



REPOSICIONAMENTO DO FÁRMACO SERTRALINA PARA O TRATAMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Marcelo Gonzaga de Freitas Araújo¹; Beatriz Spinelli Santos Pereira¹, Isabela Luana Reis Nunes¹, Letícia de Castro Meira Vaz¹, Lisandra Alves Teixeira¹, Maria Eduarda Rodrigues Ferreira¹, Rafaella Rangel Barbosa¹; João Paulo Costa Rodrigues¹, Rúbia Bellard e Silva¹, Rafael Gonçalves Teixeira-Neto¹, Renê Oliveira do Couto¹

ARTIGO ORIGINAL

RESUMO

No contexto da alta prevalência de candidíase vulvovaginal (CVV) e da crescente resistência de espécies de *Candida spp.* aos tratamentos convencionais, o reposicionamento de fármacos surge como uma estratégia importante para estabelecer novos usos terapêuticos de medicamentos já aprovados clinicamente para outras indicações. Experimentos anteriores demonstraram a atividade antifúngica in vitro da sertralina, fármaco da classe dos Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRS), e determinaram sua concentração inibitória mínima (CIM), constatando sua capacidade de atuar sobre fatores de virulência de alguns fungos, como leveduras do gênero *Candida*. No presente estudo, foi avaliado o efeito antifúngico da sertralina in vivo com o objetivo de contribuir para o desenvolvimento de uma formulação de administração vaginal contendo o fármaco para o tratamento de CVV experimental. A atividade antifúngica da sertralina em diferentes concentrações, em solução e em emulgel, foi examinada em um modelo de rata imunossuprimida e dependente de estrogênio, no qual os animais foram infectados intravaginalmente com *C. albicans*. Os resultados demonstraram que a sertralina, quando administrada por meio de uma matriz farmacêutica adequada ao ambiente vaginal, apresenta eficácia significativa, atingindo a cura da infecção com apenas 3 dias de tratamento. A partir desses achados, é possível afirmar que a sertralina é promissora para o reposicionamento de fármacos no tratamento da CVV.

Palavras-chave: Reposicionamento de medicamentos, Sertralina, Candidíase vulvovaginal, Agente antifúngico, Administração intravaginal.



REPOSITIONING OF THE DRUG SERTRALINE FOR THE TREATMENT OF VULVOVAGINAL CANDIDIASIS

ABSTRACT

In the context of the high prevalence of vulvovaginal candidiasis (VVC) and the increasing resistance of *Candida* spp. to conventional treatments, drug repurposing emerges as an important strategy for improving the health and quality of life of women worldwide suffering with this illness. Previous studies evidenced the in vitro antifungal activity of sertraline, a Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI) antidepressant, and shed light to its capacity to act on virulence factors of some fungi, such as yeast of the genus *Candida*. Herein, we evaluated the in vivo efficacy of sertraline for treating VVC following once-daily intravaginal administration of solutions (0.02% 0.2% and 2% w/v) and emulgels (1%, 2% and 4% w/w). In this pursuit, a model of immunosuppressed and estrogen-dependent female Wistar rats was used. Our unprecedented results confirm that topical administration of sertraline-loaded emulgel, even in the lower concentration, eradicated the VVC within 3 days of treatment compared to positive and negative controls ($p < 0.05$). In turn, the sertraline solution at 2% controlled the infection in 6 days of treatment. The healing of animals' vaginal mucosa was confirmed by means of histopathological analysis. Therefore, sertraline stands out as a suitable candidate for undergoing further clinical trials dealing with the treatment of VVC in human subjects.

Keywords: Drug repurposing, Sertraline, Vulvovaginal candidiasis, Antifungal agent, Intravaginal administration.

Instituição afiliada – Universidade Federal de São João Del-Rei, Campus Centro Oeste Dona Lindu

Dados da publicação: Artigo recebido em 25 de Junho e publicado em 15 de Agosto de 2024.

DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n8p-2330-2353>

Autor correspondente: Lisandra Alves Teixeira lisandralvescoro@gmail.com

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



INTRODUÇÃO

As micoses mucocutâneas estão entre as infecções fúngicas mais comuns, sendo as leveduras do gênero *Candida* as principais causadoras de infecções de mucosa, principalmente a oral e a vaginal¹. A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção da vulva e da vagina causada por várias espécies de *Candida* spp., leveduras comensais das mucosas vaginal e digestiva, que podem tornar-se patogênicas sob determinadas condições que alteram o ambiente vaginal. A incidência dessa doença é alta e, apesar de fácil diagnóstico e tratamento, muitas vezes é recorrente. Os fatores de risco associados com a forma aguda de CVV incluem a modulação ou o desequilíbrio de hormônios reprodutivos (gravidez, terapia hormonal, uso de anticoncepcionais), assim como o uso de antibióticos e o diabetes mellitus^{1,2}. Apesar dos avanços nas terapias antifúngicas para o tratamento de candidíase, ainda existem problemas relacionados aos fármacos disponíveis, a exemplo da toxicidade de alguns azólicos e polienos, assim como a redução da sensibilidade de cepas de *Candida* a estes fármacos³⁻⁶.

Pesquisas recentes mostraram ampla atividade antimicrobiana dos antidepressivos da classe dos Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (ISRS) contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. A atividade antifúngica in vitro de ISRS contra *Candida* spp. tem sido descrita com resultados significativos para alguns antidepressivos, como a fluoxetina, paroxetina e sertralina^{4,7}, demonstrando a propriedade antifúngica por interferir em fatores de virulência do fungo⁸. Além disso, os estudos que avaliaram a atividade antifúngica dos ISRS in vitro destacaram a necessidade da realização de testes in vivo para ampliar a aplicabilidade dos resultados⁹. Essas evidências, combinadas com o aumento da frequência de resistência cruzada do gênero *Candida* em relação ao principal tratamento atual, o fluconazol, fundamentam o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Nesse enfoque, o reposicionamento de fármacos tem surgido como uma abordagem para o estabelecimento de novas terapias. O recurso baseia-se na utilização de medicamentos já estabelecidos no mercado para o tratamento de doenças diferentes daquelas para as quais o fármaco foi desenvolvido, diminuindo, assim, o tempo de pesquisa, de estudos clínicos e, conseqüentemente, dos gastos, visto que os perfis farmacológicos e toxicológicos desses medicamentos já são conhecidos¹⁰⁻¹³. Dessa



forma, justifica-se esse estudo in vivo da ação antifúngica da sertralina, na busca de novos direcionamentos terapêuticos contra a CVV.

METODOLOGIA

Animais

O modelo animal de escolha para a avaliação do efeito da sertralina no tratamento da candidíase vulvovaginal são as ratas da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, que são comumente utilizadas nos protocolos do modelo experimental de candidíase vaginal¹⁴.

Foram utilizadas 55 ratas fêmeas da linhagem Wistar, com 8 semanas e peso corporal entre 150 e 200 g. Todos os animais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ) – Campus Tancredo Neves – CTAN, e foram mantidos no Biotério CT-Infra II, do Campus Centro Oeste da UFSJ. Os animais foram aclimatados por um período de 15 dias antes da realização dos experimentos, em gaiolas de propileno com cama de maravalha, sob condições ideais de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclo claro/escuro de 12 horas e providos de água e alimentação (Ração industrial Labina[®]) ad libitum.

