



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**ENCAPSULAMENTO DO FÁRMACO ITRACONAZOL  
PARA TRATAMENTO DE ESPOROTRICOSE EM GATOS.**

**MARCELA LOPES DE MOURA QUINA**

**2025**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ENCAPSULAMENTO DO FÁRMACO ITRACONAZOL  
PARA TRATAMENTO DE ESPOROTRICOSE EM GATOS.**

**MARCELA LOPES DE MOURA QUINA**

*Sob orientação da Professora Dr<sup>a</sup>:*

**Renata Nunes Oliveira**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química** no Curso de Pós- Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Tecnologia Química.

Seropédica, RJ  
Março, 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Q7e

Quina, Marcela Lopes de Moura, 1983-  
Encapsulamento do fármaco Itraconazol para  
Tratamento de Esporotricose em Gatos / Marcela Lopes  
de Moura Quina. - Engenheiro Paulo de Frontin, 2025.  
80 f.

Orientador: Renata Nunes Oliveira.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em  
Engenharia Química, 2025.

1. Tratamento de Esporotricose em Gatos  
Domésticos. 2. Encapsulação de Itraconazol com  
Alginato de Sódio. 3. Infecções Felinas. 4. Reticulação  
Iônica do Alginato de Sódio. 5. Liberação Controlada de  
Fármaco. I. Oliveira, Renata Nunes, 1984-, orient. II  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós Graduação em Engenharia Química III.  
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**MARCELA LOPES DE MOURA QUINA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química** no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Tecnologia Química.

**DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 24/02/205.**

 **Ranca**  
Documento assinado digitalmente  
**RENATA NUNES OLIVEIRA**  
Data: 07/04/2025 17:39:01-0300  
Verifique em <https://validar.itii.gov.br>

---

**Profª. Drª. Renata Nunes Oliveira.  
(Departamento de Engenharia Química/IT/ UFRRJ) (Orientadora)**

Documento assinado digitalmente  
 **MARISA FERNANDES MENDES**  
Data: 09/04/2025 16:45:51-0300  
Verifique em <https://validar.itii.gov.br>

---

**Profª. Drª. Marisa Fernandes Mendes.  
(Departamento de Engenharia Química/IT/ UFRRJ)**

Documento assinado digitalmente  
 **YARA PELUSO CID**  
Data: 08/04/2025 10:12:10-0300  
Verifique em <https://validar.itii.gov.br>

---

**Profª. Drª. Yara Peluso Cid.  
(Instituto de Veterinária/IV/ UFRRJ)**

Documento assinado digitalmente  
 **ANA PAULA DUARTE MOREIRA**  
Data: 09/04/2025 17:18:18-0300  
Verifique em <https://validar.itii.gov.br>

---

**Profª. Drª. Ana Paula Duarte Moreira.  
(Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais/PEMM/ UFRJ)**

## AGRADECIMENTOS

Embora uma Dissertação seja, pela sua finalidade acadêmica, um trabalho individual, há contribuições de natureza diversas que não podem nem devem deixar de ser realçadas. Por essa razão, desejo expressar meus os meus sinceros agradecimentos:

Em primeiro lugar, agradeço a Deus que juntamente com todos os meus guias espirituais que me acompanham desde sempre e me mantêm de pé.

A minha avó maternal, Oscarina Lopes de Moura (*in memoriam*) e minha mãe Marluce Lopes de Moura, pois sem elas nada seria possível. O amor e o esforço delas me trouxeram até aqui. Obrigada por acreditarem em mim. Eu amo vocês.

Ao meu marido, Demetrio, com quem escolhi partilhar a vida, construindo uma família e que está presente em todos os momentos, sejam bons ou ruins. Obrigada por estar ao meu lado e não soltar a minha mão.

Aos meus filhos, Daniel L. M. Quina e Marcus César L. M. Quina, por entenderem os momentos que precisei me ausentar da companhia deles.

À Odete, minha sogra, e Natália, comadre. Por cuidarem do meu pequeno nos momentos que precisei me ausentar. Sei que vocês estão na torcida para o meu sucesso.

Aos amigos que torcem por mim e vibram a cada passo dado em minha trajetória.

À UFRRJ e aos colegas que fiz ao longo desta jornada, tanto aos que ingressaram no curso comigo, a galera da “turma B”, que, durante as disciplinas obrigatórias, tornou o ambiente mais agradável e divertido, quanto a todos do Instituto de Química que me acolheram.

A minha professora e orientadora Renata, pela confiança na minha ideia e no meu trabalho, por sempre estar disposta a ajudar. Por sua paciência e compreensão, por todas as contribuições à minha pesquisa e incentivos para que eu não desistisse.

Ao professor Mário Mendes Bonci, por todas as contribuições à minha pesquisa, disponibilidade, paciência e recepções no laboratório de imunologia do Instituto de veterinária (IV).

As professoras Marisa, Yara e Ana Paula, que compuseram minha banca, por estarem disponíveis e por todas as contribuições à minha pesquisa.

À Central Analítica Multiusuário do Instituto de Química (IQ) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pela realização das análises de FTIR. Agradeço a disponibilidade da professora Rosana e do técnico Edivaldo.

Ao IFRJ Campus Paracambi, meu local de trabalho e da qual tenho muito carinho e orgulho. Se não fosse por sua infraestrutura laboratorial minhas amostras não teriam saído.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ) pela oportunidade de aprendizado. À secretária Renata, pelas dúvidas esclarecidas e pelas orientações.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001” .

“This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Cod 001”

“Fé, em nosso pai maior Deus (Olorum), para nunca desistir;  
Força, de minha mãe Yansam, mais coragem, de meu pai Ogum, para suportar as dificuldades  
e  
Foco, na evolução espiritual e material, para atingir meus objetivos.”  
(Adaptação própria)

## RESUMO

QUINA, Marcela Lopes de Moura. **Encapsulamento do fármaco itraconazol para tratamento de esporotricose em gatos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Instituto de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

A esporotricose felina é uma micose subcutânea de importância crescente na medicina veterinária, com relevante impacto na saúde pública. O tratamento convencional, embora eficaz, enfrenta sérias limitações devido à baixa aceitação oral do fármaco itraconazol por felinos, em função de seu sabor amargo e da dificuldade de fracionamento das doses. Diante disso, este trabalho teve como objetivo desenvolver uma formulação alternativa com base em esferas de alginato de sódio para encapsular o itraconazol, promovendo uma liberação controlada, aumento da palatabilidade e potencial terapêutico.

As esferas foram obtidas por extrusão iônica em solução de cloreto de cálcio, processo simples, econômico e reproduzível. Foram produzidas quatro formulações distintas: A1 (alginato puro), A2 (alginato com hidrolato de melaleuca), A3 (alginato com itraconazol) e A4 (alginato com hidrolato de melaleuca e itraconazol). A análise estatística demonstrou homogeneidade no diâmetro e peso das esferas, indicando controle e repetibilidade no processo produtivo. As análises físico-químicas por espectroscopias FTIR e Raman confirmaram a presença dos componentes encapsulados e sugeriram interações entre o itraconazol e a matriz polimérica. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelou alterações morfológicas nas esferas contendo o fármaco, como colapso de poros e aumento da compactação, sugerindo modificações estruturais compatíveis com sistemas de liberação controlada.

A atividade antifúngica foi avaliada por meio de ensaios de inibição do crescimento fúngico (ICF) frente às cepas *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix brasiliensis*. As esferas contendo itraconazol (A3) demonstraram capacidade de inibir o crescimento fúngico ao longo de vários dias, enquanto a formulação (A4), contendo também o hidrolato de Melaleuca alternifolia, apresentou desempenho superior, sugerindo um efeito sinérgico entre o fármaco e os compostos bioativos naturais. A formulação gelatinosa, de fácil manipulação, mostrou-se adequada à administração oral em felinos, com potencial para contornar a rejeição associada ao gosto do itraconazol.

Os resultados obtidos demonstram que a encapsulação macroscópica do itraconazol em esferas de alginato é tecnicamente viável e funcional, reunindo características desejáveis como estabilidade, reproduzibilidade, palatabilidade e eficácia antifúngica. A formulação desenvolvida representa uma alternativa promissora para o tratamento da esporotricose em gatos, abrindo perspectivas para estudos *in vivo*, testes de liberação controlada e futura aplicação clínica ou comercial.

**Palavras-chave:** Alginato, Gatos (*Felis catus*), Itraconazol, Esferas, Esporotricose.

## ABSTRACT

QUINA, Marcela Lopes de Moura. **Encapsulation of the antifungal drug itraconazole for the treatment of sporotrichosis in cats.** Dissertation (Master in Chemical Engineering). Technology Institute, Chemical Engineering Department, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Feline sporotrichosis is a subcutaneous mycosis of increasing concern in veterinary medicine, with significant impact on public health. Although conventional treatment is effective, it faces major limitations due to the poor oral acceptance of the antifungal drug itraconazole by cats, primarily because of its bitter taste and the difficulty of dose fractioning. In this context, this study aimed to develop an alternative formulation based on sodium alginate spheres encapsulating itraconazole to enable controlled drug release, improved palatability, and enhanced therapeutic potential.

The spheres were produced using ionic extrusion in a calcium chloride solution, a simple, cost-effective, and reproducible method. Four distinct formulations were developed: A1 (pure alginate), A2 (alginate with *Melaleuca* hydrosol), A3 (alginate with itraconazole), and A4 (alginate with *Melaleuca* hydrosol and itraconazole). Statistical analysis revealed uniformity in sphere diameter and weight, indicating a well-controlled production process. Physicochemical characterization by FTIR and Raman spectroscopy confirmed the presence of the encapsulated compounds and suggested intermolecular interactions between itraconazole and the polymeric matrix. Scanning electron microscopy (SEM) revealed morphological changes in spheres containing the drug, such as pore collapse and increased compaction, consistent with controlled-release systems.

Antifungal activity was assessed through fungal growth inhibition assays (IC<sub>50</sub>) against *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis*. The itraconazole-loaded spheres (A3) inhibited fungal growth over several days, while formulation (A4), also containing *Melaleuca alternifolia* hydrosol, showed superior performance, indicating a possible synergistic effect between the drug and bioactive natural compounds. The gelatinous and easy-to-handle formulation proved suitable for oral administration in cats, potentially overcoming rejection associated with the drug's taste.

The results demonstrate that the macroscopic encapsulation of itraconazole in alginate spheres is technically feasible and functionally effective, combining desirable features such as stability, reproducibility, palatability, and antifungal efficacy. The developed formulation represents a promising alternative for feline sporotrichosis treatment, paving the way for future in vivo studies, controlled release testing, and potential clinical or commercial applications.

