUR/MCZ	21,00 ± 1,15	23,50 ± 1,15	12,00 ± 2,31	16,00 ± 1,15

Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; mm: milímetros; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média ± DP (n = 3).

Figura 28 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. glabrata* ATCC 90030: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS

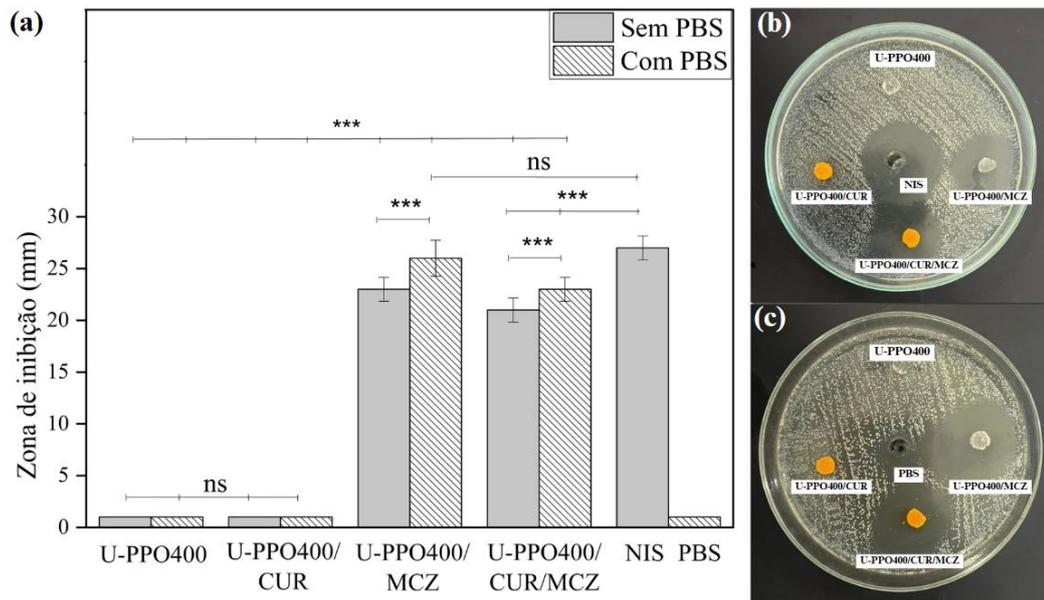


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média ± DP (n = 3). * p < 0,05; *** p < 0,001; ns: sem diferença significativa.

Ao testar os óvulos de U-PPO400 em *C. glabrata* ATCC 90030 (Figura 29), observou-se halos medindo $23,00 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ e $26,50 \text{ mm} \pm 1,73 \text{ mm}$ em U-PPO400/MCZ antes e após a aplicação do PBS, nesta ordem. Nos óvulos carregados com ambos os ativos, as zonas de inibição foram medidas em $21,00 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ e $23,50 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ sem e com a aplicação do tampão. Apesar desses grupos terem apresentado efeito antifúngico menor em relação à nistatina, os halos de inibição foram maiores do que aqueles visualizados para *C. albicans* e *C. parapsilosis*.

Figura 29 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. glabrata* ATCC 90030: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS

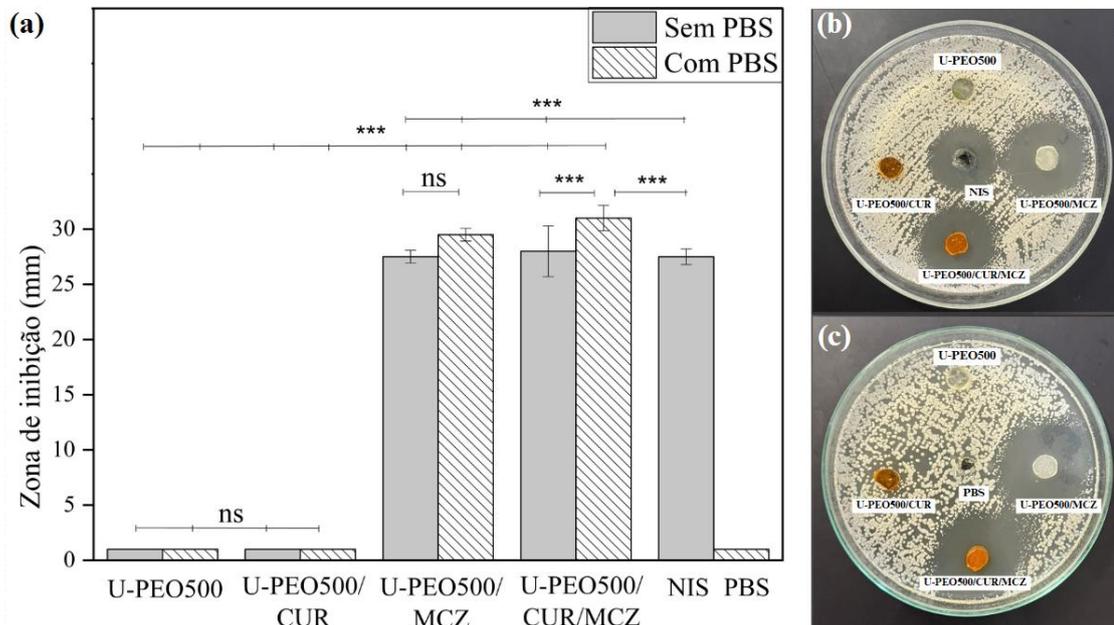


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

O efeito dos óvulos de U-PEO500 em *C. tropicalis* ATCC 13803 está exibido na Figura 30. O material híbrido puro e aquele contendo apenas CUR não exibiram atividade. Os halos de U-PEO500 contendo MCZ foram medidos em $27,50 \text{ mm} \pm 0,57$ sem o PBS, e um aumento de 2 mm foi observado após a aplicação do tampão, que pode ter aumentado a liberação do azol da matriz. Em U-PEO500/CUR/MCZ um comportamento semelhante foi observado com zonas de inibição visualizadas com $28,00 \text{ mm} \pm 2,31 \text{ mm}$ e $31,00 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ antes e após a deposição do PBS. Ambos os grupos apresentaram halos significativamente maiores que o da nistatina, expresso em $27,50 \text{ mm} \pm 0,70 \text{ mm}$.

Figura 30 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PEO500 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. tropicalis* ATCC 13803: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição de PBS

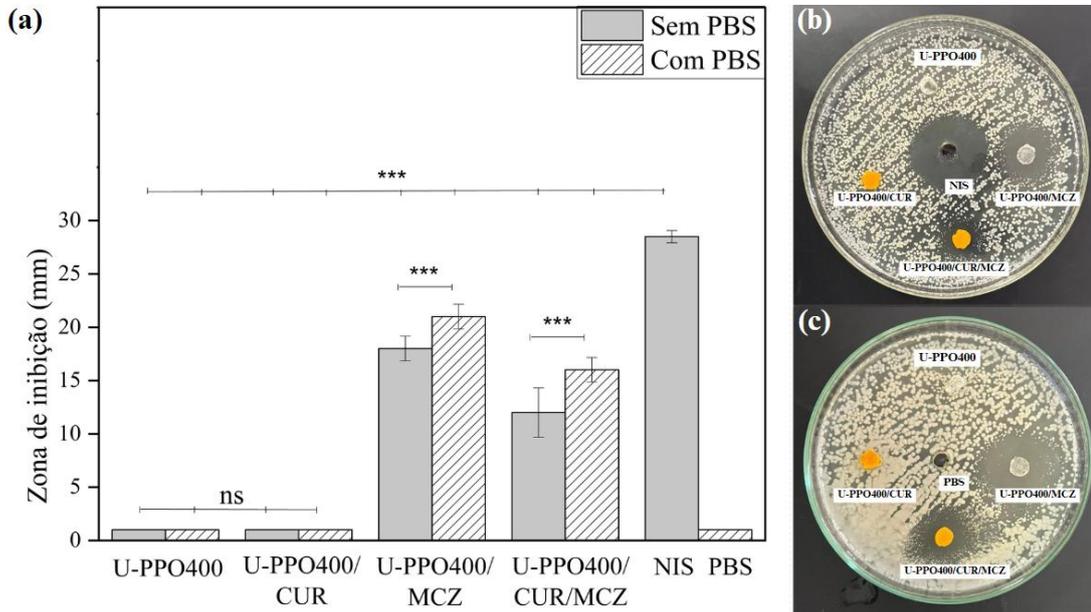


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PEO500: Óvulo vaginal de U-PEO500 branco; U-PEO500/CUR: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina; U-PEO500/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com miconazol; U-PEO500/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PEO500 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

Por sua vez, conforme observado anteriormente, o efeito antifúngico de U-PPO400/MCZ e U-PPO400/CUR/MCZ foi menor, com inibição medida em $18,00 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$ e $12,00 \text{ mm} \pm 2,31 \text{ mm}$, respectivamente para os grupos sem PBS. Após a deposição da solução tamponante, os halos aumentaram 3 mm e 4 mm, nesta ordem, mas os valores ainda apresentaram-se estatisticamente menores em relação ao fármaco controle, que apresentou inibição medida em $28,50 \text{ mm} \pm 0,70 \text{ mm}$.