Microrganismos, fármacos e composto-teste

Para a realização do estudo, foi empregada a cepa padrão ATCCs (American Type Culture Collection) de *Candida albicans* ATCC 10231, que apresenta resistência aos azólicos fluconazol, itraconazol e voriconazol, e à equinocandina anidulafungina¹⁵. Foi utilizado o meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) (Himedia[®], Brasil) para cultivo do microrganismo. Os fármacos empregados no estudo: nistatina creme vaginal (Micostatin[®] Bristol-Myers Squibb[®]), ciclofosfamida (Genuxal[®], Baxter[®], Brasil), cipionato de estradiol (E.C.P.[®], Pfizer[®], Brasil), doxiciclina (Vibramicina[®], Pfizer[®], Brasil), prednisolona (Prelone[®], Aché[®], Brasil) e sertralina (Gemini[®], Brasil) foram obtidos comercialmente.

Preparo das soluções de sertralina

O fármaco sertralina foi diluído em uma solução de DMSO (dimetilsulfóxido) 2% em água e as concentrações de sertralina foram definidas com base em resultados de



estudos in vitro encontrados na literatura científica, que resultou em concentração inibitória mínima (CIM) média da sertralina sobre *C. albicans* de 20 µg/mL, sendo considerada uma substância promissora em relação à sua atividade antifúngica^{4,16-18}. Assim, foram definidas as concentrações de 0,02%, 0,2% e 2,0% (p/v).

Preparo do emulgel contendo sertralina

Foram preparados emulgeis com sertralina a 1%, 2% e 4% (m/m). As concentrações de sertralina no emulgel foram definidas a partir do resultado obtido no teste in vivo com as soluções de sertralina. Para todas as etapas do estudo, os emulgeis foram produzidos individualmente para cada concentração de sertralina. A preparação das fases em todas as formulações foram as mesmas¹⁹. Para a manipulação, pesou-se adequadamente todos os componentes e utilizou-se béquer, balança analítica, bastão de vidro e chapa aquecedora. Para a preparação da fase aquosa (fase do gel), foi dissolvido um umectante e um polímero hidrofílico não-iônico em água purificada sob agitação constante. Na fase oleosa, foram dissolvidos sertralina e um antioxidante em um óleo emoliente, e esta solução foi então misturada em uma base autoemulsionante não-iônica, sob aquecimento. Tanto a fase oleosa quanto a fase aquosa foram aquecidas separadamente a 70-80°C e a fase aquosa foi vertida sob a fase oleosa, em agitação constante até arrefecimento. Antes de arrefecer (40°C), uma solução conservante foi adicionada nos emulgeis. A fim de garantir o pH ideal para a administração vaginal, o pH do emulgel foi ajustado entre 4.0 e 4.5 com auxílio de solução ácida diluída. Os emulgeis foram embalados em tubos plásticos e armazenados em um local protegido da luz e umidade, em temperatura ambiente até o uso.

Avaliação da atividade antifúngica in vivo

Preparo do inóculo

Para preparo do inóculo, a cepa padrão de *C. albicans* ATCC 10231 foi cultivada em meio ASD por 48 horas em estufa bacteriológica, sob temperatura mantida entre 30-35°C. Em seguida, colônias foram transferidas para solução salina 0,85% e a suspensão foi ajustada à concentração de $5,0 \times 10^7$ UFC/mL, que foi confirmada pela leitura da absorbância em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 625 nm, até obter densidade óptica entre 0,08-0,10.

Avaliação do efeito das soluções de sertralina e dos emulgeis de sertralina no

tratamento da candidíase vulvovaginal

Para avaliar o efeito da sertralina no tratamento da CVV, foi empregado um modelo experimental in vivo que se baseia na indução prévia de um estado de imunossupressão transitório e tratamento hormonal para a indução da fase estrogênica do ciclo estral¹⁹. As ratas foram divididas em 11 grupos experimentais, contendo 5 animais por grupo, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Grupos experimentais e protocolos de tratamento da avaliação do efeito da sertralina no tratamento de candidíase vulvovaginal experimental

Grupos de tratamento	Infecção	Tratamento
Grupo 1 – Controle: não infectados	-	Solução salina (0,85%)
Grupo 2 – Controle: infectados	+	Solução salina (0,85%)
Grupo 3 – Controle: positivo	+	Nistatina creme vaginal 25.000 UI/g
Grupo 4 – Controle: veículo	+	Solução DMSO a 2%
Grupo 5 – Sertralina (concentração 1)	+	0,02% (p/v)
Grupo 6 – Sertralina (concentração 2)	+	0,2% (p/v)
Grupo 7 – Sertralina (concentração 3)	+	2,0% (p/v)
Grupo 8 – Controle: emulgel base	+	Emulgel sem sertralina
Grupo 9 – Emulgel com sertralina 1%	+	1% (m/m)
Grupo 10 – Emulgel com sertralina 2%	+	2% (m/m)
Grupo 11 – Emulgel com sertralina 4%	+	4% (m/m)

Os animais receberam prednisolona (5 mg/L) e doxiciclina (20 mg/L) na água de beber durante 4 dias prévios à infecção, com o intuito de promover imunossupressão, diminuir a microbiota bacteriana vaginal e facilitar o estabelecimento da infecção. Além disso, com o objetivo de promover um estado de imunossupressão transitório, as ratas receberam, no 4º dia de experimento, uma dose única de ciclofosfamida (CPA) (50 mg/kg, via intraperitoneal) e uma dose de cipionato de estradiol (0,2 mg/mL, via subcutânea) para indução hormonal da fase estrogênica do ciclo estral. Esse procedimento se justifica pelo fato de que, ao contrário dos seres humanos, *C. albicans* não é um colonizador natural de superfícies mucosas de roedores. Dessa forma, os animais devem ser experimentalmente infectados, e o estabelecimento de colonização

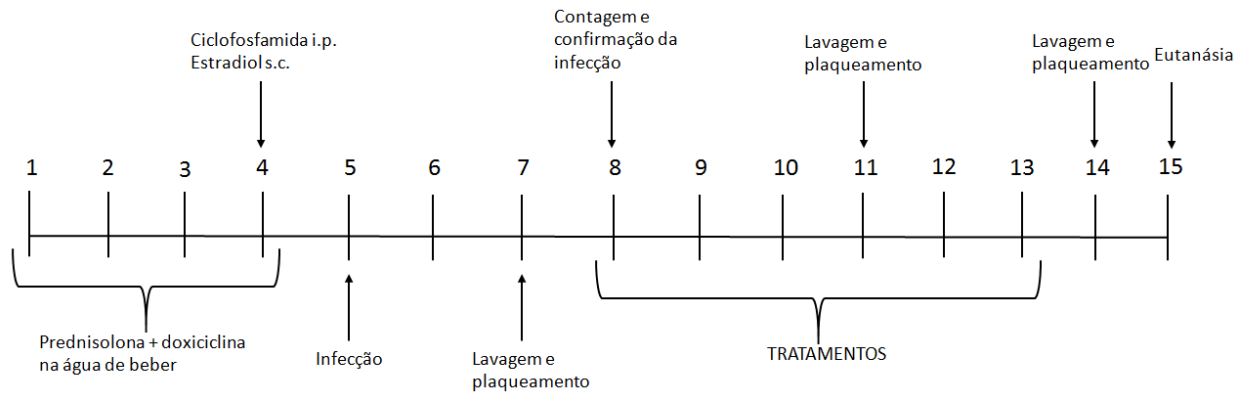
ou infecção na mucosa vaginal requer o uso de imunossupressores e tratamento hormonal com estradiol, pois são os principais fatores que afetam a susceptibilidade de ratas à levedura¹⁴.

