

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 24/01/2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



**Sistemas líquido-cristalinos como potencial estratégia
para administração vaginal de ácido *p*-cumárico no
tratamento de candidíase vulvovaginal**

Paula Scanavez Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Araraquara - SP

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



Sistemas líquido-cristalinos como potencial estratégia para administração vaginal de ácido *p*-cumárico no tratamento de candidíase vulvovaginal

Paula Scanavez Ferreira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Araraquara - SP

2020

F383s

Ferreira, Paula Scanavez.

Sistemas líquido-cristalinos como potencial estratégia para administração vaginal de ácido *p*-cumárico no tratamento de candidíase vulvovaginal / Paula Scanavez Ferreira. – Araraquara: [S.n.], 2020.

121 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Marlus Chorilli.

1. Ácido *p*-cumárico. 2. Candidíase vulvovaginal. 3. Sistemas líquido-cristalinos. 4. *Candida albicans*. 5. *Candida glabrata*. 6. Biofilme.
I. Chorilli, Marlus, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6
Esta ficha não pode ser modificada

AGRADECIMENTOS

Ao longo do mestrado, muitas pessoas me acompanharam nessa caminhada de aprendizado, conhecimento e amizades. Foram elas que me apoiaram, ajudaram e alegraram meus dias, tanto dentro quanto fora do laboratório, durante esses dois anos de pesquisa. A essas pessoas queridas que de alguma maneira compartilharam essa fase de crescimento profissional e amadurecimento pessoal, meus sinceros agradecimentos.

Agradeço primeiramente aos meus familiares, especialmente aos meus pais Edna e Wilson e à minha irmã Isabella, por todo o apoio e confiança no meu trabalho, além de me acalmarem e nunca me deixarem desistir quando alguma coisa não saía conforme o planejado nos experimentos. Muitas vezes a saudade e a distância eram grandes, pois eu não podia deixar o laboratório, até mesmo nos finais de semana, e ainda assim vocês nunca me deixaram sozinha. Muito obrigada.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marlus Chorilli pela oportunidade de realizar o mestrado em uma área totalmente nova para mim, por acreditar na minha capacidade mesmo não sendo da área farmacêutica e por sempre me encorajar a aceitar novos desafios e crescer tanto academicamente quanto profissionalmente.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica da UNESP, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Agradeço principalmente à Francesca, Mariza, Andressa, Camila, Mariana, Victor, Mauricio, Bruno, Eliete e Valéria, pela paciência, por sempre me ajudarem nos momentos que precisei, pelos ensinamentos, risadas no laboratório, almoços, lanchinhos, enfim, pela amizade. Sem a ajuda de vocês, eu teria levado muito tempo para aprender tudo o que foi necessário e provavelmente não teria tantas memórias boas para guardar.

Agradeço ao Eric que está sempre ao meu lado, nos momentos felizes e também naqueles não muito bons. Pelas risadas, por me incentivar a não desistir, pela paciência ouvindo minhas reclamações quando nada dá certo, pela companhia e pelo amor e carinho de sempre. Agradeço também aos meus amigos que, mesmo com a distância, sempre encontram uma maneira de se fazerem presentes na minha vida.

Às professoras Dra. Leila Aparecida Chiavacci Favorin e Dra. Herida Regina Nunes Salgado pela parceria na utilização dos equipamentos, assim como aos alunos dos laboratórios CMAF e de Controle de Qualidade da UNESP/FCFar por toda ajuda e assistência.

À professora Dra. Tais Maria Bauab por permitir que eu realizasse os experimentos biológicos em seu laboratório e a todo o pessoal do Laboratório de Fisiologia de Microrganismos da UNESP/FCFar, pela ajuda e suporte durante esse período.

Agradeço à Natalia, técnica do laboratório de Farmacotécnica por todo o auxílio nos momentos de “perrengue” no laboratório e ao pessoal da Seção Técnica de Pós-Graduação que sempre foram muito atenciosos e prestativos, em especial à Claudia Molina e à Aniele Vilella.

Agradeço ao Prof. Dr. Patrick Van Dijck pela oportunidade e por me receber em seu laboratório durante o estágio de pesquisa que realizei na KU Leuven, Bélgica. Agradeço também a todos os colegas de trabalho do Instituto de Botânica e Microbiologia da KU Leuven e amigos que fiz em Leuven, por me receberem e acolherem tão bem, fazendo do meu intercâmbio uma experiência tão boa.

Agradeço à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. À Profa. Dra. Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro, Coordenadora do Programa de Ciências Farmacêuticas e aos demais membros do programa.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001 - pelo apoio financeiro durante o primeiro ano de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento dessa pesquisa e auxílio financeiro, sob os Processos nº 2017/22928-6 (no Brasil) e nº 2018/22658-1 (no exterior).

E agradeço a todos que, ainda que seus nomes não foram citados aqui, contribuíram no desenvolvimento desse trabalho, direta ou indiretamente. Muito obrigada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: SISTEMAS LÍQUIDO-CRISTALINOS COMO POTENCIAL ESTRATÉGIA PARA ADMINISTRAÇÃO VAGINAL DE ÁCIDO P-CUMÁRICO NO TRATAMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

AUTORA: PAULA SCANAVEZ FERREIRA

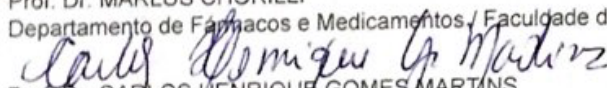
ORIENTADOR: MARLUS CHORILLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de conhecimento: Sem Área de Conhecimento pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARLUS CHORILLI

Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. CARLOS HENRIQUE GOMES MARTINS

Departamento de Microbiologia / Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. ARNÓBIO ANTONIO DA SILVA JUNIOR

Departamento de Farmácia / Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Araraquara, 24 de janeiro de 2020

RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é o tipo mais comum de vaginite aguda entre as mulheres, causada por fungos do gênero *Candida* spp. A *Candida albicans* é a espécie responsável por 80-90% dos casos, contudo nos últimos anos, houve um aumento no número de casos envolvendo outras espécies, sendo a *Candida glabrata*, a segunda mais reportada e mais resistente aos tratamentos convencionais. As terapias existentes para CVV apresentam desvantagens devido aos efeitos colaterais dos agentes antifúngicos convencionais além da resistência fúngica prevalente. Como alternativa, compostos naturais como o ácido *p*-cumárico (*p*-AC) vêm sendo estudados devido à sua potencial atividade antifúngica. Todavia, seu caráter lipofílico dificulta sua solubilidade em água, diminuindo sua eficácia. A incorporação do *p*-AC em um sistema de liberação de fármacos (SLF), como os cristais líquidos (CLs), pode auxiliar na sua administração tópica, e assim aumentar sua solubilidade, eficácia, reduzir efeitos colaterais sistêmicos e potencializar sua ação na mucosa vaginal. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo desenvolver sistemas líquido-cristalinos com propriedades mucoadesivas para liberação controlada do ácido *p*-cumárico no tratamento de candidíase vulvovaginal, via administração tópica. A atividade antifúngica do *p*-AC foi avaliada a partir dos ensaios de concentração inibitória mínima (CIM), concentração fungicida mínima (CFM), formação de biofilme e ensaio *in vivo* contra cepas de *C. albicans* (SC5314), *C. glabrata* (ATCC 2001) e *C. krusei* (ATCC 6258). Para o desenvolvimento das formulações, foram construídos dois diagramas de fases constituídos por ácido oleico e colesterol (5:1), uma dispersão de poloxamer a 16% e uma fase surfactante. Em relação a esta fase, duas substâncias foram testadas: trietanolamina (TEA) e oleato de trietanolamina (TEA-Oleato). Após uma pré avaliação dos pontos selecionados de cada diagrama, dois sistemas (P24 e P29) do diagrama TEA-Oleato foram caracterizados visualmente, por microscopia de luz polarizada, reologia, análise de perfil de textura, análise de mucoadesão *in vitro* e perfis de liberação, permeação e retenção. Além dos sistemas originais, foram avaliadas suas respectivas diluições em muco artificial vaginal (30 e 100% MVA), a fim de mimetizar o sítio de aplicação e verificar possíveis modificações nos CLs quando em contato com o ambiente vaginal. Os valores de CIM foram de 5000µg.mL⁻¹ para *p*-AC, 1,0µg.mL⁻¹ para anfotericina B (Anf. B) e ambas cepas foram resistentes ao fluconazol (Fluco). O valor de CFM para o *p*-AC foi 6000µg.mL⁻¹. A partir dos resultados *in vitro*, observou-se que o *p*-AC demonstrou melhor inibição dos biofilmes maduros que Anf. B e Fluco. *p*-AC inibiu 98% do biofilme de *C. albicans* e 92% de *C. glabrata* apenas com o seu valor da CFM enquanto que a Anf. B demonstrou taxas de inibição de 96% e 65% respectivamente, porém com seu valor de CIM aumentado em 1000x. À 1mg.mL⁻¹, Fluco ainda apresentou menor eficácia, inibindo apenas de 30-40% dos biofilmes. Os sistemas incorporados apresentaram perfil mucoadesivo, mesofases líquido-cristalinas (presença de cruzes de Malta e estrias), alta organização estrutural e pseudoplasticidade, parâmetros desejáveis para formulações tópicas. Eles também apresentaram perfis de liberação controlados em 12h (46% - 50% de *p*-AC liberado) quando comparado ao fármaco livre (87%) assim como diminuíram a permeação do composto na mucosa vaginal de 38% para 9%, o que pode evitar efeitos sistêmicos. No ensaio *in vivo*, os CLs aumentaram a atividade antifúngica do Fluco e do *p*-AC, diminuíram a presença de formas filamentosas, além de que, os sistemas incorporados com *p*-AC apresentaram resultados similares àqueles incorporados com Fluco. A partir dos resultados obtidos, o *p*-AC demonstrou ser um composto natural com atividade antifúngica contra espécies do gênero *Candida* spp. A partir do presente trabalho foi possível obter CLs com propriedades desejáveis para administração vaginal tópica do *p*-AC como potencial SLF para tratamento da candidíase vulvovaginal.

Palavras-chave: Ácido *p*-cumárico, candidíase vulvovaginal, sistemas líquido-cristalinos, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, biofilme.

