



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE SAÚDE COLETIVA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

THAIANA NEVES COELHO

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO TÓPICA À BASE DE ÓLEO
ESSENCIAL DE *Pectis elongata* E MANTEIGA VEGETAL DE *Astrocaryum
murumuru*, PARA O TRATAMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

**SANTARÉM – PARÁ
DEZEMBRO DE 2024**

THAIANA NEVES COELHO

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO TÓPICA À BASE DE ÓLEO
ESSENCIAL DE *Pectis elongata* E MANTEIGA VEGETAL DE *Astrocaryum
murumuru*, PARA O TRATAMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCSA) - Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dra. Sandra Layse Ferreira Sarrazin

Coorientador: Prof^o Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira


**SANTARÉM – PARÁ
DEZEMBRO DE 2024**

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PPGCSA


ATA Nº 27

Aos 20 (vinte) dias do mês de dezembro de 2024 (dois mil e vinte e quatro), às 9h, por meio da tecnologia de comunicação à distância "Google Meet" sob o link meet.google.com/ics-gjnm-ohv, conforme orientação da CAPES - Portaria Nº36 de 19 de março de 2020, realizou-se a sessão de Defesa de Dissertação de Mestrado, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde de autoria de Thaianas Neves Coelho, intitulada "**Desenvolvimento de formulação tópica à base de óleo essencial de *Pectis elongata* e manteiga vegetal de *Astrocaryum murumuru*, para o tratamento de candidíase vulvovaginal**". A Banca Examinadora constituiu-se pela Profa. Dra. Elenn Suzany Pereira Aranha, (Uepa – Avaliador 1); Profa. Dra. Kariane Mendes Nunes (Avaliador 2) e Prof Dr. Thalís Ferreira Santos (Avaliador 3). A presidente da banca Profa. Dra. Sandra Layse Ferreira Sarrazin (Orientadora) abriu a sessão, passando a palavra para o mestrando, que fez a exposição de sua Dissertação. Findada a arguição, a banca examinadora e a orientadora reuniram-se em outra sala virtual, sem a presença do candidato e do público, tendo a Banca Examinadora deliberado por sua: (X) APROVAÇÃO, condicionada às correções sugeridas e entrega da versão corrigida no prazo de 30 dias; () REPROVAÇÃO, condicionada as correções sugeridas pela Banca Examinadora e reapresentação da Dissertação no prazo de 60 dias. Nada mais havendo por constar, lavrou-se e fez-se a leitura da presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora, Presidente (orientadora) e mestrando.

Santarém-Pará, 20 de Dezembro de 2024.

Documento assinado digitalmente
 ELENN SUZANY PEREIRA ARANHA
Data: 20/12/2024 11:54:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Elenn Suzany Pereira Aranha (Avaliador 1)

Documento assinado digitalmente
 KARIANE MENDES NUNES
Data: 20/12/2024 14:48:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Kariane Mendes Nunes (Avaliador 2)



Documento assinado digitalmente
THALIS FERREIRA DOS SANTOS
Data: 20/12/2024 15:18:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof Dr. Thalís Ferreira Santos (Avaliador 3)



Documento assinado digitalmente
THAIANA NEVES COELHO
Data: 26/12/2024 10:51:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Thaiana Neves Coelho (Mestranda)



Documento assinado digitalmente
SANDRA LAYSE FERREIRA SARRAZIN
Data: 26/12/2024 10:44:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof Dra Sandra Layse Ferreira Sarrazin (presidente)

FOLHA DE CORREÇÕES DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ATA N° 27

NOME DO MESTRANDO(A): Thaiana Neves Coelho

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

“Desenvolvimento de formulação tópica à base de óleo essencial de *Pectis elongata* e manteiga vegetal de *Astrocaryum murumuru*, para o tratamento de candidíase vulvovaginal”

Profª. Dra. Elenn Suzany Pereira Aranha (Avaliador 1)

Profª. Dra. Kariane Mendes Nunes (Avaliador 2)

Prof Dr. Thalís Ferreira Santos (Avaliador 3)

Prof. Dr. Sandra Layse Ferreira Sarrazin (Presidente)


Os itens abaixo deverão ser modificados, conforme sugestão da banca

1. [] INTRODUÇÃO
2. [] REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
3. [] METODOLOGIA
4. [] RESULTADOS PARCIAIS
5. [] FORMATAÇÃO E PADRONIZAÇÃO TEXTUAL

6. [] REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

PARECER DO ORIENTADOR SOBRE A VERSÃO CORRIGIDA

Declaro, para fins de homologação, que as modificações, sugeridas pela banca examinadora, acima mencionada, foram cumpridas integralmente.

 Documento assinado digitalmente
SANDRA LAYSE FERREIRA SARRAZIN
Data: 30/12/2024 09:25:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra Sandra Layse Ferreira Sarrazin

Orientadora

Dados Internacionais de Catalogação-na-
Publicação (CIP) Sistema Integrado de
Bibliotecas – SIBI/UFOPA

C672d Coelho, Thaiana Neves

Desenvolvimento de formulação tópica à base de óleo essencial de *Pectis elongata* e manteiga vegetal de *Astrocaryum murumuru*, para o tratamento de candidíase vulvo- vaginal. / Thaiana Neves Coelho. - Santarém, 2024.

62 p. : il.

Inclui bibliografias.

Orientadora: Sandra Layse Ferreira
Sarrazin. Coorientador: Ricardo
Bezerra de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação Tecnológica, Instituto de Saúde Coletiva, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Candidíase vulvovaginal. 2. *Pectis elongata*. 3. Óleo essencial. 4. Sistema líquido- cristalino. 5. Resistência antifúngica. I. Sarrazin, Sandra Layse Ferreira, *orient.* II. Oliveira, Ricardo Bezerra de, *coorient.* III. Título.

CDD: 23 ed. 616.9693

Bibliotecária - Documentalista: Cátia Alvarez – CRB/2 843

AGRADECIMENTO

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão a Deus, por me conceder forças, sabedoria, fé e luz para trilhar os caminhos da pós-graduação em todos os momentos. Agradeço à minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Sandra Layse Ferreira Sarrazin, e ao meu coorientador, Prof. Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira, pelo apoio e orientação inestimáveis durante esta jornada. Meu sincero agradecimento também ao meu amado esposo João Vitor e aos meus filhos, Tarso Murilo e Vitor Hugo, cujo amor e incentivo constantes foram essenciais. Aos meus amigos e colegas, Ângela, Adriele, Domingas, Leomara, Victória e Amanda, sou imensamente grata pelo suporte e amizade. Agradeço ao Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental (LABBEX) da UFOPA, por todo apoio e orientação nas atividades, ensaios e análises que possibilitaram o desenvolvimento desta pesquisa. Está trabalho não teria sido possível sem a contribuição de todos vocês.

RESUMO

A candidíase vulvovaginal é uma infecção fúngica prevalente entre as mulheres, causada por espécies do gênero *Candida*. Devido à crescente resistência aos antifúngicos convencionais e aos efeitos colaterais associados, há uma necessidade contínua de alternativas terapêuticas eficazes e seguras. O óleo essencial de *Pectis elongata* (OEPE), rico em citral, é conhecido por sua atividade antimicrobiana. No entanto, a incorporação de óleos essenciais em formulações farmacêuticas apresenta desafios devido à volatilidade e solubilidade desses compostos. Este estudo teve como objetivo desenvolver uma formulação tópica líquido-cristalina baseada em manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru*) contendo OEPE para o tratamento da candidíase vulvovaginal. O OEPE foi extraído por hidrodestilação e analisado por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CGEM), apresentando rendimento de 1,5% e predominância de citral (neral e geranial). A atividade antifúngica do óleo foi avaliada contra *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* por métodos de Disco de Difusão, revelando zonas de inibição superiores a 40 mm, e por microdiluição em caldo, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) e concentrações fungicidas mínimas (CFM) variando de 0,15 a 1,25 mg/mL. Quatro formulações com diferentes concentrações de OEPE (FB2, FB4, FB8 e FB10%) foram desenvolvidas. A caracterização da fase líquido-cristalina por microscopia de luz polarizada mostrou que a estrutura hexagonal foi preservada. Em estudos preliminares de estabilidade, as formulações mantiveram suas características organolépticas em temperatura ambiente e refrigerada, mas apresentaram alterações em altas temperaturas. O pH das formulações variou entre 5,0 e 5,3. A atividade antifúngica das formulações foi testada por difusão em poços, onde a formulação com 10% de OEPE mostrou maior eficácia. Este trabalho destaca a importância das formulações líquido-cristalinas e a escolha de matérias-primas naturais como alternativas promissoras para o tratamento da candidíase vulvovaginal, incentivando a busca por soluções fitoterápicas eficazes contra infecções fúngicas e com potencial terapêutico seguro.

PALAVRAS-CHAVE: Candidíase vulvovaginal, *Pectis elongata*, óleo essencial, sistema líquido-cristalino, resistência antifúngica.

ABSTRAT

Vulvovaginal candidiasis is a prevalent fungal infection among women caused by species of the genus *Candida*. Due to increasing resistance to conventional antifungals and associated side effects, there is a continuing need for effective and safe therapeutic alternatives. *Pectis elongata* essential oil (PEO), rich in citral, is known for its antimicrobial activity. However, the incorporation of essential oils into pharmaceutical formulations presents challenges due to the volatility and solubility of these compounds. This study aimed to develop a liquid-crystalline topical formulation based on murumuru butter (*Astrocaryum murumuru*) containing PEO for the treatment of vulvovaginal candidiasis. PEO was extracted by hydrodistillation and analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS), showing a yield of 1.5% and a predominance of citral (neral and geranial). The antifungal activity of the oil was evaluated against *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* by Disk Diffusion methods, revealing inhibition zones greater than 40 mm, and by broth microdilution, with minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum fungicidal concentrations (MFC) ranging from 0.15 to 1.25 mg/mL. Four formulations with different concentrations of EPO (FB2, FB4, FB8 and FB10%) were developed. Characterization of the liquid-crystalline phase by polarized light microscopy showed that the hexagonal structure was preserved. In preliminary stability studies, the formulations maintained their organoleptic characteristics at room and refrigerated temperatures, but presented changes at high temperatures. The pH of the formulations ranged from 5.0 to 5.3. The antifungal activity of the formulations was tested by well diffusion, where the formulation with 10% EPO showed greater efficacy. This work highlights the importance of liquid-crystalline formulations and the choice of natural raw materials as promising alternatives for the treatment of vulvovaginal candidiasis, encouraging the search for effective phytotherapeutic solutions against fungal infections and with safe therapeutic potential.

KEYWORDS: Vulvovaginal candidiasis, *Pectis elongata*, essential oil, liquid-crystalline system, antifungal resistance.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CFM	Concentração fungicida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CLS	Cristais líquidos
CVV	Candidíase vulvovaginal
CVVR	Candidíase vulvovaginal recorrente
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HI	Fase normal
HII	Fase reversa
ISO	International Organization for Standardization
LLCS	Cristais líquidos liotrópicos
MLP	Luz polarizada
NaOH	Hidróxido de Sódio
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
OE	Óleo essencial
OEPe	Óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>
OEs	Óleos essenciais
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	Ácido ribonucleico
SDA	Ágar sabourand dextrose
SDB	Caldo sabourand dextrose
SUS	Sistema Único de Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

°C- Graus Celsius

cm- Centímetros

g- Grama

h- Hora

mg- Miligrama

mL- Mililitro

α - alfa

β - beta

μ L- Microlitro

dl-Decilitro

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 Estrutura das fases líquido-cristalinas: cúbica, hexagonal e lamelar.....	10
FIGURA 2 Partes aéreas de <i>Pectis elongata</i>	13
FIGURA 3 Registro fotográfico da formulação fitoterápica na concentração de 10%.....	27
FIGURA 4 Fotomicrografias das formulações na concentração de 10% observadas ao microscópio de luz polarizada apresentando anisotropia, com estrias características de fase hexagonal, aumento 10x. a) base (sem adição do óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>) e b) Formulação 10% do óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>	27

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 Avaliação das características organolépticas.....	20
Tabela 1 Composição das formulações baseadas em manteiga de murumuru (<i>Astrocaryum murumuru</i> Mart.), contendo óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>	19
Tabela 2 Constituintes químicos presentes no óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>	22
Tabela 3 Potencial anti- <i>Candida</i> do óleo essencial de <i>Pectis elongata</i> e do citral isolado.....	24
Quadro 2 Características organolépticas (aspecto, cor e odor) de formulações contendo óleo essencial de <i>Pectis elongata</i> , durante o período de 30 dias.....	29
Tabela 5 Constituintes químicos presentes nas formulações contendo óleo essencial de <i>Pectis elongata</i> , nas concentrações de 2 e 10%.....	29
Tabela 6 Atividade antifúngica das formulações contendo óleo essencial de <i>Pectis elongata</i> em quatro diferentes concentrações (FB2, FB4, FB8 e 10%), nitrato de miconazool, na concentração de 10% (controle positivo), e da formulação base (FB), sem adição do óleo essencial (controle negativo).....	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Candidíase vulvovaginal	3
2.2 Gênero <i>Candida</i>	5
2.3 Antifúngicos convencionais utilizados no tratamento da candidíase vaginal	6
2.4 Alternativas Terapêuticas: a busca por compostos naturais com atividade anti- <i>Candida</i>	7
2.5 Óleos essenciais e seu potencial como agente anti-<i>Candida</i>	8
2.6 Sistemas líquidos-cristalino	9
2.7 A manteiga de murumuru (<i>Astrocaryum murumuru</i>) e seu emprego no desenvolvimento de sistemas líquidos-cristalinos	11
2.8 A Família Asteraceae, o gênero <i>Pectis</i> e a espécie <i>P. elongata</i> Kunth	12
2.9 Citral e propriedades biológicas	14
3 OBJETIVOS	14
3.1 Geral	14
3.2 Específicos	15
4 MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Material vegetal	15
4.2 Extração do óleo essencial	15
4.3 Determinação da composição química do óleo essencial de <i>P. elongata</i> por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	16
4.4 Avaliação do potencial antifúngico do óleo essencial	17
4.4.1 Microrganismos e condições de cultivo.....	17
4.4.2 Método de disco difusão em ágar.....	17
4.4.3 Método de microdiluição em caldo - determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial e do citral.....	17
4.5 Obtenção e caracterização das formulações contendo manteiga de murumuru (<i>Astrocaryum murumuru</i> Mart.) e óleo essencial de <i>P. elongata</i>	18
4.5.1 Microscopia de luz polarizada (MLP).....	19
4.5.2 Estudo de estabilidade preliminar.....	19

4.5.2.1 Características organolépticas.....	19
4.5.2.2 Determinação do pH.....	20
4.6 Determinação da composição química das formulações por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.....	20
4.7 Avaliação da atividade antifúngica das formulações técnica de difusão em poços..	21
4.8 Análises estatísticas.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1 Rendimento e caracterização química do óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>.....	21
5.2 Potencial anti-<i>Candida</i> do óleo essencial de <i>Pectis elongata</i> e do citral, seu composto majoritário.....	24
5.3 Obtenção e caracterização das formulações semissólidas a base de manteiga de murumuru (<i>Astrocaryum murumuru</i> Mart.) contendo óleo essencial de <i>P. elongata</i>.....	26
5.3.1 Microscopia de luz polarizada (MLP).....	27
5.3.2 Estudo de estabilidade preliminar.....	28
5.4 Determinação da composição química das formulações por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.....	29
5.5 Atividade antifúngica das formulações contendo óleo essencial de <i>Pectis elongata</i>.	31
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
7 REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção fúngica oportunista, causada por espécies do gênero *Candida*. Segundo o Ministério da Saúde (2020), de 80% a 92% dos casos de candidíase estão associados à *C. albicans* e o restante às demais espécies do gênero (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, entre outras). Estima-se que 75% de todas as mulheres, durante sua vida reprodutiva, serão acometidas por essa infecção. Dessas, 50% terão dois ou três episódios, enquanto 5-8% desenvolverão candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR) (Sanches et al., 2020).