Após o pré-tratamento, no dia da infecção (5º dia), cada animal recebeu, por via intravaginal, 0,2 mL da suspensão do inóculo de *C. albicans*, para obtenção de animais com candidíase vulvovaginal. Após 48 horas (7º dia), foi realizada uma lavagem da cavidade vaginal de cada animal com 0,1 mL de solução salina 0,85%, utilizando uma micropipeta com ponteira. O lavado vaginal foi cultivado em placas de Petri contendo meio ASD, as quais foram mantidas em estufa a 35°C por 24 horas, para verificar o estabelecimento da infecção, que foi considerada suficiente quando a contagem de colônias para cada animal apresentou, no mínimo, 102 UFC/mL.

Após a confirmação da infecção (8º dia), foram iniciados os tratamentos por via intravaginal (0,1 mL da solução ou 0,1 mg do emulgel) com três diferentes concentrações de sertralina (solução a 0,02%, 0,2% e 2% e emulgel a 1%, 2% e 4%) e seus controles, uma vez ao dia, durante 6 dias.

Após 3 dias (11º dia) e 6 dias (14º dia) do início do tratamento, procedeu-se novas lavagens da cavidade vaginal das ratas e plaqueamento do fluido, para a determinação da carga fúngica, mediante a contagem de UFC/mL. No 15º dia, após a última coleta do fluido vaginal, foi realizada a eutanásia dos animais e o canal vaginal de cada rata foi longitudinalmente removido e fixado em formaldeído para posterior preparo de lâminas e análise histopatológica. Os resultados foram tabelados, apresentados como média do Log UFC/mL por grupo e analisados estatisticamente, seguido da determinação da porcentagem de redução da carga fúngica. O resumo dos procedimentos e a sua progressão temporal são esquematizados na Figura 1.

Figura 1. Linha do Tempo do Experimento



A eutanásia foi procedida pela administração de anestésicos cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) em associação, por via intraperitoneal e, em seguida, o animal foi colocado em uma caixa limpa e permaneceu em uma sala reservada de ambiente calmo e silencioso, até que tenha alcançado os planos mais profundos de anestesia. A confirmação da morte foi realizada pela observação da ausência dos sinais vitais no animal, observando se houve cessação dos batimentos cardíacos, se não houve reflexo ao toque do globo ocular e se as mucosas estavam arroxeadas.

Análise Histopatológica

Após a eutanásia dos animais, os canais vaginais foram removidos e secções do órgão foram fixadas em formaldeído a 10% por 24 horas, transferidas para álcool a 70% e, em seguida, embebidas em parafina. Secções com espessura de 5mm foram coradas com hematoxilina e eosina (H&E), analisadas por microscópio óptico e obtido registro de imagens utilizando um sistema de captura automatizado, modelo EVOS FL AUTO® (Thermo Fisher Scientific), com aumento de 60x.

Análise Estatística

Os dados foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) para experimentos inteiramente casualizados, com o cálculo da estatística F e de seu respectivo p-valor. Nos casos em que $p < 0,05$, as médias de tratamentos foram comparadas pelo método de Tukey, com o cálculo da diferença mínima para $\alpha = 0,05$. O software GraphPad Prism® versão 8 (GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.com) foi utilizado para as análises estatísticas.

Considerações Éticas

O projeto foi submetido à análise pela Comissão de Ética no Uso de Animais

(CEUA) da Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ) e aprovado sob o número de protocolo 034/2019.

RESULTADOS

A atividade antifúngica da sertralina em diferentes concentrações, em solução e em emulgel, foi examinada em um modelo de rata imunossuprimida e dependente de estrogênio, no qual os animais foram infectados intravaginalmente com *C. albicans*. A Tabela 2 apresenta a evolução do número de animais infectados e sua carga fúngica no 1º dia (dia da determinação do estabelecimento da infecção) e nos 3º e 6º dias após o início dos tratamentos.

Tabela 2. Número de animais infectados e quantificação da carga fúngica observada em animais tratados intravaginalmente com diferentes concentrações de sertralina e seus respectivos controles

Grupos	Dia 0		Dia 3		Dia 6		Redução ^a (%)
	Log UFC/mL ± DP	Animais infectados /N	Log UFC/mL ± DP	Animais infectados /N	Log UFC/m L ± DP	Animais infectados/ N	
Nistatina	4.07 ± 0.47	5/5	0.56 ± 0.00 ^b	1/5	0.00 ± 0.00 ^b	0/5	100 ^b
Controle infecção	4.32 ± 0.06	5/5	4.24 ± 0.09	5/5	3.90 ± 0.36	5/5	9.72
Veículo	4.06 ± 0.07	5/5	3.39 ± 0.77	5/5	3.08 ± 0.58	5/5	24.13
Sertralina 0,02 %	3.31 ± 0.11	5/5	2.24 ± 0.48	4/5	1.66 ± 0.26 ^b	2/5	49.84 ^b
Sertralina 0,2 %	3.39 ± 0.03	5/5	2.81 ± 0.52	5/5	1.15 ± 0.21 ^b	2/5	66.07 ^b
Sertralina 2,0 %	3.59 ± 0.03	5/5	1.92 ± 0.63 ^b	2/5	0.00 ± 0.00 ^b	0/5	100 ^b
Emulgel base	2,79 ± 0,14	5/5	3,17 ± 0,38	5/5	3,21 ± 0,35	5/5	-
Emulgel sertralina 1%	3,86 ± 0,15	5/5	0,00 ± 0,00 ^b	0/5	0,00 ± 0,00 ^b	0/5	100 ^b
Emulgel sertralina 2%	3,98 ± 0,11	5/5	0,00 ± 0,00 ^b	0/5	0,00 ± 0,00 ^b	0/5	100 ^b



**REPOSICIONAMENTO DO FÁRMACO SERTRALINA PARA O TRATAMENTO DE CANDIDÍASE
VULVOVAGINAL**

Araújo et. al.