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is the most common type of acute vaginitis among women, caused by fungi of the genus *Candida* spp. *Candida albicans* is the species responsible for 80-90% of cases, however in recent years, there has been an increase in the number of cases involving other species, with *Candida glabrata* being the second most reported and most resistant to conventional treatments. Existing therapies for VVC have disadvantages due to the side effects from conventional antifungal agents besides the prevailing fungal resistance. As an alternative, natural compounds such as *p*-coumaric acid (*p*-CA) have been studied due to their potential antifungal activity. However, its lipophilic character hinders its solubility in water, reducing its effectiveness. The incorporation of *p*-CA into a drug delivery system (DDS), such as liquid crystals (LCs), can assist in its topical administration, therefore increase its solubility, effectiveness, reduce systemic side effects and enhance its activity on the vaginal mucosa. Thus, this work aimed to develop liquid-crystalline systems with mucoadhesive properties for controlled release of *p*-CA in the treatment of vulvovaginal candidiasis, via topical administration. The antifungal activity of *p*-CA was analysed by assays of minimum inhibitory concentration (MIC), minimum fungicidal concentration (MFC), biofilm formation and *in vivo* assay against strains of *C. albicans* (SC5314), *C. glabrata* (ATCC 2001) and *C. krusei* (ATCC 6258). For the development of the formulations, two phase-diagrams were constructed consisting of oleic acid and cholesterol (5:1), a dispersion of poloxamer 16% and a surfactant phase. Regarding this phase, two substances were tested: triethanolamine (TEA) and triethanolamine oleate (TEA-Oleate). After a pre-evaluation of the selected points from each diagram, two systems (P24 and P29) from the TEA-Oleate diagram were characterized visually, by polarized light microscopy, rheology, texture profile analysis, *in vitro* mucoadhesion analysis and release, permeation and retention profiles. In addition to the original systems, their respective dilutions in artificial vaginal mucus (30 and 100%AVM) were evaluated in order to mimic the application site and verify possible changes in the LCs structure when in contact with the vaginal environment. MIC values were 5000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for *p*-CA, 1.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for amphotericin B (Amph. B) and both strains were resistant to fluconazole (Fluco). The MFC value for *p*-CA was 6000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. From the *in vitro* results, it was observed that *p*-CA demonstrated better inhibition of mature biofilms than Amph. B and Fluco. *p*-CA inhibited 98% of the *C. albicans* biofilm and 92% of *C. glabrata*, only with its CFM value, while Amph. B exhibited inhibition rates of 96% and 65% respectively, but with its MIC value increased by 1000x. At 1mg.mL⁻¹, Fluco was still less effective, inhibiting only 30-40% of biofilms. *p*-CA loaded systems presented mucoadhesive profile, liquid crystalline mesophases (presence of Maltese crosses and striated structures), high structural organization and pseudoplasticity, desirable parameters for topical formulations. They also presented controlled release profiles in 12h (46% - 50% of released *p*-CA) when compared to the free drug (87%) as well as decreased the permeation of the compound in the vaginal mucosa from 38% to 9%, which may avoid systemic effects. In the *in vivo* therapeutic assay, LCs increased the antifungal activity of Fluco and *p*-CA, decreased the presence of filamentous forms, besides that *p*-CA loaded formulations showed similar results to those loaded with Fluco. From the obtained data, *p*-CA proved to be a natural compound with antifungal activity against species of the genus *Candida* spp. From the present work, it was possible to obtain LCs with desirable properties for *p*-CA topical vaginal administration as a potential drug delivery system for the treatment of vulvovaginal candidiasis.

Keywords: *p*-coumaric acid, vulvovaginal candidiasis, liquid-crystalline systems, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and biofilm.

LISTA DE FIGURAS

FIG. 1. PRINCIPAIS MORFOLOGIAS DAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>CANDIDA</i> SPP.	21
FIG. 2. COLORAÇÃO DE COLÔNIAS VIA CULTIVO EM CHROMAGAR.	22
FIG. 3. BIOFILME DE <i>CANDIDA ALBICANS</i> VISTO A PARTIR DE MICROSCÓPIO. AS SETAS MOSTRAM A PRESENÇA DE BLASTOSPOROS E HIFAS. AS ESTRUTURAS MAIORES DE COLORAÇÃO ROXA SÃO CÉLULAS DO EPITÉLIO VAGINAL.	29
FIG. 4. ISÔMEROS DO ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO.	34
FIG. 5. ESTADO INTERMEDIÁRIO DA MATÉRIA, DE UM CRISTAL LÍQUIDO.	37
FIG. 6. FASES ESTRUTURAIS DOS CRISTAIS LÍQUIDOS: (A) LAMELAR, (B) HEXAGONAL E (C) CÚBICA.	39
FIG. 7. ESTRUTURAS QUÍMICAS DA TEA E DO TEA-OLEATO, RESPECTIVAMENTE.	42
FIG. 8. SISTEMA AUTOMÁTICO COM CÉLULA DE DIFUSÃO VERTICAL DE FRANZ – MICROETTE PLUS.	49
FIG. 9. DIAGRAMAS DE FASES (PONTUAL E DE LINHAS) COMPOSTOS POR FASE AQUOSA, FASE OLEOSA E TEA-OLEATO, APRESENTANDO A DISPOSIÇÃO DE VISCOSIDADE DE CADA PONTO.	54
FIG. 10. DIAGRAMAS DE FASES TERNÁRIOS (PONTUAL E DE LINHAS) COMPOSTOS POR FASE AQUOSA, FASE OLEOSA E TEA, APRESENTANDO A DISPOSIÇÃO DA VISCOSIDADE DE CADA PONTO.	55
FIG. 11. FORMULAÇÕES P24 E P29 SEM FÁRMACO, PRÉ-SELECIONADAS DE CADA DIAGRAMA CONSTRUÍDO.	57
FIG. 12. DESLOCAMENTO DOS SISTEMAS PRÉ-SELECIONADOS NOS DIAGRAMAS APÓS A ADIÇÃO DE MVA.	57
FIG. 13. FOTOMICROGRAFIAS OBTIDAS POR MLP DAS FORMULAÇÕES COMPOSTAS POR TEA-OLEATO COMO TENSOATIVO. COMPARAÇÃO ENTRE OS SISTEMAS COM E SEM ADIÇÃO DO MUCO, NÃO-INCORPORADOS E INCORPORADOS COM <i>P</i> -AC. AS SETAS BRANCAS INDICAM A PRESENÇA DE CRUZES DE MALTA. A) P24 TEA-OLEATO; B) P24 TEA-OLEATO 30%; C) P24 TEA-OLEATO 100%; D) P24 TEA-OLEATO + <i>P</i> -AC; E) P24 TEA-OLEATO 30% + <i>P</i> -AC; F) P24 TEA-OLEATO 100% + <i>P</i> -AC; G) P29 TEA-OLEATO; H) P29 TEA-OLEATO 30%; I) P29 TEA-OLEATO 100%; J) P29 TEA-OLEATO + <i>P</i> -AC; K) P29 TEA-OLEATO 30% + <i>P</i> -AC; L) P29 TEA-OLEATO 100% + <i>P</i> -AC.	60
FIG. 14. FOTOMICROGRAFIAS OBTIDAS POR MLP DAS FORMULAÇÕES COMPOSTAS POR TEA COMO TENSOATIVO. COMPARAÇÃO ENTRE OS SISTEMAS COM E SEM ADIÇÃO DO MUCO, NÃO-INCORPORADOS E INCORPORADOS COM <i>P</i> -AC. AS SETAS BRANCAS INDICAM A PRESENÇA DE CRUZES DE MALTA. A) P24 TEA; B) P24 TEA 30%; C) P24 TEA 100%; D) P24 TEA + <i>P</i> -AC; E) P24 TEA 30% + <i>P</i> -AC; F) P24 TEA 100% + <i>P</i> -AC; G) P29 TEA; H) P29 TEA 30%; I) P29 TEA 100%; J) P29 TEA + <i>P</i> -AC; K) P29 TEA 30% + <i>P</i> -AC; L) P29 TEA 100% + <i>P</i> -AC.	61
FIG. 15. REOGRAMA DA FORMULAÇÃO P24 TEA-OLEATO À 25°C E 37°C, QUANDO INCORPORADA OU NÃO COM <i>P</i> -AC. OS SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM AS CURVAS ASCENDENTES E OS VAZIOS, AS CURVAS DESCENDENTES.	64
FIG. 16. REOGRAMA DA FORMULAÇÃO P24 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 30% DE MVA, À 25°C E 37°C, QUANDO INCORPORADA OU NÃO COM <i>P</i> -AC. OS SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM AS CURVAS ASCENDENTES E OS VAZIOS, AS CURVAS DESCENDENTES.	64
FIG. 17. REOGRAMA DA FORMULAÇÃO P24 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 100% DE MVA, À 25°C E 37°C, QUANDO INCORPORADA OU NÃO COM <i>P</i> -AC. OS SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM AS CURVAS ASCENDENTES E OS VAZIOS, AS CURVAS DESCENDENTES.	64
FIG. 18. REOGRAMA DA FORMULAÇÃO P29 TEA-OLEATO À 25°C E 37°C, QUANDO INCORPORADO OU NÃO COM <i>P</i> -AC. OS SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM AS CURVAS ASCENDENTES E OS VAZIOS, AS CURVAS DESCENDENTES.	65
FIG. 19. REOGRAMA DA FORMULAÇÃO P29 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 30% DE MVA, À 25°C E 37°C, QUANDO INCORPORADA OU NÃO COM <i>P</i> -AC. OS SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM AS CURVAS ASCENDENTES E OS VAZIOS, AS CURVAS DESCENDENTES.	65
FIG. 20. REOGRAMA DA FORMULAÇÃO P29 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 100% DE MVA, À 25°C E 37°C, QUANDO INCORPORADA OU NÃO COM <i>P</i> -AC. OS SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM AS CURVAS ASCENDENTES E OS VAZIOS, AS CURVAS DESCENDENTES.	65
FIG. 21. VARIAÇÃO DO MÓDULO DE ARMAZENAGEM G' (SÍMBOLOS CHEIOS) E DE PERDA G'' (SÍMBOLOS VAZIOS) EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA DA FORMULAÇÃO P24 TEA-OLEATO.	68