Entre os principais sinais e sintomas da CVV estão a coceira, ardência, vermelhidão, corrimento vaginal espesso esbranquiçado, edema vulvar e dor durante relação sexual (Ministério da Saúde, 2020). Entre os fatores mais comuns na predisposição da doença destacam-se o uso indiscriminado de antibióticos, contato sexual com pessoa contaminada, gravidez, uso de contraceptivos orais prolongados, terapia de reposição hormonal, clima úmido, diabetes mellitus não controlada e infecção por HIV (Ciurea et al., 2020; Carvalho et al., 2021).

A CVV não apresenta consequências graves, mas afeta significativamente a qualidade de vida de milhões de mulheres. Reconhecida como um problema de saúde pública mundial, seu diagnóstico é realizado por meio de exame clínico ginecológico, baseado nos sinais e sintomas apresentados pela paciente. O tratamento, geralmente focado no alívio dos sintomas, varia conforme a gravidade da infecção e pode ser administrado por vias oral, vaginal e/ou tópica (Carvalho et al., 2021).

Os antifúngicos azóis destacam-se pelo seu amplo espectro de ação. No entanto, têm sido observados aumentos significativos nos efeitos colaterais, na taxa de recidiva pós-tratamento e na resistência dos patógenos aos antifúngicos atualmente disponíveis no mercado (Mendes, 2023). Consequentemente, pesquisas por novos bioativos alternativos e complementares tem crescido significativamente, com destaque para aqueles baseados em plantas medicinais e seus compostos, devido às suas já comprovadas atividades antifúngicas (Felix et al., 2019).

Dentre essas espécies, destaca-se *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae), uma planta de porte herbáceo, conhecida no Norte do Brasil como "cuminho-bravo", "alecrim limão" ou "alecrim-bravo" (Silva et al., 2021 a). A espécie é conhecida por suas propriedades antimicrobianas já descrita na literatura (Prudente et al. 1995). Trata-se de uma espécie rica em óleo essencial (OE), que apresenta como constituinte majoritário o citral, um composto formado pelos isômeros neral e geranial, com comprovada ação anti-inflamatória, analgésica,

gastroprotetora (Lee et al., 2008; Nishijima et al., 2014) e antimicrobiana (Cai et al., 2019, Zhang et al., 2020).

Os óleos essenciais (OEs), são compostos químicos de baixo peso molecular, muitos dos quais são altamente voláteis e caracterizados por aroma intenso, podendo conferir sabor a fragrância. Estes óleos são constituídos por terpenos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, ácidos orgânicos e lactonas. Entre estes, os terpenos se destacam por sua capacidade de aprimorar as propriedades físico-químicas e ou aumentar a biodisponibilidade na administração controlada de medicamentos (Damasceno et al., 2019).

Embora considerados como agentes promissores ao desenvolvimento de novos medicamentos, os OEs constituem um desafio para o setor farmacêutico, uma vez que são altamente voláteis e susceptíveis a reações de degradação, podendo resultar em perda significativa de sua eficácia (Turek e Stintzing, 2013).

Nos últimos anos, diversas pesquisas têm sido direcionadas ao desenvolvimento de estratégias tecnológicas que visam não apenas aumentar a eficácia terapêutica de substâncias, mas também facilitar a incorporação e solubilização de constituintes químicos ativos. Além disso, essas estratégias buscam aumentar o tempo de residência das formulações no local de ação, prolongando a liberação dos compostos ativos e permitindo a redução das doses necessárias, o que contribui para a diminuição de possíveis efeitos colaterais (Formariz et al., 2005; Chorilli et al., 2009; Silva et al., 2021b).

Dentre as diferentes estratégias utilizadas pelo setor farmacêutico, formulações que utilizam sistemas líquido-cristalinos têm ganhado crescente destaque. As principais vantagens funcionais relacionam-se ao fato de que estes sistemas promovem a liberação controlada de substâncias ativas; incorporam princípios ativos em suas matrizes líquido-cristalinas ou em formulações que os contenham, protegendo substâncias ativas sensíveis à degradação térmica ou fotodegradação. Além disso, são capazes de promover aumento da retenção de água no estrato córneo, proporcionando conseqüentemente o aumento na hidratação cutânea (Bevaqua et al., 1991; Ferrari et al., 2003; Chorilli et al., 2009).

Porém, no desenvolvimento destes sistemas, a escolha dos componentes é um passo importante para atingir os critérios desejados, tais como eficácia, segurança e estabilidade. Logo, a tendência é a utilização de matérias-primas que permitam sensorial agradável e boa estabilidade da formulação, propiciando um prazo de validade viável para comercialização do produto (Chorilli et al., 2009).

Entre diferentes matérias-primas de origem natural empregadas na elaboração de sistemas líquido-cristalino, destaca-se o murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart), uma planta

da região amazônica conhecida por suas propriedades hidratantes e emolientes, e sua utilização em formulações de liberação prolongada pode oferecer benefícios para o desenvolvimento de diferentes produtos do setor farmacêutico (Araújo et al., 2007).

Dessa forma, com base nas evidências já referenciadas de resistências dos microrganismos a determinados antifúngicos convencionais associada a estes medicamentos, no presente estudo, nosso objetivo é desenvolver uma formulação de uso tópico, utilizando OEPE, quimiotipo citral, como princípio ativo de origem natural com ação anti-*Candida*, e manteiga vegetal de murumuru (*A. murumuru*), visando a liberação sustentada dos compostos ativos presente no OEPE, com vistas ao tratamento de candidíase vulvovaginal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Candidíase vulvovaginal

A CVV é uma infecção da vulva e da vagina, causada por várias espécies de fungos pertencentes ao gênero *Candida*, sendo *Candida albicans* o agente mais frequente, correspondendo de 85% a 90% dos casos registrados (Araujo et al., 2023). Outras espécies pertencentes a este gênero (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, entre outras), representam 10% do restante de casos. Estas podem tornar-se patogênicas sob determinadas condições que alteram o ambiente vaginal, infectando mulheres em idade reprodutiva, pelo menos uma vez na vida (Cruz et al., 2020).

Apesar de grande parte dos casos de candidíase vulvovaginal serem consideradas leves, algumas mulheres podem desencadear infecções graves, tornando-se um dos diagnósticos comuns na área da ginecologia. Sua incidência tem aumentado drasticamente, representando à segunda vaginose mais frequente nos EUA e no Brasil, precedida pela vaginose bacteriana (Saracino et al., 2022).

Segundo Reis Costa et al. (2020), os principais sintomas da CVV são pruridos vulvovaginal intenso, ardor, corrimento branco, grumoso, inodoro, como aspecto de leite coalhado. Eventualmente podem surgir pontos branco-amarelados na parede vaginal e do colo uterino, edema e eritema na vulva e vagina, que por consequência podem causar dispareunia e disúria, com lesões que podem se estender pelo períneo, região perianal e inguinal (Van Riel Sjjm, et al., 2021).

De acordo com De Queiros Alves et al. (2022), alguns fatores estão associados às manifestações da CVV em mulheres com imunidade celular comprometida, como por exemplo, o contato sexual com pessoas contaminadas, alto teor de glicogênio das células epiteliais vaginais, contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal, vestimenta íntima inadequada, gravidez, uso prolongado de antibióticos e corticoides. Pacientes com diabetes, imunossupressores em pacientes transplantadas ou portadoras do vírus HIV, e transmissão vertical no parto normal (Reis Costa et al., 2020).

O tratamento da CVV, usualmente mais bem sucedido e utilizado, é realizado pelo grupo dos imidazólicos e triazólicos. Entre eles podemos citar o fluconazol, miconazol, clotrimazole cetoconazol, agentes poliênicos, como a nistatina (Cruz et al., 2020). No entanto, muitas mulheres não respondem à terapia inicial e os casos de recidivas se tornam frequentes, e por consequência, leva a reiniciar a terapia de remissão clínica ou microbiológica (Reis Costa et al., 2020).

Para Alves et al. (2022), além do tratamento medicamentoso, medidas preventivas são importantes para minimizar o risco de recorrência da CVV, como evitar o uso prolongado de roupas úmidas, optar por roupas íntimas de algodão, manter a higiene adequada da área genital e evitar duchas vaginais podem ajudar a manter o equilíbrio da flora vaginal e reduzir o crescimento excessivo.

Outro fator relevante é o impacto psicológico quando essa patologia se torna recorrente, onde os níveis elevados de estresse, ansiedade e frustração, começam a interferir nas atividades diárias e relações interpessoais das pacientes. Portanto, o manejo da CVV deve incluir não apenas o tratamento médico, mas também o apoio psicológico para ajudar as pacientes a lidarem com o impacto emocional da doença (Pereira et al., 2022).

Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), a automedicação e o uso inadequado de medicamentos contribuem para as altas demandas nos serviços de saúde pública de CVVR, definida como a infecção que apresenta em um ano, quatro ou mais episódios sintomáticos de CVV. Estimando que 50% de usuários de medicamentos o fazem de forma incorreta e indiscriminada (Conselho Nacional de Saúde, 2023).

Assim, o uso inadequado de medicamentos e tratamentos empíricos pode explicar a resistência aos azólicos frente a algumas espécies do gênero *Candida* (Tozzo e Grazziotin, 2012).

2.2 O Gênero *Candida*

O reino dos fungos possui aproximadamente 611.000 espécies, sendo que 600 espécies são de fungos com capacidade de causar algum tipo de infecção em humanos. Dos fungos leveduriformes responsáveis por essas infecções, 150 pertencem ao gênero *Candida* spp. (Ciurea et al., 2020). Os microrganismos pertencentes a este gênero se prevelem de condições de baixa imunidade do hospedeiro, portanto, sendo considerados patógenos oportunistas (De Paiva et al., 2021).

Estes microrganismos acometem principalmente pacientes imunodeprimidos e/ou pacientes em uso medicamentoso com antimicrobianos de amplo espectro, o que favorece ótimas condições para que se tornem importantes agentes patógenos causadores de infecções humanas (Campos et al., 2020).

Segundo Sardi et al. (2013), a incidência de infecções fúngicas ocasionadas por *Candida* spp., tem aumentado nas últimas décadas, tornando o tratamento um desafio clínico. Aproximadamente 80% dessas infecções invasivas são causadas por *C. albicans*, e *Candida* não-*albicans* (*C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, entre outras) (Ciurea et al., 2020).

No Brasil, há relatos que o gênero *Candida* é o sétimo agente etiológico causador das infecções, sendo *C. albicans* a espécie mais prevalente, seguida por *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (Doi et al., 2016). A maioria das infecções produzidas por estes patógenos estão associados a fatores de virulência com habilidade de escapar às defesas do hospedeiro, adesão, formação de biofilme e produção de enzimas hidrolíticas que danificam os tecidos (Sardi et al., 2013; Silva et al., 2012).

A espécie mais estudada até o momento é a *C. albicans*, devido ao seu grande potencial patogênico de infecções superficiais e invasivas, em razão do dimorfismo e dos fatores de virulência (Sardi et al., 2013). É uma levedura do tipo diploide com capacidade de apresentar várias formas morfológicas, tornando-a um desafio para a medicina, e para a economia, elevando as taxas de mortalidades e custos durante a hospitalização. *C. albicans* é o primeiro fungo zoopatogênico que teve seu genoma sequenciado, o que ajudou nas diversidades de experimentos e avanço no conhecimento de genes (Campos et al., 2020).

De acordo com de Santana et al. (2022), *C. tropicalis* apresenta índices mais altos de letalidade que a *C. albicans*, manifesta ampla potencialidade infecciosa em pacientes com hematologia malignas, linfoma, diabetes, câncer e infecções disseminadas. Já *C. parapsilosis* é um fungo leveduriforme, e assim com *C. tropicalis*, pode desencadear infecções sistêmicas, sobretudo em pacientes oncológicos, pacientes internados em unidades de cuidados intensivos e em recém-nascidos, sendo transmitidas principalmente de forma exógena e tornando-se uma das infecções mais preocupantes no meio médico (Da Silva et al., 2022).

2.3 Antifúngicos convencionais utilizados no tratamento da candidíase vaginal

Alguns fármacos, obtidos por intermédio da síntese orgânica, vêm sendo utilizados no tratamento de infecções fúngicas (Peixoto et al., 2014). A escolha do tratamento para a candidíase vulvovaginal vai depender do critério médico, do quadro clínico e das características de cada paciente, podendo ser realizado com agentes antifúngicos tópicos ou sistêmicos, e propõe-se a garantir a melhora da sintomatologia (Soares et al., 2018).

Os antifúngicos mais utilizados no tratamento de pacientes com CVV estão divididos atualmente em três grupos: azóis, polienos e equinocandinas. Na classe dos azóis, incluem-se os imidazóis (butoconazol, clotrimazol, miconazol e cetoconazol) e triazóis (fluconazol e terconazol), e na classe dos polienos (anfotericina B e nistatina) (Campos et al., 2020; Li et al., 2018). De acordo com Rodrigues et al. (2013), a maior parte das mulheres não tem boa resposta ao tratamento inicial, apresentando recaídas com frequência, o que pode estar relacionado com espécies diferentes de *C. albicans*, as quais necessitam de concentrações mais elevadas do agente antifúngico para serem eficazmente inibidas.

Da Rocha et al. (2021), citam a fluorocitosina como um dos medicamentos antifúngicos que podem ser usados para tratar a candidíase vaginal, mas não sendo a primeira escolha de tratamento, uma vez que pode causar efeitos colaterais graves, devendo ser usada para tratar a candidíase vaginal somente quando as outras opções não estão disponíveis ou quando contraindicadas.

Segundo Costa et al. (2020), o ergosterol integra a membrana celular dos fungos, conferindo estabilidade e permeabilidade à célula. Os antifúngicos azóis atuam bloqueando a enzima lanosterol 14 α -desmetilase, que é responsável pela conversão do lanosterol em ergosterol, impedindo a formação da membrana fúngica e causando danos à célula. Os poliênicos atuam se ligando diretamente ao ergosterol, provocando a formação de poros na membrana, que altera a permeabilidade da célula, e levam à perda de íons e moléculas essenciais para a sobrevivência do fungo (Do Nascimento Luz et al., 2022).

Já os antifúngicos equinocandinas atuam inibindo a enzima β -1,3-glucano sintase, enzima responsável pela síntese do β -glucano, um polissacarídeo que faz parte da parede celular dos fungos, conferindo rigidez e proteção à célula. Por sua vez, a inibição da síntese de β -glucano impede a formação da parede fúngica, tornando a célula mais vulnerável à lise. No caso dos antifúngicos fluorocitosina ou flucitosina, estes atuam sobre a síntese de ácidos

nucléicos dos fungos, causando desorganização do DNA e RNA, levando à morte celular (Da Rocha et al., 2021).

A maior parte dos antifúngicos utilizados no tratamento da candidíase vulvovaginal possui algum tipo de toxicidade. Além disso, o aumento do uso de antifúngicos discriminadamente, e o tratamento prolongado sem supervisão médica, são fatores de risco para o surgimento de espécies de *Candida* resistentes aos fármacos mencionados (Oliveira et al., 2021).

2.4 Alternativas Terapêuticas: a busca por compostos naturais com atividade anti-*Candida*.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) conceitua planta medicinal como “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos, ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos” (OMS, 1998).

Os fins terapêuticos desempenhados por plantas medicinais devem-se aos princípios ativos presentes em diferentes partes da planta, e têm sido foco de vários estudos químicos e farmacológicos, visando elucidar dúvidas da utilização de plantas medicinais como medida terapêutica (Rocha et al., 2021), incluindo seu potencial frente à microrganismos patogênicos e, desta forma, sendo consideradas como alternativa terapêutica promissora no combate às infecções (Barba Ostria et al., 2022).

O potencial antifúngico de diferentes espécies vegetais frente a infecções promovidas por espécies do Gênero *Candida* tem ganhado destaque na literatura científica (Silva-Rocha et al., 2017). Dulgeret et al. (2014), por exemplo, descrevem a atividade antifúngica da *Hypericum havvae* frente à *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. neoformans* e *C. laurentii*.