**Keywords:** Alginate, Cats (*Felis catus*), Itraconazole, Spheres, Sporotrichosis.

## LISTA DE FIGURAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>FIGURA 1 – ESTRUTURA QUÍMICA DO ITRACONAZOL.....</b>  | <b>11</b> |
| <b>FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MECANISMO DE AÇÃO DO ITRACONAZOL SOBRE A CÉLULA FÚNGICA .....</b>   | <b>12</b> |
| <b>FIGURA 3– ORGANIZAÇÃO DOS MONÔMEROS ÁCIDO <math>\beta</math>-D-MANURÔNICO (M) E ÁCIDO <math>\alpha</math>-L-GULURÔNICO (G) EM BLOCOS HETEROPOLIMÉRICOS (MG), FORMANDO O ALGINATO DE SÓDIO .....</b> | <b>15</b> |
| <b>FIGURA 4 – ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL “EGG-BOX” DO ALGINATO DE SÓDIO NA PRESENÇA DO ÍON DIVALENTE CÁLCIO (<math>Ca^{2+}</math>).....</b>  | <b>16</b> |
| <b>FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO DA FORMAÇÃO DE GEL DE ALGINATO COM ÍONS <math>Ca^{2+}</math>.....</b>  | <b>17</b> |
| <b>FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA INFLUÊNCIA DO PH NA ESTRUTURA DO ALGINATO E NA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ENCAPSULADO.....</b>  | <b>20</b> |
| <b>FIGURA 7- (A) PREPARO DAS SOLUÇÕES DE ALGINATO DE SÓDIO 2%.</b>   |           |
| <b>FIGURA 7- (B) - PELLETS MACERADOS.....</b>  | <b>30</b> |
| <b>FIGURA 8 – FORMAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE ALGINATO DE SÓDIO 2%.....</b>   | <b>31</b> |
| <b>FIGURA 9 – ESFERAS FORMADAS POR EXTRUSÃO .....</b>  | <b>32</b> |
| <b>FIGURA 10 – ILUSTRAÇÃO DA FORMAÇÃO DAS ESFERAS POR EXTRUSÃO .....</b>   | <b>32</b> |
| <b>FIGURA 11– ESFERAS NA PLACA DE PETRI.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>FIGURA 12 – ILUSTRAÇÃO DAS ESFERAS NA PLACA DE PETRI PARA POSTERIOR TRATAMENTO E ANÁLISES .....</b>   | <b>33</b> |
| <b>FIGURA 13 (A) –ESTERILIZAÇÃO DAS ESFERAS.</b>   |           |
| <b>FIGURA 13 (B) –ESFERAS APÓS ESTERILIZAÇÃO .....</b>   | <b>34</b> |
| <b>FIGURA 14 –ESPECTROS FTIR COMPLETOS DAS AMOSTRAS A1 (A) E A2 (B).....</b>   | <b>40</b> |
| <b>FIGURA 15- ESPECTROS FTIR COMPLETOS DAS AMOSTRAS A3 (C) E A4 (D). .....</b>   | <b>41</b> |
| <b>FIGURA 16 –ESPECTROS RAMAN A1 (A).....</b>  | <b>45</b> |
| <b>FIGURA 17- ESPECTRO RAMAN A2 (B) E A3 (C).....</b>  | <b>46</b> |
| <b>FIGURA 18 - ESPECTRO RAMAN A4 (D) .....</b>   | <b>47</b> |
| <b>FIGURA 19 - IMAGENS DE MEV E SUAS AMPLIAÇÕES, SENDO AS AMOSTRAS (A) A1, (B) A2, (C) A3 E (D) A4. .....</b>  | <b>51</b> |
| <b>FIGURA 20 –RESULTADOS (ICF) DA CEPA <i>S. BRASILIENSIS</i> (INCQS 40360) PARA AS AMOSTRAS A1, A2, A3 E A4.....</b>  | <b>56</b> |
| <b>FIGURA 21 –RESULTADOS (ICF) DA CEPA 008/2014 NAS ESFERAS DAS AMOSTRAS A1, A2, A3 E A4.....</b>  | <b>56</b> |
| <b>FIGURA 22 - APÊNDICE A.1 DISTRIBUIÇÃO DOS DIÂMETROS DAS ESFERAS .....</b>   | <b>66</b> |
| <b>FIGURA 23 - APÊNDICE A.2 DISTRIBUIÇÃO DOS PESOS DAS ESFERAS .....</b>   | <b>66</b> |

## LISTA DE TABELAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>TABELA 1 – ESTRUTURAS ENCAPSULANTES POR ESCALA E MORFOLOGIA.....</b>  | <b>9</b>  |
| <b>TABELA 2 – VIDRARIAS .....</b>  | <b>27</b> |
| <b>TABELA 3 – REAGENTES.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>TABELA 4 – EQUIPAMENTOS.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>TABELA 5 – COMPOSIÇÃO DE CADA AMOSTRA.....</b>  | <b>31</b> |
| <b>TABELA 6 – IDENTIFICAÇÃO DE CADA CEPA UTILIZADA .....</b>   | <b>36</b> |
| <b>TABELA 7 – CONFIGURAÇÕES EXPERIMENTAIS PARA OS TUBOS NO ENSAIO DE<br/>PROLIFERAÇÃO FÚNGICA.....</b>         | <b>37</b> |
| <b>TABELA 8 - VALORES MEDIDOS DE PESO E DIÂMETRO DAS ESFERAS DE ALGINATO COM<br/>ITZ.....</b>                  | <b>38</b> |
| <b>TABELA 9 – RESULTADO DO FTIR .....</b>  | <b>44</b> |
| <b>TABELA 10 – RESULTADO DO RAMAN .....</b>  | <b>49</b> |
| <b>TABELA 11 – AVALIAÇÃO VISUAL DOS TUBOS PARA O ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO FÚNGICA<br/>(ICF) EM A1 E A2 .....</b> | <b>53</b> |
| <b>TABELA 12 – AVALIAÇÃO VISUAL DOS TUBOS PARA O ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO FÚNGICA<br/>(ICF) EM A3 E A4.....</b>  | <b>54</b> |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 3E. *3 Esferas*
- 5E. *5 Esferas*
- A1. *Amostra 1: Alginato de sódio em água*
- A2. *Amostra 2: Alginato de sódio em hidrolato de melaleuca*
- A3. *Amostra 3: Alginato de sódio com ITZ*
- A4. *Amostra 4: Alginato de sódio com hidrolato de melaleuca e ITZ*
- BOD. *Demanda Bioquímica de Oxigênio*
- CETEM. *Centro de Tecnologia Mineral*
- CEUA. *Comissão de Ética no Uso de Animais*
- CN. *Controle Negativo*
- CP. *Controle Positivo*
- CSD ou DAG. *Doença do Aranhão do Gato*
- EQA/CTC. *Departamento de Engenharia Química*
- FeLV. *Vírus da Leucemia Felina*
- FIV. *Vírus da Imunodeficiência Felina*
- FTIR. *Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier*
- ICF. *Inibição do Crescimento Fúngico*
- IFRJ. *Instituto Federal do Rio de Janeiro*
- ITZ. *Itraconazol*
- LINDEN. *Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas*
- MEV. *Microscopia Eletrônica de Varredura*
- RAMAN. *Espectroscopia Raman*
- UFRRJ. *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*
- UFSC. *Universidade Federal de Santa Catarina*

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>CAPÍTULO 1 .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>CAPÍTULO 2 .....</b>  | <b>3</b>  |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>  | <b>3</b>  |
| 2.1 INFECÇÕES EM FELINOS .....   | 3         |
| 2.2 ESPOROTRICOSE.....   | 5         |
| 2.2.1 <i>Medicamentos convencionais para esporotricose.....</i>                          | 6         |
| 2.2.2 <i>Nanoencapsulação de itraconazol.....</i>  | 7         |
| 2.3.3 <i>Comparação morfológica e dimensional dos sistemas encapsulantes .....</i>       | 8         |
| 2.3 ITRACONAZOL.....   | 10        |
| 2.3.1 <i>Uso do Itraconazol Comercial .....</i>  | 13        |
| 2.4 ALGINATO DE SÓDIO.....   | 14        |
| 2.4.1 <i>Gelificação Iônica do Alginato.....</i>   | 15        |
| 2.4.2 <i>Gel Ácido de Alginato .....</i>   | 17        |
| 2.4.3 <i>Reticulação e Formação de Esferas de Alginato.....</i>                          | 17        |
| 2.4.4 <i>Encapsulação de fármacos com alginato.....</i>                                  | 19        |
| 2.4.5 <i>Digestão e Liberação Controlada do Alginato no Trato Gastrointestinal .....</i> | 19        |
| 2.5 ÓLEOS ESSENCIAIS COM AÇÃO ANTIFÚNGICA .....  | 21        |
| 2.5.1 <i>Hidrolatos de óleos essenciais com ação antifúngica.....</i>                    | 22        |
| 2.6 HIDROLATO DE MELALEUCA .....   | 23        |
| <b>CAPÍTULO 3 .....</b>  | <b>24</b> |
| <b>3 JUSTIFICATIVA.....</b>  | <b>24</b> |
| <b>CAPÍTULO 4 .....</b>  | <b>26</b> |
| <b>4 OBJETIVOS.....</b>  | <b>26</b> |
| 4.1 OBJETIVO GERAL.....  | 26        |
| 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....   | 26        |
| <b>CAPÍTULO 5 .....</b>  | <b>27</b> |
| <b>5 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>  | <b>27</b> |
| 5.1 MATERIAIS .....  | 27        |
| VIDRARIAS .....  | 27        |
| REAGENTES .....  | 28        |
| EQUIPAMENTOS.....  | 28        |
| <i>Esterilização .....</i>   | 28        |
| <i>Caracterização.....</i>   | 28        |
| 5.2 MÉTODOS .....  | 30        |
| 5.2.1 <i>Produção das esferas .....</i>  | 30        |
| 5.2.2 <i>Esterilização das Esferas .....</i>   | 34        |
| 5.2.3 <i>Coleta e processamento dos dados .....</i>                                      | 34        |
| 5.2.4 <i>Inibição do Crescimento Fúngico (ICF) .....</i>                                 | 35        |
| 5.2.5 <i>Cepas Utilizadas .....</i>  | 35        |

|                   |  |           |
|-------------------|--|-----------|
| 5.2.6             | <i>Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico (ICF)</i> | 36        |
| <b>CAPÍTULO 6</b> |  | <b>38</b> |
| <b>6</b>          | <b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>                         | <b>38</b> |
| 6.1               | ANÁLISE ESTATÍSTICA DA DIMENSÃO DAS ESFERAS            | 38        |
| 6.1.1             | <i>Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)</i>          | 40        |
| 6.1.2             | <i>Espectroscopia RAMAN</i>                            | 45        |
| 6.1.3             | <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>       | 50        |
| 6.1.4             | <i>Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico (ICF)</i> | 52        |
| <b>CAPÍTULO 7</b> |  | <b>57</b> |
| <b>7</b>          | <b>CONCLUSÕES</b>                                      | <b>57</b> |
| <b>CAPÍTULO 8</b> |  | <b>59</b> |
| <b>8</b>          | <b>SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS</b>                 | <b>59</b> |
| <b>9</b>          | <b>REFERÊNCIAS</b>                                     | <b>60</b> |
| <b>10</b>         | <b>APÊNDICE</b>  | <b>66</b> |

## CAPÍTULO 1

**Resumo:** Este capítulo apresenta uma breve contextualização do tema abordado nesta pesquisa, destacando a esporotricose felina como uma micose subcutânea de importância crescente na saúde pública veterinária e humana. Discute-se a necessidade de inovação nas formas farmacêuticas para contornar os desafios terapêuticos associados à administração do itraconazol em felinos. São expostos os objetivos gerais e específicos do estudo, bem como a justificativa para o desenvolvimento de esferas macroscópicas de alginato de sódio contendo o fármaco. Por fim, é apresentada a estrutura organizacional da dissertação.

### 1 INTRODUÇÃO

Gatos domésticos apresentam comportamentos alimentares peculiares, fortemente influenciados por sua origem carnívora (BRADSHAW, 2006). Essa característica biológica se reflete sua preferência por dietas ricas em proteínas e gorduras e sua aversão a sabores amargos (THOMBRE, 2004). Tal seletividade representa um desafio significativo para os tutores no momento da administração de medicamentos, principalmente na forma de comprimidos, cujo sabor desagradável frequentemente impede sua aceitação espontânea. Estratégias como misturar o medicamento a alimentos atrativos geralmente falham, já que os felinos tendem a consumir apenas o alimento, deixando o fármaco de lado. Essa resistência ressalta a necessidade de desenvolver formulações medicamentosas com maior palatáveis, com o intuito de melhorar a adesão ao tratamento (TAYLOR *et al.*, 2022).