FIG. 22. VARIAÇÃO DO MÓDULO DE ARMAZENAGEM G' (SÍMBOLOS CHEIOS) E DE PERDA G'' (SÍMBOLOS VAZIOS) EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA DA FORMULAÇÃO P24 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 30% DE MVA.	68
FIG. 23. VARIAÇÃO DO MÓDULO DE ARMAZENAGEM G' (SÍMBOLOS CHEIOS) E DE PERDA G'' (SÍMBOLOS VAZIOS) EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA DA FORMULAÇÃO P24 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 100% DE MVA.	68
FIG. 24. VARIAÇÃO DO MÓDULO DE ARMAZENAGEM G' (SÍMBOLOS CHEIOS) E DE PERDA G'' (SÍMBOLOS VAZIOS) EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA DA FORMULAÇÃO P29 TEA-OLEATO.	69
FIG. 25. VARIAÇÃO DO MÓDULO DE ARMAZENAGEM G' (SÍMBOLOS CHEIOS) E DE PERDA G'' (SÍMBOLOS VAZIOS) EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA DA FORMULAÇÃO P29 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 30% DE MVA.	69
FIG. 26. VARIAÇÃO DO MÓDULO DE ARMAZENAGEM G' (SÍMBOLOS CHEIOS) E DE PERDA G'' (SÍMBOLOS VAZIOS) EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA DA FORMULAÇÃO P29 TEA-OLEATO COM ADIÇÃO DE 100% DE MVA.	69
FIG. 27. VISCOSIDADE APARENTE DAS FORMULAÇÕES P24 TEA-OLEATO (A) E P29 TEA-OLEATO (B) SEM FÁRMACO.	71
FIG. 28. PERFIL DE TEXTURA DOS SISTEMAS P24 E P29 TEA-OLEATO. AS BARRAS DE COLORAÇÃO CINZA ESCURA SÃO REFERENTES AOS SISTEMAS INCORPORADOS COM <i>P</i> -AC, E AS DE COLORAÇÃO CINZA CLARA SÃO AS FORMULAÇÕES SEM FÁRMACO.	72
FIG. 29. GRÁFICOS DE BARRA PARA AS MEDIDAS DE TRABALHO DA FORÇA MUCOADESIVA DOS SISTEMAS INCORPORADOS OU NÃO COM <i>P</i> -AC, NA TEMPERATURA DE $37\pm0,5^{\circ}\text{C}$. ANÁLISE TWO-way ANOVA E PÓS TESTE TUKEY COM $\alpha = 0,05$, SENDO $*p<0,05$ PARA OS SISTEMAS P24 E $^{+}p<0,05$ PARA OS SISTEMAS P29. ANÁLISE ESTATÍSTICA ENTRE RESULTADOS DO MESMO SISTEMA COM E SEM <i>P</i> -AC. SÍMBOLOS IGUAIS INDICAM VALORES MÉDIOS SEM DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS.	74
FIG. 30. VARREDURA DE ESPECTRO DE <i>P</i> -AC QUANDO DILUÍDO EM METANOL E NA FASE MÓVEL.	76
FIG. 31. CROMATOGRAMAS DO ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO NA CONCENTRAÇÃO DE 50MG.ML^{-1} , OBTIDOS PELO MÉTODO PROPOSTO EM METANOL (A) E EM MEIO RECEPTOR (B).	78
FIG. 32. CURVAS PADRÃO DE ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO EM MEIO RECEPTOR COM INTERVALO DE CONCENTRAÇÃO DE $0,5 - 7,0 \text{MG.ML}^{-1}$ OBTIDA POR CLAE.	78
FIG. 33. CURVAS PADRÃO DE ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO EM METANOL COM INTERVALO DE CONCENTRAÇÃO DE $0,5-7,0\text{MG.ML}^{-1}$ OBTIDA POR CLAE.	79
FIG. 34. SOBREPOSIÇÃO DOS CROMATOGRAMAS OBTIDOS A PARTIR DA ANÁLISE DE SELETIVIDADE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS DESENVOLVIDOS PARA O ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO.	80
FIG. 35. PERFIL DE LIBERAÇÃO DO <i>P</i> -AC (%) DOS DIFERENTES SISTEMAS AVALIADOS DURANTE UM ENSAIO DE 12H.	84
FIG. 36. PERFIL DE PERMEAÇÃO EX-VIVO (%) DO <i>P</i> -AC, EM MUCOSA VAGINAL SUÍNA, QUANDO INCORPORADO EM DIFERENTES MATRIZES, DURANTE UM ENSAIO DE 12H.	88
FIG. 37. RETENÇÃO DO <i>P</i> -AC (%) NA MUCOSA SUÍNA APÓS 12 HORAS DE EXPERIMENTO. ANÁLISE ONE-way ANOVA E PÓS TESTE TUKEY COM $\alpha = 0,05$, SENDO SÍMBOLOS IGUAIS INDICAM VALORES MÉDIOS SEM DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS.	90
FIG. 38. LEITURA DA PORCENTAGEM DE CÉLULAS VIÁVEIS NOS BIOFILMES DE <i>CANDIDA</i> SPP TRATADOS COM <i>P</i> -AC LIVRE, ANFOTERICINA B E FLUCONAZOL, A PARTIR DA QUANTIFICAÇÃO POR XTT.	91
FIG. 39. REGIÕES VAGINAIS DE FÊMEAS DE SWISS PARA VISUALIZAÇÃO DO ESTADO DE PSEUDOESTRO E DE SINAIS DE INFECÇÃO. A IMAGEM A MOSTRA A REGIÃO GENITAL COM ASPECTO NORMAL, EM SWISS SADI. A IMAGEM B MOSTRA A REGIÃO GENITAL DE UM ANIMAL INFECTADO EM FASE DE ESTRO, NO INÍCIO DO TRATAMENTO, ONDE AINDA É POSSÍVEL OBSERVAR EDEMA E LIGEIRO ERITEMA. JÁ A IMAGEM C MOSTRA UM ANIMAL INFECTADO NÃO TRATADO, COM REGIÃO ERITEMATOSA E COM SECREÇÃO VINDA DO CANAL VAGINAL (CONFORME APRESENTADO POR BYERS <i>ET AL.</i> , 2012 E SENA, 2013).	95
FIG. 40. FORMULAÇÕES P24 (A) E P29 (B) INCORPORADAS COM <i>P</i> -AC, NOS CANAIS VAGINAIS DE FÊMEAS SWISS.	98
FIG. 41. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO CONTROLE NEGATIVO, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB 40x.	99

FIG. 42. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO CONTROLE POSITIVO, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	
40X.....			99
FIG. 43. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO TRATAMENTO P24+ FLUCO, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	40X.
.....			99
FIG. 44. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO TRATAMENTO P29+ FLUCO, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	40X.
.....			99
FIG. 45. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO CONTROLE P24, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB		DE	40X.
OBJETIVA			99
FIG. 46. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO CONTROLE P29, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB		DE	40X.
OBJETIVA			99
FIG. 47. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO TRATAMENTO P24+ P-AC, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	40X.....
			100
FIG. 48. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO TRATAMENTO P29+ P-AC, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	40X.....
			100
FIG. 49. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO CONTROLE P-AC LIVRE, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	40X.....
			100
FIG. 50. LEITURA MICROSCÓPICA DOS LAVADOS DO CONTROLE DO SOLVENTE DMSO, EM COLORAÇÃO DE GIEMSA, SOB	OBJETIVA	DE	40X.
.....			100

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE ESPÉCIES DE <i>CANDIDA</i> SPP.	22
TABELA 2. RELAÇÃO DOS ESTÁGIOS DA INFECÇÃO COM A ATIVIDADE DOS FATORES DE VIRULÊNCIA (ADAPTADO DE NAGLIK <i>ET AL.</i> , 2003).	29
TABELA 3. COMPOSIÇÃO DO MUCO VAGINAL ARTIFICIAL	43
TABELA 4. GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS UTILIZADOS NO ENSAIO <i>IN VIVO</i> DE VVC.	52
TABELA 5. APRESENTAÇÃO DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS, SUAS COMPOSIÇÕES, CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E VISUAIS EMPREGANDO TEA-OLEATO.	56
TABELA 6. APRESENTAÇÃO DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS, SUAS COMPOSIÇÕES, CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E VISUAIS EMPREGANDO TEA.	56
TABELA 7. FORMULAÇÕES PRÉ-SELECIONADAS COMO POSSÍVEIS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE P-AC.	58
TABELA 8. VALORES DE ÍNDICE DE FLUXO (N) E ÍNDICE DE CONSISTÊNCIA (K) À $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$	66
TABELA 9. VALORES DA RESISTÊNCIA DO GEL (S) E DO EXPOENTE VISCOELÁSTICO (H) PARA AS FORMULAÇÕES ANALISADAS.	70
TABELA 10. PARÂMETROS ANALISADOS PARA AVALIAR A ADEQUABILIDADE DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO NA ANÁLISE DE P-AC EM METANOL.	76
TABELA 11. PARÂMETROS ANALISADOS PARA AVALIAR A ADEQUABILIDADE DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO NA ANÁLISE DE P-AC EM MEIO RECEPTOR.	77
TABELA 12. RESULTADO DO TRATAMENTO ESTATÍSTICO POR ANOVA FATOR ÚNICO PARA A REGRESSÃO LINEAR DAS CURVAS CONSTRUÍDAS.	79
TABELA 13. EXATIDÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA ANÁLISE DE P-AC NO SISTEMA P24 TEA-OLEATO DILUÍDO EM METANOL.	80
TABELA 14. EXATIDÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA ANÁLISE DE P-AC NO SISTEMA P29 TEA-OLEATO DILUÍDO EM METANOL.	81
TABELA 15. EXATIDÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA ANÁLISE DE P-AC NO SISTEMA P24 TEA-OLEATO DILUÍDO EM SOLUÇÃO RECEPTORA.	81
TABELA 16. EXATIDÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA ANÁLISE DE P-AC NO SISTEMA P24 TEA-OLEATO DILUÍDO EM SOLUÇÃO RECEPTORA.	81
TABELA 17. RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA PRECISÃO INTRA-DIA OU REPRODUTIBILIDADE.	81
TABELA 18. RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA PRECISÃO INTER-DIA OU INTERMEDIÁRIA.	82
TABELA 19. ROBUSTEZ DO MÉTODO ANALÍTICO DE P-AC EM METANOL.	82
TABELA 20. ROBUSTEZ DO MÉTODO ANALÍTICO DE P-AC EM MEIO RECEPTOR.	82
TABELA 21. REPRESENTAÇÃO DOS VALORES OBTIDOS PARA LD E LQ.	83
TABELA 22. TEOR DE P-AC (%) OBTIDO NOS CRISTAIS LÍQUIDOS DA FORMULAÇÃO 24 TEA-OLEATO.	83
TABELA 23. TEOR DE P-AC (%) OBTIDO NOS CRISTAIS LÍQUIDOS DA FORMULAÇÃO 29 TEA-OLEATO.	83
TABELA 24. PERCENTUAL DE P-AC LIBERADO A PARTIR DAS FORMULAÇÕES APÓS 12 HORAS DE ENSAIO.	84
TABELA 25. VALORES DE R^2 REFERENTES AOS DIFERENTES MODELOS MATEMÁTICOS, CALCULADOS PARA O ESTUDO LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO P-AC A PARTIR DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS	85
TABELA 26. PERCENTUAL DE P-AC PERMEADO A PARTIR DAS FORMULAÇÕES APÓS 12 HORAS DE ENSAIO.	89
TABELA 27. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS SISTEMAS INCORPORADOS COM P-AC E FLUCONAZOL CONTRA BIOFILMES DE <i>CANDIDA</i> . OS VALORES REPRESENTAM A PORCENTAGEM DE BIOFILME ERRADICADA APÓS OS TRATAMENTOS.	93
TABELA 28. LOG UFC.ML ⁻¹ DOS LAVADOS VAGINAIS DO PRIMEIRO DIA DE TRATAMENTO AO ÚLTIMO DIA DE TRATAMENTO DE ANIMAIS INFECTADOS COM $2,5 \times 10^8$ CÉLULAS .ML ⁻¹ DE <i>CANDIDA ALBICANS</i> SC5314, N = 5. OS RESULTADOS ESTÃO DESCRITOS COMO MÉDIA DOS VALORES DE CFU OBTIDOS POR GRUPO ± DESVIOS PADRÕES DAS MÉDIAS.	96