A ação antifúngica de *Agonandra brasiliensis*, vegetal comum do cerrado brasileiro, e da *Curcuma longa*, foi relatada por Goulart et al. (2015) e Ghosh et al. (2015) respectivamente. Torres et al. (2016), por meio de método de disco difusão, revelaram a atividade antifúngica de *S. terebinthifolius* frente a *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Bakkali et al. (2008), relatam que os OEs são conhecidos por suas atividades antissépticas (antibacterianas e antifúngicas), analgésica, sedativa, anti-inflamatória, espasmódica e anestésica local, o que caracteriza sua importância para a descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos, visto que mais de 50.000 espécies de plantas são usadas em produtos farmacêuticos. Em relação ao potencial antimicrobiano, a vantagem dos OEs é a baixa probabilidade de que microrganismos patogênicos desenvolvam resistência a estes compostos (Jamshidi-kia et al., 2018. Nazzaro et al., 2013). Por esta razão, OEs têm

apresentado resultados promissores como agentes terapêuticos com potencial antifúngico frente a cepas resistentes (Lee & Lee, 2018; Pfaller, 2012; Sardi et al., 2011; Scorzoni et al., 2016;), especialmente contra *Candida* spp. (Herrera et al., 2013), reforçando a aplicação destes compostos como terapia antifúngica alternativa.

2.5 Óleos essenciais e seu potencial como agente anti-*Candida*

A norma 9235 da International Organization for Standardization (ISO) descreve os OEs como produtos extraídos de matérias-primas naturais de origem vegetal por meio de destilação a vapor, processos mecânicos a partir do epicarpo de frutos cítricos, ou destilação a seco, após a remoção da fase aquosa, se presente, utilizando métodos físicos. Um importante país na produção e comercialização de OEs é o Brasil, ofertando esse tipo de insumo ao mercado internacional há quase 100 anos (Bizzo e Rezende, 2022).

Estes compostos podem conter entre 20 e 60 componentes voláteis, em concentrações muito diferentes, que são sintetizados por todas as partes da planta, tais como: botões, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes, madeira ou casca. São armazenados em células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (Bakalli et al., 2008; Miranda et al., 2016). São solúveis em álcool, éter e óleos fixos, mas insolúveis em água, e o aroma que as ervas emitem são provenientes das substâncias voláteis que os OEs contêm (Bunse et al., 2022).

Normalmente, os OEs estão constituídos principalmente por substâncias terpênicas, em especial por monoterpenos e sesquiterpenos; acrescidas de moléculas menores, como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta (Nazarro et al., 2013). A composição química dos OEs pode variar conforme a época de colheita, as condições de cultivo e o método de extração. Esses fatores são fundamentais para a eficácia dos OEs na defesa contra microrganismos e predadores, além de desempenharem um papel crucial na atração de insetos polinizadores (Bizzo et al., 2009).

A extração de OEs pode ser obtida por enfleurage, fluido supercrítico, destilação à vapor, embora a hidrodestilação seja o método mais comum. O foco em novas tecnologias de extração ecologicamente corretas é minimizar o uso de solventes e utilizar métodos para controlar e garantir a qualidade, segurança e eficácia do material vegetal (Bakalli et al., 2008). A análise química dos OEs é realizada por cromatografia gasosa, técnica capaz de identificar os óleos, avaliar seus componentes e definir sua pureza (Wolffenbuttel, 2016).

O potencial antifúngico dos OEs frente à espécie *C. albicans* tem sido relatado em alguns estudos. Entre eles, o OE de *Origanum vulgare* L. (Raimundo; Toledo, 2017), *Melaleuca alternifolia* Cheel (Oliveira; Nascimento, 2019), *Cymbopogon nardus* (De Toledo, 2020) e *Cuminum cyminum* (Ellah, 2021), demonstrando que o uso destes compostos tem sido uma opção para o tratamento de candidíase vulvovaginal, sendo considerados agentes antifúngicos alternativos ou complementares, com menor probabilidade de desencadear efeitos colaterais (Cassiana, 2016; De Assis et al., 2023).

Segundo Tran et al. (2022), há uma crescente demanda por terapias naturais e pesquisas sobre OEs, pois evidências sugerem sua eficácia antifúngica e baixa toxicidade, sendo promissores no tratamento de cepas resistentes de *Candida* e podem ser combinados com medicamentos convencionais para aumentar a eficácia e reduzir efeitos colaterais.

Vale ressaltar que os OEs são altamente voláteis e passíveis de degradação, tais como oxidação, isomerização, polimerização e rearranjo; o que pode resultar em perda significativa de sua eficácia (Turek e Stintzing, 2013). Dessa forma, é imprescindível que o setor farmacêutico invista em estratégias para minimizar a perda de compostos ativos presentes nos OEs em suas formulações, e assim aprimorar o potencial antifúngico destes compostos (Cid-Chevecich et al., 2022).

Porém, a inserção de OEs em formas farmacêuticas até agora é um desafio farmacotécnico em virtude da volatilidade, solubilidade degradação e estabilidade, podendo gerar diversas incompatibilidades com os componentes da formulação, resultando em instabilidades físico-químicas. As formulações semissólidas são as mais adequadas para a incorporação de OEs precisando, no entanto, da análise de sua estabilidade que é de suma importância (Leão et al., 2022).

2.6 Sistemas líquidos-cristalinos

Os sistemas líquidos cristalinos ou cristais líquidos (CLs), fazem parte dos avanços mais recorrentes dos sistemas de liberação de fármacos (DDS, do inglês Drug Delivery Systems), metodologias desenvolvidas para melhorar a eficácia dos tratamentos medicinais (Guo et al., 2010). Os DDS são formulações, sistemas ou tecnologias usadas para modular a liberação de um fármaco no corpo ao longo do tempo e/ou direcionar o fármaco para um tecido ou tipo de célula específico (Baryakova et al, 2023).

Os CLs podem ser definidos como micelas ordenadas em arranjos moleculares, formados a partir de lipídios polares que, ao entrarem em contato com a água, orientam-se em

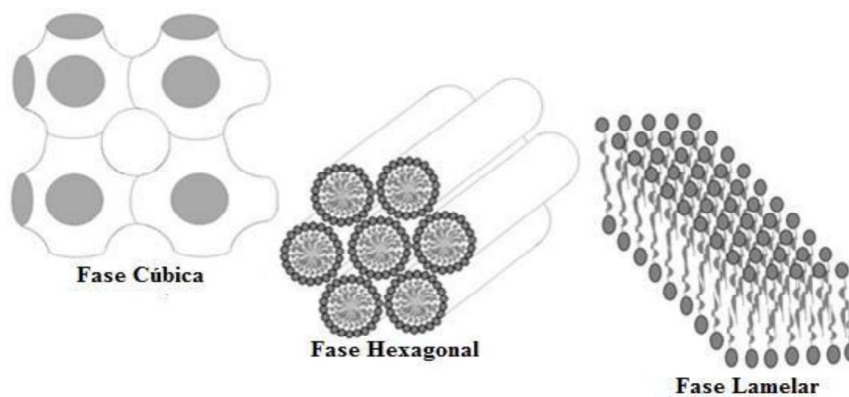
estruturas tridimensionais, denominadas mesofases, que possibilitam seu uso para a liberação de fármacos (Estracanholti et al., 2014). São caracterizados por regiões lipofílicas e hidrofílicas alternadas, onde os fármacos incorporados podem residir (Formariz et al., 2005).

Em 1922, G. Friedel utilizou o termo "estado mesomórfico" (*mesos* - intermediário e *morphé* - forma) para definir um quarto estado da matéria. Com isso, os CLs passaram a ser denominados como fases mesomórficas, mesofases ou fases mesomórficas cristalinas, apresentando características tanto de sólidos quanto de líquidos (Bevaqua et al., 1991; Chorilli et al., 2009; Ferrari et al., 2003).

Os CLs podem ser divididos em duas principais classes: termotrópicos e liotrópicos. Os termotrópicos são formados quando a orientação das moléculas depende da temperatura (Chorilli et al., 2009; Hyde, 2001). Já os liotrópicos são arranjos moleculares caracterizados por regiões hidrofóbicas e hidrofílicas alternadas, são gerados por substâncias anfifílicas ou tensoativos que ao entrar em contato com um solvente, como a exemplo, a água se auto-organizam em diferentes estruturas termodinamicamente estáveis (Kulkarni *et al.*, 2011), sendo aplicado em estudo de novas formulações farmacêuticas (Klein, 2002).

À medida que a concentração de tensoativo aumenta nos sistemas líquido cristalino liotrópico (CLLs), podem surgir diversas estruturas, dentre elas: lamelares, hexagonais e cúbicas (Formariz et al., 2005; Gabboun et al., 2001). Dentre estas fases, a cúbica e a hexagonal são consideradas as mais estudadas em decorrência da alta ordenação das suas estruturas internas, oferecendo capacidade de sustentar a liberação de fármacos para vários bioativos farmacêuticos (Figura 1) (Guo et al., 2010).

Figura 1 - Estrutura das fases líquido cristalinas: cúbica, hexagonal e lamelar.



Fonte: (Bernegossi et al., 2015).

A fase lamelar é constituída por uma rede unidimensional de bicamadas paralelas e planas de tensoativos, que são intercaladas por camadas de solvente. Já na fase hexagonal, os agregados são formados pelo arranjo de cilindros longos, originando estruturas bi ou tridimensionais. Na fase hexagonal normal, as moléculas do tensoativo se agrupam em micelas cilíndricas circulares, com água preenchendo o volume entre os cilindros, enquanto na fase hexagonal reversa, os cilindros contêm canais de água circundados pelas cabeças polares do tensoativo e a porção oleosa localizada ao redor dos cilindros (Ezrahi et al., 1999; Formariz et al., 2005).

Na fase cúbica a estrutura tridimensional é formada por bicamada lipídica e um canal aquoso contínuo e curvado. Ela é descrita como bicontínua porque tanto o componente lipofílico quanto o aquoso formam redes independentes e interconectadas, criando uma estrutura estável e densa, em padrão cúbico repetitivo. E pode surgir com uma certa proporção de água e surfactante, em condições específicas de temperatura entre a fase hexagonal e lamelar (Guo et al., 2010).

As formulações de CLLs demonstraram eficiência de aprisionamento significativa, perfil de liberação sustentada e estabilidade aprimorada (Bala et al., 2021).

A microscopia de luz polarizada e as medidas reológicas são consideradas importantes ferramentas para auxiliar na identificação dos materiais líquido-cristalinos (Brinon et al., 1999; Chorilli et al., 2009; Formariz et al., 2005).

Os sistemas líquido-cristalinos podem ser administrados por meio de diferentes vias, tais como: oral, retal, sublingual, subcutânea, transdérmica, intramuscular, endovenosa e tópica podendo ser utilizadas como alternativas inovadoras para a preparação de formulações farmacêuticas (Brinon et al., 1999; Carr et al., 1997; Dorschel, 1992; Lee e Kellaway, 2000; Leu et al., 2023; Miyazaki et al., 1986; Wyatt et al., 1992).

2.7 A manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e seu emprego no desenvolvimento de sistemas líquidos-cristalino

A manteiga de murumuru tem sido empregada no desenvolvimento de sistemas líquidos cristalinos para liberação sustentada de substâncias bioativas na pele e nas mucosas. Suas propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade asseguram seu emprego no desenvolvimento de produtos farmacêuticos e cosméticos (Neves et al., 2018).

De acordo com Américo et al. (2020), por exemplo, a utilização de um sistema líquido cristalino de uso tópico, contendo manteiga de murumuru e extrato etanólico de Jucá (*Libidibia*

férrea Mart. ex Tul.) teve desempenho melhor na cicatrização de feridas do que a pomada comercial de alantoína.

O ácido láurico presente na manteiga de murumuru atua como carreador de princípios ativos, aumentando a permeabilidade através da pele. Isso ocorre tanto pela reação com ativos catiônicos, que podem aumentar sua lipofilicidade, quanto pela desorganização temporária da camada córnea da pele. Comporta-se como emulsionante, estabilizando emulsão do tipo óleo em água (O/A) após sofrer reação de neutralização na presença de uma base forte, como hidróxido de sódio (NaOH) (Green, 2005).

O uso do conteúdo lipídico extraído das amêndoas do murumuru amazônico, que contém ácidos graxos saturados, auxilia na formação de sistemas ordenados em uma formulação. Isso proporciona uma consistência semissólida similar à manteiga e permite um ponto de fusão adequado para fundição a baixas temperaturas, facilitando a incorporação em vários produtos farmacêuticos e cosméticos (Da Silva et al., 2010; Pesce et al., 2009).

2.8 A família Asteraceae, o gênero *Pectis* e a espécie *P. elongata* Kunth

A família Asteraceae inclui aproximadamente 1.100 gêneros e cerca de 25.000 espécies frequentemente encontradas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Espécies pertencentes à esta família ocorrem em uma ampla variedade de altitudes, desde o nível do mar até montanhas, mas são predominantemente observadas em terrenos arenosos e rochosos (Marques et al., 2006). No Brasil, ocorrem aproximadamente 300 gêneros e 2.000 espécies cosmopolitas (Souza; Lorenzi, 2012).

O gênero *Pectis*, pertencente à Família Asteraceae, é encontrado principalmente na América do Norte, México, Índias Ocidentais, América Central, América do Sul e ilhas do Pacífico (Roque e Bautista, 2008; Hind e Frisby, 2014). As espécies pertencentes a este gênero são popularmente conhecidas como capim-limão, devido ao aroma cítrico de seus constituintes voláteis (Pereira et al., 2021).

Dentro deste gênero, as espécies mais estudadas, tanto do ponto de vista químico quanto em relação ao seu uso tradicional, incluem: *P. floribunda*; *P. angustifolia*; *P. papposa*; *P. prostata* Cav.; *P. apodocephala* Baker; *P. oligocephala*; *P. brevipedunculata* Sch. Bip; *P. linifolia* L.; *P. haenkeana* (DC.) Sch. Bip; *P. jangadensis* S. Moore; *P. multiseta* var. *ambigua* (Fernald) DJ Keil e *P. elongata* Kunth (Massing et al., 2021).

No Brasil, *P. elongata* possui distribuição geográfica por todo o território, principalmente nas regiões norte e nordeste (Flora Brasil, 2024). Nos estados do Pará e Amapá,

Norte do Brasil, a espécie é conhecida como, “cuminho” e “limãozinho” (Liporacci, 2014). Em Silva et al. (2005), a espécie foi descrita com nome popular de “cuminho-bravo” e "alecrim-bravo". Apresentam modificações nos aromas quando maceradas, algumas com aroma de cominho, outras com aroma de capim-santo (Oliveira et al., 2022).

P. elongata é caracterizada como uma pequena erva ou subarbusto anual, com porte herbáceo de aproximadamente 40 cm de altura ereta (Figura 2) (Silva et al., 2004), ramificada, com folhas lineares, pontiagudas simples, flores amarelas ou levemente roxeadas, floretes de raios, e glândulas secretoras contendo OE responsável pelo típico aroma cítrico ou picante (Bautista, 1987; Hind e Frisby 2014).

Figura 2 - Partes aéreas de *Pectis elongata*.



Fonte: Autora 2024

Na medicina tradicional brasileira, *Pectis elongata* é utilizada no tratamento de febres (Pagani et al., 2017) e em infusões para o tratamento de hipertensão, distúrbios gástricos, resfriados, ou como calmante e analgésico (Albuquerque et al., 2007; Agra et al., 2007; Rodrigues, 2006). Na Guiana Francesa, esta espécie é comumente usada em chás ou como especiaria culinária (Silva et al., 2005).

Os quimiotipos voláteis encontrados no OE de *P. elongata* são, até o momento, identificados como dois: citral (neral e geranial) (Prudent et al., 1995), com reconhecida atividade antimicrobiana, vasodilatadora, anticarcinogênica, e outras (Ganjewala et al., 2012; Moreira et al., 2010; Pereira et al., 2013), e aldeído perila mais limoneno (Silva et al., 2005), com ação anti-inflamatória, antidepressiva, antimicrobiana, sedativa, vasodilatadora,

antioxidante e anti-hipertensiva (Nascimento et al., 2019; Nishimura et al., 2009; Song et al., 2018; Takagi et al., 2005).