Figura 31 – Ensaio de difusão em ágar com óvulos de U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e/ou MCZ contra *C. tropicalis* ATCC 13803: (a) análise estatística; (b) grupos sem deposição de PBS; (c) grupos com deposição



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: PBS: Tampão fosfato pH 7,3; NIS: Nistatina; mm: milímetros; U-PPO400: Óvulo vaginal de U-PPO400 branco; U-PPO400/CUR: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina; U-PPO400/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com miconazol; U-PPO400/CUR/MCZ: Óvulo vaginal de U-PPO400 com curcumina e miconazol. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0,001$; ns: sem diferença significativa.

De acordo com a norma M44 do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018), a suscetibilidade antifúngica pode ser interpretada com o tamanho da zona de inibição. A sensibilidade é caracterizada por halos medindo 20 mm ou mais, enquanto zonas de tamanho entre 15 e 19 mm sugerem suscetibilidade dose-dependente ou intermediária. Uma inibição medida em 14 mm aponta para resistência da cepa ao agente antimicrobiano.

Neste trabalho, podem ser apotandos como sensíveis os grupos U-PEO500/CUR com PBS, U-PEO500/MCZ e U-PEO500/CUR/MCZ sem e com PBS contra *C. albicans* ATCC 10231, enquanto para *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. tropicalis* ATCC 13803, os grupos U-PEO500/MCZ e U-PEO500/CUR/MCZ com e sem PBS, e U-PPO400/CUR/MCZ, registraram halos característicos de sensibilidade. Todavia, a interpretação das zonas de inibição dos demais grupos em suscetibilidade intermediária ou resistente não está relacionada a ausência de atividade ou a resistência, mas sim a baixa taxa de difusão dos fármacos hidrofóbicos para o meio de cultura sólido hidrofílico.

A literatura aponta que o antifúngico MCZ, é tão eficaz quanto a nistatina para inibir o crescimento fúngico e é clinicamente superior no que diz respeito a taxa de cura, menos efeitos adversos, tempo de tratamento reduzido e menor risco de recorrência da infecção. A

superioridade do MCZ também foi demonstrada para agentes da mesma classe, como o clotrimazol, que exibe uma menor índice de cura e maior risco de relapso da infecção (Gamil *et al.*, 2024; Marquez; Reyes, 2022).

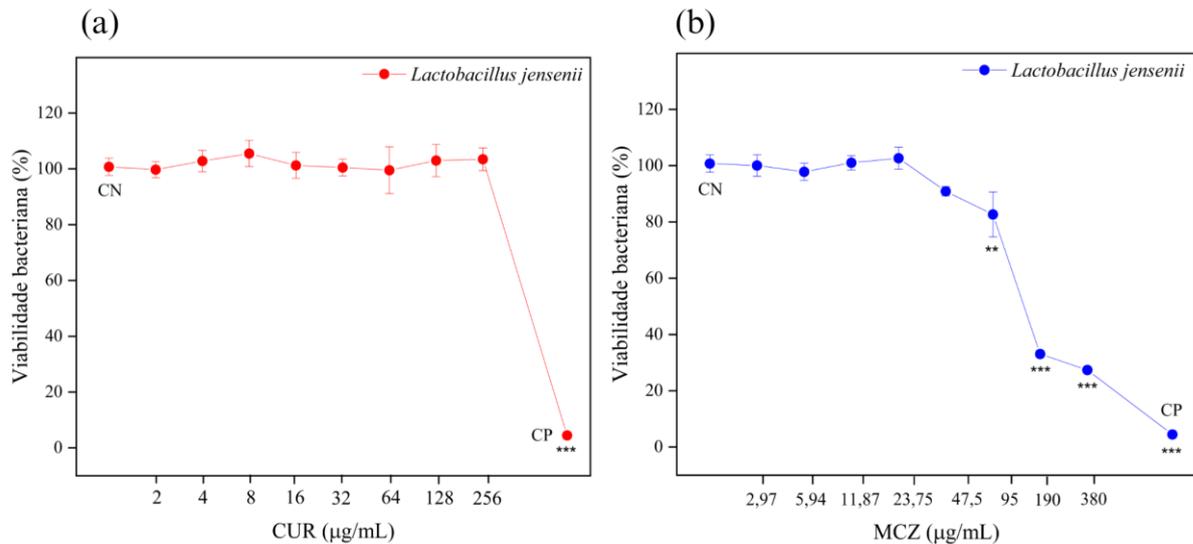
A eficácia clínica do MCZ ainda pode ser incrementada com o sinergismo com a CUR, que atua por mecanismos comuns e por outros que são complementares, como ao inibir o desenvolvimento de hifas e de biofilmes e ao alterar a permeabilidade da membrana fúngica (Lee *et al.*, 2022). Dessa forma, a associação de ambos os ativos em uma formulação de liberação modificada a base de ureasil-poliéter pode contribuir positivamente para o desenvolvimento de um novo tratamento para a CVV, com o potencial de promover maior eficácia clínica, maior segurança as pacientes e melhores resultados pós-tratamento.

5.5 Determinação do efeito de CUR, MCZ e dos óvulos vaginais híbridos em *Lactobacillus* do trato genital feminino

No desenvolvimento de formulações vaginais para o tratamento de infecções locais, é imprescindível garantir que os antimicrobianos utilizados e os excipientes da forma de dosagem não causem disbiose vaginal, que é caracterizada por uma alteração no microbioma local que reduz a população de *Lactobacillus* e, conseqüentemente, o nível de proteção contra patógenos, aumentando o risco de inflamação e da ocorrência de vaginoses bacterianas, de infecções do trato urinário e sexualmente transmissíveis. Na presença de disbiose, o próprio tratamento da CVV pode ser impactado, dada a necessidade de prolongar a terapia e associá-la ao uso de agentes probióticos que contribuam para a recuperação dos *Lactobacillus* da microbiota vaginal (France *et al.*, 2022; Saraf *et al.*, 2021; Van De Wijgert, 2017).

Neste trabalho, a influência de CUR, MCZ e dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e com ambos os ativos em um dos microrganismos da microbiota vaginal, *L. jensenii* ATCC 55920, foi investigada, e os resultados estão expostos nas Figuras 32 e 33.

Figura 32 – Efeito de diferentes concentrações de (a) CUR e (b) MCZ na viabilidade de *L. jensenii* ATCC 55920



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: µg/mL: microgramas por mililitro; CUR: curcumina; MCZ: miconazol; CN: controle negativo; CP: controle positivo (penicilina/estreptomicina 100 µg/mL). Os resultados estão expressos em média ± DP (n = 3). ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ versus controle negativo.

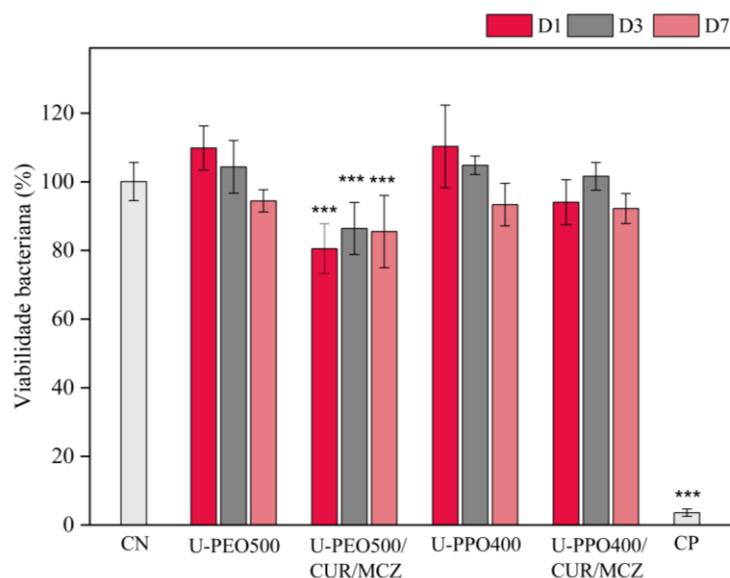
Analisando a Figura 32a, é possível denotar que 256 µg/mL de CUR, cerca de quatro vezes a concentração liberada dos óvulos de U-PEO500 nas primeiras 24 horas não exibiu toxicidade em *L. jensenii*. Da mesma forma, a quantidade de CUR liberada de U-PPO400 no primeiro dia de liberação, cerca de 10 µg/mL, também não reduziu a viabilidade da bactéria testada. Por outro lado, na Figura 32b, observa-se que concentrações de MCZ acima de 95 µg/mL reduziram significativamente a viabilidade bacteriana em comparação ao controle negativo, e a IC_{50} , dose necessária para inibir 50% do crescimento, foi calculada em 142 µg/mL. As concentrações de MCZ liberadas de U-PEO500 e de U-PPO400 em 24 horas, aproximadamente 380 µg/mL e 135 µg/mL, impactam, portanto, o crescimento de um dos microrganismos componentes da microbiota vaginal.