Entre as enfermidades que exigem tratamentos prolongados e rigorosos em gatos, destaca-se a esporotricose, uma micose subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix*, que constitui um importante problema de saúde pública, especialmente no Brasil (ROSSOW *et al.*, 2020). A doença caracteriza-se por lesões cutâneas com elevada carga fúngica e tem potencial zoonótico, podendo ser transmitida ao ser humano por meio de arranhões, mordidas ou contato com secreções provenientes das lesões de animais infectados (GREMIÃO *et al.*, 2021). Diante desse cenário, o tratamento demanda diagnóstico clínico e laboratorial preciso, além de longa duração terapêutica (PEREIRA *et al.*, 2018).

O antifúngico itraconazol, pertencente à classe dos triazóis, destaca-se como o fármaco de escolha para o tratamento da esporotricose felina, apresentando boa eficácia clínica e menor toxicidade em comparação a outros antifúngicos (CARSON *et al.*, 2006). No entanto, a administração do itraconazol em gatos encontra obstáculos relevantes devido ao seu gosto extremamente amargo e à dificuldade de realizar dosagens precisas em animais com hábitos alimentares seletivos. Com isso, surge a necessidade de explorar estratégias de encapsulação

do fármaco, as quais visam melhorar tanto sua aceitação quanto a adesão ao tratamento por parte dos animais (FRENT *et al.*, 2022).

Uma das estratégias promissoras para esse fim envolve o uso do alginato de sódio, um biopolímero natural amplamente aplicado em sistemas de liberação controlada de fármacos (MAPA, 2020). O alginato apresenta a capacidade de formar géis estáveis na presença de cátions divalentes, como o cálcio, permitindo a criação de esferas encapsuladas com compostos bioativos. Essa estrutura gelatinosa protege o princípio ativo, favorecendo sua liberação prolongada e aumentando sua biodisponibilidade. Além disso, o processo de reticulação com cloreto de cálcio é simples, econômico e facilmente adaptável a formulações farmacêuticas e veterinárias (LAI *et al.*, 2024).

Com base nesses fundamentos, este estudo propõe o desenvolvimento de um sistema de encapsulamento à base de esferas de alginato de sódio contendo o antifúngico itraconazol, visando à aplicação no tratamento da esporotricose em gatos domésticos. O produto final consiste em uma forma farmacêutica gelatinosa, de fácil aceitação pelos felinos, capaz de mascarar o sabor amargo do fármaco e promover sua liberação controlada no trato gastrointestinal. Espera-se que essa abordagem melhore significativamente a adesão ao tratamento, contribuindo para a eficácia terapêutica e a redução do risco de transmissão zoonótica. Para isso, o trabalho contempla a preparação das formulações, a caracterização físico-química das esferas por meio de técnicas como espectroscopia no infravermelho (FTIR), espectroscopia RAMAN e microscopia eletrônica de varredura (MEV), além da avaliação da morfologia, eficiência de encapsulamento e atividade antifúngica *in vitro* frente a cepas de *Sporothrix*.

A presente dissertação está estruturada da seguinte forma: o capítulo 1 apresenta a introdução, contextualizando o problema e justificando a relevância do tema. O capítulo 2 traz a revisão bibliográfica com os principais conceitos sobre a esporotricose, o itraconazol, o alginato de sódio e as técnicas de encapsulamento. O capítulo 3 apresenta a justificativa detalhada da pesquisa. O capítulo 4 lista os objetivos geral e específicos. O capítulo 5 expõe os materiais e métodos utilizados para a produção e caracterização das esferas. O capítulo 6 apresenta e discute os resultados obtidos. Por fim, o capítulo 7 traz as conclusões e, no capítulo 8, são sugeridas possíveis direções para estudos futuros.

## CAPÍTULO 2

**Resumo:** Este capítulo apresenta a revisão bibliográfica sobre as principais infecções que acometem felinos domésticos, com ênfase nas micoses subcutâneas, especialmente a esporotricose, abordando seus agentes etiológicos, formas de transmissão e desafios terapêuticos. São discutidas as propriedades farmacológicas do itraconazol, suas limitações farmacotécnicas e as estratégias de encapsulamento desenvolvidas para melhorar sua biodisponibilidade e aceitação oral. A seguir, explora-se o uso do alginato de sódio como polímero encapsulante, destacando seus mecanismos de gelificação, comportamento gastrointestinal e aplicação na formulação de esferas macroscópicas. Por fim, são abordados os óleos essenciais com ação antifúngica, com destaque para o hidrolato de *Melaleuca alternifolia*, investigando seu potencial como coadjuvante na formulação. Esse embasamento teórico sustenta a proposta metodológica desenvolvida nos capítulos seguintes.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Infecções em felinos

Os gatos domésticos estão sujeitos a uma ampla variedade de infecções causadas por diferentes agentes patogênicos, como vírus, bactérias, fungos, protozoários e vermes, que podem afetar diversos órgãos e sistemas. Algumas dessas infecções são específicas dos felinos, enquanto outras podem ser transmitidas por outros animais ou até mesmo por seres humanos (GREENE, 2012). Entre as infecções virais de maior relevância destaca-se o Vírus da Leucemia Felina (FeLV), um gammaretrovírus que provoca imunossupressão, anemia, leucemia e linfoma. Sua transmissão ocorre principalmente por meio do contato íntimo entre os animais, como lambeduras, mordidas ou uso compartilhado de tigelas de alimento e água (HARTMANN, 2005). A infecção pode ser temporária ou persistente, e esta última tende a evoluir para quadros graves e fatais.

Outra infecção viral importante é causada pelo Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), um lentivírus que provoca imunodeficiência semelhante ao HIV humano. Transmitido principalmente por mordidas profundas em confrontos entre machos, o FIV enfraquece o sistema imune dos felinos, tornando-os suscetíveis a infecções secundárias e doenças oportunistas. Gatos infectados podem permanecer assintomáticos por anos até manifestarem sintomas de falência imunológica (HARTMANN, 2005).

Entre as infecções bacterianas, destaca-se a Doença do Arranhão do Gato (DAG), causada por *Bartonella henselae*. Essa bactéria é transmitida aos seres humanos por arranhões ou mordidas de gatos infectados, embora os felinos geralmente permaneçam assintomáticos (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Outras bactérias patogênicas incluem a *Chlamydophila felis*, causadora da clamidiose felina, que se manifesta como conjuntivite intensa e pode evoluir para

rinite e pneumonia (GONSALES, 2008), e a *Mycoplasma haemofelis*, agente etiológico da anemia infecciosa felina, caracterizada pela destruição dos glóbulos vermelhos, febre e icterícia (GREENE, 2012). Além disso, *Pasteurella multocida*, residente habitual na cavidade oral dos gatos, pode causar abscessos dolorosos, que, se não tratados, evoluem para celulite ou septicemia (GOLDSTEIN, 2010). Infecções urinárias por *Escherichia coli* também são observadas, sobretudo em casos de cistite, manifestando-se por disúria, hematúria e, em estágios avançados, insuficiência renal (GREENE, 2012).

As infecções causadas por protozoários e hemoparasitas, muitas vezes transmitidas por vetores como pulgas e carrapatos, incluem agentes como *Babesia spp.*, *Cytauxzoon spp.*, *Hepatozoon spp.*, além de *Mycoplasma spp.*, *Ehrlichia spp.* e *Bartonella spp.* (PEREIRA, 2018; SHAW *et al.*, 2001). Essas doenças podem comprometer severamente o estado clínico dos felinos, levando a quadros de anemia, febre e letargia.

Entre as infecções fúngicas, destaca-se a dermatofitose, causada por fungos dermatófitos dos gêneros *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, que afetam pele, pelos e unhas. O diagnóstico é confirmado por cultura micológica, e o tratamento envolve o uso de antifúngicos tópicos e sistêmicos (MACEDO; SILVA; CAMARGO JUNIOR, 2021). A criptococose, por sua vez, é uma micose sistêmica causada por *Cryptococcus neoformans*, frequentemente associada a fezes de pombos, que afeta o trato respiratório e o sistema nervoso central dos felinos (SABINA *et al.*, 2012). Já a aspergilose, provocada por *Aspergillus fumigatus*, acomete preferencialmente gatos imunossuprimidos, resultando em rinite crônica e, em casos graves, comprometimento neurológico (RIVIÈRE *et al.*, 2011).

Outras micoSES sistêmicas incluem a histoplasmose, causada por *Histoplasma capsulatum*, comum em solos ricos em matéria orgânica; a coccidioidomicose, provocada por *Coccidioides immitis* e *C. posadasii*, mais comum em regiões áridas; e a mucormicose, infecção rara, porém grave, causada por fungos da ordem *Mucorales*, especialmente em animais imunocomprometidos (SIEGEL *et al.*, 2010; SAUTER *et al.*, 2004; FOSTER *et al.*, 2004).

Dentre essas enfermidades, a esporotricose merece destaque especial por sua importância zoonótica e crescente incidência em áreas urbanas no Brasil. Trata-se de uma micoSE subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix*, especialmente *Sporothrix brasiliensis*, que acomete majoritariamente os felinos. A transmissão ocorre por arranhaduras, mordidas ou contato direto com secreções de lesões contaminadas. As manifestações clínicas incluem lesões ulcerativas e disseminação para linfonodos regionais. Por sua facilidade de transmissão a outros animais e humanos, a esporotricose configura-se como um importante problema de saúde pública (SCHUBACH *et al.*, 2004).

Nesse contexto, a compreensão das particularidades das formas de encapsulamento torna-se essencial, especialmente quando aplicada ao cenário clínico-veterinário. A elevada incidência da esporotricose, aliada à dificuldade de manejo clínico e à resistência dos felinos ao tratamento oral, ressalta a necessidade de inovação terapêutica (SCHUBACH *et al.*, 2004; GREMIÃO *et al.*, 2017). As estratégias baseadas em liberação controlada de fármacos e no uso de polímeros naturais, como o alginato de sódio, surgem como alternativas promissoras, sendo o encapsulamento do itraconazol um dos focos deste estudo, conforme será aprofundado nas seções seguintes.

## 2.2 Esporotricose

A esporotricose é uma micose subcutânea de importância crescente na medicina veterinária e na saúde pública, causada por fungos do gênero *Sporothrix*. Com distribuição geográfica ampla, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, a doença se manifesta com maior frequência em gatos domésticos (*Felis catus*), que representam os principais hospedeiros e vetores do agente etiológico no meio urbano.

Dentre as espécies de maior relevância, destaca-se *Sporothrix brasiliensis*, reconhecida por sua alta virulência e por estar associada aos surtos epidêmicos registrados no Brasil (SILVA *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2016). Essa espécie apresenta maior capacidade de disseminação e transmissão zoonótica, sendo considerada a mais agressiva dentre os membros do complexo *Sporothrix schenckii*.

A infecção ocorre predominantemente por meio da inoculação traumática do fungo, seja por arranhaduras, mordidas ou pelo contato direto com secreções de lesões ulceradas de animais contaminados. Gatos infectados apresentam lesões nodulares ulceradas e exsudativas, principalmente na região da cabeça, membros e cauda, podendo evoluir para formas disseminadas com acometimento sistêmico, febre, linfadenopatia e perda de peso (SCHUBACH *et al.*, 2004; BARROS *et al.*, 2022). A elevada carga fúngica eliminada pelas secreções e pela saliva dos felinos infectados amplia significativamente o risco de transmissão, inclusive para seres humanos, tornando a esporotricose uma zoonose de impacto crescente (GUTIERREZ-GALHARDO *et al.*, 2008).