2.9 Citral e propriedades biológicas

Citral (3,7-dimetil-2,6-octadienal), é um composto natural presente em diferentes OEs extraídos de plantas herbáceas com aroma de limão (Bouzenna et al., 2017). Do ponto de vista químico, o citral é um aldeído monoterpene acíclico, composto por dois estereoisômeros: trans geranial (E-isômero, ou citral A) e cis neral (Z-isômero, ou citral B). É um composto lipofílico, altamente volátil, solúvel em álcool e óleos, pouco solúvel em água e meios biológicos, e instável sob irradiação de luz (Bailly, 2020).

Estudos mostram que este composto apresenta diferentes propriedades farmacológicas, tais como: anti-hiperalgésia, antinociceptiva, anti-inflamatória (Campos et al., 2019; Nishijima et al., 2014; Quintans-Júnior, et al., 2011), antipirética (Emílio-Silva et al., 2017), antitumoral (Kapur et al., 2016), antidislipidêmica, antidiabética (Najafian et al., 2011), antiadipogênica (Sri Devi e Ashokkumar, 2018) e antimicrobiana (Gutiérrez-Pacheco et al., 2023).

Espina et al. (2017), determinaram os efeitos do citral e sobre as bactérias *L. monocytogenesi*, *S. aureus* e *E. coli*. Segundo estes autores, o citral causou uma diminuição no número de células bacterianas e reduziu a formação de biofilmes por todas as três cepas confrontadas. Este composto também apresentou-se eficaz contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) (Long et al., 2019).

O citral também apresentou eficácia quando testado contra diferentes fungos patogênicos, tais como *C. tropicalis* (Chatrath et al., 2019), *C. albicans* (Leite et al., 2014) e diversas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* (Tang et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Desenvolver uma formulação líquido-cristalina à base de manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart) contendo óleo essencial de *Pectis elongata* (OEPE), e avaliar

seu potencial antifúngico contra leveduras do gênero *Candida*, visando a aplicação no tratamento da candidíase vulvovaginal.

3.2 Específicos

- Caracterizar o OEPe quanto à sua composição química;
- Avaliar se o OEPe e seu composto isolado (cital) apresentam propriedades antifúngicas, frente à três espécies pertencentes ao gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*);
- Obter e caracterizar uma formulação de uso tópico, com base no OEPe e manteiga de murumuru;
- Avaliar as características organolépticas e realizar o estudo de estabilidade preliminar físico-química das formulações desenvolvida;
- Identificar a composição química do OEPe incorporado nas formulações, nas concentrações de 2 e 10%;
- Avaliar se as formulações desenvolvidas apresentam atividade antifúngica frente às cepas fúngicas selecionadas para o estudo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Partes aéreas (folhas, flores e ramos finos) de *P. elongata* foram coletadas em fevereiro de 2023, às 9h da manhã, em área de cultivo localizada no município de Santarém, Pará, Brasil, sob as seguintes coordenadas geográficas: 2°27.8'143" S/ 54°41,31'646" W. Exsicatas foram depositadas no Herbário HSTM da UFOPA, sob o número de registro 003432. Os espécimes foram coletados de acordo com as leis brasileiras relacionadas à proteção da biodiversidade (licença SisGen A192EBE). O Citral (pureza de 95%), foi obtido comercialmente da Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha).

4.2 Extração do óleo essencial

Após três dias de secagem em temperatura ambiente, o material vegetal (100 g/L) foi submetido ao processo de hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger, por 3 h, a contar do início da fervura da água contida no balão. O óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro, e o seu teor (rendimento em %) foi determinado com base no peso seco da planta, segundo fórmula descrita por Santos et al. (2004).

$$T_0 = \frac{V_0}{B_m - \left(\frac{B_m \times U}{100}\right)} \times 100$$

Onde:

- T_0 = teor de óleo (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%);
- V_0 = volume de óleo extraído (ml), lido diretamente na escala do tubo separador.
- B_m = biomassa aérea vegetal (folhas e ramos finos), medida em gramas.
- $\frac{B_m \times U}{100}$ = quantidade de umidade ou água presente na biomassa.
- $B_m - \left(\frac{B_m \times U}{100}\right)$ = quantidade de biomassa seca, isenta de água ou livre de umidade.

100 = fator de conversão para porcentagem

Os procedimentos foram realizados em triplicata

4.3 Determinação da composição química do óleo essencial de *P. elongata* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

A composição química do OEPe foi determinada por GC-EM, em equipamento modelo QP-2010-Plus (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), utilizando coluna capilar de sílica (30m x 0,25mm x 0,25µm), sob as seguintes condições de análise: temperatura do injetor 250°C; programação de temperatura do forno 60°C (5 min), gradiente de 3 °C/min até 240 °C; injeção tipo split (1,0 µL da amostra diluída em hexano); ionização por impacto eletrônico de 70eV de energia; temperatura da fonte de íon e linha de transferência de 200 °C e 250 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste, com fluxo de 1 ml.min⁻¹ e pressão de entrada de 16,5 psi. A identificação dos componentes químicos foi realizada comparando-se o tempo de retenção com aqueles apresentados pelos padrões, bem como por seus respectivos espectros de massas com aqueles das bibliotecas ADAMS, (2007) e NIST - National Institute for Standard Technology, (2011). A análise química das formulações seguiu metodologia

descrita acima, após diluição em hexano (fator de diluição 1:1000). Procedimento realizado pelo Laboratório de bioprospecção da UFOPA.

4.4 Avaliação do potencial antifúngico do óleo essencial e do citral

4.4.1 Microrganismos e condições de cultivo

Cepas de referência: *C. albicans* ATCC 24433, *C. parapsilosis* ATCC 90018 e *C. tropicalis* ATCC 750, foram adquiridas comercialmente na forma liofilizada (Cefar Diagnóstico, São Paulo – Brasil). Para reativação, os microrganismos foram reidratados em Caldo Sabouraud Dextrose (SDB) (Himedia, Mumbai - Índia), e levados à estufa a $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, por 48 horas. Após crescimento em meio sólido, os inóculos foram preparados por transferência direta de colônias, para 1 mL de solução salina estéril, e ajustados ao padrão 0,5 na escala de McFarland, que corresponde a $2\text{-}5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ (CLSI - Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais, 2017).

4.4.2 Método de disco difusão em ágar

O espectro de inibição do OEPe contra os microrganismos ensaiados foi determinado de acordo com método descrito por Bauer e colaboradores (1966) e aceito como padrão pelo NCCLS (2002), com modificações. Para isso, os inóculos foram inicialmente semeados em Ágar Sabouraud Dextrose (SDA). Em seguida, discos de papel de filtro (6 mm de diâmetro), contendo 10 µL de OEPe e do citral não diluídos, foram levemente pressionados contra a superfície do ágar. Após 30 minutos à temperatura ambiente, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 24 h. No final do período de incubação, o diâmetro da zona de inibição foi mensurado em milímetros. Os testes foram realizados em triplicata.

4.4.3 Método de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial e do citral

Neste método, a concentração inicial de ensaio foi de 10 mg. mL⁻¹ (óleo essencial ou citral diluídos em Tween80 a 1%). A partir desta solução, as demais concentrações foram igualmente preparadas por diluição em série (fator de diluição 1:1) usando Caldo Sabouraud Dextrose (SDB) como diluente. Os inóculos fúngicos foram inicialmente ajustados ao padrão 0,5

da escala de MacFarland, com posterior diluição em solução salina estéril (fator de diluição de 1:10), para obtenção da concentração final de 2 a 5×10^6 UFC mL⁻¹.

Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços, onde cada poço recebeu 90 µL da concentração específica das amostras teste, 90 µL de SDB estéril e 10 µL do inóculo. Fluconazol (Sigma Aldrich®), utilizado como antifúngico padrão, foi diluído em solução tampão fosfato de sódio, em concentrações variando de 0,004 a 128 µg. mL⁻¹. O controle de esterilidade do meio, o controle de viabilidade das cepas, e o controle de atividade do solvente, foram realizados simultaneamente. Cada poço comportou volume final de 100 µL.

As placas foram encubadas em estufa bacteriológica, com temperatura de 27 ± 2 °C, por 24h. Transcorrido o período de incubação, a inibição do crescimento dos microrganismos foi revelada por adição de solução aquosa de resazurina (20 µL, 0,02%, p/v) e re-incubação por mais 3h. A CIM, definida como a menor concentração de amostras teste capaz de inibir o crescimento de microrganismos, foi determinada pela permanência de coloração azul nos poços. A mudança da cor azul para rosa (devido à redução da resazurina à refazurina) indicou o crescimento de células viáveis. Os poços que não mostraram crescimento aparente foram selecionados para avaliar a CFM, determinada pela ausência de crescimento microbiano após subcultura em placas contendo SDA. Os testes foram realizados em triplicata.

4.5 Obtenção e caracterização das formulações contendo manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) e óleo essencial de *P. elongata*

Nesta etapa, utilizou-se metodologia a pedido de patente BR 1020150308884, com adaptações. Para a formulação base, utilizou-se um sistema emulsionado tipo líquido cristalino, composto por manteiga de murumuru (Amazon Oil), (fase oleosa); Span20, como tensoativo; e água deionizada como fase aquosa (5:4:1, respectivamente), (Tabela 1).

A manteiga de murumuru e o tensoativo foram inicialmente aquecidos em banho termostático, em temperatura de 35 ± 1 °C, até fusão completa. Em seguida, a fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa, sob agitação constante, até seu resfriamento. Após obtenção de homogeneidade, adicionou-se o OEPE em diferentes concentrações (2, 4, 8 e 10%) (Tabela 1). Para atingir o equilíbrio, as formulações foram deixadas em repouso por 24h, em temperatura de 25 ± 1 °C. Obtenção e caracterização realizado no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal do Oeste do Pará.

Tabela 1 - Composição das formulações baseadas em manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.), contendo óleo essencial de *Pectis elongata*.

	COMPONENTES (%)			
	Manteiga	Span20	Água	OEPe
Formulação Base (FB)	50	40	10	-
FB1 OEPe (2%)	49	40	9	2
FB2 OEPe (4%)	48	40	8	4
FB3 OEPe (8%)	46	40	6	8
FB4 OEPe (10%)	45	40	5	10

FB: Formulação Base; OEPe – Óleo essencial de *Pectis elongata*

Fonte: Autora 2024

4.5.1 Microscopia de luz polarizada (MLP)

Após 24 horas do preparo, amostras de FB e FB4 foram colocadas sobre lâmina de vidro, cobertas com lamínula e submetidas à microscopia de luz polarizada em microscópio Linkam THMSG600 para a identificação do comportamento de birrefringência de fase mesomórfica das formulações (Abraham, 2020; Nunes et al., 2016).

4.5.2 Estudo de estabilidade preliminar

A estabilidade preliminar das formulações contendo manteiga de murumuru e OEPe foi realizada conforme o Guia de estabilidade de Produtos Cosméticos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2004), com adaptações. Para isto, amostras de 25 g tanto da FB, quanto das FB1, FB2, FB3 e FB4, foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e mantidos sob três diferentes condições de temperaturas: 5 ± 2 °C (temperatura de geladeira), 25 ± 2 °C (temperatura ambiente), e 45 ± 2 °C (estufa de secagem), durante 30 dias consecutivos. Para verificar possíveis alterações nas características organolépticas (aspecto, cor e odor), as formulações foram avaliadas periodicamente, no tempo zero e após intervalos de 7, 15 e 30 dias consecutivos. As formulações armazenadas à temperatura ambiente foram consideradas como controle. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.5.2.1 Características organolépticas

As características organolépticas das formulações em estudo foram analisadas, por meio de observação, considerando modificações no aspecto, cor e odor, segundo critérios descritos no Quadro 1.

Quadro 1 - Avaliação das características organolépticas

N	Normal
LMA	Leve Modificação da Aparência
LMC	Leve Modificação da Cor
LMO	Leve Modificação do Odor
MA	Modificação da Aparência
MC	Modificação da Cor
MO	Modificação do Odor
IMA	Intensa Modificação da Aparência
IMC	Intensa Modificação da Cor
IMO	Intensa Modificação do Odor

Fonte: (Buhler e Ferreira 2008)

4.5.2.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada em pHmetro calibrado (soluções tampão 4,0 e 7,0), logo após a diluição das amostras em água destilada, a uma concentração de 10% (m/v). As análises foram realizadas em triplicata, seguindo o Guia de estabilidade de Produtos Cosméticos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2004).

4.6 Determinação da composição química das formulações por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

A composição do OE presente nas formulações foi analisada por GC e GC-MS, conforme metodologia descrita no item 4.3. Para a extração do concentrado volátil, as formulações (5 g) foram submetidas ao processo de destilação e extração simultâneas (Likens e Nickerson, 1964), usando pentano (4 ml) como solvente.

4.7 Avaliação da atividade antifúngica das formulações técnica de difusão em poços

A atividade antifúngica das formulações foi avaliada por meio da técnica de difusão em poços, segundo metodologia descrita por Balouiri, Sadiki e Ibnsouda (2016). Nesta avaliação, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram utilizadas como microrganismos padrão. Para obtenção de inóculos na concentração inicial de trabalho (2 a 5×10^6 UFC ml^{-1}), estes foram inicialmente preparados, segundo metodologia descrita no item 4.4.1. Os microrganismos foram inoculados pela dispersão de um volume de inóculo microbiano sobre a superfície do ágar. Em seguida, poços com diâmetro de 6 mm foram perfurados assepticamente e, com auxílio de ponteiros estéreis, as formulações fundidas a 35°C foram adicionadas aos poços, em volumes finais de 100 μL por poço. Os resultados foram mensurados conforme o item 4.4.2. Os testes foram realizados em triplicata.

As formulações empregadas neste ensaio compreenderam: controle negativo (formulação base, sem adição do OEPE); controle positivo (formulação contendo nistatina - 0,3 mg. mL^{-1}); e formulações teste, contendo 4 (quatro) diferentes concentrações do OEPE (2, 4, 8 e 10%). Essas concentrações foram selecionadas de acordo com os resultados de CIM obtidos no teste de microdiluição em caldo.

4.8 Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão, e submetidos à análise de variância, seguido do teste de Tukey. As diferenças entre os valores obtidos foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$. O intervalo de confiança foi estabelecido em 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Rendimento e caracterização química do óleo essencial de *Pectis elongata*

No presente estudo, o rendimento do OEPE foi determinado em 1,5%, o que está de acordo com os resultados de Pereira et al. (2021), que analisaram o rendimento em OE de espécimes coletados na mesma região. Por outro lado, Massing et al. (2021) reportaram um

rendimento superior, determinado em 2,5%, enquanto Da Silva Pires et al. (2024) observaram um rendimento inferior, determinado em 1%.

Em estudo conduzido por Silva et al. (2021), os autores relataram um rendimento em OE de 0,74% para espécimes de *P. elongata* coletados em Boa Vista. Da mesma forma, Silva et al. (2005), observaram rendimentos de 0,7%, 1,3% para amostras e espécimes coletados em Belém-PA (estrada Bujaru-PA e vila Ajuru, respectivamente) e 1,5%, para amostras coletadas em Ferreira Gomes-AP. Tais variações no rendimento podem ser atribuídas a genética das plantas, fatores climáticos, variabilidade sazonal, zonas geográficas, período de coleta, órgãos da planta e técnicas de extração (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Na determinação da composição química do OEPe, foram identificados vinte e três constituintes, os quais representam 95,6% do total analisado (Tabela 2).

Tabela 2 - Constituintes químicos presentes no óleo essencial de *Pectis elongata*.