Emulgel sertralina 4%	4,05 ± 0,21	5/5	0.00 ± 0.00 ^b	0/5	0.00 ± 0.00 ^b	0/5	100 ^b
--------------------------	----------------	-----	-----------------------------	-----	-----------------------------	-----	------------------

^aRedução percentual da carga fúngica comparada ao primeiro dia de tratamento. ^bDiferença estatisticamente significativa comparada com o dia 0 ($p < 0.05$). Nistatina creme vaginal (25,000 UI/g) foi usada como controle positivo. DP = desvio padrão. N = 5

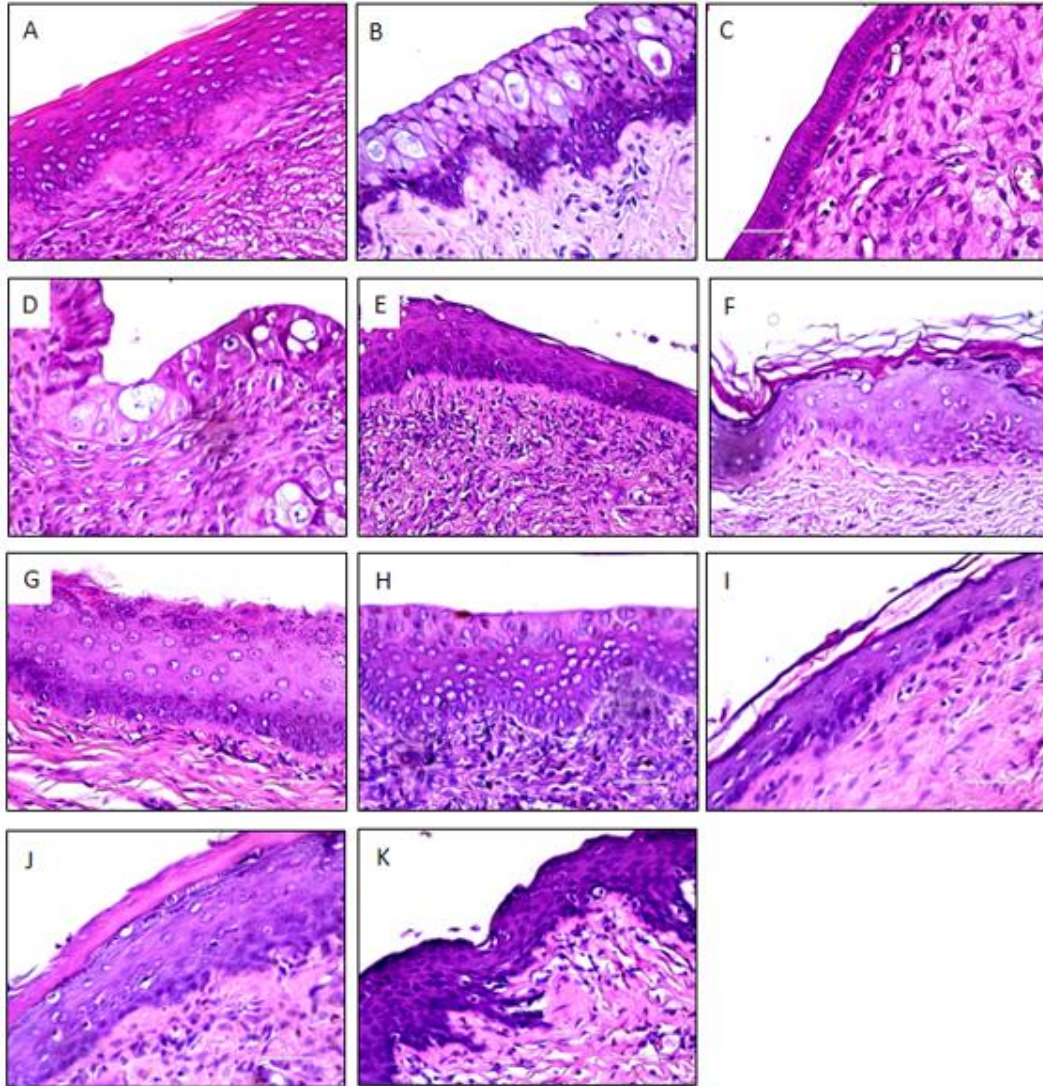
O grupo de animais infectados e não tratados manteve a infecção até o final do experimento, apresentando carga fúngica elevada, assim como no grupo controle negativo (veículo) e o grupo controle emulgel base, em que todos os animais permaneceram infectados até o último dia do experimento. No grupo controle positivo, tratado com nistatina creme vaginal, foi observado que, após 3 dias de tratamento, apenas 1 animal permanecia infectado com baixa carga fúngica, e a remissão da infecção em todos os animais foi confirmada após o último tratamento. Nos três grupos tratados com diferentes concentrações de sertralina em solução, houve uma redução progressiva na carga fúngica. Embora não tenha sido observada cura entre os animais nos grupos tratados com as concentrações 0,02% e 0,2%, ambas as concentrações foram capazes de reduzir a infecção em cerca de 50 e 66%, respectivamente, podendo ser observada diferença estatisticamente significativa na redução da carga fúngica comparados à carga obtida no primeiro dia. O grupo tratado com a concentração de 2,0% mostrou total redução total da carga fúngica após 6 dias de tratamento, com 100% dos animais curados, demonstrando ser a concentração mais eficaz no tratamento da CVV, nas condições experimentais utilizadas neste estudo.

Nos grupos de animais tratados com emulgel contendo sertralina nas diferentes concentrações, foi observada total remissão da carga fúngica após 3 dias de tratamento em todas as concentrações (1%, 2% e 4%). Portanto, todos os animais dos grupos tratados com emulgel contendo sertralina foram considerados curados após esse tempo de tratamento.

Os resultados da análise histopatológica são apresentados na Figura 2. O grupo de animais não infectados (A) apresentou epitélio escamoso estratificado (EES) com células íntegras e discreta queratinização. No grupo controle negativo (B), nos quais os animais foram infectados e não receberam nenhum tipo de tratamento, observou-se grande número de células tumefeitas com acúmulo intracelular de substâncias e intenso infiltrado inflamatório. No grupo controle positivo nistatina (C), foi possível observar

epitélio íntegro e redução significativa do processo inflamatório. Já nos grupos controle do veículo (D) e emulgel base (H), observou-se grande número de células tumefeitas com acúmulo intracelular de substâncias e intenso infiltrado inflamatório, respectivamente. Os grupos B, D e H também apresentaram acantose e espongiose. Nos animais tratados com solução de sertralina 0,02% (E), havia um processo inflamatório considerável, poucas células tumefeitas e uma leve descamação no lúmen. Já no grupo tratado com solução de sertralina 0,2% (F), observou-se presença de descamação do epitélio queratinizado, mas significativa redução do infiltrado inflamatório. Os animais tratados com solução de sertralina 2,0% (G) apresentaram redução visível dos sinais de inflamação, com ausência de células tumefeitas e EES sem descamação significativa. Nos grupos tratados com emulgel contendo sertralina 1,0% (I), 2,0% (J) e 4,0% (K) observou-se redução considerável dos sinais de inflamação e ausência de células tumefeitas, além de integridade do epitélio em K.

Figura 2. Secções do epitélio vaginal de ratas submetidas a tratamentos com sertralina e seus respectivos controles (aumento 60x).



(A) Grupo controle não infectado. (B) Animais infectados e não tratados. (C) Animais infectados tratados com creme de nistatina (controle positivo). (D) Animais infectados tratados apenas com o veículo (solução DMSO a 2%). (E, F, G) Grupos de tratamento com solução de sertralina em diferentes concentrações: 0,02%, 0,2% e 2,0%, respectivamente. (H) Animais infectados tratados com emulgel base sem sertralina. (I, J, K) Grupos de tratamento com emulgel contendo sertralina nas concentrações: 1,0%, 2,0% e 4,0%, respectivamente.