A expansão urbana desordenada e a grande população de gatos errantes ou semidomiciliados contribuem para a manutenção e amplificação da cadeia de transmissão. Esses animais, devido a seus hábitos territoriais e à frequência de brigas, ficam mais expostos à infecção e atuam como importantes disseminadores do fungo. O cenário epidemiológico da esporotricose no Brasil reflete esse contexto: entre 1998 e 2001, mais de 1.500 casos foram

notificados pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), e, entre 2015 e 2017, foram registrados 3.291 novos casos na região metropolitana do Rio de Janeiro, evidenciando uma progressão alarmante (BARROS *et al.*, 2022; SCHUBACH *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2021).

O diagnóstico clínico da esporotricose em felinos é desafiador, pois suas manifestações podem mimetizar outras enfermidades dermatológicas, como micobacterioses, criptococose, abscessos bacterianos e neoplasias cutâneas. A confirmação laboratorial é realizada preferencialmente por cultura fúngica, considerada padrão-ouro, embora métodos como a citologia e a histopatologia também sejam utilizados na rotina clínica (RODRIGUES *et al.*, 2016). A reação em cadeia da polimerase (PCR), apesar de oferecer alta sensibilidade e especificidade, ainda não é amplamente disponível em laboratórios veterinários de rotina. Ademais, o manejo de gatos infectados impõe desafios relacionados à biossegurança, dada a natureza zoonótica da enfermidade (GUTIERREZ-GALHARDO *et al.*, 2008).

Diante desse cenário, a esporotricose felina exige não apenas estratégias terapêuticas eficazes, mas também abordagens preventivas, como o controle populacional de felinos, o isolamento de animais infectados e campanhas educativas. A complexidade do tratamento, associada à baixa adesão dos tutores e à resistência dos gatos à administração de medicamentos orais, reforça a necessidade de alternativas farmacotécnicas inovadoras. Nesse contexto, o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada e o uso de polímeros biocompatíveis, como o alginato de sódio, surgem como soluções promissoras para otimizar a eficácia do tratamento e reduzir o risco de transmissão zoonótica.

### **2.2.1 Medicamentos convencionais para esporotricose**

O tratamento da esporotricose em felinos representa um desafio constante na prática clínica veterinária, exigindo protocolos terapêuticos prolongados e que, muitas vezes, enfrentam baixa adesão por parte dos tutores devido à dificuldade de administração e aos efeitos colaterais. Dentre os antifúngicos disponíveis, o itraconazol destaca-se como a droga de escolha tanto para felinos quanto para humanos, por apresentar maior eficácia clínica e menor toxicidade em comparação com outros agentes antifúngicos, como a anfotericina B ou o iodeto de potássio (BARROS *et al.*, 2022; SCHUBACH *et al.*, 2006).

O itraconazol é um antifúngico triazólico que atua inibindo a síntese de ergosterol, componente essencial da membrana celular dos fungos. Seu uso prolongado é frequentemente necessário para alcançar a remissão clínica da doença, especialmente nas formas disseminadas. No entanto, seu uso em gatos é limitado por diversas razões, como o sabor amargo, que

compromete a aceitação oral, e sua baixa solubilidade em água, o que reduz a biodisponibilidade após administração por via oral (PEREIRA *et al.*, 2020). Além disso, efeitos adversos gastrointestinais, como anorexia e vômito, são comuns, o que pode comprometer ainda mais a continuidade do tratamento.

A forma comercial do itraconazol disponível no mercado veterinário é geralmente administrada em cápsulas ou soluções orais, muitas vezes formuladas para humanos. Essa adaptação, contudo, nem sempre atende às necessidades específicas dos felinos, que apresentam comportamentos alimentares seletivos e aversão a sabores intensos e amargos, dificultando a administração diária do medicamento (GREMIÃO *et al.*, 2017). Como consequência, há maior risco de abandono terapêutico, subdosagem e desenvolvimento de resistência fúngica.

Diante dessas limitações, novas estratégias vêm sendo propostas para melhorar a eficácia terapêutica e a aceitação do tratamento, incluindo modificações farmacotécnicas na formulação do itraconazol. A encapsulação do fármaco em matrizes poliméricas, por exemplo, tem se mostrado uma alternativa viável para contornar esses obstáculos. Tais abordagens visam não apenas melhorar a palatabilidade e a aceitação oral, mas também modular a liberação do princípio ativo, aumentando sua biodisponibilidade e reduzindo a frequência de administração (MORAIS *et al.*, 2016; JAIN, 2000).

Nesse contexto, técnicas como a nanoencapsulação e a formação de microesferas com polímeros naturais passaram a ser investigadas como alternativas promissoras para a entrega eficiente do itraconazol. A seguir, será abordada a nanoencapsulação como uma dessas estratégias inovadoras, explorando seu potencial em superar os desafios impostos pela forma convencional de administração do fármaco.

### **2.2.2 Nanoencapsulação de itraconazol**

A nanoencapsulação do itraconazol tem sido explorada como uma alternativa promissora para melhorar sua solubilidade e eficácia terapêutica. Diversos estudos avaliaram diferentes métodos de nanoencapsulação, incluindo o uso de polímeros biodegradáveis, emulsões e sistemas microfluídicos para a produção de nanopartículas mais homogêneas e eficientes.

Nanopartículas Biodegradáveis de PLGA Contendo Itraconazol para o Tratamento da Paracoccidioidomicose: AZEVEDO (2011) desenvolveu nanopartículas biodegradáveis de PLGA contendo itraconazol, recobertas com DMSA, com o objetivo de melhorar a solubilidade e a liberação controlada do fármaco. O estudo demonstrou que a nanoencapsulação otimiza a

distribuição e a eficácia terapêutica do itraconazol no organismo, possibilitando um controle mais eficiente da infecção. Embora esse estudo tenha sido voltado para o tratamento da paracoccidioidomicose, ele reforça a viabilidade da encapsulação do itraconazol como estratégia para otimizar sua administração.

- Desenvolvimento e Caracterização de Nanopartículas Poliméricas Contendo Itraconazol: LUCENA (2014) investigou a preparação de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas contendo itraconazol, avaliando parâmetros como eficiência de encapsulação, tamanho de partícula e liberação do fármaco. Os resultados indicaram que as nanopartículas podem ser promissoras para a administração controlada do itraconazol, favorecendo a sua biodisponibilidade.
- Nanopartículas de Itraconazol Usando Microreatores: KIM *et al.* (2020) investigaram a nanoencapsulação do itraconazol utilizando tecnologia microfluídica para preparar as nanopartículas via precipitação anti-solvente (em um microreator contínuo por gotejamento). Essa abordagem permitiu a formação de partículas com diâmetro uniforme e alta eficiência de encapsulação, promovendo maior estabilidade da formulação e melhor dissolução do fármaco, características essenciais para o desenvolvimento de terapias antifúngicas mais eficazes.

Esses estudos demonstram que a nanoencapsulação do itraconazol tem sido amplamente investigada como uma estratégia para otimizar sua solubilidade, biodisponibilidade e eficácia terapêutica, representando um avanço significativo para o tratamento de infecções fúngicas. Entretanto, tais abordagens estão restritas à escala nanométrica, diferindo do presente estudo, que propõe a encapsulação macroscópica do itraconazol em esferas de alginato de sódio, visando suprimir seu sabor amargo e facilitar a administração oral em felinos.

### **2.3.3 Comparação morfológica e dimensional dos sistemas encapsulantes**

No contexto das doenças infecciosas que acometem os felinos domésticos, particularmente aquelas de difícil tratamento, como a esporotricose, o desenvolvimento de novas formas de administração de fármacos tornou-se uma necessidade emergente. Dentro desse cenário, os sistemas de liberação controlada ganham destaque por oferecerem alternativas capazes de melhorar a eficácia terapêutica e a adesão ao tratamento. A classificação das partículas utilizadas em sistemas de liberação controlada baseia-se principalmente em dois critérios: o tamanho da partícula e a organização interna dos materiais encapsulados. Com o avanço das tecnologias de encapsulamento, tornou-se possível desenvolver estruturas em

diferentes escalas – nano, micro e macro – cada uma com aplicações, vantagens e limitações específicas.

As nanoesferas e nanocápsulas são estruturas com dimensões na faixa de 1 a 1000 nanômetros, não visíveis a olho nu. As nanoesferas apresentam uma estrutura homogênea e monolítica, com o fármaco disperso uniformemente em sua matriz. Já as nanocápsulas possuem uma estrutura do tipo reservatório, com o fármaco confinado em um núcleo envolto por uma membrana polimérica. Essas formas são amplamente utilizadas em formulações com necessidade de liberação dirigida, aumento de biodisponibilidade e penetração em barreiras biológicas (MORAIS *et al.*, 2016; JAIN, 2000).

No nível micrométrico, as microesferas e microcápsulas seguem o mesmo princípio estrutural das nanoestruturas, mas em escala maior, variando de 1 a 1000 micrômetros. As microesferas mantêm a configuração sólida e homogênea, com o ativo disperso em sua matriz polimérica, enquanto as microcápsulas preservam a separação entre núcleo e revestimento. Ambas as estruturas têm ampla aplicação na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética, com destaque para sua capacidade de mascarar sabores, proteger ativos e promover liberação gradual.

Por fim, quando as partículas ultrapassam o limite de 1 mm de diâmetro, entram na categoria de esferas macroscópicas, que podem chegar a vários milímetros. Embora compartilhem características estruturais com as microesferas (principalmente a dispersão homogênea do fármaco), seu tamanho maior as torna visíveis a olho nu e influencia diretamente fatores como velocidade de liberação, manipulação, aceitabilidade oral e até mesmo adesão à terapêutica em aplicações veterinárias ou pediátricas (GHOSH, 2006). Confira a tabela 1.

**Tabela 1– Estruturas Encapsulantes por Escala e Morfologia**

| <i>Estruturas Encapsulantes por Escala e Morfologia</i> |                         |                    |                          |                            |                                |  |
|---|-------------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|
| <b>Tipo</b>   | <b>Faixa de tamanho</b> | <b>Faixa em mm</b> | <b>Visível a olho nu</b> | <b>Estrutura interna</b>   | <b>Distribuição do Fármaco</b> | <b>Aplicações principais</b>             |
| Nano cápsula  | 1 a 1000 nm             | 0,0001 a 0,001 mm  | Não                      | Núcleo + parede polimérica | Confinado em núcleo            | Nanomedicina, liberação dirigida         |
|   | 1 a 1000 nm             | 0,0001 a 0,001 mm  | Não                      | Monolítica                 | Disperso na matriz             | Fármacos lipossolúveis, cosméticos       |
| Micro cápsula   | 1 a 1000 μm             | 0,001 a 1 mm       | Não                      | Núcleo + parede polimérica | Confinado em núcleo            | Proteção de ativos, liberação controlada |

|                                     |   |  |     |                                  |                                       |   |
|-------------------------------------|---|--|-----|----------------------------------|---------------------------------------|---|
| Micro<br>esfera                     | 1<br>a<br>1000 $\mu\text{m}$                            | 0,001 a<br>1 mm                        | Não | Monolítica                       | Disperso na<br>matriz                 | Liberação<br>prolongada,<br>alimentos<br>funcionais               |
| <b>Esfera<br/>macros<br/>cópica</b> | <b>&gt;1000<br/><math>\mu\text{m}</math><br/>(1 mm)</b> | <b>&gt;1 mm<br/>(ex: 3 a<br/>5 mm)</b> | Sim | Monolítica<br>ou<br>reservatório | Disperso na<br>matriz ou<br>em núcleo | Fármacos<br>orais,<br>veterinários,<br>cosméticos<br>manipuláveis |

**Fonte:** Adaptado de GHOSH *et al.* (2006); MORAIS *et al.* (2016); JAIN *et al.* (2000).

Embora a nanoencapsulação apresente vantagens em termos de estabilidade e controle de liberação, sua aplicação prática na rotina clínica veterinária ainda enfrenta limitações. O custo elevado, a necessidade de tecnologias sofisticadas para produção e a ausência de formulações comerciais adaptadas à espécie felina dificultam a adoção dessa abordagem em larga escala (MORAIS *et al.*, 2016; JAIN *et al.*, 2000). Diante dessa realidade, o desenvolvimento de sistemas encapsulantes mais simples, eficazes e economicamente viáveis torna-se essencial. Nesse contexto, as esferas macroscópicas surgem como uma alternativa promissora para a administração de itraconazol em felinos.