ORDEM	TR	CONSTITUINTES QUÍMICOS	OEPe (%)
1	7.024	Hepteno-2-ona<6-metil-5->	0,27
2	7.639	NI	0,03
3	8.282	<i>p</i> -cimeno	0,02
4	8.426	Limoneno	0,23
5	10.663	NI	0,08
6	10.990	Linalol	0,29
7	12.785	exo-Isocitral	0,25
8	13.125	Citronelal	0,07
9	13.601	(<i>Z</i>)-Isocitral	0,89
10	14.058	Epóxido de rosefurano	0,11
11	14.244	NI	0,08
12	14.357	(<i>E</i>)-Isocitral	1,76
13	14.737	α -Terpineol	0,03
14	14.858	NI	0,02
15	15.133	cis-Piperitol	0,03
16	15.389	NI	0,03
17	16.088	Citronelol	0,16
18	16.340	Nerol	0,44
19	16.973	Neral	36,77

20	17.455	Geraniol	0,89
21	18.296	Geranial	49,61
22	18.543	NI	1,25
23	19.030	(1)Trideceno	1,81
24	20.952	NI	0,79
25	21.803	Ácido gerânico	0,36
26	21.968	NI	0,32
27	22.484	NI	1,37
28	23.268	β -elemeno	0,23
29	23.578	Cipereno	0,11
30	23.729	NI	0,07
31	24.630	NI	0,10
32	24.719	NI	0,14
33	24.810	NI	0,06
34	25.774	α - Humuleno	0,72
35	27.325	Dodecanol	0,06
36	31.872	Epóxido de Humuleno II	0,46
37	41.856	NI	0,03
38	42.010	NI	0,06
TOTAL CONSTITUINTES IDENTIFICADOS			95,6%

TR – Tempo de retenção; NI – Não identificado; OEPe – Óleo essencial de *Pectis elongata*.

Fonte: Autora 2024.

A composição química do OEPe determinada por GC-EM, revelou a predominância de citral (86,38%) como constituintes majoritários. Este composto é caracterizado pela soma de dois estereoisômeros: aldeídos: neral (36,77%) e geranial (49,61%).

O citral tem sido evidenciado como marcador químico do OE em diferentes espécies do gênero *Pectis*, incluindo *P. apodocephala*, *P. angustifolia*, *P. brevipedunculata*, *P. ciliares*, *P. jangadensis*, *P. linifolia* e *P. elongata* (Marques et al., 2013).

Em estudos prévios sobre a composição química do OEPe, o citral prevalece como composto majoritário, com outros monoterpenos presentes em pequenas concentrações (Massing et al.; 2021; Nascimento et al., 2021; Pereira et al., 2021; Da Silva Pires et al., 2024). Por outro lado, Silva et al. (2005), ao analisarem o OEPe obtido de espécimes coletadas no Pará, identificaram como principais constituintes os compostos aldeído perila e o limoneno. Em amostras coletadas no estado do Amapá, os autores identificaram o quimiotipo aldeído perila (81,9%) como composto maioritário. Tais resultados confirmam a presença de dois quimiotipos distintos para a espécie: citral e aldeído perila.

O citral é um fitocomposto com odor doce de limão, e está presente naturalmente em ervas, plantas e frutas cítricas, como murta-limão, capim-limão, limão e laranja. Este terpenoide possui alta volatilidade, é lipofílico e apresenta baixa solubilidade em água (El Harati et al., 2024).

Nas últimas décadas, as propriedades bioativas do citral foram bem demonstradas por um número crescente de pesquisadores. Dentre elas, destacam-se as atividades anti-inflamatória, (Campos et al., 2019; Emmanuela et al., 2024), antinociceptiva e anti-hiperalgésica (Da Silva Pires et al., 2024; Santos et al., 2023), antioxidante (Ling et al., 2022), anticancerígena, (Al-Maharik et al., 2024; Camas-Reyes et al., 2022) ansiolítico (Soares et al., 2021), antidiabética (Alan et al., 2022) e antimicrobiana (Bence et al., 2024; Gutiérrez-Pacheco

et al., 2023; Kang et al., 2022; Miranda-Cadena et al., 2022; Prudent et al., 1995; Tazi et al., 2024).

5.2 Potencial anti-*Candida* do óleo essencial de *Pectis elongata* e do citral, seu composto majoritário

O presente estudo avaliou a eficácia do OEPe e do citral isolado contra três diferentes espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*). As amostras avaliadas foram submetidas a testes para determinar os diâmetros de zona de inibição de crescimento de microrganismos (DD-mm), concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM), ambas determinadas em mg. mL⁻¹. A Tabela 3 apresenta os resultados detalhados desses testes, destacando o potencial anti-*Candida* dos compostos ensaiados.

Tabela 3 - Potencial anti-*Candida* do óleo essencial de *Pectis elongata* e do citral isolado.

Microrganismos	OE <i>P. elongata</i>			Citral			FLU	
	DD	CIM	CFM	DD	CIM	CFM	CIM	CFM
<i>C. albicans</i> ATCC 24433	>40	0,62	1,25	>40	0,005	0,31	32	> 128
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 90018	>40	0,15	0,31	>40	0,002	0,31	0,062	> 128
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	>40	0,31	1,25	>40	0,31	1,25	0,062	64

OE – Óleo essencial; DD - Disco de difusão (mm); CIM - Concentração inibitória mínima (mg/mL⁻¹); CFM - Concentração fungicida mínima (mg/mL⁻¹). FLU - Fluconazol (µg/mL⁻¹) foi usado como antifúngico padrão.

Fonte: Autora (2024)

Como resultado, no método de Disco Difusão, tanto o OEPe quanto o citral isolado demonstraram forte atividade anti-*Candida*, com zonas de inibição de crescimento apresentando diâmetros superiores a 40 mm frente à todas as cepas confrontadas, sendo, portanto, classificadas como extremamente sensíveis diante à ação destes compostos. Como parâmetros de classificação, utilizamos os padrões de sensibilidade adotados por Moreira et al., (2005), onde a atividade de diferentes OEs foi classificada de acordo com o tamanho do halo de inibição, sendo: não sensível (-) para diâmetros ≤ 8 mm; sensível (+) para diâmetros de 9-14

mm; muito sensível (++) para 15-19 mm e extremamente sensível (+++) para os halos com diâmetros ≥ 20 mm.

De maneira geral, nos testes de CIM e CFM, a atividade anti-*Candida* do OEPe variou de acordo com a espécie ensaiada, sendo mais eficaz frente à *C. parapsilosis*. Aligiannis et al. (2001) propuseram uma classificação para materiais vegetais, baseada nos resultados de CIM, onde valores até $0,5 \text{ mg/mL}^{-1}$, são considerados fortes inibidores; CIM entre 0,6 e $1,5 \text{ mg/mL}^{-1}$ são considerados inibidores moderados, e valores de CIM acima de $1,6 \text{ mg/mL}^{-1}$, representam fracos inibidores de crescimento microbiano. Portanto, OEPe é um forte inibidor de crescimento dos microrganismos, assim como o citral. Fluconazol, utilizado como antifúngico padrão, apresentou valores de CIM e CFM compatíveis com dados da literatura. Estudos prévios destacam o potencial antifúngico de OEs, com alto teor de citral (Boukhtem et al., 2014; De Paiva et al., 2021; Gonçalves et al., 2019; Prado et al., 2024; Rhimi et al., 2022; Sawadogo et al., 2022; Zore et al., 2011).

O mecanismo de ação do citral frente a microrganismos patogênicos não está completamente elucidado. Segundo Leite et al. (2014), este mecanismo não envolve danos à parede celular ou inibição da síntese do ergosterol. Em contraponto, Tao et al. (2014), mostraram que o citral prejudicou consideravelmente a biossíntese de ergosterol em células de *Penicillium italicum*, diminuindo significativamente os níveis de lipídios, sugerindo a membrana plasmática como um possível alvo antifúngico deste composto.

Gucwa et al. (2018) e Karpinski et al. (2021), por exemplo, observaram que OEs ricos em citral são capazes de inibir a formação de biofilmes quando confrontados frente à *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, indicando que este monoterpene pode inibir efetivamente o crescimento de patógenos fúngicos.

De acordo com Harris (2002), o citral atua principalmente bloqueando a síntese da membrana celular fúngica, afetando sua estrutura e causando morte celular, ao mesmo tempo em que inibe a germinação de esporos, proliferação e respiração celular.

Em adição, em estudo conduzido por OuYang et al., (2018), os autores relatam que a atividade antifúngica do citral resulta, pelo menos em parte, de danos a fosforilação oxidativa e as membranas celulares, por meio do acúmulo de espécies reativas de oxigênio. A literatura sugere ainda, que a atividade antifúngica do citral se deve à sua capacidade de formar um complexo de transferência de carga com o triptofano da célula fúngica, resultando na morte dos fungos (Kurita et al., 1981; Leite et al., 2014).

Ressalta-se que a natureza lipofílica do citral, derivada da sua estrutura monoterpênica, facilita a penetração através das paredes celulares dos patógenos e resulta no seu acúmulo no

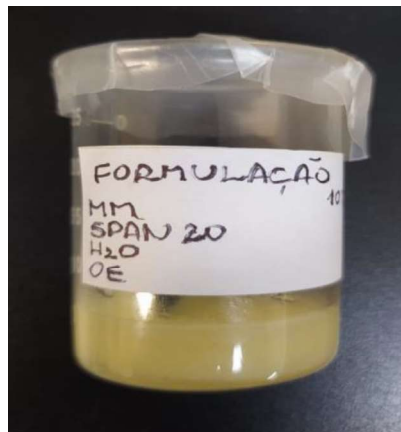
interior das membranas celulares, aumentando sua eficácia na interrupção das funções celulares essenciais dos microrganismos, o que o torna um potente agente antimicrobiano (Oliveira et al., 2021).

5.3 Obtenção e caracterização das formulações semissólidas a base de manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) contendo óleo essencial de *P. elongata*

Formas farmacêuticas semissólidas são empregadas para aplicação tópica e, dependendo dos excipientes utilizados e do sistema formado, elas podem proporcionar efeitos locais (absorção pela pele e mucosas) e sistêmicos (absorção através da pele para a circulação). Além disso, essas formulações servem como uma alternativa terapêutica quando a administração oral é inviável ou a biodisponibilidade é limitada (Da Costa et al., 2021).

Após o preparo das formulações, constatou-se que as amostras apresentaram-se homogêneas, sem sinais de separação de fase, portanto, utilizada nas demais etapas do estudo, ilustrada na figura 3.

Figura 3 - Registro fotográfico da formulação fitoterápica na concentração de 10%.



Fonte: Autora 2024

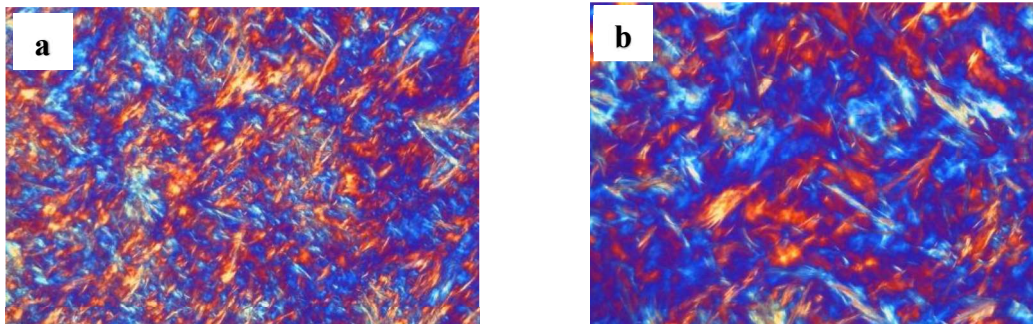
A FB apresentou valor de pH de $5,3 \pm 0,4$. Após a adição do OEPE, o valor de pH da FB4 foi determinado em $5,0 \pm 0,6$. Esses valores são considerados compatíveis para aplicação na mucosa vaginal, uma vez que o pH dessa região apresenta-se em uma faixa entre 4,0 a 4,5 (Lin et al., 2021). Essas características são importantes para manter a homeostase dérmica (Hachem et al., 2003), e evitar colonização por microrganismos patogênicos (Lambers et al., 2006).

Segundo Petrovic et al. (2024), existem algumas razões pelas quais o pH das formulações pode diminuir, dentre estas destacam-se as possíveis interações químicas entre substâncias ácidas ou alcalinas presentes na formulação, processos de oxidação resultante da exposição ao ar, contaminação microbiana, absorção de dióxido de carbono do ar, mudanças de temperatura, etc. Todos esses fatores são cruciais e podem levar ao desequilíbrio do pH da formulação e, conseqüentemente, à irritação, ressecamento, vermelhidão, inflamação e danos a pele e mucosas.

5.3.1 Microscopia de luz polarizada (MLP)

Todas as formulações apresentaram-se birrefringentes e anisotrópicas, com texturas em forma de estrias, característica de fase hexagonal, indicando que a adição do OE à formulação não alterou a estrutura da mesofase líquido-cristalina, preservando a textura de estrias típica da fase hexagonal (Figura 4).

Figura 4 - Fotomicrografias das formulações na concentração de 10% observadas ao microscópio de luz polarizada apresentando anisotropia, com estrias características de fase hexagonal, aumento 10x. a) base (sem adição do óleo essencial de *Pectis elongata*) e b) Formulação 10% do óleo essencial de *Pectis elongata*.



Fonte: Autora 2024

Segundo Chavda et al. (2022), a microscopia de luz polarizada (MLP) é utilizada para identificar cristais líquidos liotrópicos (LLCs) nas fases lamelar, que costumam exibir um padrão em mosaico, e a fase hexagonal, que apresentam texturas fragmentadas ou estriadas, em formato de leque.

A utilização de materiais vegetais, como os OE e as manteigas vegetais, são amplamente preferidos para a incorporação em formulações tópicas, devido à presença de

ácidos graxos que se assemelham à composição química da pele (Morais et al., 2005), podendo promover a formação de fases líquido-cristalinas, mostrando potencial significativo no desenvolvimento de sistema de liberação sustentada de medicamentos (Rajak; Nath; Bhuyan, 2019). Vale ressaltar que a liberação lenta e contínua de fármacos e bioativos pode reduzir a frequência da administração, promovendo maior adesão a terapia pelo paciente e consequentemente a eficácia no tratamento (Nunes et al., 2016).

Quando comparados aos sistemas convencionais, os CLLs se destacam pela alta capacidade em incorporar fármacos e bioativos de diversos pesos moleculares e solubilidade (Da Silva et al., 2021).

5.3.2 Estudo de estabilidade preliminar

Após 24h de preparo, as formulações FB1, FB2, FB3 e FB4, contendo manteiga de murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e OEPe, apresentaram-se macroscopicamente homogêneas e estáveis, com odor cítrico e refrescante e cor levemente amarelada.

As características organolépticas das formulações, nas concentrações descritas, bem como a FB (sem OEPe incorporado), foram submetidas ao estudo de estabilidade preliminar, sendo monitoradas durante 30 dias. Os resultados estão descritos no quadro 1.

Quadro 2 Características organolépticas (aspecto, cor e odor) das formulações contendo óleo essencial de *Pectis elongata*, durante o período de 30 dias.

Temperaturas	FO	Tempo (dias)											
		Aspecto				Cor				Odor			
		0	7	15	30	0	7	15	30	0	7	15	30
Ambiente (25°C±2)	FB1 2%	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	FB2 4%	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	FB3 8%	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	FB4 10%	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Geladeira (5°C±2)	FB1 2%	LM	LM	LM	LM	N	N	N	N	N	N	N	N
	FB2 4%	LM	LM	LM	LM	N	N	N	N	N	N	N	N
	FB3 8%	LM	LM	LM	LM	N	N	N	N	N	N	N	N
	FB4 10%	LM	LM	LM	LM	N	N	N	N	N	N	N	N
Estufa (45° C±2)	FB1 2%	M	M	M	M	M	M	M	M	N	N	N	N
	FB2 4%	M	M	M	M	M	M	M	M	N	N	N	N
	FB3 8%	M	M	M	M	M	M	M	M	N	N	N	N
	FB4 10%	M	M	M	M	M	M	M	M	N	N	N	N

FO: Formulação com óleo essencial; N: Normal; LM: Leve Modificação; M: Modificação.

Todas as formulações, quer acondicionadas sob temperatura ambiente (25 ± 2 °C) ou em temperatura de geladeira (5 ± 2 °C), não sofreram modificações em relação a cor e odor. Por outro lado, observou-se leve modificação no aspecto (consistência), quando armazenadas na geladeira. Da mesma forma, foram observadas alterações no aspecto das formulações mantidas em temperatura elevada (45 °C), com mudanças de estado semissólido para líquido, bem como alterações na cor, que apresentou-se mais intensa. Tais alterações foram observadas do tempo 0 ao 30º dia . Segundo a literatura, o ponto de fusão da manteiga de murumuru é aproximadamente 32 °C (Feitosa et al., 2021), tornando esse resultado esperado. A intensificação da cor pode ser explicada pela mudança do estado semissólido para líquido.