Um efeito semelhante do MCZ em linhagens de *L. jensenii*, *L. crispatus* e *L. gasseri* obtidas da coleção BCCM/LMG foi observado em um estudo na literatura. Concentrações doazol maiores que 4 µg/mL foram capazes de inibir o crescimento das três espécies. Além disso, o tratamento de *L. crispatus* com uma solução salina em que a forma de supositório do MCZ foi dissolvida demonstrou inibição do crescimento dessa espécie (Neut *et al.*, 2015). Isso sugere que o uso do MCZ em concentrações convencionalmente administradas pode ser prejudicial para o equilíbrio da microbiota vaginal e pode causar certo grau de disbiose.

O efeito dos óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 após 1, 3 e 7 dias nos meios de eluição no crescimento de *L. jensenii* também foi avaliado e está demonstrado na Figura 33. Os óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 não afetaram significativamente o crescimento bacteriano em relação ao controle negativo, e os valores de viabilidade bacteriana apresentados foram superiores a 94% em ambos os casos. Assim, fica demonstrada a biocompatibilidade dos materiais híbridos ureasil-poliéster com *Lactobacillus* que compõem a microbiota vaginal e aponta-se que o uso destes como bases para formas farmacêuticas vaginais não necessariamente provoca disbiose ou desequilíbrio no microambiente vaginal.

Em U-PEO500/CUR/MCZ (Figura 33), foi observado um impacto no crescimento de *L. jensenii* nos três tempos de tratamento e a viabilidade foi reduzida para valores entre $80,53\% \pm 7,21\%$ e $86,40\% \pm 7,58\%$. Esse resultado está relacionado a maior taxa de liberação dos fármacos desta matriz e, conseqüentemente, a maior concentração de MCZ nos meios de eluição, que apresenta efeito negativo no crescimento bacteriano, conforme observado anteriormente. Por outro lado, devido à menor concentração de CUR e MCZ que é liberada de U-PPO400/CUR/MCZ, esse grupo não apresentou diferença significativa em relação ao controle negativo e foram observados valores de viabilidade bacteriana entre $92,23\% \pm 4,37\%$ e $100,61\% \pm 4,03\%$.

Figura 33 – Avaliação da biocompatibilidade dos óvulos vaginais de U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ com *L. jensenii* ATCC 55920



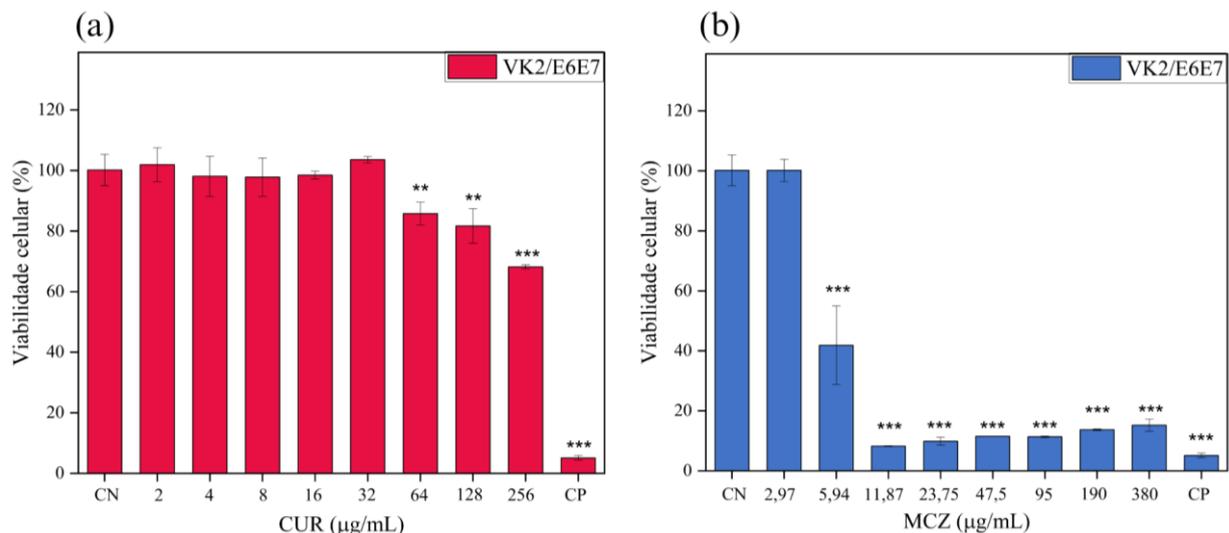
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CN: controle negativo; CP: controle positivo (penicilina/estreptomicina 100 µg/mL); D1: dia 1; D3: dia 3; D7: dia 7. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0.001$ versus controle negativo.

5.6 Estudos de citotoxicidade em células epiteliais vaginais VK2/E6E7

Um atributo fundamental para produtos farmacêuticos desenvolvidos para serem administrados por via vaginal é a baixa toxicidade e baixa tendência a causar irritação no tecido e nas células epiteliais locais, assim como na mucosa vaginal (Johal *et al.*, 2016). Nesse sentido, modelos de células *in vitro* são frequentemente utilizados para avaliar o efeito de fármacos e excipientes de uma formulação na viabilidade de células relacionadas ao trato genital feminino (Shapiro *et al.*, 2022). A citotoxicidade de diferentes concentrações de CUR e MCZ, e de U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ em células epiteliais vaginais VK2/E6E7 está demonstrada nas Figuras 34 e 35.

Figura 34 – Impacto de diferentes concentrações de (a) CUR e de (b) MCZ na viabilidade celular de VK2/E6E7



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CUR: curcumina; MCZ: miconazol; CN: controle negativo; CP: controle positivo (Acrilamida 1M). Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ versus controle negativo.

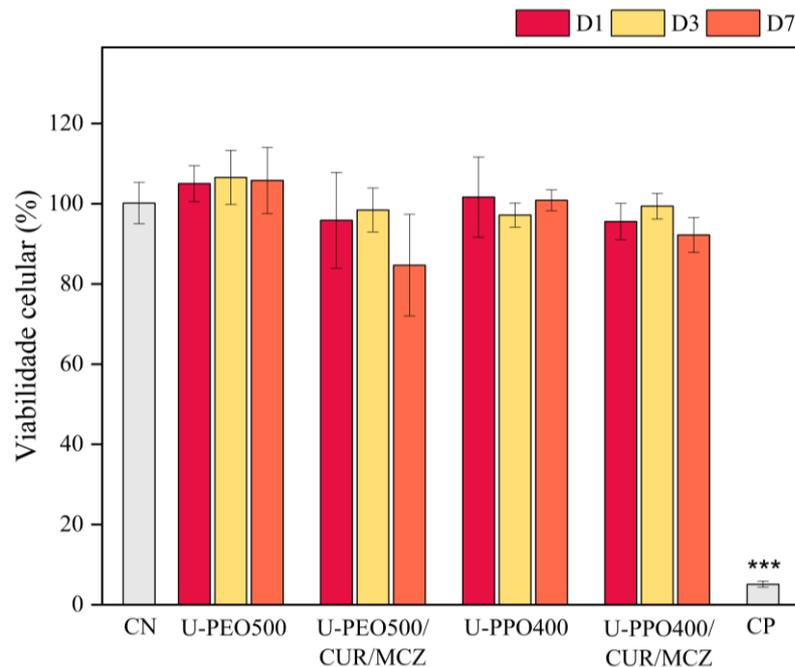
Na Figura 34a, observou-se que a CUR apresentou um impacto na viabilidade celular de VK2/E6E7 em concentrações maiores que 64 $\mu\text{g/mL}$, valor este que representa a quantidade liberada de U-PEO500 nas primeiras 24 horas. Na concentração previamente mencionada, a viabilidade celular foi calculada em $85,79\% \pm 3,71\%$, enquanto quando as concentrações testadas foram iguais a 128 $\mu\text{g/mL}$ e a 256 $\mu\text{g/mL}$, a viabilidade foi reduzida para $81,69\% \pm 5,71\%$ e $68,18\% \pm 0,68\%$, respectivamente, com todos os valores apresentando diferença significativa em relação ao controle negativo.