Produzidas por meio de técnicas acessíveis, como a extrusão em solução de alginato de sódio reticulado com cloreto de cálcio, essas estruturas oferecem vantagens importantes: são visíveis e manipuláveis, facilitando o fracionamento, a individualização da dose e a administração direta ao animal. Além disso, por serem monolíticas, permitem a incorporação homogênea do fármaco em sua matriz, favorecendo uma liberação progressiva no trato gastrointestinal, mesmo diante das particularidades fisiológicas dos felinos. A simplicidade do processo de fabricação, a possibilidade de saborização da matriz e a estabilidade das esferas em condições fisiológicas reforçam o potencial dessa abordagem no tratamento da esporotricose. Trata-se, portanto, de uma proposta alinhada às necessidades da clínica veterinária, que visa contornar os entraves impostos pelas formas farmacêuticas convencionais e ampliar o acesso ao tratamento com itraconazol de forma segura, eficaz e adaptada à realidade dos gatos domésticos (GHOSH *et al.*, 2006).

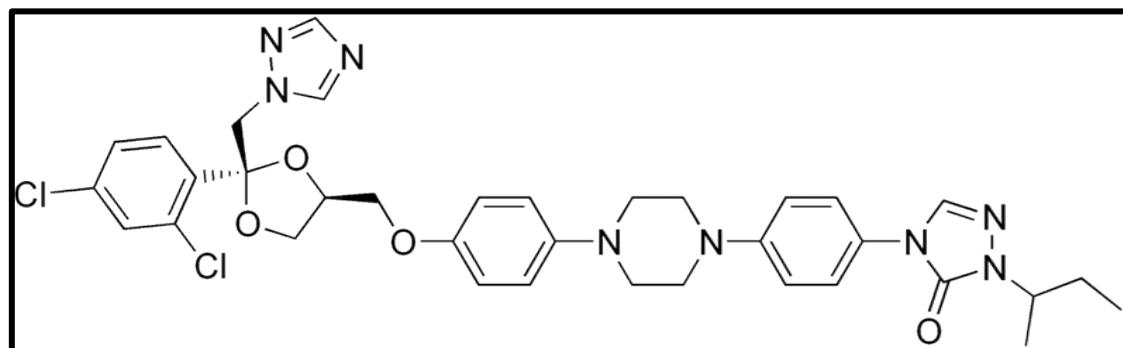
### 2.3 Itraconazol

O itraconazol é um antifúngico pertencente à classe dos triazóis, amplamente utilizado no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas, incluindo a esporotricose. Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da enzima 14- $\alpha$ -desmetilase, responsável pela conversão do lanosterol em ergosterol, um componente essencial da membrana celular dos fungos. Essa

interferência compromete a integridade da membrana fúngica, levando à morte celular (PEREIRA *et al.*, 2020).

Segundo a Classificação Biofarmacêutica (Biopharmaceutics Classification System – BCS), o itraconazol é um fármaco pertencente à Classe II, caracterizando-se por baixa solubilidade em água e alta permeabilidade intestinal, o que representa um desafio para a formulação de medicamentos orais eficazes (BENET *et al.*, 2008). Essa limitação justifica a adoção de tecnologias que favoreçam a solubilização do fármaco, como a encapsulação em matrizes poliméricas. Do ponto de vista químico, o itraconazol possui uma estrutura composta por um anel triazólico e cadeias laterais lipofílicas e aromáticas, conferindo-lhe caráter altamente hidrofóbico e interferindo diretamente em sua biodisponibilidade (PEREIRA *et al.*, 2020). Veja a figura 1, a seguir:

**Figura 1 – Estrutura química do Itraconazol.**



**Fonte:** Adaptado de PUBCHEM (2024).

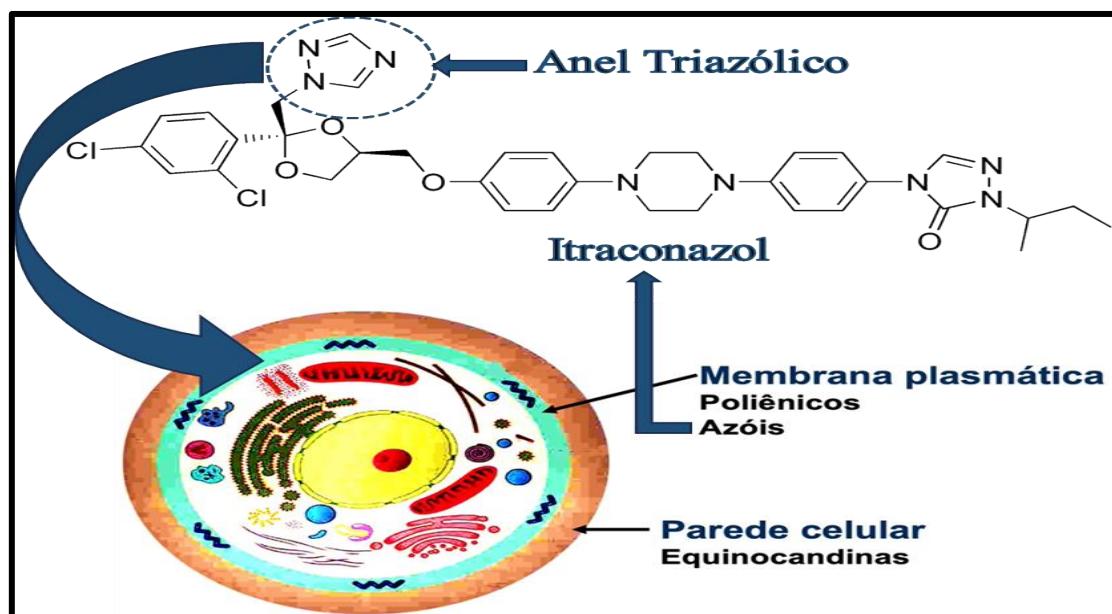
Apesar de sua eficácia comprovada, no tratamento de infecções fúngicas, a utilização do itraconazol em felinos apresenta limitações importantes. Sua baixa solubilidade em água afeta diretamente a biodisponibilidade após a administração oral, exigindo formulações que favoreçam a absorção gastrointestinal. Além disso, a forma comercial do fármaco, geralmente disponibilizada em cápsulas desenvolvidas para humanos, não é adequada ao paladar e às características fisiológicas dos gatos, dificultando a adesão ao tratamento (GREMIÃO *et al.*, 2017).

A aceitação oral do itraconazol por parte dos felinos é frequentemente baixa, devido ao seu sabor amargo e à apresentação farmacêutica pouco atrativa. Como resultado, os tutores enfrentam dificuldades na administração regular do medicamento, o que compromete a eficácia terapêutica e pode levar ao abandono do tratamento. Para contornar esses entraves, alternativas tecnológicas vêm sendo exploradas com o objetivo de melhorar a palatabilidade, a liberação controlada e a absorção do fármaco (BARROS *et al.*, 2022; SCHUBACH *et al.*, 2006).

Nesse contexto, a presente pesquisa direciona-se à formulação de esferas macroscópicas encapsulantes, desenvolvidas com alginato de sódio e reticuladas com cloreto de cálcio, como estratégia para promover a liberação controlada do itraconazol. Ao contrário da abordagem por nanoencapsulação, esta proposta visa facilitar a administração em felinos por meio de unidades visíveis, manipuláveis e potencialmente mais palatáveis. No decorrer deste texto, será apresentada mais fundamentações técnico-científica sobre as possibilidades e características da encapsulação do itraconazol, com foco nas esferas macroscópicas como alternativa promissora ao modelo convencional.

Para entender como o ITZ atua na célula fúngica, analisemos a figura 2 a seguir, da qual ilustra o mecanismo de ação do itraconazol, evidenciando sua atuação sobre a enzima C14- $\alpha$  desmetilase, essencial na biossíntese do ergosterol — um componente estrutural da membrana fúngica. A inibição dessa via compromete a integridade celular dos fungos, levando à sua eliminação. Além de apresentar ampla eficácia terapêutica e perfil de segurança favorável, o itraconazol destaca-se como uma das principais opções no tratamento de infecções fúngicas em felinos. Contudo, sua administração enfrenta entraves significativos, como o sabor amargo e a dificuldade de fracionamento das doses, o que compromete a adesão dos gatos ao tratamento. Nesse cenário, estratégias como a encapsulação macroscópica tornam-se alternativas viáveis para otimizar a palatabilidade e a eficácia do fármaco.

**Figura 2 – Representação esquemática do mecanismo de ação do itraconazol sobre a célula fúngica.**



**Fonte:** Adaptado de e-aulas.usp.br/ Infectologista Drª Kelly Freitas, com base em SCHELOTTO *et al.* (2015); MARTINS *et al.* (2007); PERLIN *et al.* (2017).

### 2.3.1 Uso do Itraconazol Comercial

A escolha pelo uso do itraconazol (ITZ) comercial na forma de *pellets*, especificamente o produto do laboratório Geolab (100 mg por cápsula), fundamenta-se na necessidade de contornar a baixa solubilidade do fármaco em água e na viabilidade do processo de encapsulação. A formulação em *pellets* confere ao fármaco uma dissolução retardada, favorecendo a liberação controlada do ITZ e aumentando sua biodisponibilidade, o que é essencial para a eficácia terapêutica (GEOLAB, 2024).

Os *pellets* foram macerados antes do processo de encapsulação para facilitar sua incorporação à solução de alginato e garantir uma distribuição mais homogênea do ITZ na matriz polimérica. Esse procedimento também favorece a dissolução do fármaco no meio ácido do estômago, garantindo que o ITZ esteja adequadamente disponível para absorção no intestino. A formulação comercial do ITZ contém excipientes específicos, como sacarose, hipromelose e copolímero de metacrílico e metacrilato básico butilado, que auxiliam na dispersão do fármaco e melhoram sua solubilidade no sistema digestório, permitindo sua eficiente incorporação ao alginato (GEOLAB, 2024).

Na prática clínica veterinária, é comum a utilização do itraconazol de uso humano (forma comercial) em substituição às formulações específicas para uso veterinário. Essa escolha decorre, sobretudo, de fatores econômicos e de acessibilidade. O itraconazol veterinário, embora formulado com concentrações e veículos mais adequados à espécie felina, possui custo elevado e distribuição limitada no comércio, o que restringe seu acesso por parte dos tutores e clínicas de pequeno porte (BARROS *et al.*, 2022). Além da questão financeira, a indisponibilidade do produto em determinadas regiões do país contribui para que os médicos-veterinários prescrevam o itraconazol de uso humano como alternativa viável. Essa conduta, embora não ideal do ponto de vista farmacotécnico, é amplamente aceita e, na maioria dos casos, adaptada à rotina clínica com ajustes posológicos e estratégias para melhorar a adesão do animal ao tratamento (SCHUBACH *et al.*, 2006).

No entanto, o uso do itraconazol comercial implica desafios adicionais, como a necessidade de fracionamento das cápsulas, a manipulação do conteúdo para diluição em veículos líquidos e a dificuldade de mascarar o sabor amargo do fármaco, aspectos que comprometem a adesão dos felinos ao tratamento (GREMIÃO *et al.*, 2017). Embora muitas vezes a melhoria da biodisponibilidade do ITZ por meio de sistemas nanoestruturados seja o mais viável, este trabalho visa solucionar um problema prático: a baixa aceitabilidade do itraconazol pelos felinos devido ao seu sabor amargo.