LISTA DE ABREVIATURAS

A.O. - Fase Oleosa

CLs – Cristais Líquidos

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Col. – Colesterol

CIM – Concentração Mínima Inibitória

CFM - Concentração Mínima Fungicida

CVV - Candidíase Vulvovaginal

CVVR - Candidíase Vulvovaginal Recorrente

DP - Desvio Padrão

DPR - Desvio Padrão relativo

DMSO - Dimetilsulfóxido

Down-curve – Curva descendente

TEA-Oleato – Oleato de trietanolamina

F.A. – Fase aquosa

Fluco - Fluconazol

G' - Módulo de armazenamento

G'' - Módulo de perda

K – Índice de consistência

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

MLP - Microscopia de Luz Polarizada

MVA - Muco Vaginal Artificial

η – Índice de escoamento

Pa – Pascal

p-AC ou *p*-CA – ácido *p*-cumárico

SF - Separação de Fase

SLC – Sistemas líquido cristalinos

SLT – Sistema líquido transparente

SLTL – Sistema líquido translúcido

SLO – Sistema líquido opaco

SVT – Sistema viscoso transparente

SVTL – Sistema viscoso translúcido

SVO- Sistema viscoso opaco

TEA - Trietanolamina

TPA - Análise de perfil de textura

XTT- 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazólio-5-carboxanilida

Up – curve – Curva ascendente

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. Candidíase Vulvovaginal	18
2.2. Microbiologia das espécies do gênero <i>Candida</i> spp.	20
2.3. Patogenicidade e fatores de virulência.....	22
2.3.1. Adesão.....	23
2.3.2. Produção de enzimas hidrolíticas extracelulares	25
2.3.3. Formação de biofilme e hifas.....	27
2.4. Tratamento da candidíase vulvovaginal.....	30
2.4.1. Resistência das espécies de <i>Candida</i> spp. contra antifúngicos convencionais	31
2.2. Ácido <i>p</i> -cumárico e suas propriedades	33
2.3. Cristais Líquidos e aplicação vaginal.....	36
3. OBJETIVOS.....	39
3.1. Objetivo Geral.....	39
3.2. Objetivos Específicos	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1. Materiais.....	39
4.2. Equipamentos.....	41
4.3. Microrganismos	41
4.4. Métodos	41
4.4.1. Preparo das formulações	41
4.4.2. Construção dos diagramas de fases	42
4.4.3. Seleção das formulações a partir do diagramas de fases	43
4.4.4. Caracterização físico-química dos sistemas liquido-cristalinos	43
4.4.5. Desenvolvimento da metodologia analítica para quantificação do ácido <i>p</i> - cumárico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	46
4.4.6. Avaliação do perfil de liberação do ácido <i>p</i> -cumárico <i>in vitro</i>	48
4.4.7. Avaliação da permeação cutânea do ácido <i>p</i> -cumárico <i>ex vivo</i>	49
4.4.8. Avaliação da retenção do ácido <i>p</i> -cumárico em mucosa suína	49
4.5. Ensaios biológicos.....	50
4.5.1. Obtenção das cepas e condições de crescimento.....	50
4.5.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	50
4.5.3. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	51
4.5.4. Formação de biofilme.....	51
4.5.5. Avaliação da atividade antifúngica em biofilmes de <i>Candida</i> spp.	51
4.5.6. CVV experimental e ensaio terapêutico <i>in vivo</i> utilizando modelo murino	52
4.5.7. Análise da eficácia do tratamento.....	53
4.6. Análise estatística	53
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1. Construção dos diagramas de fases.....	54
5.3. Pré-seleção das formulações.....	56
5.4. Microscopia de luz polarizada.....	58
5.5. Comportamento reológico	61
5.5.1. Análise reológica contínua	62
5.5.2. Análise oscilatória.....	67
5.6. Análise de perfil de textura (TPA).....	71
5.7. Avaliação <i>in vitro</i> da força mucoadesiva	73
5.8. Desenvolvimento do método analítico por CLAE para determinação do ácido <i>p</i> -cumárico.....	75

5.8.1. Determinação do comprimento de onda de absorção máxima do p-AC no espectro ultravioleta-visível (UV-Vis).....	75
5.8.2. Adequabilidade	76
5.8.3. Linearidade	77
5.8.4. Especificidade e Seletividade.....	79
5.8.5. Exatidão	80
5.8.6. Precisão.....	81
5.8.7. Robustez	82
5.8.8. Limite de detecção e Limite de quantificação	83
5.8.9. Determinação do teor (%) de fármaco nos cristais líquidos.....	83
5.9. Perfil de liberação in vitro do ácido p-cumárico	84
5.10. Avaliação da permeação e retenção in vitro do ácido p-cumárico	88
6. Ensaios biológicos	90
6.1. Determinação das concentrações mínimas inibitórias e fungicidas	90
6.2. Avaliação da atividade antifúngica em biofilmes de <i>Candida</i> spp.....	91
6.3. Avaliação dos resultados dos ensaios terapêuticos in vivo.....	93
6.5. Análise citológica do conteúdo vaginal	98
7. CONCLUSÕES.....	101
8. REFERÊNCIAS	101

1. INTRODUÇÃO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção da vulva e da vagina, causada por fungos comensais das mucosas vaginal e digestiva, os quais, devido a alterações do ambiente vaginal, tornam-se patogênicos. De acordo com Fidel (2002) e Holanda *et al.* (2007), é também considerada uma das formas mais comuns de infecções fúngicas oportunistas e o tipo mais comum de vaginite aguda nos países tropicais. A CVV atinge cerca de 75% das mulheres entre a fase da puberdade e a menopausa, pelo menos uma vez na vida, sendo que aproximadamente 50% dessas apresentam ao menos um episódio de recidiva da doença. A maioria dos fungos relacionados a essa patologia pertence ao gênero *Candida*, sendo a espécie *C. albicans* responsável por cerca de 90% dos casos de CVV. (MINOOEIANHAGHIGHI; SEPEHRIAN ; SHOKRI, 2017; BHESANIA ; NARA-YANKHEDKAR, 2017).

O tratamento da CVV apresenta limitações relacionadas ao uso indiscriminado dos antifúngicos, efeitos adversos, toxicidade e interações medicamentosas, proporcionando o desenvolvimento de cepas resistentes aos antifúngicos (PAZ-CRISTOBAL *et al.*, 2013). Deste modo, o estudo de moléculas bioativas de fontes naturais capazes de superar tais limitações, se faz extremamente necessário. Dentre essas moléculas, os compostos fenólicos se destacam como uma promissora classe de agentes antifúngicos naturais, visto que há muitos estudos demonstrando a atividade antimicrobiana de uma variedade destes metabólitos, como é o caso do ácido *p*-cumárico (*p*-AC).

O *p*-AC é um ácido hidroxicinâmico que pertence a uma classe importante de metabólitos secundários amplamente encontrados em plantas superiores e também em bebidas, como chás, vinhos e café (TEODORO *et al.*, 2015). Grande parte do interesse no *p*-AC está relacionado às suas atividades antioxidante e antitumoral (ZANG *et al.*, 2000; ESPINOSA *et al.*, 2015), entretanto, sua baixa toxicidade, facilidade de ser encontrado na natureza e ação antimicrobiana faz dele um componente vantajoso para ser utilizado no tratamento de CVV (PEI *et al.*, 2016). Todavia, as propriedades biológicas do *p*-AC podem ser afetadas pela sua baixa solubilidade em solventes aquosos (FERREIRA *et al.*, 2018), o que resulta em sua baixa biodisponibilidade oral. Dessa forma, a fim de superar este obstáculo, estratégias nanotecnológicas são necessárias para aprimorar a utilização deste composto fenólico no tratamento da CVV.

Sistemas de liberação de fármacos (SLF) são alternativas promissoras para a administração vaginal de fármacos hidrofóbicos, uma vez que a liberação sustentada tende a diminuir sua toxicidade, melhorar a estabilidade físico-química, aumentar o tempo de permanência no local alvo, reduzir os efeitos adversos e assim, contribuir para a adesão do paciente ao tratamento (KOLENYAK-SANTOS

et al., 2015). Um exemplo de SLF são os cristais líquidos (CLs), os quais apresentam propriedades de líquidos como fluidez, mobilidade e regiões desorganizadas, mas também de sólidos, como rigidez, ordem estrutural e ligações definidas (CHORILLI *et al.*, 2009). Tratando-se da aplicação vaginal, é interessante que esses sistemas apresentem propriedades mucoadesivas, de modo a evitar o vazamento das formulações devido à diluição do sistema em contato com as secreções vaginais ou à ação auto-limpante do trato vaginal (OKADA; HILLERY, 2001; PEREIRA; BRUSCHI, 2011). Para isso, polímeros podem ser adicionados à fase aquosa, como é o caso do Poloxamer 407, um copolímero tri-bloco que consiste em um bloco hidrofóbico central de polipropileno glicol, flanqueado por dois blocos hidrofílicos de polietileno glicol (PEG) e que, em concentrações entre 20-30% gelifica à temperatura ambiente e corporal, mas liquefaz quando resfriado a 4°C (BENTLEY *et al.*, 1999; CAFAGGI *et al.*, 2005; RAMOS *et al.*, 2015).

Portanto, tendo em vista os efeitos adversos causados pelo atual tratamento convencional de CVV a base de antifúngicos, pretendeu-se avaliar se o potencial antifúngico do ácido *p*-cumárico incorporado em sistemas líquido-cristalinos contra cepas de *Candida* spp. Suas propriedades biológicas fazem dele um componente vantajoso para ser utilizado, ademais, não há relatos na literatura de sua incorporação em cristais líquidos, a qual pode promover uma ação sinérgica, aumentando a atividade antifúngica deste composto fenólico.

7. CONCLUSÕES

Os sistemas desenvolvidos com TEA-Oleato demonstraram propriedades de viscosidade, mucoadesão e características líquido-cristalinas (como a visualização de estrias e cruzeiros de malta) interessantes para aplicação tópica na mucosa vaginal. A utilização do MVA em diferentes proporções nos sistemas forneceu um *insight* de como o ambiente vaginal pode alterar as propriedades e as mesofases dos CLs. Ademais, ambos P24 e P29 TEA-Oleato apresentaram perfis de liberação controlada do fármaco, diminuindo sua permeabilidade na mucosa e propiciando sua retenção pela mesma.

O ácido *p*-cumárico apresentou atividade fungicida e fungistática contra cepas de referência (ATCC) de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei*. Os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* foram promissores porque observou-se uma redução quase total dos biofilmes, tanto no tratamento utilizando o fármaco livre quanto ele incorporado nos sistemas. Em relação ao ensaio *in vivo*, as formulações P24 e P29 TEA-Oleato incorporadas com *p*-AC mostraram um desempenho positivo no tratamento da CVV, visto que reduziram significativamente a carga de fungos, diminuíram a presença de formas filamentosas e conseqüentemente proporcionaram uma melhora no edema e eritema presentes nas regiões vaginais dos animais. A partir dos resultados obtidos com o fluconazol incorporado nos CLs em comparação com sua forma livre (em solução), as formulações desenvolvidas também aumentaram a sua eficácia. Já o *p*-AC incorporado, apenas com seu valor de CFM, apresentou um resultado semelhante ao do fluconazol (1000x CIM) no último dia de tratamento para ambos os sistemas. Este resultado mostra o potencial deste composto fenólico em ser utilizado no tratamento de CVV. De maneira geral os sistemas desenvolvidos demonstram ser uma abordagem interessante e inovadora para o tratamento de candidíase vulvovaginal.

8. REFERÊNCIAS

- ABDEL-WAHAB, M. Influence of *p*-coumaric acid on doxorubicin-induced oxidative stress in rat's heart. **Pharmacological Research**, v. 48, n. 5, p.461-465, 2003.
- ACHKAR, J. M.; FRIES, B. C. Candida infections of the genitourinary tract. **Clinical Microbiology Reviews**, 23:253–73, 2010.
- ADISAKWATTANA, S. et al. Structure–Activity Relationships of Trans-Cinnamic Acid Derivatives on α -Glucosidase Inhibition. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 11, p. 2893–2896, 2004.
- ALVES, C. T. et al. Antifungal activity of phenolic compounds identified in flowers from North Eastern Portugal against Candida species. **Future Microbiology**, v. 9, n. 2, p.139-146, 2014.