Por sua vez, a citotoxicidade do MCZ, apresentada na Figura 34b, foi demonstrada em concentrações muito baixas, a partir de 5,93 $\mu\text{g/mL}$, que provocaram redução na viabilidade celular de VK2/E6E7 para valores abaixo de 40%, e a IC_{50} foi calculada em 5,10 $\mu\text{g/mL}$. Apesar de ser um fármaco clinicamente utilizado e de estar disponível comercialmente sob diferentes formas farmacêuticas para o tratamento da CVV, não foram encontrados dados de citotoxicidade na literatura com a mesma linhagem celular analisada neste trabalho. Contudo, um estudo em fibroblastos de murinos L929 mostrou que após 24 horas de exposição, apenas concentrações de MCZ $\leq 7,8 \mu\text{g/mL}$ não impactaram significativamente a viabilidade celular, e que concentrações entre 31,3 $\mu\text{g/mL}$ e 250 $\mu\text{g/mL}$ provocaram redução na viabilidade celular superior a 80% (Caldeirão *et al.*, 2021).

A influência do tratamento das células VK2/E6E7 com os óvulos vaginais de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e com fármacos também foi avaliada. Na Figura 35, tornou-se evidente que os materiais híbridos puros são biocompatíveis com as células epiteliais vaginais e, portanto, não alteram consideravelmente sua viabilidade, que foi representada por valores em torno de $105,02\% \pm 4,51\%$ e de $100,88\% \pm 2,59\%$ após 1, 3 e 7 dias de eluição de U-PEO500 e U-PPO400, respectivamente.

Ao analisar os dados de viabilidade celular após os tratamentos com os óvulos vaginais incorporados com CUR e MCZ, observou-se que não houve alteração significativa em relação ao controle negativo. Em U-PEO500/CUR/MCZ, a viabilidade celular foi calculada entre $98,43\% \pm 5,46\%$ e $84,70\% \pm 12,69\%$, sendo o menor valor observado quando os óvulos foram mantidos por 7 dias no meio, possivelmente dada a maior liberação dos fármacos da matriz nesse período. Novamente, isso pode ser atribuído a maior liberação dos fármacos da matriz, que são capazes de impactar a viabilidade de VK2/E6E7 em concentrações convencionalmente liberadas dos óvulos, conforme demonstrado anteriormente. No caso de U-PPO400/CUR/MCZ, a viabilidade celular foi calculada em $95,58\% \pm 4,55\%$, $99,40\% \pm 3,21\%$ e $92,24\% \pm 4,36\%$ nos dias 1, 3 e 7, nesta ordem, devido a menor liberação esperada para CUR e de MCZ desta matriz.

Figura 35 – Citotoxicidade *in vitro* dos óvulos vaginais de U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ em VK2/E6E7



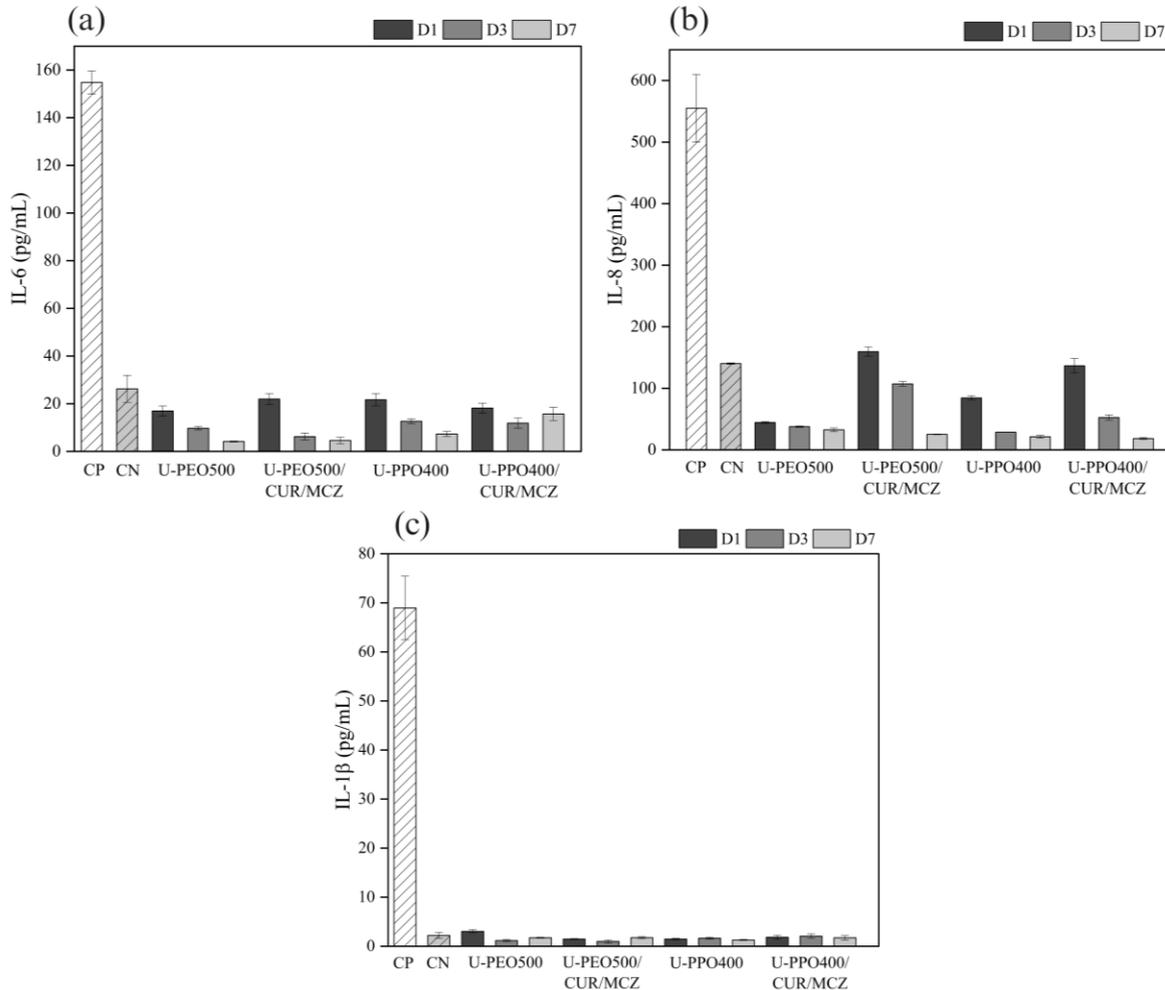
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CN: controle negativo; CP: controle positivo (Acrilamida 1M); D1: dia 1; D3: dia 3; D7: dia 7. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3). *** $p < 0.001$ versus controle negativo.

Um estudo de citotoxicidade com filmes formados por U-PEO500 e U-PPO400 tendo HCl como catalisador testados em células de queratinócitos humanos HaCat também não demonstrou citotoxicidade dos materiais híbridos puros e os valores de viabilidade celular foram superiores a 75% após 24 horas de tratamento. Dessa forma, a bicompatibilidade desses híbridos a base de ureasil-poliéster em outra linhagem celular também foi comprovada, o que permite ampliar a possibilidade de aplicação desses materiais como bases de diferentes tipos de formas farmacêuticas sólidas (Oshiro Junior *et al.*, 2015).

Uma vez que produtos aplicados por via vaginal podem ser inflamatórios à cavidade genital feminina, a determinação da produção de citocinas pró-inflamatórias após o tratamento de células com formulações vaginais pode fornecer informações sobre a segurança e a toxicidade do produto na barreira epitelial vaginal (Ayehunie; Landry; Armento, 2024). Os resultados da investigação da produção das citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-8 e IL-1 β após o tratamento das células VK2/E6E7 com os meios de eluição de U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ estão apresentados na Figura 36.

Figura 36 – Determinação da produção de interleucinas pró-inflamatórias (a) IL-6, (b) IL-8 e (c) IL-1 β pelas células VK2/E6E7 após o tratamento com U-PEO500, U-PEO500/CUR/MCZ, U-PPO400 e U-PPO400/CUR/MCZ



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Legenda: CN: controle negativo; CP: controle positivo (células tratadas com 200 μ g/mL de nonoxinol-9 ou 50 μ g/mL de lipopolissacarídeo para IL-1 β e IL-6/8, respectivamente); D1: dia 1; D3: dia 3; D7: dia 7. Os resultados estão expressos em média \pm DP (n = 3).