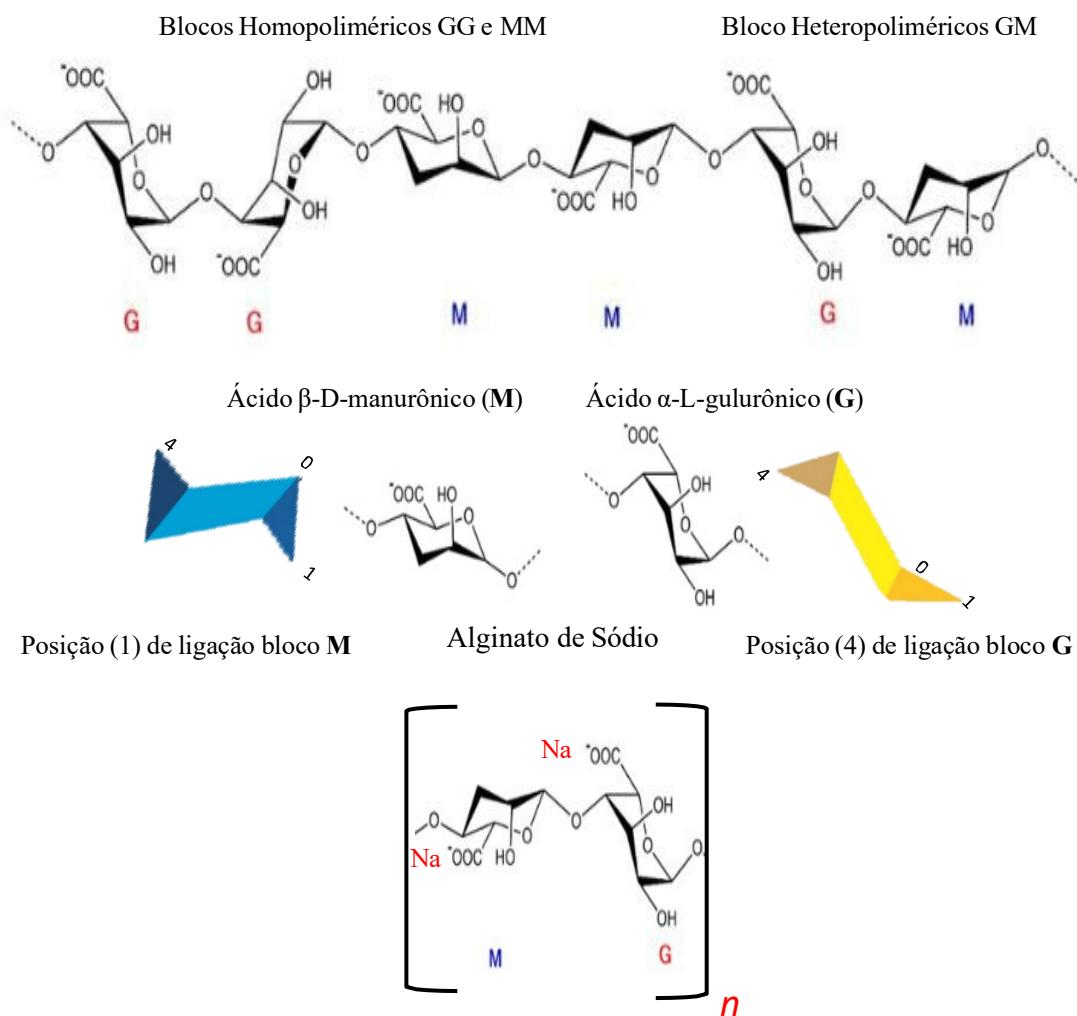
Dessa forma, a proposta da encapsulação em esferas de alginato representa uma inovação para a administração do antifúngico em gatos, potencialmente melhorando a adesão ao tratamento e reduzindo a rejeição do medicamento.

## 2.4 Alginato de sódio

O alginato de sódio é um biopolímero natural amplamente empregado em diversas indústrias devido às suas propriedades únicas. Esse polissacarídeo é extraído principalmente de algas marinhas marrons, como *Laminaria digitata*, *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum*, que crescem em regiões costeiras de clima temperado e frio, abrangendo as costas do Atlântico Norte e do Pacífico. Seu processo de obtenção envolve colheita e maceração das algas, seguida da conversão do alginato em ácido algínico insolúvel por meio de acidificação. Posteriormente, a neutralização com hidróxido de sódio (NaOH) converte o ácido algínico em alginato de sódio solúvel (DRAGET *et al.*, 2005).

Quimicamente, trata-se de um copolímero linear composto por unidades monoméricas de ácidos urônicos, especificamente ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G). Esses monômeros organizam-se em blocos homopoliméricos (MM e GG) e heteropoliméricos (MG), cuja proporção influencia diretamente as propriedades físicas e químicas do alginato, figura 3. Enquanto uma maior concentração de blocos G resulta em géis mais rígidos e resistentes na presença de íons divalentes, como o cálcio ( $Ca^{2+}$ ), os blocos M conferem maior flexibilidade e elasticidade ao gel (SMIDSROD & SKJAK-BRAEK, 1990). Dois diferentes tipos de gel de alginato podem ser formados a partir do alginato, o gel iônico e o gel ácido. Cada um destes géis tem diferentes características e especificidades (DE CELIS ALONSO *et al.*, 2010).

**Figura 3** – Organização dos monômeros ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G) em blocos heteropoliméricos (MG), formando o alginato de sódio.



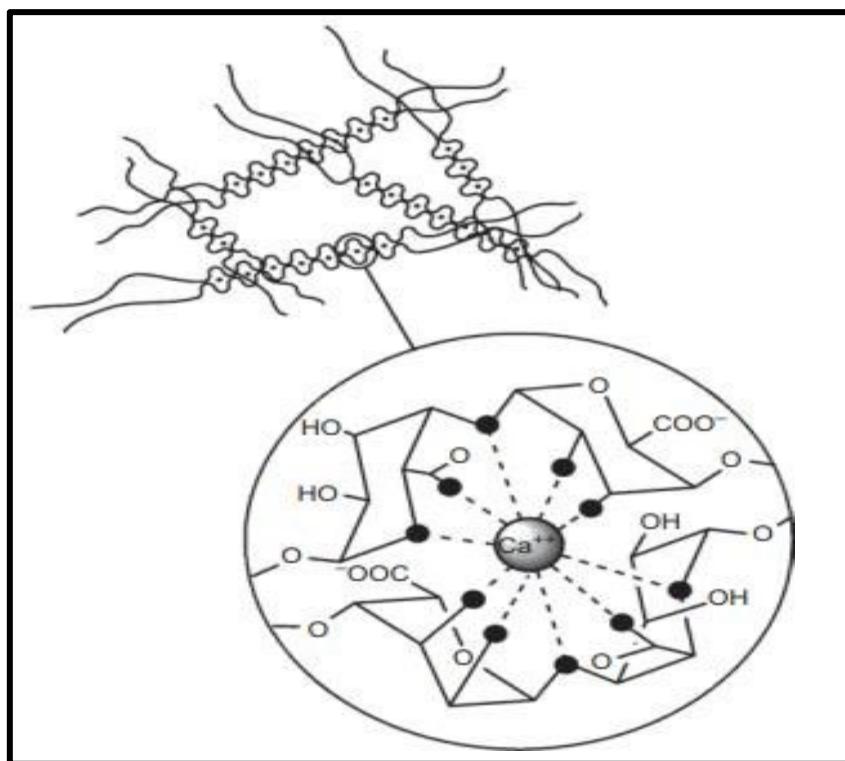
**Fonte:** Adaptado de SARMIENTO HUERTAS; SUAREZ ARNEDO (2021).

#### 2.4.1 Gelificação Iônica do Alginato

Uma das propriedades mais notáveis do alginato de sódio é sua capacidade de formar géis termo-irreversíveis por meio da interação com íons divalentes, como Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> e Cu<sup>2+</sup>, em um processo denominado gelificação iônica. Nesse mecanismo, os íons metálicos ligam-se aos grupos carboxilato dos monômeros do alginato, promovendo ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas. O ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G) desempenha um papel essencial nesse processo devido à sua estrutura rígida e ordenada, permitindo um empacotamento eficiente das cadeias poliméricas. Como resultado, forma-se a estrutura tridimensional "egg-box", figura 4, na qual os íons metálicos atuam como pontes entre as cadeias, conferindo estabilidade ao gel (DRAGET; SKJÅK-BRÆK; STOKKE, 2006).

A eficiência desse processo depende de fatores como: concentração do alginato; tipo e quantidade de íons metálicos; proporção entre os monômeros G e M; tempo de contato entre o alginato e os íons metálicos. Alginatos com maior proporção de blocos G formam géis mais rígidos e resistentes, enquanto os com predomínio de blocos M tendem a ser mais flexíveis e menos estruturados (DRAGET *et al.*, 1996; ATKINS *et al.*, 1971).

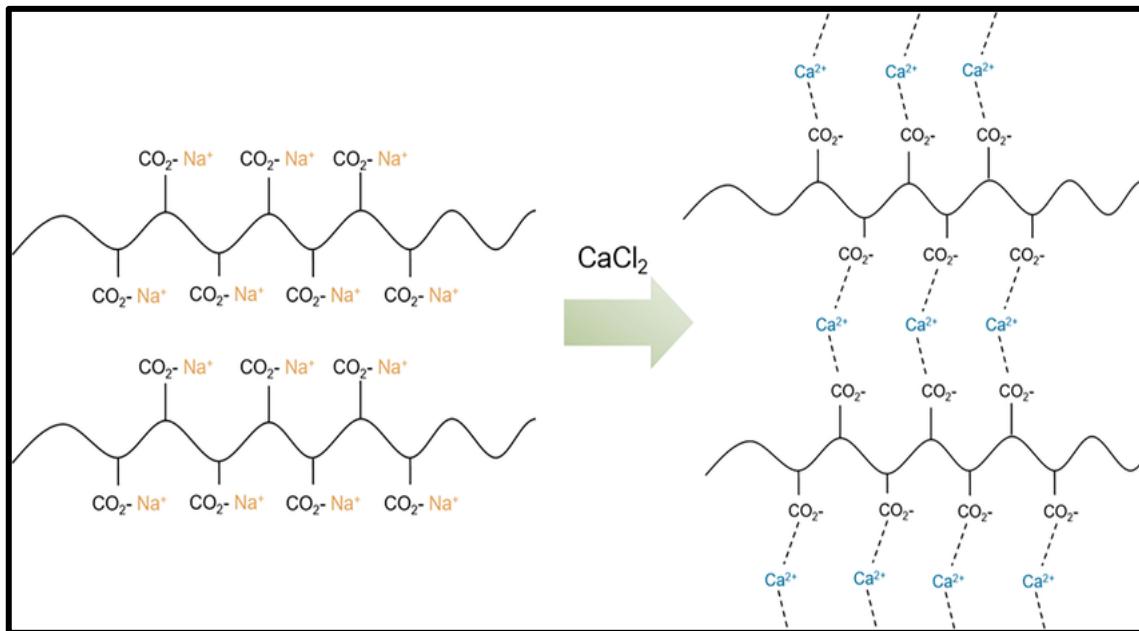
**Figura 4 – Estrutura tridimensional “egg-box” do alginato de sódio na presença do íon divalente cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ).**



**Fonte:** Adaptado de (SELIMOGLU; ELIBOL, 2009).

Outro fator crítico para a formação do gel iônico é o estado de ionização dos grupos carboxilato do alginato. Para que ocorra a reticulação iônica, esses grupos devem estar desprotonados, o que acontece em pH acima de 3,5, figura 5. Em pH mais baixo, os grupos carboxilato tornam-se protonados, formando ácido algínico, o que impede a formação do gel iônico. Dessa forma, o controle do pH da solução é essencial para garantir a eficiência do processo (DRAGET *et al.*, 1996; ATKINS *et al.*, 1973).