- AGUIAR, M. M. G. B. de. **Obtenção de gel mucoadesivo de nistatina para o tratamento de candidíase oral. Desenvolvimento e caracterização de dispersões sólidas de nistatina.** 2016. 231 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo - Usp, São Paulo, 2016.
- ALMEIDA, I.F.; BAHIA, M.F. Reologia: interesse e aplicação na área cosmetic farmacêutica. **Cosmetics & Toiletries**, v.15, n.3, p.96-100, 2003.
- ALVES, C.T.; WEI, X.Q.; SILVA, S. et al. Candida albicans promotes invasion and colonization of Candida glabrata in a reconstituted human vaginal epithelium. **Journal of Infection**, v. 69, p. 396–407, 2014.
- AKDEMIR, F. E.; ALBAYRAK, M.; ,CALIK, M.; et al. The Protective Effects of p-Coumaric Acid on Acute Liver and Kidney Damages Induced by Cisplatin. **Biomedicines**, v. 5, n. 4, p.18-29, 2017.
- AMALAN, V.; NATESAN, V.; DHANANJAYAN, I.; et al. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of p-coumaric acid in diabetic rats, role of pancreatic GLUT 2: In vivo approach. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 230–236, 2016.
- AMOURI, I.; SELLAMI, H.; BORJI, N. et al. Epidemiological survey of vulvovaginal candidosis in Sfax, Tunisia. **Mycoses**, v. 54, p. 499–505, 2011.
- ANDERSON, M. R.; KLINK, K.; COHRSEN, A. Evaluation of vaginal complaints. **Journal of the American Medical Association**, v. 291, p. 1368-79, 2004.
- ARAUJO, P. R.; CALIXTO, G.M.F.; SILVA, I. C.; ZAGO, L. H. P.; OSHIRO JUNIOR, J. A.; PAVAN, F. R.; RIBEIRO, A. O.; FONTANA, C. R.; CHORILLI, M. Mucoadhesive In Situ Gelling Liquid Crystalline Precursor System to Improve the Vaginal Administration of Drugs. **AAPS Pharmscitech**, v. 20, p. 1-12, 2019.
- ASCIOGLU, S.; REX, J. H.; DE PAUW, B. et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 7–14, 2002.
- AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**, 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 64, 65, 344, 345, 346.
- BAILLIE, G. S.; DOUGLAS, L. J. Matrix polymers of Candida biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, vol. 46, pg. 397-403, 2000.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p.71-79, 2016.

- BAMRUNGSAP, S. et al. Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. **Nanomedicine**, v. 7, n. 8, p.1253-1271, 2012.
- BARRADAS, T. N. et al. Development and characterization of micellar systems for application as insect repellents. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 454, n. 2, p.633-640, 2013.
- BARRAL, B. et al. Evaluating the response to *Fusarium ananatum* inoculation and antifungal activity of phenolic acids in pineapple. **Fungal Biology**, v. 121, n. 12, p.1045-1053, 2017.
- BARUAH, A.; PATHAK, A.K.; OJHA, K. Phase behavior and thermodynamic properties of lamellar liquid crystal developed for viscoelastic surfactant based fracturing fluid. **Chemical Engineering Sciences**, 131, 146–154, 2015.
- BATES, D. W. et al. Mortality and Costs of Acute Renal Failure Associated with Amphotericin B Therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 5, p.686-693, 2001.
- BEER, D. de et al. Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as In Vivo Antioxidants of Wine. **South African Journal Of Enology & Viticulture**, v. 23, n. 2, p.48-61, 2017.
- BENEDICT, K. et al. Estimation of Direct Healthcare Costs of Fungal Diseases in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, Volume 68, Issue 11, pages 1791–1797, 2019.
- BENNETT, J. E.; IZUMIKAWA, K.; MARR, K. A. Mechanism of increased fluconazole resistance in *Candida glabrata* during prophylaxis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, p. 1773–1777, 2004.
- BENTLEY, M. V. L. B. et al. Influence of lecithin on some physical chemical properties of poloxamer gels: rheological, microscopic and in vitro permeation studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 193, p. 49-55, 1999.
- BERNEGOSSI, Jéssica. **Desenvolvimento, caracterização e ação anti-biofilme oral de sistemas nanoestruturados bioadesivos contendo o peptídeo KSL-W**. 2014. p. 107. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Araraquara, 2014.
- BHARGAVA, A. et al. Identification of *Candida albicans* by using different culture medias and its association in potentially malignant and malignant lesions. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 2, n. 3, p.188-193, 2011.
- BHESANIA, A. H.; NARAYANKHEDKAR, A. Vulvovaginal Candidosis. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p.240-250, 2017.
- BITEW, A.; ABEBAW, Y. Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern. **Bmc Women's Health**, v. 18, n. 1, p.1-10, 2018.
- BLOSTEIN, F.; LEVIN-SPARENBERG, E.; WAGNER, J.; FOXMAN, B. Recurrent vulvovaginal candidiasis. **Annals Of Epidemiology**, v. 27, n. 9, p. 575-582, 2017.

- BODDUPALLI, B. et al. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 1, n. 4, p.381-387, 2010.
- BOJSEN, R.; REGENBERG, B.; FOLKESSON, A. Saccharomyces cerevisiae biofilm tolerance towards systemic antifungals depends on growth phase. **BMC Microbiology**, v. 14, n. 1, p.1-10, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-014-0305-4>.
- BRADY, J. et al. Polymer properties and characterization. In: YIHONG, Qiu (Editor). **Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice**. 2^a. Ed. Amsterdam: Academic Press, 2016. p. 181–223.
- BRASIL, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**, RDC nº 166, de 24 de julho de 2017.
- CAFAGGI, S. et al. Preparation and evaluation of a chitosan salt–poloxamer 407 based matrix for buccal drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 102, p. 159-169, 2005.
- CALDERONE, R. A.; FONZI, W. A. Virulence factors of Candida albicans. **Trends In Microbiology**, v. 9, n. 7, p.327-335, 2001.
- CALIXTO, G. et al. Nanotechnology-based drug delivery systems for treatment of oral cancer: a review. **International Journal of Nanomedicine**, p.3719-3735, 2014.
- CALIXTO, G. et al. A curcumin-loaded liquid crystal precursor mucoadhesive system for the treatment of vaginal candidiasis. **International Journal of Nanomedicine**, p.4815-4824, 2015.
- CALIXTO, G. M. F. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos contendo peptídeo análogo à adesina do Streptococcus mutans**. 2013. p. 105. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas (São Paulo – Brasil).
- CANTÓN, E. et al. Minimum fungicidal concentrations of amphotericin B for bloodstream Candida species. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, v. 45, n. 3, p.203-206, 2003.
- CAPOBIANCO, J. O.; LERNER, C. G.; GOLDMAN, R. C. Application of a fluorogenic substrate in the assay of proteolytic activity and in the discovery of a potent inhibitor of Candida albicans aspartic proteinase. **Analytical Biochemistry**, v. 204, p. 96-102, 1992.
- CARAMELLA, C. M. et al. Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 92, p.39-52, 2015.
- CARRARA, M.A. et al. A New Model of Vaginal Infection by Candida albicans in Rats. **Mycopathologia**, v. 170, p. 331–338, 2010.
- CASSONE, A. et al. Evidence for a correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 156, p. 777–83, 1987.

- CDC - Center For Disease Control And Prevention. **Vulvovaginal Candidiasis: 2015 STD Treatment Guidelines**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/std/tg2015/candidiasis.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2020.
- CETIN, M.; OCAK, S.; GUNGOREN, A.; HAKVERDI, A.U. Distribution of Candida species in women with vulvovaginal symptoms and their association with different ages and contraceptive methods. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 39, p. 584–8, 2007.
- CEUA-FIOCRUZ. **Manual de utilização de animais**. FIOCRUZ – Rio de Janeiro, 2008. Disponível em http://www.castelo.fiocruz.br/vpplr/comissoes_camarastecnicas/Manual_procedimentos.pdf (pág. 39) acesso em: 07/11/2019.
- CHAFFIN, W. L. Candida albicans cell wall proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, p. 495–544, 2008.
- CHANDRA, J. et al. Biofilm formation by the fungal pathogen Candida albicans: development, architecture, and drug resistance. **Journal of Bacteriology**, v. 183, p. 5385–5394, 2001.
- CHANDRASEKAR, P. Management of invasive fungal infections: a role for polyenes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 3, p.457-465, 14 dez. 2010.
- CHANG, J. Y. et al. Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 241, n. 1, p.155-163, 2002.
- CHAKRABARTI, A.; NAYAK, N.; TALWAR, P. In vitro proteinase production by Candida species. **Mycopathologia**, v. 114, p. 163–8, 1992.
- CHENG, G. et al. Comparison between Candida albicans agglutinin-like sequence gene expression patterns in human clinical specimens and models of vaginal candidiasis. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 1656–1663, 2005.
- CHORILLI, M. et al. Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos empregando silicone fluido de co-polímero glicol e poliéter funcional siloxano. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p.1036-1040, 2009.
- CHORILLI, M. et al. Structural characterization and in vivo evaluation of retinyl palmitate in non-ionic lamellar liquid crystalline system. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p.182-188, 2011.
- CHORILLI, M. **Desenvolvimento e caracterização físico-química de sistemas nanoestruturados contendo palmitato de retinol: controle microbiológico, avaliação da segurança e eficácia no tratamento do envelhecimento cutâneo**. 2007, p. 196. Tese (Doutorado) –Curso de

Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Araraquara-SP.

- Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference methods for broth dilution antifungal susceptibility tests for yeasts; approved standards**. CLSI document (M27-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- COMO, J. A.; DISMUKES, W. E. Oral Azole Drugs as Systemic Antifungal Therapy. **New England Journal of Medicine**, v. 330, n. 4, p.263-272,1994.
- CORDOBÉS B.F., FRANCO J.M., GALLEGOS C. Rheology of the lamellar liquid-crystalline phase in polyethoxylated alcohol/water/heptane systems. **Grasas Aceites**. 56:96–105, 2005.
- CORMACK, B. P.; GHORI, N.; FALKOW, S. An adhesin of the yeast pathogen *Candida glabrata* mediating adherence to human epithelial cells. **Science**, v. 285, p. 578–82, 1999.
- DE LAS PENAS, A.; PAN, S.J.; CASTANO, I.; ALDER, J.; CREGG, R.; CORMACK, B. P. Virulence-related surface glycoproteins in the yeast pathogen *Candida glabrata* are encoded in subtelomeric clusters and subject to RAP1- and SIR-dependent transcriptional silencing. **Genes & Development**, v. 17, p. 2245–2258, 2003.
- DE OLIVEIRA SANTOS, G. C. et al. *Candida* Infections and Therapeutic Strategies: Mechanisms of Action for Traditional and Alternative Agents. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1351, 2018.
- DEL-CURA, I. G.; GARCÍA-DE-BLAS, F. G.; CUESTA, T. S., *et al.* Patient preferences and treatment safety for uncomplicated vulvovaginal candidiasis in primary health care. **BMC Public Health**, vol. 11: 63, 2011.
- DENNING, D.W. et al. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 18, n. 11, p. e339-e347, 2018.
- DIEKEMA, D. et al. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 73, p. 45–48, 2012.
- DIGNANI, M.; SOLOMKIN, J.; ANAISSIE, E. *Candida*. In: Anaissie E., McGinnis M., Pfaller M. **Clinical mycology**. USA: Elsevier, 197–231, 2009.
- DOMERGUE, R. et al. Nicotinic acid limitation regulates silencing of *Candida* adhesins during UTI. **Science**, v. 308, p. 866–870, 2005.
- DOVNIK, A. et al. Treatment of vulvovaginal candidiasis: a review of the literature. **Acta Dermatovenerologica Alpina Pannonica Et Adriatica**, v. 24, n. 1, p.5-7, 2015.
- ELOFF, J. N. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p.1-8, 22, 2019.