5.4 Determinação da composição química das formulações por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

Tabela 5. Constituintes químicos presentes nas formulações contendo óleo essencial de *Pectis elongata*, nas concentrações de 2 e 10%.

ORDEM	TR	Nome	F 2%	F 10 %
1	3,075	Octanas<n->	-	0,20
2	3.900	Hexenol<3Z->	0,14	-
3	5.020	Acetilfurano<2->	0,30	-
4	6.025	Canfeno	0,11	-
5	6.685	Sabinene	0,96	-
6	6.800	β -pineno	0,54	-
7	6,990	Hepteno-2-ona<6-metil-5->	-	2,75
8	7.170	Cineol<desidro-1,8->	1,45	-
9	8.400	Limoneno	-	4,70
10	8.685	Ocimeno<(Z)-beta->	0,13	-
11	9.050	Ocimeno<(E)-beta->	1,04	0,65
12	9.950	Óxido de linalol <cis-> (furanoide)	0,15	-
13	10.980	Linalol	4,26	2,53
14	11.390	Octadienal <2,2-dimetil- 3,4->	0,74	-
15	12.770	(E)-Isocitral	2,08	1,18
16	13.105	Citronelal	0,79	0,38
17	13.600	(Z)-Isocitral	6,10	5,35
18	14.370	(E)-Isocitral	8,76	7,29
19	14.720	α -terpineol	0,41	-
20	16.605	Nerol	0,77	1,33
21	17.270	Neral	21,80	30,88
22	17.530	Geraniol	4,99	3,79
23	18.675	Geranial	22,90	32,74
24	19.095	Trideceno<1->	0,43	0,90
25	19.185	Undecanona<2->	0,63	-
26	22.385	Ácido decanóico	0,46	-
27	23.260	β -elemeno	0,45	0,91

28	23.565	Cipereno	0,13	-
29	25.755	α -Humuleno	1,05	2,25
30	28.580	Dodecanoato de metila	0,18	-
31	30.350	Ácido dodecanóico	1,26	-

TR – Tempo de retenção; F2%: Formulação a 2%; F10%: Formulação a 10%

Fonte: Autora 2024.

As formulações analisadas quanto à composição química foram identificadas como FB2% e FB10% (Tabela 5). Em F2% foram detectadas 27 substâncias, enquanto em FB10%, apenas 15 substâncias foram identificadas.

Após análise comparativa entre a composição química do OEPe livre, FB2% e FB10%, foram observadas variações significativas nas concentrações dos compostos presentes. Em comparação ao OEPE livre, ambas as formulações apresentaram uma redução nos percentuais de citral, com valores entre 2 e 1,5 vezes inferiores. Os percentuais de citral também diferem quanto à concentração entre amostras, apresentando-se 1,4 vezes mais concentrado em FB10%, quando comparado à FB2%.

Adicionalmente, observou-se que alguns compostos presentes em FB2% não foram detectados ou tiveram seus percentuais reduzidos em FB10%. Isso inclui o linalol, citronelal e geraniol, compostos químicos de grande importância farmacológica devido, entre outros, à sua ação antimicrobiana já confirmada, quando presentes em OEs (Gurtler & Garner, 2022).

Vale ressaltar que as substâncias presentes em OEs podem interconverter-se devido à sua estrutura química. Essas transformações ocorrem por meio de reações de oxidação, isomerização, ciclização ou desidrogenação, desencadeadas tanto por processos enzimáticos quanto químicos (Turek & Stintzing, 2013).

Por sua vez, modificações na composição química dos OEs podem impactar significativamente suas propriedades biológicas. Logo, a análise da caracterização química pós-formulação é essencial para avaliar possíveis alterações na composição química do ativo responsáveis pela ação antifúngica de formulações contendo OEPE, em comparação ao OEPE livre. Variação na composição química pode impactar diretamente na eficácia e a estabilidade do produto final (ANVISA, 2010), destacando a importância dessa avaliação para garantir a qualidade e a eficácia terapêutica das formulações desenvolvidas.

5.5 Atividade antifúngica das formulações contendo óleo essencial de *Pectis elongata*

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a relação entre a concentração do OEPe presente nas formulações, e a eficácia antifúngica contra as diferentes espécies de *Candida*. A atividade antifúngica das formulações com OEPe são evidenciadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Atividade antifúngica das formulações contendo óleo essencial de *Pectis elongata* (FB2, FB4, FB8 e FB10%), nitrato de miconazol, na concentração de 10% (controle positivo), e da formulação base (FB), sem adição do óleo essencial (controle negativo).

Microrganismos	Formulações					
	FB2% (mm)	FB4% (mm)	FB8% (mm)	FB10% (mm)	Nitrato de Miconazol (mm)	FB -CRTL NEG (mm)
<i>C. albicans</i>	SI	10,6±0,2	10,2±0,1	12,8±0,8	17±0,5	SI
<i>C. parapsilosis</i>	SI	SI	SI	9,9±1,4	19,3±1,3	SI
<i>C. tropicalis</i>	SI	12,4±0,9	11,8±0,2	17,7±0,9	17,1±0,6	SI

FB: Formulação base; SI: Sem inibição, CRTL NEG: Controle negativo; mm: milímetro

Fonte: Autora (2024)

Como observado na Tabela 6, para as espécies de *Candida* testadas, as formulações na concentração de FB2%, não promoveram inibição de crescimento de microrganismos, evidenciando ausência de atividade antifúngica, provavelmente associada à baixa concentração do OEPe presente na formulação. Por outro lado, formulações contendo FB8 e FB10% de OEPe mostraram melhores resultados quando comparadas a formulações menos concentradas.

Em estudo conduzido por Valeriano et al. (2012), os autores observaram que diferentes concentrações do princípio ativo podem influenciar a atividade antimicrobiana, resultando em alterações tanto na resposta terapêutica.

C. albicans demonstrou-se mais sensível ao aumento da concentração do OEPe, expressando vulnerabilidade a ação antifúngica das formulações, seguida por *C. tropicalis*. Frente à *C. parapsilosis*, as formulações exibiram menor eficácia, o que pode sugerir possível diferença na composição da parede celular e no mecanismo de resistência dessas células fúngicas. Em estudo realizado por Branco et al. (2023), os autores descrevem as vias mecanicistas de virulência associadas a *C. parapsilosis*, sendo a principal delas relacionada à formação de biofilmes, uma vez que estes atuam como barreira protetora, reduzindo a eficácia de antifúngicos. Ainda segundo esses autores, *C. parapsilosis* apresenta genes que codificam

bombas de efluxo, envolvidas no mecanismo de resistência à multidrogas, transportando o fármaco para fora da célula.

Vale ressaltar que as formulações contendo OEPE promoveram halos de inibição com diâmetros inferiores em comparação ao OEPE puro, resultado que pode estar associado a complexidade das formulações e interação entre os excipientes, o que pode interferir na liberação do princípio ativo, sua absorção e biodisponibilidade (Bharate et al., 2016).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, demonstramos que o OEPE possui atividade anti-*Candida*, mesmo em baixas concentrações. Adicionalmente, a formulação contendo o OEPE manteve as propriedades antifúngicas evidenciando seu potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos antifúngicos. Além disso, o uso da manteiga de murumuru como matrix lipídica para a obtenção de sistema líquido cristalino visa não apenas alcançar uma maior taxa de liberação dos bioativos presentes na formulação, mas também aumentar o tempo de retenção no canal vaginal. Isso pode otimizar o tratamento tópico para candidíase vulvovaginal, oferecendo uma alternativa terapêutica mais eficaz e prolongada.

7 REFERÊNCIAS

ABÍLIO, V. M. F.; MESQUITA, B. S.; SILVA, E. D.; CARVALHO, F. V. Q.; MACÊDO, L. L. A.; CASTRO, R. D. Atividade antifúngica de produtos naturais indicados por raizeiros para tratamento de candidíase oral. *Revista Cubana*, 51, 259-269, 2014.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, EUA, 2007.

AGRA, M. F.; BARACHO, G. S. NURITI, K.; BASÍLIO, I. J. L. D.; COELHO, V. P. M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 383-395, 2007.

ALAM, S. et al. Fitoquímicos antidiabéticos de plantas medicinais: candidatos prospectivos para descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. *Frontiers in endocrinology*, 13, 800714, 2022.

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; NETO, E. M. F. L.; MELO, J. G.; et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid)

vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 325-354, 2007b.

ALIGIANNIS, N.; KALPOTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I.B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 4168–4170, 2001.

AL-MAHARIK, N. et al. Composição química, atividade anticâncer e antimicrobiana de óleos essenciais de *Aloysia citriodora* Palau de quatro locais diferentes na Palestina. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24, 1, 94, 2024.

AMÉRICO, A. V. L. S.; NUNES, K. M.; DE ASSIS, F. F. V.; DIAS, S. R.; PASSOS, C. T. S.; MORINI, A. C.; DE ARAÚJO, J. A.; CASTRO, K. C. F.; DA SILVA, S. K. R.; BARATA, L. E. S. et al. Eficácia de fitofármacos da planta amazônica *Libidibia ferrea* na cicatrização de feridas em cães. *Frente Vet Sci*, 7, 1-11, 2020.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Resolução - RE nº 01, de 29 de julho de 2010.

ARAÚJO, B. B; COUTINHO, L. M. T. R. Uma abordagem geral das vulvovaginites: candidíase vulvovaginal e vaginose bacteriana. *Revista Eletrônica Acervo Médico*, 23, 6, 13580-e13580, 2023.

^a ARAÚJO, V. H. S et al. Nanosistemas contra candidíase: uma revisão de estudos realizados nas últimas duas décadas. *Critical Reviews in Microbiology*, 46, 5, 508-547, 2020.

^b ARAÚJO, V. H. S et al. Sistemas à base de quitosana visando aplicação local para infecções vaginais. *Carbohydrate Polymers*, 261, 117919, 2021.

BAILLY, C. Targets and pathways involved in the antitumor activity of citral and its stereoisomers. *European Journal of Pharmacology*, 871, 172945, 2020.

BAIOTTO, C. S.; COLET, C. D. F.; da SILVA, J. A. G. Uso de óleos essenciais antifúngicos sobre *Candida spp.*: uma revisão da literatura. *Salão do Conhecimento*, 7, 7, 2021.

BHARATE, S.S.; BHARATE, S.B.; BAJAJ, A.N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *International Journal of Pharmaceutical Excipients*, 1(3), 2016.

BAKKALI, Fadil et al. biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46, 446-475, 2008.

BALA, R., SINDHU, R. K., KAUNDLE, B., MADAAN, R., & CAVALU, S. The prospective of liquid crystals in nano formulations for drug delivery systems. *Journal of Molecular Structure*, 1245, 131117, 2021.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S.K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71-79, 2016.

BARBA-OSTRIA, C. et al. Evaluation of biological activity of natural compounds: Current trends and methods. *Molecules*, 27, 4490, 2022.

BARBOSA JUNIOR, A. M.*; MÉLO, D. L. F. M DE; ALMEIDA, F. T. C. DE TRINDADE, R. DE C. Estudo comparativo da susceptibilidade de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1895) frente a alguns antifúngicos de uso hospitalar e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais da região semiárida sergipana. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, 17, 120-132, 2015.

BARYAKOVA, T. H. et al. Superando barreiras à adesão do paciente: o caso para desenvolver sistemas inovadores de administração de medicamentos. *Nature Reviews Drug Discovery*, 22, 5, 387-409, 2023.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493- 496, 1966.

BAUTISTA, H. P. Pectis L. (Compositae - Tageteae). Espécies ocorrentes no Brasil. In: GUEDES, R R.; COSTA, E. L.; BAUMGRATZ, J. F. A.; LIMA, H. C. VIEIRA, R.C. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 28, 5-109, 1987.

BENCE, R. et al. Design de novos pesticidas: coencapsulação de citral e ciproconazol para o controle de *Botrytis cinerea* usando nanocarreadores biocompatíveis. *Pest Management Science*, 2024.

BERNEGOSI, J.; CALIXTO, G.; SANCHES, P.; FONTANA, C.; CILLI, E.; GARRIDO, S.; CHORILLI, M. Peptide KSL-W-loaded mucoadhesive liquid crystalline vehicle as an alternative treatment for multispecies oral biofilm. *Molecules*, 21, 1, 37, 2015.

BEVAQUA, A. J.; LAHANAS, K. M.; COHEN, I. D.; CIOCA, G. Liquid crystal in multiple emulsions. *Cosm. Toiletries*, 106, 53-56, 1991.

BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. *Química Nova*, 45, 949-958, 2022.

BOUZENNA, H.; HFAIEDH, N.; GIROUX-METGES, M.-A.; ELFEKI, A.; TALARMIN, H. Biological properties of citral and its potential protective effects against cytotoxicity caused by aspirin in the IEC-6 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 653-660, 2017.

BOUKHATEM, M. N. et al. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine*, 9, 1, 2014.

BRANCO, J.; MIRANDA, I. M.; RODRIGUES, A. G. *Candida parapsilosis* virulence and antifungal resistance mechanisms: a comprehensive review of key determinants. *Journal of Fungi*, 9, 1, 80, 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasília: ANVISA, Série Qualidade em Cosméticos, 1. ed., versão 1, 49, 2004.

BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; DOUCET, J.; TRANCHANT, J-T., COUARRAZE, G. Percutaneous absorption of sunscreens form liquid crystalline phases. *J. Control. Rel.*, Arlington, 60, 67-76, 1999.

BUHLER F.V.; FERREIRA J.R.N. Development and evaluation of the stability of formulations containing extracts of *Ilex paraguariensis* St. Hil. at 5 and 10%. *Rev Perspect*, 32, 47-55, 2008.

BUNSE, M. et al. Essential oils as multicomponent mixtures and their potential for human health and well-being. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 956541, 2022.

CAAR, M.G.; CORISH, J.; CORRIGAN, O.I. Drug delivery from a crystalline base across Visking and human stratum corneum. *Int. J. Pharm*, 157, 35-42, 1997.

CAI, R.; HU, M.; ZHANG, Y.; NIU, C.; YUE, T.; YUAN, Y.; WANG, Z. Antifungal activity and mechanism of citral, limonene and eugenol against *Zygosaccharomyces rouxii*. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - LWT*, 106, 50-56, 2019.

CAMAS-REYES, A. et al. Efeito de diferentes citocininas no crescimento de brotos e perfil de compostos bioativos do óleo essencial de capim-lemo. *International Journal of Plant Biology*, 13, 3, 298-314, 2022.

CAMPOS, C. A.; LIMA, B.S.; TRINDADE, G.G.; SOUZA, E.P.; MOTA, D.S.; HEIMFARTH, L. & THANGARAJ, P. Anti-hyperalgesic and anti-inflammatory effects of citral with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes in animal models. *Life sciences*, 229, 139-148, 2019.

CAMPOS, C. A. et al. Efeitos anti-hiperalgésicos e anti-inflamatórios do citral com complexos de inclusão de β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina em modelos animais. *Ciências da vida*, 229, 139-148, 2019.

CAMPOS, T. et al. Avaliação do comportamento de leveduras do gênero *Candida* a fármacos antifúngicos. *Ciência & Inovação*, 5, 1, 2020.

CARVALHO, N. S. et al. Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: infecções que causam corrimento vaginal. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 30, n. spe1, 2021.

CASSIANA, M. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Psidium salutare* (Myrtaceae) contra *Candida albicans*. Lajeado: Centro Universitário Univates, junho, 2016.

CHATRATH, A.; GANGWAR, R. KUMARI, P. AND PRASAD, R. In vitro anti-biofilm activities of citral and thymol against *Candida tropicalis*. *Journal of Fungi*, 5(1), 2019.

CID-CHEVECICH, C. et al. O óleo essencial de *Origanum vulgare* L. inibe os padrões de virulência de *Candida spp.* e potencializa os efeitos do fluconazol e da nistatina in vitro. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22, 1, 39, 2022.

CIUREA, C. N. et al. *Candida* and candidiasis-opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits. *Microorganisms*, 8, 857, 2020.