**Figura 5 – Representação da formação de gel de alginato com íons  $\text{Ca}^{2+}$ .**



**Fonte:** Adaptada de (Erdal *et al.*, 2019).

#### 2.4.2 Gel Ácido de Alginato

Diferentemente da gelificação iônica, que depende da presença de íons divalentes, o gel ácido de alginato se forma pela redução do pH da solução. Em meio ácido ( $\text{pH} < 3,5$ ), os grupos carboxilato tornam-se protonados, reduzindo a repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas e favorecendo a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares (ATKINS *et al.*, 1971; ATKINS *et al.*, 1973).

Essa organização molecular ocorre por meio de arranjos antiparalelos das cadeias poliméricas, estabilizados pelas ligações de hidrogênio. Diferente da estrutura "egg-box" do gel iônico, o gel ácido não possui pontes iônicas entre os polímeros, apenas interações intermoleculares (ATKINS *et al.*, 1973).

A predominância dos blocos M confere maior flexibilidade e deformabilidade, tornando esse tipo de gel adequado para aplicações biomédicas, como engenharia de tecidos e liberação controlada de fármacos (DRAGET *et al.*, 1996). Entretanto, devido à ausência de reticulação iônica, o gel ácido é menos resistente mecanicamente e mais suscetível à degradação (ATKINS *et al.*, 1973; DRAGET *et al.*, 1996).

#### 2.4.3 Reticulação e Formação de Esferas de Alginato

A reticulação do alginato de sódio é essencial para a formação de esferas, pois garante estabilidade estrutural durante a encapsulação. Quando dissolvido em meio básico, seus grupos

carboxilato ionizam-se, tornando-o homogêneo. A introdução de íons divalentes, como  $\text{Ca}^{2+}$ , promove a reticulação, resultando na formação de esferas rígidas e bem estruturadas (ATKINS *et al.*, 1973).

Esse método permite que as esferas de alginato encapsulem fármacos, células ou bioativos, protegendo-os de condições adversas e promovendo uma liberação controlada (SMIDSROD & SKJAK-BRAEK, 1990). O uso de meio básico na dissolução do alginato é crucial para manter a ionização dos grupos carboxilato, garantindo uma reticulação eficiente e a formação de géis estáveis, o que justifica a preferência desse método em aplicações biomédicas e farmacêuticas.

A encapsulação de itraconazol em esferas de alginato aparenta ser uma estratégia promissora a ser investigada para melhorar sua solubilidade e proporcionar liberação controlada, visto que esse antifúngico apresenta baixa solubilidade em água. As esferas de alginato são amplamente utilizadas para liberação prolongada de fármacos, o que pode ser vantajoso para o tratamento de infecções fúngicas crônicas. No entanto, não foram encontrados estudos específicos que comprovem a aplicação dessa técnica para o itraconazol.

A técnica de encapsulação utilizando alginato de sódio tem sido aplicada com sucesso na liberação controlada de outros fármacos hidrofóbicos. Paula *et al.* (2010) investigaram a encapsulação de óleo essencial de *Croton zehntneri* em esferas de alginato reticuladas com cálcio e revestidas com goma do cajueiro, observando uma liberação prolongada do composto encapsulado, o que sugere que essa abordagem pode ser viável para outras substâncias com características semelhantes, incluindo o itraconazol. Li *et al.* (2022) analisaram a liberação controlada de agentes bioativos em matrizes poliméricas baseadas em alginato.

O estudo realizado por Couto *et al.* (2020) avaliou a encapsulação do fármaco coagulante ácido 1,4 trans-aminoexâmico em alginato de sódio e ágar-ágar, demonstrando que a liberação do fármaco encapsulado seguiu um modelo de primeira ordem, no qual a taxa de liberação é proporcional à quantidade remanescente na matriz polimérica. No entanto, esse estudo não se aplica ao itraconazol, e não há evidências diretas que comprovem que a liberação desse antifúngico seguiria o mesmo comportamento quando encapsulado em esferas de alginato.

Portanto, apesar da ausência de estudos específicos sobre a encapsulação do itraconazol em esferas de alginato, a encapsulação de compostos hidrofóbicos sugere que essa tecnologia é eficaz e pode ser uma estratégia promissora para esse antifúngico. No entanto, são necessários mais estudos para validar essa aplicação específica e compreender melhor o perfil de liberação do itraconazol encapsulado.

#### **2.4.4 Encapsulação de fármacos com alginato**

Os sistemas de liberação controlada baseados em alginato frequentemente apresentam porosidade interconectada, que desempenha um papel crucial na difusão do fármaco através da matriz polimérica. Essa porosidade pode ser modulada por fatores como método de secagem, grau de reticulação e interações entre o polímero e o fármaco encapsulado (LEE; MOONEY, 2012). Estudos demonstram que fármacos hidrofóbicos, como o itraconazol, podem influenciar a formação de porosidade devido à separação de fases durante o processo de secagem, criando canais internos que favorecem a liberação controlada do fármaco (MAKKAR *et al.*, 2021).

A utilização de sistemas poliméricos à base de alginato para a administração de antifúngicos tem sido explorada como uma alternativa promissora para aumentar a eficácia terapêutica e reduzir efeitos adversos. Spadari, Lopes e Ishida (2017) destacam que a aplicação de alginato como veículo de liberação controlada pode melhorar a biodisponibilidade de antifúngicos, reduzir a toxicidade e modular a cinética de liberação dos fármacos. Além disso, esses sistemas demonstram sucesso na proteção do fármaco contra degradação e no direcionamento seletivo ao local da infecção (SPADARI; LOPES; ISHIDA, 2017).

O processo de secagem das esferas de alginato pode levar ao colapso da porosidade em escalas micrométricas, dificultando sua observação em ampliações convencionais. No entanto, sistemas poliméricos frequentemente apresentam porosidade nanométrica, a qual pode ser identificada por técnicas complementares, como microscopia eletrônica de transmissão (TEM) ou adsorção de nitrogênio (BET) (ALONSO-SANZ *et al.*, 2024).

A encapsulação do itraconazol pode afetar significativamente a morfologia do alginato, promovendo alterações na porosidade e estrutura superficial. Como o itraconazol é hidrofóbico, sua interação com a matriz polimérica pode resultar na formação de domínios ricos em fármaco, que atuam como regiões de separação de fases, gerando porosidade interconectada e potencializando a difusão do fármaco no meio de dissolução (SANTOS *et al.*, 2012).

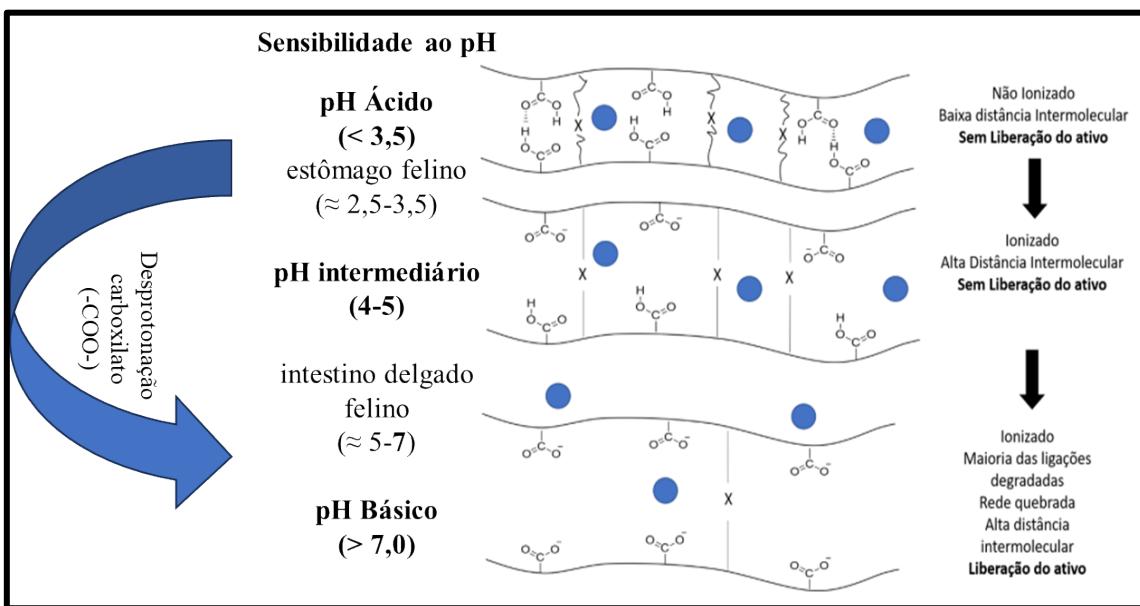
#### **2.4.5 Digestão e Liberação Controlada do Alginato no Trato Gastrointestinal**

A digestão de esferas de alginato reticuladas com cálcio no trato gastrointestinal de felinos envolve processos interligados, como intumescimento, troca iônica, erosão e difusão controlada do conteúdo encapsulado. A formulação dessas esferas tem como objetivo modular a liberação do itraconazol (ITZ), garantindo que o composto seja liberado de forma controlada ao longo do trato digestivo, melhorando sua biodisponibilidade e facilitando sua administração oral. O comportamento dessas esferas no trato digestivo é influenciado pela composição da

matriz polimérica, pH do meio e interações iônicas, fatores que afetam diretamente a taxa de degradação do gel e a cinética de liberação do fármaco (AGÜERO *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2022).

O alginato é um polímero sensível ao pH, ou seja, sua estrutura sofre modificações conformacionais em resposta às variações do meio digestivo, figura 6. Esse comportamento ocorre devido à presença de grupos carboxilato ( $-COO^-$ ) em sua cadeia polimérica, que podem ser protonados ou desprotonados dependendo do pH, alterando suas propriedades físico-químicas. Em pH ácido ( $< 3,5$ ), como o do estômago felino ( $\approx 2,5-3,5$ ), os grupos carboxilato permanecem protonados ( $-COOH$ ), o que mantém a estrutura da esfera de alginato mais compacta e insolúvel. Isso reduz a difusão do fármaco, prevenindo sua liberação prematura e favorecendo sua proteção contra a degradação gástrica. Já no intestino delgado felino, onde o pH é mais elevado ( $\approx 5-7$ ), ocorre a desprotonação dos grupos carboxilato ( $-COO^-$ ), aumentando a solubilidade do gel e tornando a matriz mais porosa, permitindo a liberação gradual do ITZ (AGÜERO *et al.*, 2017).

**Figura 6 - Representação esquemática da influência do pH na estrutura do alginato e na liberação do fármaco encapsulado.**



**Fonte:** Adaptado de CACURO; WALDMAN (2018).

Outro fator determinante para a digestão das esferas de alginato no intestino é a troca iônica entre os íons cálcio ( $Ca^{2+}$ ) e os íons sódio ( $Na^+$ ). No meio intestinal, há uma alta concentração de  $Na^+$ , devido à absorção ativa de sódio pelo epitélio intestinal e à secreção de fluidos digestivos. Esse gradiente de íons promove a substituição dos íons cálcio na matriz do alginato por íons monovalentes, resultando em redução da reticulação e maior fragilidade

estrutural do gel. Como consequência, ocorre um aumento na permeabilidade da matriz e na erosão progressiva da rede polimérica, acelerando a liberação do ITZ (LI *et al.*, 2022).