O tratamento das células epiteliais vaginais com os óvulos de U-PEO500 e U-PPO400 brancos e incorporados com CUR e MCZ não induziu a produção de citocinas pró-inflamatórias e, portanto, pode ser considerado não inflamatório para a cavidade vaginal. Em todos os grupos testados e nos três tempos de tratamento determinados, a produção de IL-6, IL-8 e IL-1 β foi comparável ou menor que aquela do controle negativo e significativamente distinta dos valores de interleucinas observados quando as células foram tratadas com os respectivos controles positivos.

Diante do exposto, os ensaios pré-clínicos de citotoxicidade dos óvulos vaginais a base de polímeros híbridos e dos fármacos trabalhados nesse estudo ficam validados e demonstram que, apesar de CUR e MCZ serem capazes de impactar a viabilidade celular de células epiteliais vaginais em concentrações próximas ou maiores que as CIMs para as linhagens de fungos testadas, bem como relacionadas aos valores de concentração liberados por ambas as matrizes híbridas testadas, os materiais ureasil-poliéter empregados como principal excipiente das formulações são biocompatíveis e não inflamatórios para o trato genital inferior feminino, podendo ser explorados para a produção de novas formas farmacêuticas de liberação modificada para a entrega vaginal de um ou mais fármacos.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram desenvolvidos óvulos vaginais a base dos polímeros híbridos U-PEO500 e U-PPO400 contendo curcumina e miconazol para o tratamento da candidíase vulvovaginal. O potencial dos óvulos a base de U-PEO500 e U-PPO400 como sistemas de liberação modificada para ambos os fármacos foi confirmado com uma taxa de liberação prolongada de seis dias. Além disso, a combinação de CUR e MCZ demonstrou sinergismo nas linhagens ATCC de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, com redução de 4 vezes na concentração inibitória mínima doazol e de 8 a 64 vezes na do polifenol, enquanto um efeito aditivo foi observado para *C. glabrata*, provando que a associação é mais eficaz que os compostos sozinhos na maior parte dos casos. Demonstrou-se o efeito negativo que o MCZ exerce em *Lactobacillus jensenii* da microbiota vaginal e, pela primeira vez na literatura, observou-se o potencial citotóxico desteazol em células epiteliais vaginais VK2/E6E7. Por fim, o estudo também constatou a biocompatibilidade e o efeito não-inflamatório dos materiais híbridos U-PEO500 e U-PPO400 com a microbiota e com as células epiteliais vaginais, confirmando a eficácia antifúngica e segurança pré-clínicas dos óvulos vaginais desenvolvidos, e destacando o potencial dos materiais híbridos ureasil-poliéter como promissores carreadores múltiplos de fármacos para a via de administração vaginal.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. *et al.* Synergistic antifungal effect of cyclized chalcone derivatives and fluconazole against *Candida albicans*. **Medchemcomm**, London, v. 8, n. 12, p. 2195-2207, 2017.
- AKASH, M. S. H.; REHMAN, K. Differential thermal analysis. *In*: AKASH, M. S. H.; REHMAN, K. **Essentials of Pharmaceutical Analysis**, p. 207-213, 2020.
- ALJAEID, B. M.; HOSNY, K. M. Miconazole-loaded solid lipid nanoparticles: formulation and evaluation of a novel formula with high bioavailability and antifungal activity. **International Journal of Nanomedicine**, London, p. 441-447, 2016.
- AMARAL, A. C. *et al.* Miconazole loaded chitosan-based nanoparticles for local treatment of vulvovaginal candidiasis fungal infections. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 174, p. 409-415, 2019.
- ANDRADE, J. T. *et al.* Efficacy of curcumin in the treatment of experimental vulvovaginal candidiasis. **Revista Iberoamericana de Micología**, Biscay, v. 36, n. 4, p. 192-199, 2019.
- ARAKI, K. *et al.* Application of a microreactor to pharmaceutical manufacturing: preparation of amorphous curcumin nanoparticles and controlling the crystallinity of curcumin nanoparticles by ultrasonic treatment. **AAPS PharmSciTech**, London, v. 21, p. 1-9, 2020.
- ARIAS, L. S. *et al.* Novel nanocarrier of miconazole based on chitosan-coated iron oxide nanoparticles as a nanotherapy to fight *Candida* biofilms. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 192, p. 111080, 2020.
- ARSHAD, M. S. *et al.* Fabrication of miconazole nitrate solid lipid nanoparticle loaded microneedle patches for the treatment of *Candida albicans* biofilms. **RSC Pharmaceutics**, London, 2024.
- ASKARIZADEH, M. *et al.* Kinetic modeling to explain the release of medicine from drug delivery systems. **ChemBioEng Reviews**, Weinheim, v. 10, n. 6, p. 1006-1049, 2023.
- ATIYAH, N. A.; ALBAYATI, T. M.; ATIYA, M. A. Interaction behavior of curcumin encapsulated onto functionalized SBA-15 as an efficient carrier and release in drug delivery—**Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1260, p. 132879, 2022.
- AYEHUNIE, S.; LANDRY, T.; ARMENTO, A. Vaginal irritation testing—prospects of human organotypic vaginal tissue culture models. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, London, v. 60, n. 6, p. 569-582, 2024.
- BARROS, R. M. *et al.* Dexamethasone-loaded ureasil hydrophobic membrane for bone guided regeneration. **Pharmaceutics**, Basel, v. 14, n. 5, p. 1027, 2022.
- BELANGER, E. S.; YANG, E.; FORREST, G. N. Combination antifungal therapy: when, where, and why. **Current Clinical Microbiology Reports**, Cham, v. 2, p. 67-75, 2015.

BENDER, R. A. *et al.* Treatment methods for vulvovaginal candidiasis in pregnancy. **Journal of Medical Mycology**, [s.l.], v. 31, n. 3, p. 101138, 2021.

BIDAUD, A.-L. *et al.* Techniques for the assessment of in vitro and in vivo antifungal combinations. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 2, p. 113, 2021.

BITEW, A.; ABEBAW, Y. Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern. **BMC Women's Health**, London, v. 18, p. 1-10, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST)**. 2022. Disponível em: <http://antigo.aids.gov.br/ptbr/pub/2022/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-atencao-integral-pessoas-cominfeccoes>. Acesso em: 10 abr. 2024.

BRESCINI, L. *et al.* Species distribution and antifungal susceptibilities of bloodstream *Candida* isolates: A nine-years single center survey. **Journal of Chemotherapy**, London, v. 32, n. 5, p. 244-250, 2020.

BRUSCHI, M. L. Mathematical models of drug release. **Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems**, [s.l.], v. 5, p. 63-86, 2015.

BUNACIU, A. A.; UDRIȘTIOIU, E. G.; ABOUL-ENEIN, H. Y. X-ray diffraction: instrumentation and applications. **Critical reviews in analytical chemistry**, London, v. 45, n. 4, p. 289-299, 2015.

CALDEIRÃO, A. C. M. *et al.* Nanocarriers of miconazole or fluconazole: effects on three-species *Candida* biofilms and cytotoxic effects in vitro. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 7, p. 500, 2021.

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**, Washington, v. 2, n. 5, p. 1875-1883, 2019.

CARRILLO MUÑOZ, A. J. *et al.* Combination antifungal therapy: A strategy for the management of invasive fungal infections. **Revista Española de Quimioterapia**, Madrid, v. 27, n. 5, p. 141-158, 2014.

CARVALHO, G. C. *et al.* Prevalence of vulvovaginal candidiasis in Brazil: a systematic review. **Medical Mycology**, Oxford, v. 59, n. 10, p. 946-957, 2021.

CHANG, Y.-L. *et al.* New facets of antifungal therapy. **Virulence**, London, v. 8, n. 2, p. 222-236, 2017.

CHATZIVASILEIOU, P.; VYZANTIADIS, T. Vaginal yeast colonization: From a potential harmless condition to clinical implications and management approaches — A literature review. **Mycoses**, Berlin, v. 62, n. 8, p. 638-650, 2019.

CHAUHAN, A.; CHAUHAN, P. Powder XRD technique and its applications in science and technology. **Journal of Analytical Bioanalytical Techniques**, [s.l.], v. 5, n. 5, p. 212, 2014.

CHEN, Y. *et al.* Fused deposition modeling three-dimensional printing of flexible polyurethane intravaginal rings with controlled tunable release profiles for multiple active drugs. **Drug Delivery and Translational Research**, New York, v. 12, n. 4, p. 906-924, 2022.

CHEN, Z. *et al.* Thermal degradation kinetics study of curcumin with nonlinear methods. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 155, p. 81-86, 2014.

CHIAVACCI, L. A. *et al.* Control of the structure and of the release profile of biological active molecules from materials prepared via sol-gel. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Heidelberg, v. 101, n. 1, p. 71-86, 2022.