DISCUSSÃO

As leveduras do gênero *Candida* são microrganismos comensais da microbiota humana normal, consideradas como oportunistas, devido à capacidade de se tornarem patogênicas quando ocorrem alterações nas condições do hospedeiro²⁰. A infecção fúngica mais comum da mucosa vaginal é a CVV, doença que provoca inflamação da vulva e da vagina e afeta cerca de 75% das mulheres em idade adulta pelo menos uma



vez na vida¹. Essa condição apresenta como manifestações clínicas mais comuns edema e eritema vulvar, prurido e ardor vaginal, acompanhados de disúria, dispareunia e corrimento de coloração branca a amarelada, quadro que traz inúmeros desconfortos, afetando diretamente a qualidade de vida da mulher²⁰.

O tratamento convencional da CVV é realizado com o uso de antifúngicos na forma de óvulos e cremes vaginais ou agentes orais². Dentre as várias classes de compostos que são utilizados no tratamento da doença, incluem-se os polienos e os azóis, majoritariamente. Os polienos tópicos, como a nistatina, apresentam alta taxa de cura em casos não complicados de CVV, assim como os agentes azólicos tópicos e orais, a exemplo do miconazol e fluconazol^{6,20}. Apesar da preferência dos pacientes pela conveniência da administração oral, esses medicamentos têm potenciais efeitos colaterais, no qual ressalta-se a hepatotoxicidade^{20,21}. Além dos problemas relacionados aos fármacos disponíveis, também é relatada na literatura a crescente resistência de *Candida spp.* aos antifúngicos tradicionais. Sabe-se que as espécies de *Candida* apresentam susceptibilidades variadas aos agentes antifúngicos mais utilizados, na qual se destaca as elevadas taxas de resistência intrínseca ao fluconazol – fármaco mais amplamente usado – entre as espécies de *Candida não-albicans*^{3,5,6}. Dessa maneira, levando em consideração as falhas apresentadas pelas tradicionais terapias antifúngicas, é muito importante que estratégias terapêuticas mais eficientes sejam desenvolvidas para reduzir os impactos clínicos provocados por essa doença.

Considerando a notória realidade de aumento da resistência aos antimicrobianos, o reposicionamento de fármacos surge como uma alternativa terapêutica para a CVV. Essa estratégia consiste no emprego de medicamentos já bem estabelecidos para o tratamento de doenças diferentes daquelas para as quais foram desenvolvidos¹⁰⁻¹². Isso economiza no processo de validação do emprego do fármaco, visto que a farmacocinética e a farmacodinâmica já são bem conhecidas, diminuindo, assim, o tempo de pesquisa, a duração dos ensaios clínicos e, conseqüentemente, os gastos^{10,13,22}.

Nessa busca por novas terapias antifúngicas, o redirecionamento de fármacos da classe dos ISRS tem se destacado, principalmente relacionado a sua CIM baixa para leveduras do gênero *Candida*. Há alguns anos, a atividade antifúngica dos

antidepressivos da classe dos ISRS vem sendo estudada contra diferentes espécies de fungos. Essa propriedade já foi testada para alguns ISRS sozinhos ou combinados com medicamentos antifúngicos clássicos^{4,7,23,24}. A atividade antifúngica de sertralina, fármaco da classe dos ISRS, tem sido demonstrada em diversos estudos. A exemplo disso, Lass-Flörl et al. (2001) apresentaram o efeito antifúngico in vitro de alguns ISRS contra o gênero *Aspergillus* e demonstraram que a sertralina foi o fármaco mais ativo entre os utilizados no experimento, evidenciando um importante efeito fungicida²⁵.

Ao considerar a atividade antifúngica da sertralina contra fungos do gênero *Candida*, o potencial efeito desse fármaco foi relatado primeiramente por Lass-Flörl et al. (2001). No estudo, três pacientes com CVV recorrente receberam tratamento para Transtorno Pré-Menstrual Grave à base de sertralina e, durante a terapêutica, observou-se a interrupção da sintomatologia clássica da CVV nas pacientes, o que indicou uma potencial interação antifúngica entre esse ISRS e a infecção por *Candida* sp⁹. Ademais, Lass-Flörl et al. (2003) demonstraram a interação in vitro entre sertralina e algumas espécies de *Candida*, entre elas *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. dubliniensis*. Isso resultou na significativa diminuição de importantes fatores de virulência para as espécies estudadas, como o prolongamento de hifas, a secreção de aspartil proteinases, a produção de fosfolipases e a germinação de blastoconídios⁸.

O papel antifúngico da sertralina contra *Candida* spp. também foi avaliado por Oliveira et al. (2017) e, nos testes apresentados, a CIM da sertralina correspondeu à concentração fungicida mínima (CFM) na grande maioria das cepas do gênero *Candida* estudadas, isto é, a sertralina teve uma alta capacidade de erradicar o fungo¹⁶. Além disso, Silva et al. (2017) estudaram o efeito in vitro de alguns ISRS contra cepas de *Candida* spp. resistentes ao fluconazol. Entre os fármacos testados – fluoxetina, paroxetina e sertralina – o último teve o melhor resultado antifúngico ao apresentar CIM₅₀ de 10-20 µg/ml, enquanto a CIM₅₀ de fluoxetina foi de 20-160 µg/ml e a de paroxetina foi de 10-100,8 µg/ml. Logo, foi necessária uma menor dose de sertralina, em relação aos outros fármacos, para inibir 50% do crescimento fúngico⁴. Esse resultado demonstra uma importante atividade desse fármaco contra cepas resistentes e reitera a possibilidade de se utilizar a sertralina como tratamento para CVV.

Para avaliação da atividade antifúngica in vivo, o modelo animal usando ratas



tem sido empregado desde o início dos anos 60 e continua sendo o mais eficaz¹⁴. Esse fato se justifica pelo ciclo estral dos roedores ser semelhante ao de humanas, que consiste em quatro fases – proestro, estro, metaestro e diestro – e dura de 4 a 6 dias. Um esfregaço da fase proestro apresenta predominantemente células epiteliais nucleadas; a fase estro apresenta células cornificadas anucleadas; a fase metaestro possui em igual proporção leucócitos e células epiteliais nucleadas e anucleadas; e a fase diestro é composta predominantemente por leucócitos. Baixos níveis de estrógeno não permitem que a infecção se estabeleça e, assim, um dos fatores que afetam a susceptibilidade dos animais frente a *C. albicans* é a indução hormonal, que irá promover alterações morfológicas no epitélio vaginal das ratas, aumentar o conteúdo de glicogênio no local, alterar o pH e o crescimento dos substratos. Por isso, um estado prolongado de fase pseudoestro é induzido e mantido com a administração de estradiol, o que é possível obter com efetividade em ratas Wistar. A mucosa vaginal, quando em estado de pseudoestro, possui diversos fatores que auxiliam na adesão e estabelecimento da infecção por leveduras do gênero *Candida*. O modelo animal ideal de CVV experimental utilizando ratas Wistar reproduz fielmente o processo de colonização, além de corresponder a defeitos imunes e/ou condições hormonais associadas à infecção em um determinado local. A infecção nesse modelo se mantém prolongada e, assim, é possível revelar a participação de atributos de virulência de *Candida* e o recrutamento de defesa do hospedeiro^{14,26–28}.