- ESPINOSA, R. R. et al. Antioxidant activity of phenolic compounds added to a functional emulsion containing omega-3 fatty acids and plant sterol esters. **Food Chemistry**, v. 182, p.95-104, 2015.
- ESPINEL-INGROFF, A. et al. Testing Conditions for Determination of Minimum Fungicidal Concentrations of New and Established Antifungal Agents for *Aspergillus* spp.: NCCLS Collaborative Study. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 9, p.3204-3208, 2002.
- EL-SEEDI, H. R. et al. Biosynthesis, Natural Sources, Dietary Intake, Pharmacokinetic Properties, and Biological Activities of Hydroxycinnamic Acids. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, v. 60, n. 44, p.10877-10895, 7, 2012.
- FARIA, N. C. G. et al. Enhanced activity of antifungal drugs using natural phenolics against yeast strains of *Candida* and *Cryptococcus*. **Letters In Applied Microbiology**, v. 52, n. 5, p.506-513, 2011.
- FERREIRA, S. B. et al. Rheological, mucoadhesive and textural properties of thermoresponsive polymer blends for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 2015, p. 55:164–178.
- FERREIRA, P. S. et al. A Review of Analytical Methods for p-Coumaric Acid in Plant-Based Products, Beverages, and Biological Matrices. **Critical Reviews In Analytical Chemistry**, p.1-11, 2018.
- FERRER, J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 71, p. 21–7, 2000.
- FIDEL P. L. Jr. Distinct protective host defenses against oral and vaginal candidiasis. **Med. Mycol.** 40(4):359-75. 2002.
- FIDEL, P.; CUTRIGHT, J.; TAIT, L.; SOBEL, J. A Murine Model of *Candida glabrata* Vaginitis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 173, n. 2, p. 425-431, 1996.
- FIDEL JR, P. L.; CUTRIGHT, J.; STEELE, C. Effects of Reproductive Hormones on Experimental Vaginal Candidiasis. **Infection and Immunity**, v. 8, n. 2, p. 651- 657, 2000.
- FIDEL, P. L. JR; VAZQUEZ, J. A.; SOBEL, J. D. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 1, p. 80–96, 1999.
- FIUME, M. M. et al. Safety Assessment of Triethanolamine and Triethanolamine-Containing Ingredients as Used in Cosmetics. **International Journal Of Toxicology**, v. 32, n. 3, p.59-83, 2013.
- FONSECA-SANTOS, Bruno. **Sistemas precursores de cristais líquidos mucoadesivos para administração bucal de curcumina no tratamento do câncer bucal**. 2015. p.117. Dissertação

(Mestrado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Araraquara-SP.

- FONSECA-SANTOS, B. et al. Trans-resveratrol-loaded nonionic lamellar liquid-crystalline systems: structural, rheological, mechanical, textural, and bioadhesive characterization and evaluation of in vivo anti-inflammatory activity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 6883-6893, 2017.
- FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 2005, vol.41, n.3, pp.301-313. ISSN 1516-9332.
- FOTI, M. et al. Flavonoids, Coumarins, and Cinnamic Acids as Antioxidants in a Micellar System. Structure–Activity Relationship. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, v. 44, n. 2, p.497-501, 1996.
- FOX, E. P.; NOBILE, C. J. The role of *Candida albicans* biofilms in human disease. In: Dietrich LA, Friedmann TS, editors. *Candida albicans* symptoms, causes and treatment options. **Nova Science Publishers**; p. 1 - 24, 2013.
- FRIBERG, S. E.; LIANG, Y.; LOCKWOOD, F. E. Non-Aqueous Lyotropic Liquid Crystals From Amphiphiles. **Journal of Dispersion Science And Technology**, v. 8, n. 4, p.407-422, 1987.
- GALAN-LADERO, M.A. et al. Enzymatic activities of *Candida tropicalis* isolated from hospitalized patients. **Medical Mycology**, v. 48, p. 207–210, 2010.
- GHANNOUM, M. A. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, p. 122-143, 2000.
- GONÇALVES, B. et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 905-927, 2016.
- GOODBY, J. W. et al., An introduction to Materials Discussion No. 4: Molecular topology in liquid crystals. Grasmere. **Journal Of Materials Chemistry**, v. 11, n. 11, p. 2631-2636, 2001.
- GREEN, C.B. et al. RT-PCR detection of *Candida albicans* ALS gene expression in the reconstituted human epithelium (RHE) model of oral candidiasis and in model biofilms. **Microbiology**, v. 150, p. 267–275, 2004.
- GROOT, P. W. J. et al. The cell wall of the human pathogen *Candida glabrata*: differential incorporation of novel adhesin-like wall proteins. **Eukaryotic Cell**, v. 7, p. 1951–1964, 2008.
- GROOT, P. W. J. et al. Adhesins in Human Fungal Pathogens: Glue with Plenty of Stick. **Eukaryotic Cell**, v. 12, n. 4, p. 470-481, 2013.

- GULATI, M.; NOBILE, C. J. Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes And Infection**, v. 18, n. 5, p.310-321, 2016.
- GUO, C. et al. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23-24, p.1032-1040, 2010.
- HACIOGLU, M. et al. In vitro activities of antifungals alone and in combination with tigecycline against Candida albicans biofilms. **Peerj**, v. 6, p.1-17, 25, 2018.
- HACHEM, R. et al. The changing epidemiology of invasive candidiasis: Candida glabrata and Candida krusei as the leading causes of candidemia in hematologic malignancy. **Cancer**, v. 112, p. 2493–2499, 2008.
- HAMAD, M. et al. Utility of the oestrogen-dependent vaginal candidosis murine model in evaluating the efficacy of various therapies against vaginal Candida albicans infection. **Mycoses**. v. 49, n. 2, p.104, 2006.
- HAZEN, K. C.; PLOTKIN, B. J.; KLIMAS, D. M. Influence of growth conditions on cell surface hydrophobicity of Candida albicans and Candida glabrata. **Infection and Immunity**, v. 54, p. 269–271, 1986.
- HENRIQUES, M. et al. Experimental methodology to quantify Candida albicans cell surface hydrophobicity. **Biotechnology Letters**, v. 24, p. 1111–1115, 2002.
- HOLANDA, A. A. R. de et al. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 29, n. 1, p.1-9, 2007.
- HUBE, B. et al. Secreted lipases of Candida albicans: cloning, characterization and expression analysis of a new gene family with at least ten members. **Archives of Microbiology**, v. 174, n. 5, p.362-374, 2000.
- HYDE, S. T. Identification of Lyotropic Liquid Crystalline Mesophases. In: HOLMBERG, K. **Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry**. New York: Wiley, v.2, 2002. p.299-332.
- HURLER, J.; ENGESLAND, A.; KERMANY, B. P.; SKALKO-BASNET, N. Improved texture analysis for hydrogel characterization: gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, n. 1, p. 180–188.67, 2012.
- IBRAHIM, A. S. et al. Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of Candida albicans. **Infection and immunity**, v. 63, p. 1993–1998, 1995.
- ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; **ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)**, 2005.

- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.
- JONES, D. S. et al. Rheological, mechanical and mucoadhesive properties of thermoresponsive, bioadhesive binary mixtures composed of poloxamer 407 and carbopol 974P designed as platforms for implantable drug delivery systems for use in the oral cavity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 372, n. 1-2, p.49-58, 2009.
- JONES, D.S.; WOOLFSON, A.D.; BROWN, A. F. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 151, n. 2, p. 223–233, 1997.
- KANTARCIOLU, A. S.; YUCEL, A. Phospholipase and protease activities in clinical Candida isolates with reference to the sources of strains. **Mycoses**, v. 45, p.160–165, 2002.
- KARTHIKEYAN, R.; DEVADASU, C.; BABU, P. S. Isolation, Characterization, and RP-HPLC Estimation of P-Coumaric Acid from Methanolic Extract of Durva Grass (*Cynodon dactylon* Linn.) (Pers.). **International Journal Of Analytical Chemistry**, v. 2015, p.1-7, 2015.
- KENNEDY, M. A.; SOBEL, J. D. Vulvovaginal Candidiasis Caused by Non-albicans Candida Species: new insights. **Current Infectious Disease Reports**, v. 12, n. 6, p. 465-470, 2010.
- KLOTZ, S. A.; DRUTZ, D. J.; ZAJIC, J. E. Factors governing adherence of Candida species to plastic surfaces. **Infection and immunity**, v. 50, n. 1, p. 97–101, 1985.
- KHODDAMI, A.; WILKES, M.; ROBERTS, T. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. **Molecules**, v. 18, n. 3, p.2328-2375, 2013.
- KINSMAN, O.S.; COLLARD A.E., Hormonal factors in vaginal candidiasis in rats. **Infection and immunity**, v.53, p. 498-504, 1986.
- KIM, J. H. et al. Identification of Phenolics for Control of *Aspergillus flavus* Using *Saccharomyces cerevisiae* in a Model Target-Gene Bioassay. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, v. 52, n. 26, p.7814-7821, 2004.
- KHUTORYANSKIY, V. V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, n. 6, p.748-764, 2010.
- KLOUDA, L. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, n.1, p. 338–349, 2015.
- KOFFI, A. A. et al. Modulation of the rheological and mucoadhesive properties of thermosensitive poloxamer-based hydrogels intended for the rectal administration of quinine. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 4, p.328-335, 2006.

- KOLENYAK-SANTOS, F. et al. Nanostructured Lipid Carriers as a Strategy to Improve the In Vitro Schistosomiasis Activity of Praziquantel. **Journal of Nanoscience And Nanotechnology**, v. 15, n. 1, p.761-772, 2015.
- KONG, C. et al. Antiangiogenic Effects of P-Coumaric Acid in Human Endothelial Cells. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 3, p.317-323, 2012.
- KOT, B. et al. Antibiofilm activity of trans-cinnamaldehyde, p-coumaric, and ferulic acids on uropathogenic Escherichia coli. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 45, p.919-924, 2015.
- KRAELING, M. E. K.; BRONAUGH, Robert L. In Vitro Absorption of Triethanolamine Through Human Skin. **Journal of Toxicology: Cutaneous and Ocular Toxicology**, v. 22, n. 3, p.137-145, 2003.
- KUHN, D. M.; VYAS, V. K. The Candida glabrata adhesin Epa1p causes adhesion, phagocytosis, and cytokine secretion by innate immune cells. **FEMS Yeast Research**. v. 12, p. 398 – 414, 2012.
- KUMAR, V.G. et al. Phospholipase C, proteinase and hemolytic activities of Candida spp. isolated from pulmonary tuberculosis patients. **Journal de Mycologie Medicale**, v. 19, p. 3–10, 2009.
- KUMAMOTO, C.A. Candida biofilms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 608–611, 2002.
- KUMAMOTO, C.A.; VINCES, M. D. Contributions of hyphae and hyphaco- regulated genes to Candida albicans virulence. **Cellular Microbiology**, v. 7, p. 1546–54, 2005.
- LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A. Bioavailability of phenolic acids. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 2, p.301-311, 2007.
- LAI, C.-C. et al. Time to positivity of blood cultures of different Candida species causing fungaemia. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, n. 5, p.701-704, 2012.
- LEE, I. S.; BOYCE, M. C.; BREADMORE, M. C. A rapid quantitative determination of phenolic acids in Brassica oleracea by capillary zone electrophoresis. **Food Chemistry**, v. 127, n. 2, p.797-801, 2011.
- LEE, I. et al. Risk factors for fluconazole-resistant Candida glabrata bloodstream infections. **Archives of Internal Medicine**, v. 169, p. 379–383, 2009.
- LEYVA-GÓMEZ, G. et al. Modifications in Vaginal Microbiota and Their Influence on Drug Release: Challenges and Opportunities. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 5, p. 217, 2019.
- LIAO, H.; LIU, S.; WANG, H.; SU, H.; LIU, Z. Enhanced antifungal activity of bovine lactoferrin-producing probiotic Lactobacillus casei in the murine model of vulvovaginal candidiasis. **BMC Microbiology**, v.19, n. 7, p 1-13, 2019.