CIUREA, C. N. *et al.* *Candida* and candidiasis—opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits. **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 6, p. 857, 2020.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M27: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M44: Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing for Yeasts**. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

COBEN, L. J.; LIEBERMAN, H.A. Supositórios. *In*: LACHMAN, L. *et al.* **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

COSTA, K. M. N. *et al.* Curcumin-loaded micelles dispersed in ureasil-polyether materials for a novel sustained-release formulation. **Pharmaceutics**, Basel, v. 13, n. 5, p. 675, 2021.

DA FONSÊCA, N. F. *et al.* Modified release of D-glucose incorporated into laponite/ureasil-poly (ethylene oxide) hybrid nanocomposite. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Berlin, p. 1-15, 2024.

DA SILVA, C. G. *et al.* Hybrid Membranes of the Ureasil-Polyether Containing Glucose for Future Application in Bone Regeneration. **Pharmaceutics**, Basel, v. 15, n. 5, p. 1474, 2023.

DAS, S. C.; PRAKASH, A. A Systematic Review on Drug Delivery Systems Based on Their Mechanism of Drug Release and Their Applications. **International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology**, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 55-63, 2021.

DAVOODI, P. *et al.* Drug delivery systems for programmed and on-demand release. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 132, p. 104-138, 2018.

DE JESUS, N. A. M. *et al.* Biofilm formed from a tri-ureasil organic– inorganic hybrid gel for use as a cubebin release system. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Heidelberg, v. 88, p. 192-201, 2018.

DE MOURA, A. *et al.* Mechanochemical synthesis, characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, London, v. 146, p. 587-594, 2021.

DE SANTANA, W. M. Os *et al.* Ureasil-Polyether-CoFe₂O₄ Nanocomposites: Coupling a Drug Delivery System and Magnetic Hyperthermia. **ACS Applied Polymer Materials**, Washington, v. 3, n. 10, p. 4837-4848, 2021.

DEORUKHKAR, S. C. *et al.* Non-albicans Candida infection: an emerging threat. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, London, v. 2014, 2014.

DOMSTA, V. *et al.* 3D Printing of Paracetamol Suppositories: An Automated Manufacturing Technique for Individualized Therapy. **Pharmaceutics**, Basel, v. 14, n. 12, p. 2676, 2022.

DONG, H. *et al.* Synergistic antifungal effects of curcumin derivatives as fungal biofilm inhibitors with fluconazole. **Chemical Biology & Drug Design**, New Jersey, v. 97, n. 5, p. 1079-1088, 2021.

ESMAEELZADEH, M. *et al.* Synthesis of new triazole tethered derivatives of curcumin and their antibacterial and antifungal properties. **Journal of the Iranian Chemical Society**, [s.l], v. 16, p. 465-477, 2019.

FAN, S.; LIU, X.; LIANG, Y. Miconazole nitrate vaginal suppository 1,200 mg versus oral fluconazole 150 mg in treating severe vulvovaginal candidiasis. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, Basel, v. 80, n. 2, p. 113-118, 2015.

FARMACOPEIA brasileira. 6 ed. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019, v.1, p. 43.

FAUSTINI, M. *et al.* History of organic–inorganic hybrid materials: prehistory, art, science, and advanced applications. **Advanced Functional Materials**, Weinheim, v. 28, n. 27, p. 1704158, 2018.

FISHER, M. C.; DENNING, D. W. The WHO fungal priority pathogens list as a game-changer. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 21, n. 4, p. 211-212, 2023.

FOHRER, C. *et al.* Antifungal combination treatment: a future perspective. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 27, p. 25-30, 2006.

FOUCQUIER, J.; GUEDJ, M. Analysis of drug combinations: current methodological landscape. **Pharmacology research & perspectives**, London, v. 3, n. 3, p. e00149, 2015.

FRANCE, M. *et al.* Towards a deeper understanding of the vaginal microbiota. **Nature Microbiology**, London, v. 7, n. 3, p. 367-378, 2022.

FUGITA, R. A. *et al.* Thermal behaviour of curcumin. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, Bauru, v. 1, n. 1, p. 19-23, 2012.

FUKAZAWA, E. I. *et al.* Influence of recurrent vulvovaginal candidiasis on quality of life issues. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, Berlin, v. 300, p. 647-650, 2019.

- GAMIL, Y. *et al.* The anti-fungal effect of miconazole and miconazole-loaded chitosan nanoparticles gels in diabetic patients with Oral candidiasis-randomized control clinical trial and microbiological analysis. **BMC Oral Health**, London, v. 24, n. 1, p. 196, 2024.
- GONÇALVES, B. *et al.* Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical Reviews in Microbiology**, London, v. 42, n. 6, p. 905-927, 2016.
- GOODMAN, E. D.; ZHOU, C.; CARGNELLO, M. Design of organic/inorganic hybrid catalysts for energy and environmental applications. **ACS Central Science**, Washington, v. 6, n. 11, p. 1916-1937, 2020.
- GUO, P. *et al.* A case series of medically managed *Candida parapsilosis* complex prosthetic valve endocarditis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, London, v. 20, p. 1-10, 2021.
- HAM, A. S.; BUCKHEIT JR, R. W. Designing and developing suppository formulations for anti-HIV drug delivery. **Therapeutic Delivery**, London, v. 8, n. 9, p. 805-817, 2017.
- INKSON, B. J. Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. *In: Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods*. Sawston: Woodhead Publishing, 2016. p. 17-43.
- INTRA, J. *et al.* Prevalence and species distribution of microorganisms isolated among non-pregnant women affected by vulvovaginal candidiasis: A retrospective study over a 20 year-period. **Journal of Medical Mycology**, Amsterdam, v. 32, n. 3, p. 101278, 2022.
- ISO, I. 10993-5: 2009 Biological evaluation of medical devices—part 5: tests for in vitro cytotoxicity. **International Organization for Standardization**, Geneva, v. 34, 2009.
- JAFARZADEH, L. *et al.* Vulvovaginal candidiasis: An overview of mycological, clinical, and immunological aspects. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, Malden, v. 48, n. 7, p. 1546-1560, 2022.
- JANNATI, B. *et al.* The Prevalence of Non-*albicans* *Candida* and *Candida* Mixed-species in Vulvovaginal Candidiasis in Northeast Iran. **Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology**, Singapore, v. 51, n. 3, p. 77, 2024.
- JOHAL, H. S. *et al.* Advanced topical drug delivery system for the management of vaginal candidiasis. **Drug Delivery**, London, v. 23, n. 2, p. 550-563, 2016.
- JOHNSON, M. D.; PERFECT, J. R. Use of antifungal combination therapy: agents, order, and timing. **Current Fungal Infection Reports**, London, v. 4, p. 87-95, 2010.
- JU, G. *et al.* Temperature-controlled release of curcumin from thermosensitive PVA/CurM nanofibrous membranes with antibacterial activity. **Colloid and Polymer Science**, Heidelberg, v. 299, p. 1955-1966, 2021.
- KALAIARASAN, K.; SINGH, R.; CHATURVEDULA, L. Changing virulence factors among vaginal non-*albicans* *Candida* species. **Indian Journal of Medical Microbiology**, Mumbai, v. 36, n. 3, p. 364-368, 2018.

KALMAR, E. *et al.* Dosage uniformity problems which occur due to technological errors in extemporaneously prepared suppositories in hospitals and pharmacies. **Saudi Pharmaceutical Journal**, King Saud, v. 22, n. 4, p. 338-342, 2014.

KAUR, R. *et al.* Emergence of non-*albicans* *Candida* species and antifungal resistance in intensive care unit patients. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 5, p. 455-460, 2016.

KELEMEN, H. *et al.* Characterization of inclusion complexes between miconazole and different cyclodextrin derivatives. **Acta Marisiensis-Seria Medica**, Targu Mureş, v. 64, n. 2, p. 70-76, 2018.

KENECHUKWU, F. C. *et al.* Novel intravaginal drug delivery system based on molecularly PEGylated lipid matrices for improved antifungal activity of miconazole nitrate. **BioMed Research International**, Hoboken, v. 2018, n. 1, p.1-18, 2018.

KERSTEN, Kortney. **Pharmaceutical Hydrates: Prevalence, Properties and Progress**. 2018. Thesis (Doctorate of Philosophy - Chemistry) – University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 2018.

KOCABAS, L. I. *et al.* 3D-printed prednisolone phosphate suppositories with tunable dose and rapid release for the treatment of inflammatory bowel disease. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 649, p. 123639, 2024.

KORSMEYER, R. W. *et al.* Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 25-35, 1983.

KREZIĆ, S. *et al.* Fabrication of rectal and vaginal suppositories using 3D printed moulds: the challenge of personalized therapy. *In: CMBEBIH 2019: International Conference on Medical and Biological Engineering*, 73, 2020, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina. **Proceedings of the International Conference on Medical and Biological Engineering, 16–18 May 2019**. New York City: Springer International Publishing, 2020. p. 729-734.