COIMBRA, M. et al. Improving solubility and chemical stability of natural compounds for medicinal use by incorporation into liposomes. *International journal of pharmaceutics*, 416, 433-442, 2011.

COSTA, C. K. et al. A dry skin study: emulsion for his treatment and search of sensorial pleasantness for a continuous use. *Visão Acadêmica*, 5, 2, 69-79, 2004.

COSTA, E. G. R.; CAMPOS, A. C. C.; SOUZA, A. P. S. Terapias para o tratamento de candidíase vulvovaginal. *Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás*, 3, 61-67, 2020.

CHORILLI, M.; PRESTES, P.S.; RIGON, R.B.; LEONARDI, G.R.; CHIAVACCI, L.A.; SCARPA, M.V. Development of liquid-crystalline systems using silicon glycol copolymer and polyether functional siloxane. *Química Nova*, 32, 2009.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast, 2017.

CNS. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Assessoria de Comunicação. Consumo de medicamentos: um autocuidado perigoso, 2005.

CRUZ, G. S. et al. Candidíase vulvovaginal na Atenção Primária à Saúde: diagnóstico e tratamento. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, 94, 32, 2020.

DA COSTA, R. S.; COSTA, R. M. R.; JÚNIOR, J. O. C. S. Comportamento reológico e atividade antimicrobiana de uma formulação tópica contendo extrato de *Heliotropium indicum* L. *Research, Society and Development*, 10, 5, e32310515068-e32310515068, 2021.

DAMASCENO, C. S. B. et al. Chemical composition and biological activities of essential oils in the family Lauraceae: A systematic review of the literature. *Planta Medica*, 85, 13, 1054-1072, 2019.

DA ROCHA, L. P. B. et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. *Research, Society and Development*, 10, 44101018282-44101018282, 2021.

DA ROCHA, W. R. V. et al. Gênero *Candida*-Fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. *Research, Society and Development*, 10, 43910414283-43910414283, 2021.

DA SILVA, C. D. G.; SANCHES, C. G. S.; CHASSOT, F. *Candida parapsilosis*: resistência aos antifúngicos. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 17, 1-16, 2022.

DA SILVA PIRES, P. G. et al. Potencial antiedematoso e antinociceptivo do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunt (Asteraceae) da Amazônia brasileira. *Journal of Ethnopharmacology*, 322, 117643, 2024.

DA SILVA, R. C. et al. Lipídios estruturados obtidos por interesterificação química de azeite de oliva e estearina de palma. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 5, 752-758, 2010.

DE ALMEIDA RODRIGUES, Tayronne et al. A valorização das plantas medicinais como alternativa à saúde: um estudo etnobotânico. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 11, 411-428, 2020.

DE AQUINO, P. E.; DE LIMA, N. S.; LIMA, C. G. O uso de probióticos na prevenção e tratamento da candidíase vulvovaginal: uma revisão literária. *Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro*, 13, 1, 2023.

DE ASSIS, A. R. M. et al. O uso de óleos essenciais utilizado como terapia complementar no tratamento da candidíase: uma revisão da literatura. *Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE*. 8, 77-89, 2023.

DE QUEIROZ ALVES, Karinne et al. Aspectos gerais da candidíase vulvovaginal: uma revisão de literatura. *Saúde & Ciência em ação*, 8, 1, 1-14, 2022.

DE OLIVEIRA, T. J. M. et al. Variações morfoanatômicas de espécimes de *Pectis elongata* Kunth. *Research, Society and Development*, 11, 33411830061-33411830061, 2022.

DE PAIVA, L. F.; DE ALVARENGA DOMINGUES, S. Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente a leveduras do gênero *Candida sp.* *Revista Fitos*, 15, 1, 22-31, 2021.

DE SANTANA, A. C.; DE CASTRO, A. P.; DE PAIVA, M. C. Compostos naturais com ação inibitória contra *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*: uma revisão. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy*, 4, 21-32, 2022.

DE TOLEDO, L. G. et al. Improved in vitro and in vivo anti-*candida albicans* activity of *Cymbopogon nardus* essential oil by its incorporation into a microemulsion system. *International Journal of Nanomedicine*, 2020.

DIEKEMA, D.; ARBEFEVILLE, S.; BOYKEN, L.; KROEGER, J.; PFALLER, M. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 73, 45-48, 2012.

DHIFI, Wissal et al. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3, 25, 2016.

DO NASCIMENTO LUZ, B. et al. Perfil de mulheres mais vulneráveis a desenvolver candidíase e seu tratamento farmacológico. *Research, Society and Development*, 11, 35111032477-35111032477, 2022.

EL HARATI, R. et al. Screening and In Silico Analyses of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Σ 1278b Bank Mutants Using Citral as a Natural Antimicrobial. *Foods*, 13, 10, 1457, 2024.

ELLAH, N. H. et al. Vaginal suppositories of cumin seeds essential oil for treatment of vaginal candidiasis: Formulation, in vitro, in vivo, and clinical evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 157, 105602, 2021.

ELY, F., H., M.H.M. O., & MAMMANA, A.P. Cristais líquidos colestéricos: a quiralidade revela as suas cores. *Química Nova*, 30, 1776–1779, 2007.

EMÍLIO-SILVA, M.T.; MOTA, C.M.; HIRUMA-LIMA, C.A.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CÁRNIO, E.C.; BRANCO, L.G. Antipyretic effects of citral and possible mechanisms of action. *Inflammation*, 40, 1735-1741, 2017.

EMMANUELA, N. et al. Isolamento de nanopartículas semelhantes a exossomos derivadas de plantas (PDENs) de bagas de *Solanum nigrum* L. e seu efeito na expressão de interleucina-6 como um potencial agente anti-inflamatório. *Plos one*, 19, 1, e0296259, 2024.

ESPINA, L.; BERDEJO, D.; ALFONSO, P.; GARCÍA-GONZALO, D.; PAGÁN, R. Potential use of carvacrol and citral to inactivate biofilm cells and eliminate biofouling. *Food Control*, 82, 256–265, 2017.

E SILVA, G. S. et al. Revisão da atividade anticâncer de monoterpenoides: Geraniol, nerol, geranial e neral. *Interações químico-biológicas*, 362, 109994, 2022.

EZRAHI, S.; ASERIN, A.; GARTI, N. Aggregation behavior in one-phase (Winsor IV) microemulsion systems. In: KUMAR, P.; MITTAL, K.L., ed. *Handbook of Microemulsion Science and Technology*. New York: Marcel Dekker, 7, 195-240, 1999.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5 ed, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010.

FELIX T.C.; RÖDER D. V. D. B.; PEDROSO, R. S. Alternative and complementary therapies for vulvovaginal candidiasis. *Folia microbiologica*, 64, 133-141, 2019.

FERRARI, M.; MONTEIRO, L.C.L.; NETZ, D.J.A.; ROCHA FILHO, P.A. Identifying cosmetic forms and crystalline phases from ternary systems. *Cosm. Toiletries*, 118, 61-70, 2003.

FURTADO, H. L. A. et al. Fatores predisponentes na prevalência da candidíase vulvovaginal. *Revista de Investigação Biomédica*, 10, 190-197, 2018.

GANJEWALA, D.; GUPTA, A. K.; MUHURY, R. An Update on Bioactive Potential of a Monoterpene Aldehyde Citral: *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 2, 186–199, 2012.

GABBOUN, N.; NAJI, N.M.; IBRAHIM, H.G.; ASSAF, S. Release of salicylic acid, diclofenac acid and diclofenac acid salts from isotropic and anisotropic nonionic surfactant systems across rat skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 212, 73–80, 2001.

GHOSH, S.; BANERJEE, S.; SIL, P. C. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food Chem Toxicol*, 83, 111- 124, 2015.

GUO, C. et al. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. *Drug discovery today*, 15, 23-24, 1032-1040, 2010.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, 30, 374-381, 2007.

GONÇALVES, A.; PEREIRA, P. S.; GUERRA, MSB. *Cymbopogon citratus*: potencialização de antibióticos associados ao óleo essencial. *Revista Saúde em Foco*, 11, 507-515, 2019.

GOULART, L. S.; TELES, H. L.; MENDES, V. A.; VIEIRA, M. C. S.; MOURA, S. V.; RAMON, J. L.; SOUZA, J. M.; VIEIRA, J. C. S.; CAMPOS, É. P. Antifungal prospecting in *Agonandra brasiliensis*. *Rev. Bras. Farm.*, 94, 289-294, 2015.

GURLER, J.B. & Garner, C.M. A review of essential oils as antimicrobials in foods with special emphasis on fresh produce. *Journal of Food Protection*, 85(9), 1300-1319, 2022.

GREEN, P.G.; GUY, R.H.; HADGRAFT, J. In vitro and in vivo enhancement of skin permeation with oleic and lauric acids. *International Journal of Pharmaceutics*, 48, 103-111, 1988.

GUCWA, K. et al. Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils. *Molecules*, 23, 5, 1116, 2018.

GUTIÉRREZ-PACHECO, M.M.; TORRES-MORENO, H.; FLORES-LOPEZ, M.L.; VELÁZQUEZ GUADARRAMA, N.; AYALA-ZAVALA, J. F.; ORTEGA-RAMÍREZ, L.A.; & LÓPEZ-ROMERO, J.C. Mechanisms and Applications of Citral's Antimicrobial Properties in Food Preservation and Pharmaceuticals Formulations. *Antibiotics*, 12 (11), 1608, 2023.

HACHEM, J. et al. pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and stratum corneum integrity/cohesion. *Journal of Investigative Dermatology*, 121, 2, 345-353, 2003.

HARRIS, R. Progress with superficial mycoses using essential oils. *International Journal of Aromatherapy*, 12, 2, 83-91, 2002.

HERRERA-ARELLANO, A.; LÓPEZ-VILLEGA, E.O., RODRÍGUEZ-TOVAR, A.V., ZAMILPA, A., JIMÉNEZ-FERRER, E., TORTORIELLO, J., MARTÍNEZ-RIVERA, M.A. Use of antifungal saponin SC-2 of *Solanum chrysotrichum* for the treatment of vulvovaginal candidiasis: in vitro studies and clinical experiences. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 10(3):410-7. 2013.

HYDE, S.T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. In: HOLMBERG, K., ed. *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 16, 299-332, 2001.

HIND, D. J. N.; FRISBY, S. *Pectis harryi* (Compositae: Heliantheae: Pectidinae), a new species from a rock platform in the Departamento de Santa Cruz, Eastern Bolivia. *Kew Bulletin*, 69, 1-8, 2014.

ISAAC, V. L. B. et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 29, 81-96, 2008.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of herbmed pharmacology*, 7, 1-3, 2018.

KANG, S. et al. Efeito antibacteriano do citral em *Yersinia enterocolitica* e seu mecanismo. *Food Control*, 135, 108775, 2022.

KAPUR, A.M.; FELDER, L.; FASS, J.; KAUR, A.; CZARNECKI, K.; RATHI, S.; ZENG, K.K.; OSOWSKI, C.; HOWELL, M.P.; XIONG, R.J.; WHELAN, AND PATANKAR, M.S. Modulation of oxidative stress and subsequent induction of apoptosis and endoplasmic reticulum stress allows citral to decrease cancer cell proliferation. *Scientific Reports*, 6, 27530, 2016.

KARPIŃSKI, T. M. et al. Plant preparations and compounds with activities against biofilms formed by *Candida spp.* *Journal of Fungi*, 7, 5, 360, 2021.

KLEIN, K. *Liquid Crystals and Emulsions: a wonderful marriage.* *Cosm. & Toilet.*, New York, 117, 5, 30-34, 2002.

KULKARNI, C. V.; WACHTER, W.; IGLESIAS-SALTO, G.; ENGELSKIRCHEN, S.; AHUALLI, S. Monoolein: a magic lipid? *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13, 8, p. 3004-3021, 2011.

KURITA, Nobuyuki et al. Antifungal activity of components of essential oils. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45, 4, 945-952, 1981.

LAMBERS, H. et al. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International journal of cosmetic science*, 28, 5, 359-370, 2006.

LEÃO, J.; KLAFKE, A. T.; SOARES, J. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações fitocosméticas de uso tópico contendo óleo essencial de *melaleuca* (*Melaleuca alternifolia* Cheel. Myrtaceae). *Revista Fitos*, 16, 4, 443-455, 2022.

LEAL, M. R. D. et al. Tratamento da candidíase vulvovaginal e novas perspectivas terapêuticas: uma revisão narrativa. *Revista Pesquisa em Fisioterapia*, 6, 2016.

LEE, J.; KELLAWAY, I.W. Buccal permeation of [D-Ala², D-Leu⁵] enkephalin from liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. *Int. J. Pharm*, 195, 35-38, 2000.

LEE, H.J.; JEONG, H.S.; KIM, D.J.; NOH, Y.H.; YUK, D.Y.; HONG, J.T. Inhibitory effect of citral on NO production by suppression of iNOS expression and NF- κ B activation in RAW264.7 cells. *Archives of Pharmacal Research*, 31, 342-349, 2008.

LEE, H.; LEE, D. G. Novel Approach into Efficient Antifungal Drug Action. *Journal of microbiology and biotechnology*, 2018.

- LEITE, M.C.A.; BEZERRA, A.P.D.B.; SOUSA, J.P.D.; GUERRA, F.Q.S.; LIMA, E.D.O. Evaluation of antifungal activity and mechanism of action of citral against *Candida albicans*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014(1), 378280, 2014.
- LEU, J.S.L.; TEOH, J.J.X.; LING, A.L.Q.; CHONG, J.; LOO, Y.S.; MAT AZMI, I.D.; ZAHID, N.I.; BOSE, R.J.C.; MADHESWARAN, T. Recent Advances in the Development of Liquid Crystalline Nanoparticles as Drug Delivery Systems. Pharmaceutics, 15, 1421, 2023.
- LIKENS, S. T.; NICKERSON, G. B. Detection of certain hop oil constituents in brewing products. In: Proceedings. Annual meeting-American Society of Brewing Chemists. Taylor & Francis, 5-13, 1964.
- LIN, Y.P.; CHEN, W.C.; CHENG, C.M.; SHEN, C.J. Vaginal pH value for clinical diagnosis and treatment of common vaginitis. Diagnostics, 11(11), 1996, 2021.
- LING, Q. et al. Composição química e atividade antioxidante dos óleos essenciais dos quimiotipos ricos em citral *Cinnamomum Camphora* e *Cinnamomum Bodinieri*. Molecules, 27, 21, 7356, 2022.
- LI, Y.; SUN, L.; LU, C.; GONG, Y.; LI, M.; SUN, S. Promising Antifungal Targets Against *Candida albicans* Based on Ion Homeostasis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 8, 286, 2018.
- LIPORACCI, H. S. N. Plantas Medicinais e Alimentícias na Mata Atlântica e Caatinga: Uma Revisão Bibliográfica de Cunho Etnobotânico. Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal. Florianópolis- SC, 2014.
- LINHARES, I. M. et al. Vaginites e vaginoses. In: Tratado de ginecologia Febrasgo, 265-278, 2019.
- LINKEVIČIŪTĒ, A., MISIŪNAS, A., NAUJALIS, E., & BARAUSKAS, J. Preparation and characterization of quercetin-loaded lipid liquid crystalline systems. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 128, 296-303, 2015.
- LOPES, A. C. C. B. et al. Chemical characterization, leishmanicidal activity and in vitro cytotoxicity of the essential oil extracted from *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip. and its incorporation into microemulsion systems. Pharmaceutics, 16, 1, 87, 2024.
- LOPES, L. B. et al. Liquid crystalline phases of monoolein and water for topical delivery of cyclosporin A: characterization and study of in vitro and in vivo delivery. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 63, 2, 146-155, 2006.
- LONG, N.; TANG, H.; SUN, F.; LIN, L.; DAI, M. Effect and mechanism of citral against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in vivo. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99 (9), 4423-4429, 2019.
- LUKIĆ, M.; PANTELIĆ, I.; SAVIĆ, S.D. Towards optimal pH of the skin and topical formulations: From the current state of the art to tailored products. Cosmetics, 8(3), 69, 2021.

MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. *Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)*, 25, 10, 2013.

MELATTI, N. M.; SCHIAVENIN, A. Candidíase vulvovaginal: cuidado farmacêutico na dispensação de antifúngicos na farmácia comunitária. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 9, 3204-3219, 2023.