Sabe-se que, para o tratamento local de infecções mucocutâneas, como a CVV, os sistemas de administração de medicamentos devem apresentar características mucoadesivas para permanecer no local por um período adequado, além de serem capazes de liberar o princípio ativo de acordo com o tratamento^{29–31}. Diferentes formulações vaginais convencionais para CVV disponíveis atualmente têm eficácia limitada devido ao menor tempo de permanência no epitélio vaginal, como cremes e géis, o que leva a necessidade de uma administração frequente da formulação e acaba por causar incômodos à mulher^{29,32}. Assim, para superar esse problema, é desejável um contato prolongado e íntimo com a mucosa vaginal, o que pode ser conseguido utilizando polímeros mucoadesivos, como os emulgeis³³. Os polímeros mucoadesivos têm uma excelente capacidade de ligação aos tecidos da mucosa por um período de tempo considerável e permitem prolongar o tempo de retenção da forma farmacêutica



no local de ação, possibilitando a obtenção de liberação sustentada do princípio ativo, o que, conseqüentemente, exigiria uma administração menos frequente. Além disso, como o fármaco será liberado no espaço mais próximo da mucosa, a absorção e a biodisponibilidade do princípio ativo também serão melhoradas³⁴⁻³⁶.

No presente estudo, assim como é encontrado na literatura, os resultados obtidos com a sertralina corroboram com o fato de que o redirecionamento desse fármaco para o tratamento de candidíase vulvovaginal é promissor. Os resultados dos testes realizados utilizando a solução de sertralina em DMSO a 2% forneceram subsídio para que um dos objetivos deste trabalho, o qual inclui o desenvolvimento de uma formulação para administração intravaginal à base de sertralina, pudesse ser alcançado. Assim, foram desenvolvidas as formulações de emulgel com a incorporação de sertralina em diferentes concentrações. Considerando que o resultado com a concentração de 2% de sertralina em solução foi o que obteve remissão total da carga fúngica, decidiu-se por produzir o emulgel com sertralina a 2% e, a partir desta concentração, produzir também um emulgel contendo a metade (1%) e duas vezes (4%) a concentração eficaz. Dessa forma, seria possível observar se a sertralina, quando administrada por meio de uma matriz farmacêutica adequada ao ambiente vaginal, poderia apresentar melhor resultado devido às capacidades de adesão da formulação à mucosa.

Em relação à escolha pela administração vaginal, sabe-se que ela permite uma via de acesso não invasiva, possibilitando a autoadministração das formulações de forma simples. A vagina possui uma rede densa de vasos sanguíneos, o que a torna uma via adequada para a administração local e sistêmica de fármacos³⁷⁻³⁹. Em comparação com a administração convencional, a administração vaginal apresenta várias vantagens, incluindo uma redução nos efeitos colaterais gastrointestinais, desvio do metabolismo hepático de primeira passagem, facilidade de autoinserção e de remoção da forma farmacêutica e alta permeabilidade para fármacos de baixo peso molecular. Portanto, é comum administrar medicamentos ginecológicos por via vaginal, como agentes indutores do parto, agentes espermicidas, antimicrobianos, prostaglandinas e esteroides^{40,41}. Contudo, vale apontar algumas limitações das formas farmacêuticas de administração vaginal. O mecanismo fisiológico de limpeza da vagina pode resultar em vazamento prematuro e levar a resultados subterapêuticos. Além disso, há variabilidade da estabilidade do fármaco no pH do ambiente vaginal, assim como baixa liberação e



distribuição dos fármacos na cavidade vaginal. O perfil de liberação do fármaco também varia com a presença de fluidos vaginais fisiológicos e as mudanças que ocorrem em seu volume e composição ao longo do ciclo menstrual, contribuindo para a remoção da formulação e exigindo a necessidade de muitas aplicações, o que leva a um comprometimento na adesão ao tratamento por parte da paciente⁴²⁻⁴⁴. Alguns ensaios clínicos comparando a via oral com a local demonstraram que as mulheres tiveram uma taxa de cura semelhante, mas aquelas que usaram os antifúngicos intravaginais resultaram em maior satisfação com o tratamento, uma vez que as preparações vaginais podem proporcionar alívio sintomático⁴⁵⁻⁴⁷.

Na avaliação in vivo do efeito da sertralina no tratamento de CVV, nas condições experimentais utilizadas neste estudo, os resultados obtidos mostraram que houve diferença estatisticamente significativa na redução progressiva da carga fúngica nos grupos tratados com solução de sertralina nas três concentrações, observando-se cura em 100% dos animais tratados com a concentração de 2,0% após 6 dias de tratamento. Já em relação aos grupos tratados com emulgel contendo sertralina, em todas as concentrações testadas foi obtida cura após 3 dias de tratamento com 1 aplicação ao dia, sugerindo, assim, que a eficácia do fármaco foi mais significativa quando administrado incorporado ao emulgel em relação à administração em solução.

Conhecendo a já relatada resistência da cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 a azólicos, o grupo controle positivo foi tratado com nistatina, o qual demonstrou a sensibilidade do modelo experimental, uma vez que esse fármaco apresentou redução de 100% da carga fúngica em todos os animais após o último dia de tratamento. As três concentrações de sertralina em emulgel, quando comparadas ao controle positivo, foram capazes de erradicar a infecção em todos os animais tratados com 3 dias de tratamento, mostrando resultados mais favoráveis do que a nistatina, no qual 1 animal permaneceu infectado neste período.

Através das análises histopatológicas, foi possível monitorizar o efeito terapêutico da sertralina no canal vaginal das ratas infectadas com *C. albicans*, conforme mostrado na Figura 2. Sabe-se que, em roedores, o canal vaginal é composto por um epitélio escamoso estratificado queratinizado sem glândulas, por lâmina própria constituída de tecido conjuntivo fibroso com camadas musculares circulares e



longitudinais e por camada adventícia mais externa⁴⁸. Os animais infectados e não tratados apresentaram alguns granulomas na região epitelial, vacuolização do epitélio, acantose, espongiase e intenso infiltrado inflamatório na mucosa vaginal, assim como os grupos controle do veículo e emulgel base. Nos animais tratados com nistatina, foi possível observar a preservação da estrutura da mucosa em relação aos animais infectados, validando as condições experimentais.

O tratamento com as menores doses de sertralina em solução (0,02% e 0,2%) não reverteu de forma considerável todos os efeitos deletérios da infecção do tecido vaginal. No entanto, um efeito terapêutico significativo da sertralina em solução foi observado na dose mais alta avaliada (2,0%), com redução visível dos sinais inflamatórios. No tratamento com sertralina incorporada ao emulgel vaginal, os vacúolos epiteliais foram reduzidos na dose de 1% e desapareceram totalmente com o tratamento na dose de 2% e de 4%. Além disso, na dose de 4% observou-se maior integridade do epitélio, cuja espessura foi comparável ao controle de animais saudáveis. Portanto, esses resultados mostram que, além da cura micológica, o emulgel com sertralina também foi capaz de preservar a arquitetura morfológica da mucosa do canal vaginal em ratas infectadas, o que certamente reflete em uma redução dos sinais e sintomas clínicos da CVV.