KRISHNASAMY, L. *et al.* Phylogenetic characterization of biofilm forming multidrug resistant *Candida albicans* and non *albicans* *Candida* causing vulvovaginal candidiasis. **Gene Reports**, Amsterdam, v. 19, p. 1-7, 2020.

KUMAR, A. *et al.* Curcumin targets cell wall integrity via calcineurin-mediated signaling in *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 58, n. 1, p. 167-175, 2014.

LAM, P.-L. *et al.* Miconazole and terbinafine induced reactive oxygen species accumulation and topical toxicity in human keratinocytes. **Drug and Chemical Toxicology**, London, v. 45, n. 2, p. 834-838, 2022.

LEE, Y. S. *et al.* Curcumin affects function of Hsp90 and drug efflux pump of *Candida albicans*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 12, p. 944611, 2022.

LEE, W.; LEE, D. G. An antifungal mechanism of curcumin lies in membrane-targeted action within *Candida albicans*. **IUBMB Life**, Hoboken, v. 66, n. 11, p. 780-785, 2014.

LIU, W. *et al.* Oral bioavailability of curcumin: problems and advancements. **Journal of Drug Targeting**, London, v. 24, n. 8, p. 694-702, 2016.

LIVENGOOD, S. J.; DREW, R. H.; PERFECT, J. R. Combination therapy for invasive fungal infections. **Current Fungal Infection Reports**, Berlin, v. 14, p. 40-49, 2020.

MAKANJUOLA, O.; BONGOMIN, F.; FAYEMIWO, S. A. An update on the roles of non-*albicans Candida* species in vulvovaginitis. **Journal of Fungi**, Basel, v. 4, n. 4, p. 121, 2018.

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**, Amsterdam, v. 119, p. 111581, 2021.

MARQUEZ, S. M. T.; REYES, L. D. Comparison of the effect of miconazole and clotrimazole in the treatment of vulvovaginal candidiasis among women seen in a tertiary medical center from 2016 to 2020. **Philippine Journal of Obstetrics and Gynecology**, Quezon, v. 46, n. 3, p. 109-117, 2022.

MELNYK, G.; YARNYKH, T.; HERASYMOVA, I. Analytical review of the modern range of suppository bases. **Syst. Rev. Pharm**, [s.l.], v. 11, p. 503-508, 2020.

MENDES, J. F. *et al.* Synthesis of ureasil-polyether film forming materials by using environmentally friendly solvent. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 42, p. 1-10, 2021.

MOLINA, E. F. *et al.* Fine-tuning of a nanostructure, swelling, and drug delivery profile by blending ureasil-PEO and ureasil-PPO hybrids. **Polymer Chemistry**, London, v. 5, n. 6, p. 1897-1904, 2014b.

MOLINA, E. F. *et al.* Ureasil-polyether hybrid blend with tuneable hydrophilic/hydrophobic features based on U-PEO1900 and U-PPO400 mixtures. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Heidelberg, v. 70, p. 317-328, 2014a.

MORACA, F. *et al.* Synthesis, biological evaluation and structure-activity correlation study of a series of imidazol-based compounds as *Candida albicans* inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 83, p. 665-673, 2014.

MTIBAA, L. *et al.* Vulvovaginal candidiasis: Etiology, symptomatology and risk factors. **Journal de Mycologie Medicale**, Paris, v. 27, n. 2, p. 153-158, 2017.

MUSTAPHA, A. D. *et al.* Design and evaluation of antifungal vaginal suppository using coconut oil as base for vulvovaginal candidiasis. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, London, v. 9, n. 1, p. 80, 2023.

MUTHUSAMY, S.; ELANGO VAN, S. Speciation and susceptibility testing of *Candida* isolates from vaginal discharge. **Australasian Medical Journal (Online)**, [s.l.], v. 9, n. 9, p. 365, 2016.

- NARAYANAN, V. S. *et al.* Variable antifungal activity of curcumin against planktonic and biofilm phase of different *Candida* species. **Indian Journal of Dental Research**, Mangalore, v. 31, n. 1, p. 145-148, 2020.
- NEUT, C. *et al.* Topical treatment of infectious vaginitis: effects of antibiotic, antifungal and antiseptic drugs on the growth of normal vaginal Lactobacillus strains. **Open Journal of Obstetrics and Gynecology**, Glendale, v. 5, n. 03, p. 173, 2015.
- NUNES, S. C. *et al.* Di-urea cross-linked siloxane hybrid materials incorporating oligo (oxypropylene) and oligo (oxyethylene) chains. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Berlin, v. 95, p. 620-634, 2020.
- OGIDI, C. O. *et al.* Synergistic antifungal evaluation of over-the-counter antifungal creams with turmeric essential oil or *Aloe vera* gel against pathogenic fungi. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, London, v. 21, p. 1-12, 2021.
- OLIVEIRA, A. S. *et al.* Anti-*Candida* activity of fluoxetine alone and combined with fluconazole: a synergistic action against fluconazole-resistant strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 58, n. 7, p. 4224-4226, 2014.
- OSHIRO JUNIOR, J. A. *et al.* Development of Cutaneous Bioadhesive Ureasil-Polyether Hybrid Films. **International Journal of Polymer Science**, London, v. 2015, n. 1, p. 727324, 2015.
- OSHIRO JUNIOR, J. A. *et al.* Drug delivery systems obtained from silica based organic-inorganic hybrids. **Polymers**, Basel, v. 8, n. 4, p. 91, 2016
- OSHIRO-JUNIOR, J. A. *et al.* Nanostructural arrangements and surface morphology on ureasil-polyether films loaded with dexamethasone acetate. **Nanomaterials**, Basel, v. 11, n. 6, p. 1362, 2021.
- OSHIRO JUNIOR, J. A. *et al.* Study of triamcinolone release and mucoadhesive properties of macroporous hybrid films for oral disease treatment. **Biomedical Physics & Engineering Express**, [s.l.], v. 4, n. 3, p. 035009, 2018
- PALÁCIO, G. *et al.* Coupling photoluminescence and ionic conduction properties using the different coordination sites of ureasil-polyether hybrid materials. **ACS applied materials & interfaces**, Washington, v. 10, n. 43, p. 37364-37373, 2018.
- PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, R. *et al.* Women's preferences and acceptance for different drug delivery routes and products. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 182, p. 114133, 2022.
- PANDEY, S.; MISHRA, S. B. Sol-gel derived organic-inorganic hybrid materials: synthesis, characterizations and applications. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Heidelberg, v. 59, p. 73-94, 2011.

PARANTHAMAN, R.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Powder X-ray diffraction conditions for screening curcumin in turmeric powder. **Journal of Food Measurement and Characterization**, Berlin, p. 1-9, 2022.

PAREDES, M. *et al.* Chitosan/(ureasil–PEO hybrid) blend for drug delivery. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Berlin, v. 72, p. 233-238, 2014.

PAREDES ZALDIVAR, M. *et al.* Thermal properties, nanoscopic structure and swelling behavior of chitosan/(ureasil–polyethylene oxide hybrid) blends. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, London, v. 130, p. 791-798, 2017.

PEREIRA, L. C. *et al.* Vulvovaginal candidiasis and current perspectives: new risk factors and laboratory diagnosis by using MALDI TOF for identifying species in primary infection and recurrence. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Berlin, v. 40, p. 1681-1693, 2021.

PILLAI, S. K.; MOELLERING, R. C.; ELIOPOULOS, G. M. Antimicrobial combinations. *In*: LORIAN, V. **Antibiotics in laboratory medicine**, 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005, p. 365-440.

PRIMROSE, R. J. *et al.* Drivers of vaginal drug delivery system acceptability from internet-based conjoint analysis. **PloS one**, Pittsburgh, v. 11, n. 3, p. e0150896, 2016.

PRISTA, L. V. N. *et al.* **Tecnologia farmacêutica**. 4 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2014.

RAI, V. K. *et al.* Solubility enhancement of miconazole nitrate: binary and ternary mixture approach. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, London, v. 40, n. 8, p. 1021-1029, 2014.

RASOOL, M. *et al.* In vitro and in vivo characterization of Miconazole Nitrate loaded transthesomes for the treatment of Cutaneous Candidiasis. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 647, p. 123563, 2023.

REGIDOR, P. A. *et al.* Miconazole for the treatment of vulvovaginal candidiasis. In vitro, in vivo and clinical results. Review of the literature. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 43, n. 1, p. 2195001, 2023.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C. *et al.* Biofilms and vulvovaginal candidiasis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 174, p. 110-125, 2019.

ROJEK, B.; WESOLOWSKI, M. Fourier transform infrared spectroscopy supported by multivariate statistics in compatibility study of atenolol with excipients. **Vibrational Spectroscopy**, Amsterdam, v. 86, p. 190-197, 2016.