MENDES, M. M. Resistência antifúngica e novas estratégias de tratamento para *Candida glabrata*. 2023. 39 f. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública) –Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, 2023. Disponível em: <https://recipp.ipp.pt/handle/10400.22/24698>. Acesso em 17 abr. 2024.

MIRANDA-CADENA, K. et al. In vitro and in vivo anti-*Candida* activity of citral in combination with fluconazole. *Journal of Oral Microbiology*, 14, 1, 2045813, 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). 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) [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 117-119, 2020.

MIRANDA, C.A.S.F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L.R.; RODRIGUES, L.M.A. & FIGUEIREDO, A.C.S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. *Revista Ciência Agronômica*, 47, 213–220, 2016.

MIYAZAKI, S.; YOKOUCHI, D.; NAKAMURA, T.; HASHIGUSHI, N.; HOU, W.M.; TAKADA, M. Pluronic F-127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin. *Chem. Pharm. Bull*, 34, 1801-1808, 1986.

MOREIRA, MR et al. Parâmetros inibitórios de óleos essenciais para redução de patógeno de origem alimentar. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 5, 565-570, 2005.

MOREIRA, F. V.; BASTOS, F. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; SANTOS, M. R. V. Chemical composition and cardiovascular effects induced by the essential oil of *Cymbopogon citratus* DC. Stapf, Poaceae, in rats. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 20, 904–909, 2010.

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

NASCIMENTO, L. S. et al. Identificação dos constituintes químicos e ensaio biológico do óleo essencial de *Pectis elongate* kunth (Asteraceae). *RCT-Revista de Ciência e Tecnologia*, 7, 2021.

NASCIMENTO, G. A.; SOUZA, D. S.; LIMA, B. S.; VASCONCELOS, C. M. L. DE.; ARAÚJO, A. A. S. DE., DURÇO, A. O.; et al. Efeitos Bradicárdicos e Antiarrítmicos do DLimoneno em Ratos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 113, 925–932, 2019.

NAJAFIAN, M.; EBRAHIM-HABIBI, A.; YAGHMAEI, P.; PARIVAR, K.; LARIJANI, B. Citral as a potential antihyperlipidemic medicine in diabetes: a study on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 10, 3, 2011.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved Standard, document M27-A2, 2002.

NAZZARO F.; FRATIANNI F.; DE MARTINO L.; COPPOLA R.; DE FEO V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6, 1451–1474, 2013.

NEVES, M. C. T., LOPES, A., DE OLIVEIRA, M. C. J., IAMAGUTI, P. S., LIRA, T. A. M., MORETI, T. C. F., DE LIMA, L. P., & KOIKE, G. H. A. Effects of Murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) and soybean biodiesel blends on tractor performance and smoke density. *Australian Journal of Crop Science*, 12, 878, 2018.

NISHIJIMA, C. M.; GANEV, E. G.; MAZZARDO-MARTINS, L.; MARTINS, D. F.; ROCHA, L. R. M.; SANTOS, A. R. S.; HIRUMA-LIMA, C. A. Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic anti-nociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. *European Journal of Pharmacology*, 736, 16-25, 2014.

NISHIMURA, T.; OHYAMA, K.; GOTO, E.; INAGAKI, N. Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of Perilla plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia Horticulturae*, 122, 134–137, 2009.

NIST (National Institute of Standards and Technology). Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH, v.2.0d). The NIST Mass Spectrometry Data Center, Gaithersburg, 2011.

NUNES, K. M. et al. The monoglyceride content affects the self-assembly behavior, rheological properties, syringeability, and mucoadhesion of in situ-gelling liquid crystalline phase. *Journal of pharmaceutical sciences*, 105, 2355-2364, 2016.

OUYANG, Q.; TAO, N.; ZHANG, M. A damaged oxidative phosphorylation mechanism is involved in the antifungal activity of citral against *Penicillium digitatum*. *Frontiers in microbiology*, 9, 239, 2018.

OLIVEIRA, A. F. M. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a bactérias patogênicas de importância clínica. *Research, Society and Development*, 11, 13, 448111335639-448111335639, 2022.

OLIVEIRA, D. L.; SCHMIDT, J. C. Espécies de *Candida* causadoras de vulvovaginites e resistência aos antifúngicos utilizados no tratamento. *Saúde e Pesquisa*, 14, 8022, 2021.

OLIVEIRA, H. B. M. et al. Citral modulates virulence factors in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Scientific reports*, 11, 1, 16482, 2021.

OLIVEIRA, J. V.; NASCIMENTO, G. P. V. Ação da atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais de *Copaifera officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*,

Rosmarinus officinalis e *Thymus vulgaris* ante os agentes causais de onicomicose. Revista Ibero-Americana de Podologia, 1, 2, 2019.

OTTE, A.; SOH, B.-K.; YOON, G.; PARK, K. Liquid crystalline drug delivery vehicles for oral and IV/subcutaneous administration of poorly soluble (and soluble) drugs. International Journal of Pharmaceutics, 539, 175-183, 2018.

PAGANI, E. J.; DE SANTOS, F. L.; RODRIGUES, E. Culture-Bound Syndromes of a Brazilian Amazon Riverine population: Tentative correspondence between traditional and conventional medicine terms and possible ethnopharmacological implications. Journal of Ethnopharmacology, 203, 80–89, 2017.

PAVONI, L. et al. Green nanoemulsion interventions for biopesticide formulations. In: Nano-biopesticides today and future perspectives. Academic Press, 133-160, 2019.

PRADO, G. M. et al. Antifungal, molecular docking and cytotoxic effect of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. and *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle against *Candida albicans*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 96, n. 3, p. e20230309, 2024.

PEIXOTO, J. V. et al. Candidíase - uma revisão de literatura. Brazilian journal of surgery and clinical research. Ipatinga, 75-82, 2014.

PEREIRA, E. P. R.; DA SILVA NÓBREGA, P. A.; DE PASSOS, S. G. As dificuldades encontradas pela mulher na prevenção contra a candidíase vulvovaginal. Revista JRG de Estudos Acadêmicos, 5, 10, 198-212, 2022.

PEREIRA, S. F.; BARROSO, A.; MOURÃO, R. H. V.; FERNANDES, C.P. A. Low Energy Approach for the Preparation of Nano-Emulsions with a High Citral-Content Essential Oil. Molecule, 26, 3666, 2021.

PEREIRA, S. L.; MARQUES, A. M.; SUDO, R. T.; KAPLAN, M. A. C.; SUDO, G. Z. Vasodilator activity of the essential oil from aerial parts of *Pectis brevipedunculata* and its main constituent citral in rat aorta, Molecules, 18, 3072–3085, 2013.

PERIOLI, L. et al. Chitosan and a modified chitosan as agents to improve performances of mucoadhesive vaginal gels. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 66, 141-145, 2008.

PERRICONE, M. et al. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. Frontiers in microbiology, 6, 76, 2015.

PESCE, C. et al. Oleaginosas da amazônia. MCT/MPEG, 2009.

PFALLER, M. A. Antifungal drug resistance: Mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. American Journal of Medicine, 125, 1, 2012.

PRUDENT, D.; PERINEAU, F.; BESSIERE, J. M.; MICHEL, G. Analysis of the essential oil of *Pectis elongata* Kunth. from Martinique. Evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. Journal of Essential Oil Research, 7, 63–68, 1995.

- QUINTANS-JÚNIOR, L.J., GUIMARÃES, A.G., SANTANA, M.T.D., ARAÚJO, B.E., MOREIRA, F.V., BONJARDIM, L.R., ARAÚJO, A.A.S; SIQUEIRA, J.S.; ANTONIOLLI, A.R.; BOTELHO, M.A.; ALMEIDA, J.R.G.S.; SANTOS, M.R. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21, 497-502, 2011.
- RAIMUNDO, J. D. S.; DE TOLEDO, C. E. M. Plantas com atividade antifúngica no tratamento da candidíase: uma revisão bibliográfica. *Uningá Review*, 29, 2, 2017.
- REIS COSTA, E. G.; CAMPOS, A. C. C.; SOUZA, A. P. S. Terapias para o tratamento de candidíase vulvovaginal. *Referências em Saúde da Faculdade Estácio de Sá de Goiás-RRS-FESGO*, 3, 2, 2020.
- RHIMI, W. et al. Antifungal, antioxidant and antibiofilm activities of essential oils of *Cymbopogon spp.* *Antibiotics*, 11, 6, 829, 2022.
- RODRIGUES, E. Plants and animals utilized as medicines in the Jaú National Park (JNP), Brazilian Amazon. *Phytotherapy Research*, 20, 378–391, 2006.
- RODRIGUES, M. T. et al. (2013) Associação entre cultura de secreção vaginal, características sociodemográficas e manifestações clínicas de pacientes com diagnóstico de candidíase vulvovaginal. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 35, 554-561, 2013.
- ROQUE, N.; BAUTISTA, H. ASTERACEAE Caracterização e Morfologia Floral. EDUFUBA, Salvador, 2008.
- SAGHAZADEH, S.; RINOLDI, C.; SCHOT, M.; KASHAF, S. S.; SHARIFI, F.; JALILIAN, E.; NUUTILA, K.; GIATSIDIS, G.; MOSTAFALU, P.; DERAKHSHANDEH, H.; YUE, K.; SWIESZKOWSKI, W.; MEMIC, A.; TAMAYOL, A.; KHADEMOSSEINI, A. Sistemas de entrega de medicamentos e materiais para aplicações de cicatrização de feridas. *Adv Drug Deliv Rev*, 127, 138–166, 2018.
- SAGON, J. Controle et conditionnement des émulsions. In: SEILLER, M.; PUISIEUX, F. *Galênica 5 – les systèmes dispersés: I – agents de surface et émulsions*. Paris: Technique et Documentation (Lavoisier), 1983.
- SANCHES, J. M. et al. Aspectos Laboratoriais da Vaginose Citolítica e Candidíase Vulvovaginal como Chave para o Diagnóstico Preciso: Um Estudo Piloto. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 42, 10, 2020.
- SANTOS, A.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C.; NETO, O.G.R. Comunicado técnico. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2004.
- SANTOS, B. M. et al. Efeito anti-hipernociceptivo orofacial do citral em modelos inflamatórios agudos e persistentes em ratos. *Arquivos de Biologia Oral*, 152, 105734, 2023.
- SANTOS, P. M. L.; JAPP, A. S.; LIMA, L. G.; SCHRIPSEMA, J.; MENEZES, F. S.; KUSTER, R. M. A atividade antioxidante dos extratos de folhas de *Jacarandá puberula*

Cham, Bignoniaceae, uma planta medicinal brasileira usada para depuração do sangue. *Rev Bras de Farmacogn*, 20, 147-53, 2010.

SARACINO, I. M. et al. Antifungal activity of natural compounds vs. *Candida spp.*: a mixture of cinnamaldehyde and eugenol shows promising in vitro results. *Antibiotics*, 11, 73, 2022.

SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of medical microbiology*, 62, 10-24, 2013.

SAWADOGO, I. et al. Efeitos antifúngicos e antiaflatoxigênicos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* e *Cymbopogon schoenanthus* sozinhos e em combinação. *Journal of Fungi*, 8, 2, 117, 2022.

SCORZONI, L. et al. Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. *Journal of Microbiological Methods*, 123, 68– 78, 2016.

SILVA, M. H. L.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. The essential oil of *Pectis elongata* Kunth occurring in North Brazil. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 462–464, 2005.

SILVA G. R.; NASCIMENTO, L. S.; MELO, J. A.; NASCIMENTO, F. C. Identificação Dos Constituintes Químicos E Ensaio Biológico Do Óleo Essencial De *Pectis Elongata* Kunth (Asteraceae). *RCT- Revista De Ciência E Tecnológica*, 7, 2021.

SILVA, S. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS microbiology reviews*, 36, 288-305, 2012.

SILVA-ROCHA, W. P.; AZEVEDO, M. F.; FERREIRA, M. R. A.; SILVA, J. F.; SVIDZINSKI, T. I. E.; MILAN, E. P.; SOARES, L. A. L.; ROCHA, K. B. F.; UCHÔA, A. F.; MENDES-GIANNINI, M. J. S.; ALMEIDA, A. M.; CHAVES, G. M. Effect of the ethyl acetate fraction of *Eugenia uniflora* on proteins global expression during morphogenesis in *Candida albicans*. *Front microbiol*, 26, 1788, 2017.

^a SILVA, G.R.; NASCIMENTO, L.S.; MELO, J.A; NASCIMENTO, F.C. Identificação dos constituintes químicos e ensaio biológico do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae). *RCT-Revista de Ciência e Tecnologia*, 7, 2021.

^b SILVA, C.S.M.; ARAÚJO, J.A.; SILVEIRA, T.S.; CASTRO, K.C.F.; BARATTO, L.C.; KAMINSKI, R.C.K.; SANTOS, G.B.; NUNES, K.M. Wound Healing Activity of Topical Formulations Containing *Mauritia flexuosa* Oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31, 225-231, 2021.

SOARES, D. M. et al. Candidíase vulvovaginal: uma revisão de literatura com abordagem para *Candida albicans*. *Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research*, 25, 1, 2018.

SOARES, G. A. B. et al. Explorando mecanismos farmacológicos de óleos essenciais no sistema nervoso central. *Plants*, 11, 1, 21, 2021.

SONG, Y.; SUN, R.; JI, Z.; LI, X.; FU, Q.; MA, S. Perilla aldehyde attenuates CUMS-induced depressive-like behaviors via regulating TXNIP/TRX/NLRP3 pathway in rats. *Life Sciences*, 206, 117–124, 2018.

TAZI, A. et al. Revisão sobre as propriedades farmacológicas do capim-limão (*Cymbopogon citratus*) como uma fonte promissora de compostos bioativos. *Pharmacological Research-Natural Products*, 100046, 2024.

TAKAGI, S.; GOTO, H.; SHIMADA, Y.; NAKAGOMI, K.; SADAKANE, Y.; HATANAKA, Y.; et al. Vasodilative effect of perillaldehyde on isolated rat aorta. *Phytomedicine*, 12, 333–337, 2005.

TANG, X.; SHAO, Y.L.; TANG, Y.J.; ZHOU, W.W. Antifungal activity of essential oil compounds (geraniol and citral) and inhibitory mechanisms on grain pathogens (*Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus*). *Molecules*, 23(9), 2018.

TAO, N.; OUYANG, Q.; JIA, L. Citral inhibits mycelial growth of *Penicillium italicum* by a membrane damage mechanism. *Food control*, 41, 116-121, 2014.

TOZZO, A. B.; GRAZZIOTIN, N. A. Candidíase vulvovaginal. *Perspectiva*, 36, 53-62, 2012.

TRAN, H. N. H et al. Recent advances in the application of essential oils as potential therapeutic candidates for *candida*-related infections. *Applied Microbiology*, 2,397-413, 2022.

TUREK, C. and STINTZING, F.C. Stability of essential oils: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12, 40–53, 2013.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 14, 57-67, 2012.
VAN RIEL, S. et al. Tratamento de candidíase vulvovaginal (recorrente) com mel de grau médico — conceitos e considerações práticas. *Journal of Fungi*, 7, 8, 664, 2021.

WYATT, D.M.; DORSCHER, D.A. Cubic-phase delivery system composed of glyceryl monooleate and water for sustained release of water-soluble drugs. *Pharm. Technol*, 16, 116-130, 1992.

WOLFFENBUTTEL, A. N. Bases químicas dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagens técnica e científica. Belo Horizonte: Ed. Laszlo, 494, 2016.

ZHANG, Y.; WEI, J.; CHEN, H.; SONG, Z.; GUO, H.; YUAN, Y.; YUE, T. Antibacterial activity of essential oils against *Stenotrophomonas maltophilia* and the effect of citral on cell membrane. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie LWT*, 117, 1-8, 2020.

ZORE, G. B.; THAKRE, A. D.; JADHAV, S. & KARUPPAYIL, S. M. 2011. Terpenoides inibem o crescimento de *Candida albicans* afetando a integridade da membrana e interrompendo o ciclo celular. *Phytomedicine*, 18(13): 1181-1190.