Nos experimentos realizados neste estudo, como descrito na metodologia, a infecção intravaginal dos animais foi realizada utilizando-se a cepa de *C. albicans* ATCC 10231. Sabe-se que, originalmente, essa cepa foi isolada de pacientes com broncomicose e não está adaptada à infecção da mucosa vaginal¹⁵, o que poderia se configurar como uma limitação do estudo, pois pode produzir uma vaginose fúngica menos robusta em ratos do que em isolados clínicos de mulheres com CVV. No entanto, *C. albicans* ATCC 10231 é comumente utilizada nos modelos experimentais de diferentes tipos de infecções, incluindo candidíase vulvovaginal⁴⁹⁻⁵¹, candidemia⁵¹, candidíase intra-abdominal^{52,53} e ceratite fúngica⁵⁴. Ademais, a American Type Culture Collection indicou esse patógeno como um modelo para ensaios pré-clínicos in vitro e in vivo de novos agentes antifúngicos, uma vez que *C. albicans* ATCC 10231 é comprovadamente resistente a alguns antifúngicos (itraconazol, fluconazol, voriconazol, anidulafungina), tem virulência compatível com o uso em modelos pré-clínicos e seu genoma é totalmente sequenciado¹⁵.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, mostramos que a sertralina pode ser um possível agente terapêutico para reposicionamento de fármacos, a fim de ser utilizada no controle de infecções fúngicas oportunistas de mucosa causadas por *C. albicans*. Como o perfil, a cinética e o mecanismo de liberação da sertralina, bem como sua retenção e permeação através do epitélio vaginal ainda não foram completamente elucidados, investigações adicionais são necessárias.

REFERÊNCIAS

1. Miró MS, Rodríguez E, Vigezzi C, Icely PA, Gonzaga de Freitas Araújo M, Riera FO, et al. Vulvovaginal candidiasis: An old disease with new challenges. Rev Iberoam Micol [Internet]. 2017;34(2):65–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2016.11.006>
2. Chew SY, Than LTL. Vulvovaginal candidosis: Contemporary challenges and the future of prophylactic and therapeutic approaches. Mycoses. 2016;59(5):262–73.
3. Sanguinetti M, Posteraro B, Lass-Flörl C. Antifungal drug resistance among Candida species: Mechanisms and clinical impact. Mycoses. 2015;58(S2):2–13.
4. Costa Silva RA, da Silva CR, de Andrade Neto JB, da Silva AR, Campos RS, Sampaio LS, et al. In vitro anti-Candida activity of selective serotonin reuptake inhibitors against fluconazole-resistant strains and their activity against biofilm-forming isolates. Microb Pathog. 2017;107:341–8.
5. Wiederhold NP. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. Infect Drug Resist. 2017;10:249–59.
6. Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole antifungal resistance in Candida albicans and emerging non-albicans Candida Species. Front Microbiol. 2017;7(JAN):1–12.
7. Oliveira AS, Gaspar CA, Palmeira-de-Oliveira R, Martinez-de-Oliveira J, Palmeira-de-Oliveira A. Anti-Candida activity of fluoxetine alone and combined with fluconazole: A synergistic action against fluconazole-resistant strains. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(7):4224–6.
8. Lass-Flörl C, Ledochowski M, Fuchs D, Speth C, Kacani L, Dierich MP, et al. Interaction of sertraline with Candida species selectively attenuates fungal virulence in vitro. FEMS Immunol



Med Microbiol. 2003;35(1):11–5.

9. Lass-Flörl C, Dierich MP, Fuchs D, Semenitz E, Ledochowski M. Antifungal Activity against Candida Species of the Selective Serotonin-Reuptake Inhibitor, Sertraline . Clinical Infectious Diseases. 2001;33(12):e135–6.

10. Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: Identifying and developing new uses for existing drugs. Nat Rev Drug Discov. 2004;3(8):673–83.

11. Abrutyn E. New uses for old drugs. Infect Dis Clin North Am. 1989;3(3):653–64.

12. Chiang AP, Butte AJ. Systematic evaluation of drug-disease relationships to identify leads for novel drug uses. Clin Pharmacol Ther [Internet]. 2009;86(5):507–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2009.103>

13. Kaitin KI. Deconstructing the drug development process: The new face of innovation. Clin Pharmacol Ther. 2010;87(3):356–61.

14. Naglik JR, Fidel PL, Odds FC. Animal models of mucosal Candida infection. FEMS Microbiol Lett. 2008;283(2):129–39.

15. (ATCC) ATCC. Candida albicans drug resistance panel (CaDR Panel). American Type Culture Collection [Internet]. 2008; Available from: <https://www.atcc.org/products/all/10231.aspx#documentation>

16. Oliveira AS, Martinez-De-Oliveira J, Palmeira-De-Oliveira R, Palmeira-De-Oliveira A. Medical Journal of Obstetrics and Gynecology Antifungal Activity of Antidepressant Sertraline against Candida Species In vitro: A Potential Beneficial Association with Fluconazole. Med J Obstet Gynecol [Internet]. 2017;5(1):1–5. Available from: <https://www.jsccimedcentral.com/Obstetrics/obstetrics-5-1095.pdf>

17. Samanta A, Chattopadhyay D, Sinha C, Dulal Jana A, Ghosh S, Mandal A, et al. Evaluation of In Vivo and In Vitro Antimicrobial Activities of a Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Sertraline Hydrochloride. Antiinfect Agents. 2014;10(2):95–104.

18. Zhai B, Wu C, Wang L, Sachs MS, Lin X. The antidepressant sertraline provides a promising therapeutic option for neurotropic cryptococcal infections. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(7):3758–66.

19. de Oliveira Neto AS, Souza ILA, Amorim MES, de Freitas Souza T, Rocha VN, do Couto RO, et al. Antifungal efficacy of atorvastatin-containing emulgel in the treatment of oral and vulvovaginal candidiasis. Med Mycol. 2020;1–10.

20. Gonçalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. Crit Rev Microbiol. 2016;42(6):905–27.



21. Kyriakidis I, Tragiannidis A, Munchen S, Groll AH. Clinical hepatotoxicity associated with antifungal agents. *Expert Opin Drug Saf* [Internet]. 2017;16(2):149–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14740338.2017.1270264>
22. Villalba MA. Reposicionamento de fármacos para tratamento de doenças infecciosas bacterianas. 2015;31. Available from: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUBD-A4VGJT>
23. Young TJ, Oliver GP, Pryde D, Perros M, Parkinson T. Antifungal activity of selective serotonin reuptake inhibitors attributed to non-specific cytotoxicity [5]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003;51(4):1045–7.
24. Paul S, Mortimer RB, Mitchell M. Sertraline demonstrates fungicidal activity in vitro for *Coccidioides immitis*. *Mycology* [Internet]. 2016;7(3):99–101. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/21501203.2016.1204368>
25. Lass-Flörl C. Antifungal properties of selective serotonin reuptake inhibitors against *Aspergillus* species in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001;48(6):775–9.
26. Carrara MA, Donatti L, Damke E, Svidizinski TIE, Consolaro MEL, Batista MR. A new model of vaginal infection by *Candida albicans* in rats. *Mycopathologia*. 2010;170(5):331–8.
27. de Freitas Araújo MG, Pacífico M, Vilegas W, dos Santos LC, Icely PA, Miró MS, et al. Evaluation of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhl. extract as antifungal and in treatment of vulvovaginal candidiasis. *Med Mycol*. 2013;51(7):673–82.
28. Cassone A, Sobel JD. Experimental models of vaginal candidiasis and their relevance to human candidiasis. *Infect Immun*. 2016;84(5):1255–61.
29. Johal HS, Garg T, Rath G, Goyal AK. Advanced topical drug delivery system for the management of vaginal candidiasis. *Drug Deliv*. 2016;23(2):550–63.
30. Rajaram DM, Laxman SD. Buccal mucoadhesive films: A review. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2017;8(1):31–8.
31. Kataria K, Sharma A, Garg T, Goyal AK, Rath G. Novel Technology to Improve Drug Loading in Polymeric Nanofibers. 2014.
32. Araujo VHS, Duarte JL, Carvalho GC, Silvestre ALP, Fonseca-Santos B, Marena GD, et al. Nanosystems against candidiasis: a review of studies performed over the last two decades. Vol. 46, *Critical Reviews in Microbiology*. Taylor and Francis Ltd.; 2020. p. 508–47.
33. Ajazuddin, Alexander A, Khichariya A, Gupta S, Patel RJ, Giri TK, et al. Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release* [Internet]. 2013;171(2):122–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.06.030>



34. Valenta C. The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. Vol. 57, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005. p. 1692–712.
35. Jalil A, Asim MH, Le NMN, Laffleur F, Matuszczak B, Tribus M, et al. S-protected gellan gum: Decisive approach towards mucoadhesive antimicrobial vaginal films. *Int J Biol Macromol*. 2019 Jun 1;130:148–57.
36. Calvo NL, Svetaz LA, Alvarez VA, Quiroga AD, Lamas MC, Leonardi D. Chitosan-hydroxypropyl methylcellulose tioconazole films: A promising alternative dosage form for the treatment of vaginal candidiasis. *Int J Pharm*. 2019 Feb 10;556:181–91.
37. Mesquita L, Galante J, Nunes R, Sarmento B, Neves J das. Pharmaceutical vehicles for vaginal and rectal administration of anti-hivmicrobicide nanosystems. Vol. 11, *Pharmaceutics*. MDPI AG; 2019.
38. Chindamo G, Sapino S, Peira E, Chirio D, Gallarate M. Recent advances in nanosystems and strategies for vaginal delivery of antimicrobials. *Nanomaterials*. 2021 Feb 1;11(2):1–29.
39. Osmałek T, Froelich A, Jadach B, Tatarek A, Gadzinski P, Falana A, et al. Recent advances in polymer-based vaginal drug delivery systems. *Pharmaceutics*. 2021 Jun 1;13(6).
40. Sun X, Qiu H, Jin Y. Highly efficient treatment of aerobic vaginitis with simple acidic buffered gels: The importance of pH and buffers on the microenvironment of vaginas. *Int J Pharm*. 2017 Jun 15;525(1):175–82.
41. Wang X, Liu S, Guan Y, Ding J, Ma C, Xie Z. Vaginal drug delivery approaches for localized management of cervical cancer. Vol. 174, *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V.; 2021. p. 114–26.
42. dos Santos AM, Carvalho SG, Araujo VHS, Carvalho GC, Gremião MPD, Chorilli M. Recent advances in hydrogels as strategy for drug delivery intended to vaginal infections. Vol. 590, *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V.; 2020.
43. Notario-Pérez F, Cazorla-Luna R, Martín-Illana A, Galante J, Ruiz-Caro R, das Neves J, et al. Design, fabrication and characterisation of drug-loaded vaginal films: State-of-the-art. Vol. 327, *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V.; 2020. p. 477–99.
44. Thapa R, Gurung S, Parat MO, Parekh HS, Pandey P. Application of Sol–Gels for Treatment of Gynaecological Conditions—Physiological Perspectives and Emerging Concepts in Intravaginal Drug Delivery. Vol. 8, *Gels*. MDPI; 2022.
45. Sekhavat L, Tabatabaie A, Tezerjani FZ. Oral fluconazole 150mg single dose versus intravaginal clotrimazole treatment of acute vulvovaginal candidiasis. *J Infect Public Health*. 2011 Sep;4(4):195–9.



46. Martens MG. Patient Preferences in the Treatment of Vaginal Candidiasis. *Open J Obstet Gynecol*. 2018;08(12):1147–55.
47. Mendling W, Shazly MA el, Zhang L. Clotrimazole for vulvovaginal candidosis: More than 45 years of clinical experience. Vol. 13, *Pharmaceuticals*. MDPI AG; 2020. p. 1–26.
48. Boyd KL, Muehlenbachs A, Rendi MH, Garcia RL, Gibson-Corley KN. Female Reproductive System. In: *Comparative Anatomy and Histology* [Internet]. Elsevier; 2018. p. 303–34. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128029008000178>
49. Andrade JT, Santos FRS, Lima WG, Sousa CDF, Oliveira LSFM, Ribeiro RIMA, et al. Design, synthesis, biological activity and structure-activity relationship studies of chalcone derivatives as potential anti-Candida agents. *Journal of Antibiotics*. 2018 Aug 1;71(8):702–12.
50. de Toledo LG, Ramos MADS, da Silva PB, Rodero CF, de Sá Gomes V, da Silva AN, et al. Improved in vitro and in vivo anti-candida albicans activity of cymbopogon nardus essential oil by its incorporation into a microemulsion system. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:10481–97.
51. Muñoz JE, Rossi DCP, Ishida K, Spadari CC, Melhem MSC, Garcia DM, et al. Antifungal activity of the biphosphinic cyclopalladate C7a against Candida albicans yeast forms in vitro and in vivo. *Front Microbiol*. 2017 May 3;8(MAY).
52. Andrade JT, Lima WG, Sousa JF, Saldanha AA, Nívea Pereira De Sá, Morais FB, et al. Design, synthesis, and biodistribution studies of new analogues of marine alkaloids: Potent in vitro and in vivo fungicidal agents against Candida spp. *Eur J Med Chem*. 2021 Jan 15;210.
53. Lima WG, Alves-Nascimento LA, Andrade JT, Vieira L, de Azambuja Ribeiro RIM, Thomé RG, et al. Are the Statins promising antifungal agents against invasive candidiasis? *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019 Mar 1;111:270–81.
54. Blanco AR, Nostro A, D'Angelo V, D'Arrigo M, Mazzone MG, Marino A. Efficacy of a fixed combination of tetracycline, chloramphenicol, and colistimethate sodium for treatment of Candida albicans keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017 Aug 1;58(10):4292–8.