- LIAO, X. et al. Risk factors for fluconazole-resistant invasive candidiasis in intensive care unit patients: An analysis from the China Survey of Candidiasis study. **Journal of Critical Care**, v. 30, n. 4, p.862.e1-862.e5, 2015.
- LOU, Z. et al. P-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. **Food Control**, v. 25, n. 2, p.550-554, 2012.
- LORENZEN, E. et al. A review of the human vs. porcine female genital tract and associated immune system in the perspective of using mini pigs as a model of human genital Chlamydia infection. **Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p.1-13, 28, 2015.
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p.143-154, 2005.
- LUCERI, C. et al. P-Coumaric acid, a common dietary phenol, inhibits platelet activity in vitro and in vivo. **British Journal Of Nutrition**, v. 97, n. 03, p.458-463, 2007.
- LUO, G.; SAMARANAYAKE, L. P.; YAU, J. Y. Candida species exhibit differential in vitro hemolytic activities. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, p. 2971–4, 2001.
- LUO, G.; SAMARANAYAKE, L.P.; CHEUNG, B.P.; TANG, G. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) detection of HLP gene expression in Candida glabrata and its possible role in in vitro haemolysin production. **APMIS**, v. 112, p. 283–90, 2004.
- MA, B. et al. Assimilation of NAD⁺ precursors in Candida glabrata. **Molecular Microbiology**, 66, 14–25, 2007.
- MACHADO, R. M. et al. Studies and methodologies on vaginal drug permeation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 92, p.14-26, 2015.
- MAHMOUDI, R.M.; ZAFARGHANDI, S.; ABBASABADI, B.; TAVALLAEI, M. The epidemiology of Candida species associated with vulvovaginal candidiasis in an Iranian patient population. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 155, p. 199–203, 2011.
- MARTINS, S. et al. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p.365-373, 2011.
- MARQUELE, F. D. et al. Propolis extract release evaluation from topical formulations by chemiluminescence and HPLC. **Journal of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, v. 41, n. 2, p.461-468, 2006.
- MAZZARINO, L. et al. Curcumin-Loaded Chitosan-Coated Nanoparticles as a New Approach for the Local Treatment of Oral Cavity Cancer. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 1, p. 781-791, 2015.

- MEZZENGA, Raffaele et al. Shear Rheology of Lyotropic Liquid Crystals: A Case Study. **Langmuir**, v. 21, n. 8, p.3322-3333, abr. 2005.
- MINAGI, S.; MIYAKE, Y.; FUJIOKA, Y.; TSURU, H.; SUGINAKA, H. Cell-surface hydrophobicity of *Candida* species as determined by the contact-angle and hydrocarbon-adherence methods. **Journal of general microbiology**; v. 132, p. 1111-1 115, 1986.
- MINOOEIANHAGHIGHI, M.H.; SEPEHRIAN, L.; SHOKRI, H. Antifungal effects of *Lavandula binaludensis* and *Cuminum cyminum* essential oils against *Candida albicans* strains isolated from patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, n. 1, p.65-71, 2017.
- MOHANDAS, V.; BALLAL, M. Distribution of *Candida* species in different clinical samples and their virulence: biofilm formation, proteinase and phospholipase production: a study on hospitalized patients in southern India. **Journal of global infectious diseases**, v. 3, p. 4–8, 2011.
- MONOD, M., G. TOGNI, B. HUBE, and D. Sanglard. Multiplicity of genes encoding secreted aspartic proteinases in *Candida* species. **Molecular Microbiology**, v. 13, p. 357-368, 1994.
- MUKHERJEE, P. K.; CHANDRA, J. *Candida* biofilm resistance. **Drug Resist Update**, v. 7, p. 301-309, 2004.
- NAE, H. Rheological Properties of Topical Formulations. In: DAYAN, Nava. **Handbook of Formulating Dermal Applications: A Definitive Practical Guide**. Somerset: John Wiley & Sons, 2016. p. 287-348.
- NAGLIK, J. R.; CHALLACOMBE, S. J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiology and molecular biology reviews: **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 3, p. 400–428, 2003.
- NAGLIK, J. R.; FIDEL, P. L.; ODDS, F. C. Animal models of mucosal *Candida* infection. **FEMS Microbiology Letters**, v. 283, n. 2, p.129-139, 2008.
- NAGLIK, J. R. et al. Differential expression of *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase and phospholipase B Genes in humans correlates with active oral and vaginal infections. **The Journal of Infectious Diseases**,188:469–79, 2003.
- NARAYANA, R. C.; HARISH, N. M.; GULZAR A, M.; PRABHAKARA, P.; SINGH, A. K.; SUBRAHMANYAM, E. V. S. Formulation and in Vitro Evaluation of in Situ Gels Containing Secnidazole for Vaginitis. **Yakugaku Zasshi**, 129 (5), 569– 574, 2009.
- NASH, E. E. et al. A Murine Model of *Candida glabrata* Vaginitis Shows No Evidence of an Inflammatory Immunopathogenic Response. **PloS One**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2016.

- NAVANEETHAN, D.; RASOOL, M. An experimental study to investigate the impact of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol, on cadmium chloride-induced renal toxicity. **Food & Function**, v. 5, n. 10, p.2438-2445, 2014.
- NETT, J. E.; ANDES, D. R. Antifungal Agents: Spectrum of Activity, Pharmacology, and Clinical Indications. **Infectious Disease Clinics Of North America**, v. 30, n. 1, p.51-83, 2016.
- NISHINARI, K. et al. Parameters of Texture Profile Analysis. **Food Science And Technology Research**, v. 19, n. 3, p.519-521, 2013.
- NYIRJESY, P.; SOBEL, J. D. Vulvovaginal candidiasis. **Obstetrics And Gynecology Clinics Of North America**, v. 30, n. 4, p.671-684, 2003.
- NYIRJESY, P. Chronic vulvovaginal candidiasis. **American Family Physician**, v. 63, n. 4, p. 697-702, 2001.
- ODDS, F. C. et al. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends In Microbiology**, v. 11, n. 6, p.272-279, 2003.
- OKADA, H.; HILLERY, A. M. Vaginal Drug Delivery. In: HILLERY, A. M.; LOYD, A. W.; SWARBRICK, J. **Drug Delivery and Targeting: For Pharmacists and Pharmaceutical Scientists**. New York: Taylor & Francis, 2001.
- OXMAN, D. A. et al. Candidaemia associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is Candida speciation predictive of the susceptibility pattern? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, p. 1460–1465, 2010.
- OYAFUSO, M.H.; CARVALHO, F.C.; TAKESHITA, T.M.; DE SOUZA, A.L.R.; ARAÚJO, D.R.; MERINO, V. et al. Development and in vitro evaluation of lyotropic liquid crystals for the controlled release of dexamethasone. **Polymers (Basel)**. 9(8):1–16, 2017.
- OZKORUCUKLU, S. P. et al. Determination of Dissociation Constants of Some Hydroxylated Benzoic and Cinnamic Acids in Water from Mobility and Spectroscopic Data Obtained by CE-DAD. **Journal Of Chemical & Engineering Data**, v. 54, n. 3, p.807-811, mar. 2009.
- PANAGODA, G. J. et al. Adhesion of Candida parapsilosis to epithelial and acrylic surfaces correlates with cell surface hydrophobicity. **Mycoses**, v. 44, p. 29–35, 2001.
- PAPADOPOULOU, V. et al. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1-2, p.44-50, 2006.
- PAPPAS, P. G. et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, 48:503–35, 2009.
- PATEL, R.; PATEL, T. Liquid Crystals and Their Application in the Field of Drug Delivery. **Colloids In Drug Delivery**, p.311-336, 2010.

- PAULITSCH, A. et al. A 5-year (2000–2004) epidemiological survey of *Candida* and non-*Candida* yeast species causing vulvovaginal candidiasis in Graz, Austria. **Mycoses**, v. 49, p. 471–5, 2006.
- PAZ-CRISTOBAL, M. P.; ROYO, D.; REZUSTA, A.; ANDRÉS-CIRIANO, E.; ALEJANDRE, M. C.; MEIS, J. F.; REVILLO, M. J.; ASPIROZ, C.; NONELL, S.; GILABERTE, Y. Photodynamic fungicidal efficacy of hypericin and dimethyl methylene blue against azole-resistant *Candida albicans* strains. **Mycoses**, v. 57, n. 1, p. 35-42, 2013.
- PEI, K. et al. P-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. **Journal of The Science Of Food And Agriculture**, v. 96, n. 9, p.2952-2962, 2016.
- PELEG, A.Y.; HOGAN, D.A.; MYLONAKIS, E. Medically important bacterial-fungal interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, p. 340-9, 2010.
- PEREIRA, R. R. A.; BRUSCHI, M. L. Vaginal mucoadhesive drug delivery systems. **Drug Development And Industrial Pharmacy**, v. 38, n. 6, p.643-652, 2011.
- PERSYN, A. et al. Monitoring of Fluconazole and Caspofungin Activity against In Vivo *Candida glabrata* Biofilms by Bioluminescence Imaging. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p.1-18, 2018.
- PFALLER, M. A. et al. Caspofungin activity against clinical isolates of fluconazole-resistant *Candida*. **Journal of Clinical microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5729–5731, 2003.
- PFALLER, M. A. et al. In vitro susceptibilities of clinical isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus* species to itraconazole: global survey of 9,359 isolates tested by clinical and laboratory standards institute broth microdilution methods. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 3807–3810, 2005.
- PFALLER M. A.; DIEKEMA D.J. Epidemiology of invasive Candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 133–163, 2007.
- PFALLER, M. A. et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 1366–1377, 2010.
- PFALLER, M. A. et al. Frequency of Decreased Susceptibility and Resistance to Echinocandins among Fluconazole-Resistant Bloodstream Isolates of *Candida glabrata*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 4, p.1199-1203, 2012.
- PFALLER, M. A. et al. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analy-

sis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cut off values. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 82, p. 303–313, 2015.

- PICHOVA, I. et al. Secreted aspartic proteases of *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* and *Candida lusitanae*: inhibition with peptidomimetic inhibitors. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, p. 2669–2677, 2001.
- PIERCE, C. G. et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. **Nature Protocols**, v. 3, n. 9, p.1494-1500, 2008.
- PHILLIPS, A. J. Treatment of non-albicans *Candida* vaginitis with amphotericin B vaginal suppositories. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 192, p. 2009-13, 2005.
- PRAGASAM, S. J.; VENKATESAN, V.; RASOOL, M. Immunomodulatory And Anti-Inflammatory Effect Of p-Coumaric Acid, A Common Dietary Polyphenol On Experimental Inflammation In Rats. **Inflammation**. 2013, 36, 169–176.
- PURKAYASTHA, S; DAHIYA, P. Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants against multi-drug resistant bacteria from clinical isolates. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 5, p.443-450, 2012.
- RAHMAN, D. et al. Murine Model of concurrent oral and vaginal *Candida albicans* colonization to study epithelial host-pathogen interactions. **Microbes and Infection**, v. 9, p. 615 - 622, 2007.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p.755-760, 2006.
- RAMOS, M. et al. Liquid crystal precursor mucoadhesive system as a strategy to improve the prophylactic action of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland against infection by *Candida krusei*. **International Journal of Nanomedicine**, v.10, p. 7455-7466, 2015.
- RATHBONE, M. J. et al. **Modified-Release Drug Delivery Technology**. 2ª Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008. 528 p.
- RENÇBER, S.; KARAVANA, S.Y.; YILMAZ, F.F.; ERAÇ, B.; NENNI, M.; GURER-ORHAN, H. et al. Formulation and evaluation of fluconazole loaded oral strips for local treatment of oral candidiasis. **Journal of Drug Delivery Science Technology**; 49:615–21, 2019.
- REZUSTA, A. et al. In Vitro Fungicidal Photodynamic Effect of Hypericin on *Candida* Species. **Photochemistry And Photobiology**, v. 88, n. 3, p.613-619, 2011.
- RICHTER, S. S. et al. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 2155–62, 2005.