SAADATKHAH, N. *et al.* Experimental methods in chemical engineering: Thermogravimetric analysis—TGA. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Ottawa, v. 98, n. 1, p. 34-43, 2020.

- SABET, S. *et al.* Recent advances to improve curcumin oral bioavailability. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 110, p. 253-266, 2021.
- SALAH, S.; AWAD, G. E. A.; MAKHLOUF, A. I. A. Improved vaginal retention and enhanced antifungal activity of miconazole microsponges gel: Formulation development and in vivo therapeutic efficacy in rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 114, p. 255-266, 2018.
- SALEHI, B. *et al.* The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 163, p. 527-545, 2019.
- SALEM, M.; ROHANI, S.; GILLIES, E. R. Curcumin, a promising anti-cancer therapeutic: a review of its chemical properties, bioactivity and approaches to cancer cell delivery. **RSC Advances**, London, v. 4, n. 21, p. 10815-10829, 2014.
- SANTILLI, C. V. *et al.* Controlled drug release from ureasil-polyether hybrid materials. **Chemistry of Materials**, Washington, v. 21, n. 3, p. 463-467, 2009.
- SARAF, V. S. *et al.* Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. **Archives of Microbiology**, London, v. 203, p. 3793-3802, 2021.
- SATORA, M. *et al.* Treatment of Vulvovaginal Candidiasis—An Overview of Guidelines and the Latest Treatment Methods. **Journal of Clinical Medicine**, Basel, v. 12, n. 16, p. 5376, 2023.
- SHANN, S.; WILSON, J. Treatment of *Candida glabrata* using topical amphotericin B and flucytosine. **Sexually transmitted infections**, [s.l] v. 79, n. 3, p. 265-266, 2003.
- SHAPIRO, R. L. *et al.* *In vitro* and *ex vivo* models for evaluating vaginal drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 191, p. 114543, 2022.
- SHARMA, M. *et al.* Antifungal curcumin induces reactive oxygen species and triggers an early apoptosis but prevents hyphae development by targeting the global repressor TUP1 in *Candida albicans*. **Bioscience Reports**, London, v. 30, n. 6, p. 391-404, 2010a.
- SHARMA, M. *et al.* Curcumin modulates efflux mediated by yeast ABC multidrug transporters and is synergistic with antifungals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 53, n. 8, p. 3256-3265, 2009.
- SHARMA, M. *et al.* Lipidome analysis reveals antifungal polyphenol curcumin affects membrane lipid homeostasis. **Frontiers in Bioscience (Elite edition)**, [s.l], v. 4, p. 1195, 2012.
- SHARMA, M. *et al.* Synergistic anticandidal activity of pure polyphenol curcumin I in combination with azoles and polyenes generates reactive oxygen species leading to apoptosis. **FEMS yeast research**, Oxford, v. 10, n. 5, p. 570-578, 2010b.
- SOUZA, L. K. *et al.* Ureasil-polyether hybrid film-forming materials. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 101, p. 156-161, 2013.

SPITZER, M.; ROBBINS, N.; WRIGHT, G. D. Combinatorial strategies for combating invasive fungal infections. **Virulence**, London, v. 8, n. 2, p. 169-185, 2017.

SULLIVAN, G. J. *et al.* How antibiotics work together: molecular mechanisms behind combination therapy. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v. 57, p. 31-40, 2020.

SUN, B. *et al.* Linear dextrin as curcumin delivery system: Effect of degree of polymerization on the functional stability of curcumin. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 77, p. 911-920, 2018.

SURESH, K.; NANGIA, A. Curcumin: Pharmaceutical solids as a platform to improve solubility and bioavailability. **CrystEngComm**, London, v. 20, n. 24, p. 3277-3296, 2018.

TAGAMI, T. *et al.* 3D printing of unique water-soluble polymer-based suppository shell for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 568, p. 118494, 2019.

TALAPKO, J. *et al.* *Candida albicans* — the virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 2, p. 79, 2021.

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

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

THORAT, A. A.; DALVI, S. V. Particle formation pathways and polymorphism of curcumin induced by ultrasound and additives during liquid antisolvent precipitation. **CrystEngComm**, London, v. 16, n. 48, p. 11102-11114, 2014.

TITS, J. *et al.* Combination of miconazole and domiphen bromide is fungicidal against biofilms of resistant *Candida* spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 64, n. 10, p. 10.1128/aac. 01296-20, 2020.

TORELLA, J. P.; CHAIT, R.; KISHONY, R. Optimal drug synergy in antimicrobial treatments. **PLoS Computational Biology**, San Francisco, v. 6, n. 6, p. e1000796, 2010.

TRAORE, Y. L. *et al.* Impact of hydroxychloroquine-loaded polyurethane intravaginal rings on lactobacilli. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 59, n. 12, p. 7680-7686, 2015.

TRUZZI, F. *et al.* An overview on dietary polyphenols and their biopharmaceutical classification system (BCS). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 22, n. 11, p. 5514, 2021.

TSAO, S.-M.; YIN, M.-C. Enhanced inhibitory effect from interaction of curcumin with amphotericin B or fluconazole against *Candida* species. **Journal of Food and Drug Analysis**, Taipei, v. 8, n. 3, p. 3, 2000.

TSUTSUMI, S. *et al.* Characterization and evaluation of miconazole salts and cocrystals for improved physicochemical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 421, n. 2, p. 230-236, 2011.

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

TWAROG, N. R.; CONNELLY, M.; SHELAT, A. A. A critical evaluation of methods to interpret drug combinations. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 5144, 2020.

URONNACHI, E. *et al.* Solidified reverse micellar solution-based lipid microparticles of miconazole nitrate: formulation design, biopharmaceutical characterization, and dissolution studies. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, Berlin, p. 1-15, 2020.

VAN DAELE, R. *et al.* Antifungal drugs: what brings the future?. **Medical Mycology**, Oxford, v. 57, n. Supplement 3, p. S328-S343, 2019.

VAN DE WIJGERT, J. H. H. M. The vaginal microbiome and sexually transmitted infections are interlinked: consequences for treatment and prevention. **PLoS Medicine**, San Francisco, v. 14, n. 12, p. e1002478, 2017.

VAZ, G. R. *et al.* Curcumin and quercetin-loaded nanoemulsions: Physicochemical compatibility study and validation of a simultaneous quantification method. **Nanomaterials**, Basel, v. 10, n. 9, p. 1650, 2020.

WAIKHOM, S. D. *et al.* Prevalence of vulvovaginal candidiasis among pregnant women in the Ho municipality, Ghana: species identification and antifungal susceptibility of *Candida* isolates. **BMC Pregnancy and Childbirth**, London, v. 20, p. 1-14, 2020.

WANG, J. *et al.* The synergistic antifungal activity of resveratrol with azoles against *Candida albicans*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 72, n. 6, p. 688-697, 2021.

WHALEY, S. G. *et al.* Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-albicans *Candida* species. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 2173, 2017.

WHALEY, S. G.; ROGERS, P. D. Azole resistance in *Candida glabrata*. **Current infectious disease reports**, Berlin, v. 18, p. 1-10, 2016.

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

WINFIELD, A. J. Suppositories and pessaries. In: WATSON, J.; COGAN, L. **Pharmacy Practice E-Book**. Edinburgh: Elsevier, 2019, p. 170-176.

WORKOWSKI, K. A.; BACHMANN, L. H. Centers for disease control and prevention's sexually transmitted diseases infection guidelines. **Clinical infectious diseases**, Oxford, v. 74, n. Supplement_2, p. S89-S94, 2022.

WORKOWSKI, K. A. et al. Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. **MMWR Recommendations and Reports**, [s.l.] v. 70, n. 4, p. 1, 2021.

XUE, B. et al. Amphotericin B and curcumin co-loaded porous microparticles as a sustained release system against *Candida albicans*. **Molecules**, Basel, v. 27, n. 10, p. 3079, 2022.

YANO, J. et al. Current patient perspectives of vulvovaginal candidiasis: incidence, symptoms, management and post-treatment outcomes. **BMC Women's Health**, London v. 19, p. 1-9, 2019.

YU, J. Y. et al. Preparation and characterization of curcumin solid dispersion using HPMC. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 85, n. 11, p. 3866-3873, 2020.

ZAVERI, T. et al. Qualitative exploration of intrinsic and extrinsic factors that influence acceptability of semisoft vaginal suppositories. **BMC Women's Health**, London, v. 18, p. 1-17, 2018.

ZAVERI, T.; HAYES, J. E.; ZIEGLER, G. R. Release of tenofovir from carrageenan-based vaginal suppositories. **Pharmaceutics**, Basel, v. 6, n. 3, p. 366-377, 2014.