- RODERO, C.F.; CALIXTO, G.; SANTOS, K.C.; SATO, M.R.; RAMOS, M.A.S.; MIRO, M.S. et al. Curcumin-loaded liquid-crystalline systems for controlled drug release and improved treatment of vulvovaginal candidiasis. **Molecular Pharmaceutics**, 15:4491–504, 2018.
- RODRIGUES, J. A. de O. et al. Evaluation of biochemical and serological methods to identify and clustering yeast cells of oral *Candida* species by CHROMagar test, SDS-PAGE and ELISA. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 2, p. 317-326, 2004.
- ROSSONI, R. D. et al. Study of Microbial Interaction Formed by "*Candida krusei*" and "*Candida glabrata*": "*In Vitro*" and "*In Vivo*" Studies. **Brazilian Dental Journal**, v. 28, n. 6, p. 669-674, 2017.
- RUELA, A.L.M.; CARVALHO, F.C.; PEREIRA, G.R. Exploring the phase behavior of monoolein/oleic acid/water systems for enhanced donezepil administration for Alzheimer disease treatment. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 105(1):71–7, 2016.
- SALAMEH, D. et al. Highlight on the problems generated by p-coumaric acid analysis in wine fermentations. **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p.1661-1667, 2008.
- SAMARANAYAKE, L. P.; RAESIDE, J. M.; MACFARLANE, T. W. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species in vitro. **Sabouraudia**, v. 22, p. 201–207, 1984.
- SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. **Journal of Medical Microbiology**, v. 41, n. 5, p.295-310, 1994.
- SAMARANAYAKE, Y. H.; WU, P. C.; SAMARANAYAKE, L. P.; SO, M. Relationship between the cell surface hydrophobicity and adherence of *Candida krusei* and *Candida albicans* to epithelial and denture acrylic surfaces. **APMIS**, v. 103, n. 7-8, p.707-713, 1995.
- SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 1, p.10-24, 2013.
- SAXENA, A.; KALOTI, M.; BOHIDAR, H. B. Rheological properties of binary and ternary protein–polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of salbutamol sulphate from their matrices. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 2, p. 263-270, 2011.
- SCHALLER, M.; BORELLI, C.; KORTING, H.C.; HUBE, B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. **Mycoses**, v. 48, p. 365–77, 2005.
- SEQUEIROS, R. C. P. **Aplicação De Novas Metodologias Analíticas No Estudo De Compostos Fenólicos Em Matrizes Alimentares**. 2009. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

- SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria: fundamentos teóricos e práticos**. 2ª Ed. São Paulo: Artliber, 2006, 240 p.
- SEGAL, E.; FRENKEL, M. Experimental in Vivo Models of Candidiasis. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 1, p. 21, 2018.
- SENA, R. M. M. **Efeitos da Terapia Fotodinâmica mediada por laser de emissão vermelha e azul de metileno em vaginite induzida por "Candida albicans"**. 2013. 87 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais, Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares - Autarquia Associada À Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- SHAH, J. C. et al. Cubic phase gels as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, n. 2-3, p. 229-250, 2001.
- SHAZLY, G. A.; IBRAHIM, M. A.; BADRAN, M. M and ZOHEIR, K. M. A. Utilizing Pluronic F-127 and Gelucire 50/13 Solid Dispersions for Enhanced Skin Delivery of Flufenamic Acid. **Drug Development Research**, p. 1-9, 2012.
- SHOKRI, H.; KHOSRAVI, A. R.; YALFANI, R. Antifungal efficacy of propolis against fluconazole-resistant candida glabrata isolates obtained from women with recurrent vulvovaginal candidiasis. **International Journal Of Gynecology & Obstetrics**, v. 114, n. 2, p.158-159, 12, 2011.
- SIDRIM J, ROCHA M. (2004). **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- SINGH, S.; SOBEL, J.D.; BHARGAVA, P.; BOIKOV, D.; VAZQUEZ, J. A. Vaginitis due to Candida krusei: epidemiology, clinical aspects, and therapy. **Clinical Infectious Diseases**; v. 35, p. 1066– 70, 2002.
- SILVA, S. et al. Characterization of Candida parapsilosis infection of an in vitro reconstituted human oral epithelium. **European Journal Of Oral Sciences**, v. 117, p. 669–675, 2009a.
- SILVA, S. et al. Biofilms of non-Candida albicans Candida species: quantification, structure and matrix composition. **Medical Mycology**, v. 47, n. 7, p.681-689, 2009b.
- SILVA, S. et al. Adherence and biofilm formation of non-Candida albicans Candida species. **Trends In Microbiology**, v. 19, n. 5, p.241-247, 2011.
- SILVA, S. et al. Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 2, p.288-305, 2012.
- SOBEL, J. D. Vulvovaginal candidosis. **The Lancet**, v. 369, n. 9577, p.1961-1971, 2007.
- SOBEL, J. D. et al. Treatment of vaginitis caused by Candida glabrata: use of topical boric acid and flucytosine. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, p. 1297–300, 2003.

- SOBEL, J. D. et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 178, p. 203–1, 1998.
- SOBEL, J. D. et al. Treatment of complicated, *Candida* vaginitis: comparison of single and sequential doses of fluconazole. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 185, p. 363–9, 2001.
- SOUZA, A. C. O.; AMARAL, A. C. Antifungal therapy for systemic mycosis and the nanobiotechnology era: improving efficacy, biodistribution and toxicity. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 336, 2017.
- SPAGNOL, C. M. **Estudo da eficácia e citotoxicidade de filme e sistema emulsionado contendo ácido cafeico**. 2014. p. 146. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Araraquara-SP.
- STEHR, F. et al. Expression analysis of the *Candida albicans* lipase gene family during experimental infections and in patient samples. **FEMS Yeast Research** v. 4, p. 401–8, 2004.
- STEVENSON, C. L.; BENNETT, D. B.; LECHUGA-BALLESTEROS, D. Pharmaceutical Liquid Crystals: The Relevance of Partially Ordered Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 9, p.1861-1880, 2005.
- STOJKOVIĆ, D. et al. In situ antioxidant and antimicrobial activities of naturally occurring caffeic acid, p-coumaric acid and rutin, using food systems. **Journal of The Science of Food And Agriculture**, v. 93, n. 13, p.3205-3208, 2013.
- TAI, A.; BIANCHINI, R.; JACHOWICZ, J. Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 36, n. 4, p.291-304, 2014.
- TEODORO, G. R.; ELLEPOLA, K.; SENEVIRATNE, C.J.; KOGA-ITO, C.Y. Potential Use of Phenolic Acids as Anti-*Candida* Agents: A Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1420, 2015.
- THOMPSON, D. S.; CARLISLE, P. L.; KADOSH, D. Coevolution of Morphology and Virulence in *Candida* Species. **Eukaryotic Cell**, v. 10, n. 9, p.1173-1182, 2011.
- TOBUDIC, S. et al. Antifungal susceptibility of *Candida albicans* in biofilms. **Mycoses**, v. 55, n. 3, p.199-204, 2011.
- TÓTH, R. et al. Different *Candida* parapsilosis clinical isolates and lipase deficient strain trigger an altered cellular immune response. **Frontiers In Microbiology**, v. 6, p.1-11, 2015.
- UNIVERSITY OF CAMBRIDGE. **Dissemination of IT for the Promotion of Materials Science, Liquid Crystals** – Disponível em:

<https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/liquid_crystals/printall.php>. Acessado em: 06 de outubro de 2017.

- VAUZOUR, D.; CORONA, G.; SPENCER, J. P.E. Caffeic acid, tyrosol and p-coumaric acid are potent inhibitors of 5-S-cysteinyl-dopamine induced neurotoxicity. **Archives of Biochemistry And Biophysics**, v. 501, n. 1, p.106-111, 2010.
- VERSTREPEN, K.J.; KLIS, F. M. Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. **Molecular Microbiology**, 60:5–15, 2006.
- VICTORELLI, F. D. **Sistemas líquidos cristalinos a base de quitosana e Polietilenoimina para a administração cutânea de metronidazol**. 2016. p. 77. TCC (Graduação) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara –SP.
- WOODLEY, J. Bioadhesion. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 40, n. 2, p.77-84, 2001.
- VICTORELLI, F. D.; CALIXTO, G. M. F.; RAMOS, M. A. dos S.; BAUAB, T. M.; CHORILLI, M. Metronidazole-Loaded Polyethyleneimine and Chitosan-Based Liquid Crystalline System for Treatment of Staphylococcal Skin Infections. **Journal Of Biomedical Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 227-237, 2018.
- YANO, J. et al. Epithelial Cell-Derived S100 Calcium-Binding Proteins as Key Mediators in the Hallmark Acute Neutrophil Response during Candida Vaginitis. **Infection And Immunity**, v. 78, n. 12, p.5126-5137, 2010.
- YANO, J.; FIDEL, P. L. Jr. Protocols for Vaginal Inoculation and Sample Collection in the Experimental Mouse Model of Candida vaginitis. **Journal of Visualized Experiments**, n. 58, p.1-7, 2011.
- YING, Y. et al. Fluconazole susceptibility of 3,056 clinical isolates of Candida species from 2005 to 2009 in a tertiary-care hospital. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 33, p. 413–415, 2015.
- YUN CHANG, J. et al. Prolonged antifungal effects of clotrimazole-containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis. **Journal of Controlled Release**, v. 82, n. 1, p. 39-50, 2002.
- ZABKA, M.; PAVELA, R. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. **Chemosphere**, v. 93, n. 6, p.1051-1056, 2013.
- ZANG, L. et al. Effect of antioxidant protection by p-coumaric acid on oxidation low-density lipoprotein cholesterol. **American Journal of Physiology: Cell Physiology**, v. 279, p. C954–C960. 2000.
- ZHANG, X. et al. **Supramolecular Amphiphiles: Monographs in Supramolecular Chemistry**. Cambridge: Royal Society Of Chemistry, 2017. 180 p.

- ZARNOWSKI, R. et al. Novel entries in a fungal biofilm matrix encyclopedia. **MBio**; 5. e01333 - 14, 2014.
- ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M. H. Bioavailability of hydroxycinnamates: a brief review of in vivo and in vitro studies. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 1, p.133-145, 2009.
- ZHAO, J, WANG, Z.N.; WEI, X.L., LIU, F.; ZHOU, W.; TANG, X.L.; et al. Phase behaviour and rheological properties of the lamellar liquid crystals formed in dodecyl polyoxyethylene polyoxypropylene ether/water system. **NISCAIR**. 50(5):641–9, 2011.
- ZHU, S. et al. Interaction of the Acid Soap of Triethanolamine Stearate and Stearic Acid with Water. **The Journal Of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 5, p.1016-1024, 2007.
- ŽILIUS, M.; RAMANAUSKIENĖ, K.; BRIEDIS, V. Release of Propolis Phenolic Acids from Semisolid Formulations and Their Penetration into the Human Skin In Vitro. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, v. 2013, p.1-7, 2013.