A estrutura inicial da matriz de alginato também afeta diretamente o perfil de liberação do fármaco. Esferas mais densamente reticuladas, com maior teor de  $\text{Ca}^{2+}$ , apresentam maior resistência mecânica e menor taxa de difusão, o que pode ser vantajoso para formulações que visam uma liberação prolongada. Em contrapartida, esferas menos reticuladas degradam-se mais rapidamente, favorecendo a liberação precoce do fármaco no trato digestivo. Além disso, a bioadesividade do alginato pode favorecer interações com a mucosa intestinal, especialmente no íleo e no cólon, prolongando a retenção da esfera no trato gastrointestinal e influenciando na absorção do ITZ (LI *et al.*, 2022).

A liberação do Itraconazol encapsulado em esferas de alginato ocorre predominantemente por difusão controlada e erosão da matriz polimérica, processos descritos pelo modelo Fickiano. Esse modelo prevê que a taxa de difusão do fármaco é influenciada pela estrutura da matriz polimérica, pelo gradiente de concentração entre o interior da esfera e o meio externo e pela densidade da reticulação da rede de alginato. Durante a digestão, a penetração de fluidos intestinais e a troca iônica entre  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Na}^+$  aumentam a permeabilidade do gel, favorecendo sua degradação e acelerando a liberação do fármaco. O aumento do pH intestinal também contribui para a desestabilização da matriz, pois a solubilidade do alginato se eleva em pH mais alto, tornando a estrutura mais porosa e facilitando a difusão do Itraconazol. Estratégias tecnológicas, como a modulação da reticulação da matriz, o uso de aerogéis e revestimentos poliméricos, podem ser aplicadas para otimizar a estabilidade estrutural do alginato e controlar a taxa de liberação do fármaco, garantindo uma administração eficaz para felinos com esporotricose (LI *et al.*, 2022).

## 2.5 Óleos essenciais com ação antifúngica

Os óleos essenciais são reconhecidos por suas propriedades antifúngicas, atribuídas a uma complexa mistura de compostos voláteis, como terpenos, álcoois, cetonas e ácidos fenólicos. Esses compostos bioativos podem interferir na estrutura e função da membrana celular dos fungos, resultando na inibição do crescimento e na morte dos microrganismos. Por exemplo, o óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) destaca-se devido à presença de terpinen-4-ol, um monoterpeno com forte ação antifúngica que desestabiliza a membrana fúngica e interfere na síntese de ergosterol, um componente essencial para a integridade celular dos fungos (HAMMER *et al.*, 2003).

Além do óleo de melaleuca, outros óleos essenciais, como o de cravo (*Syzygium aromaticum*) e orégano (*Origanum vulgare*), também apresentam potente atividade antifúngica. O óleo de cravo é rico em eugenol, que inibe a síntese de ergosterol, enquanto o carvacrol, presente no óleo de orégano, promove a desestabilização da membrana celular fúngica (PAVIA *et al.*, 2014). Esses compostos têm demonstrado eficácia contra diferentes patógenos fúngicos, incluindo *Candida* spp., *Aspergillus* spp. e *Sporothrix schenckii* (BASSOLÉ & JULIANI, 2012).

A sinergia entre óleos essenciais e antifúngicos convencionais tem sido investigada como uma estratégia promissora para o tratamento de infecções fúngicas. Estudos demonstram que a combinação de óleo essencial de melaleuca com itraconazol pode potencializar a ação antifúngica, reduzindo a concentração inibitória mínima (CIM) do fármaco e, consequentemente, permitindo o uso de doses menores, minimizando efeitos colaterais (PAVELA & BENELLI, 2017). Efeitos sinérgicos semelhantes foram observados com óleos essenciais de cravo e orégano, que aumentam a permeabilidade da membrana celular dos fungos e facilitam a penetração do antifúngico (SOUZA *et al.*, 2021).

Outro óleo essencial com atividade antifúngica relevante é o de tomilho (*Thymus vulgaris*), que contém timol e carvacrol, compostos fenólicos que promovem a destruição da membrana celular fúngica e a inibição de enzimas essenciais para a sobrevivência do microrganismo. Estudos indicam que o óleo de tomilho apresenta atividade significativa contra *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* e dermatófitos, com CIMs variando de 0,03% a 0,5% (PINA-VÁZQUEZ *et al.*, 2012).

### **2.5.1 Hidrolatos de óleos essenciais com ação antifúngica**

Os hidrolatos, ou hidrosóis, são subprodutos da destilação a vapor utilizada para a extração de óleos essenciais. Esses líquidos contêm compostos bioativos solúveis em água, como terpenos e ácidos fenólicos, que conferem propriedades antimicrobianas (CARSON *et al.*, 2006). O hidrolato de melaleuca, por exemplo, apresenta terpinen-4-ol em concentrações reduzidas, mas ainda assim demonstra eficácia contra fungos como *Candida* spp. e dermatófitos, sendo uma alternativa menos irritante para aplicações tópicas.

A combinação de hidrolatos com antifúngicos convencionais tem sido estudada como uma forma de potencializar o efeito dos fármacos, aumentando a permeabilidade da membrana fúngica e facilitando a entrada do itraconazol. Essa abordagem pode ser útil no tratamento de infecções resistentes, uma vez que a ação combinada reduz a dose necessária do antifúngico (AHMAD *et al.*, 2021).

## 2.6 Hidrolato de melaleuca

Dentre os hidrolatos com atividade antifúngica, o de melaleuca tem se destacado por sua segurança e eficácia. Embora o óleo essencial de melaleuca apresente forte atividade antifúngica, sua aplicação tópica pode ser irritante para algumas pessoas e animais. O hidrolato, por conter uma menor concentração de compostos ativos, mantém as propriedades antimicrobianas, mas com menor potencial irritante (CARVALHO *et al.*, 2022).

A combinação do hidrolato de melaleuca com itraconazol pode ser uma estratégia eficaz para o tratamento de infecções fúngicas, incluindo a esporotricose. Essa sinergia pode reduzir a dose do antifúngico necessária para um tratamento eficaz, minimizando efeitos adversos e melhorando a adesão ao tratamento (KHAN *et al.*, 2014). Além do hidrolato de melaleuca, outros hidrolatos de óleos essenciais, como os de lavanda e tomilho, também demonstram atividade antifúngica e podem ser explorados como adjuvantes em formulações terapêuticas para o tratamento de infecções fúngicas (AHMAD *et al.*, 2021).

A pesquisa sobre óleos essenciais e hidrolatos como alternativas ou adjuvantes aos antifúngicos convencionais continua em expansão, e a combinação desses compostos com medicamentos como o itraconazol pode representar um avanço importante no tratamento de infecções fúngicas, especialmente em casos de resistência fúngica.

A fim de embasar a relevância científica do presente estudo, foi realizada revisão bibliográfica em cinco das principais bases de dados acadêmicas: Scopus, ScienceDirect, Web of Science, Periódicos CAPES e Google Scholar. Essas plataformas foram selecionadas por abrangerem periódicos de alto impacto e pesquisas interdisciplinares nas áreas de ciência de materiais, nanotecnologia, biomateriais farmacologia e medicina veterinária.

A estratégia de busca incluiu palavras-chave e combinações de termos em inglês e português, tais como "*itraconazole encapsulation*", "*itraconazole controlled release*", "*alginate drug delivery*", "*itraconazole alginate nanoparticles*", "*itraconazol encapsulado em alginato*" e variações correlatas. O levantamento revelou diversas publicações sobre estratégias de liberação controlada do itraconazol, incluindo encapsulação em nanopartículas poliméricas, nanocápsulas lipídicas e sistemas micelares.

Contudo, não foram identificados estudos que abordem especificamente a encapsulação do itraconazol utilizando alginato de sódio. A maior parte das pesquisas encontradas trata exclusivamente da nanoencapsulação do itraconazol, focando na melhoria de sua biodisponibilidade e solubilidade. No entanto, não há registros de estudos que explorem a encapsulação macroscópica do fármaco, como na forma de esferas de alginato, para suprimir seu sabor amargo e facilitar a administração em felinos.

## CAPÍTULO 3

**Resumo:** Este capítulo apresenta a justificativa para o desenvolvimento de esferas de alginato contendo itraconazol destinadas ao tratamento da esporotricose em felinos. Destaca-se a relevância da proposta frente às limitações das formulações convencionais, como a baixa palatabilidade e a dificuldade de administração do fármaco, além da importância de alternativas acessíveis, eficazes e adaptadas à rotina clínica veterinária. A formulação proposta busca melhorar a adesão ao tratamento, ampliar a eficácia terapêutica e contribuir para o controle da transmissão zoonótica da doença.

### 3 JUSTIFICATIVA

A esporotricose felina é uma doença fúngica zoonótica, de caráter endêmico e crescente impacto em saúde pública, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Causada por fungos do gênero *Sporothrix*, a infecção em felinos domésticos (*Felis catus*) apresenta alta taxa de transmissão e dificuldade terapêutica, principalmente devido à rejeição do tratamento oral pelo sabor amargo do itraconazol, principal fármaco de tratamento (GREMIÃO *et al.*, 2017).

A falta de adesão ao tratamento representa um problema significativo, resultando em falha terapêutica e disseminação da infecção, comprometendo a eficácia das estratégias de controle da esporotricose (SCHUBACH *et al.*, 2014). A resistência dos gatos à administração do itraconazol gera consequências que ampliam a relevância da busca por soluções viáveis, entre as quais destacam-se:

- Espalhamento da doença e impacto em saúde pública: A falha no tratamento leva à persistência do fungo nos tecidos do animal e à eliminação de grandes quantidades de leveduras infecciosas pelas lesões e secreções, aumentando a transmissão entre felinos, outros animais e humanos (RODRIGUES *et al.*, 2016). A alta carga fúngica nos gatos infectados reforça seu papel como vetores epidemiológicos, tornando a esporotricose um grave problema de saúde pública (SILVA *et al.*, 2021).
- Sofrimento animal e necessidade de eutanásia: Muitos gatos não conseguem concluir o tratamento devido à recusa do medicamento, levando à progressão da doença, sofrimento e risco de disseminação sistêmica, que pode resultar em óbito (BARROS *et al.*, 2022). Em abrigos e campanhas de controle populacional, a falta de adesão terapêutica frequentemente culmina na eutanásia de gatos infectados, especialmente em regiões com surtos epidêmicos (SCHUBACH *et al.*, 2020).
- Risco para tutores e profissionais veterinários: A administração forçada do itraconazol gera estresse intenso nos animais, aumentando o risco de ferimentos, arranhaduras e mordidas em tutores e veterinários. Além disso, os felinos podem apresentar

comportamentos agressivos e resistência ao manejo, tornando o processo desgastante e potencialmente perigoso para ambas as partes (GUTIERREZ-GALHARDO *et al.*, 2008).

- Altos custos e impacto ambiental: Tratamentos prolongados e pouco eficazes resultam em custos elevados para tutores e instituições de saúde veterinária, uma vez que a doença exige terapias de longa duração, muitas vezes por meses consecutivos (SCHUBACH *et al.*, 2014). Além disso, o descarte inadequado de medicamentos antifúngicos pode gerar impacto ambiental, contaminando corpos d'água e interferindo na microbiota do solo (SILVA *et al.*, 2018).

Diante do exposto, a encapsulação do itraconazol em esferas de alginato de sódio surge como uma possível alternativa para melhorar a aceitação do fármaco pelos felinos, minimizando a recusa ao tratamento e garantindo maior eficácia terapêutica. A formulação proposta tem potencial para reduzir o abandono terapêutico, limitar a disseminação da doença e promover melhores condições de saúde animal e pública. Assim, o presente estudo busca contribuir para o avanço no manejo da esporotricose, proporcionando uma solução acessível, eficiente e de fácil administração para o controle da infecção em gatos.

## CAPÍTULO 4

**Resumo:** Este capítulo apresenta os objetivos que nortearam a realização desta pesquisa. O objetivo geral consiste no desenvolvimento de esferas de alginato de sódio contendo itraconazol, visando à aplicação no tratamento da esporotricose em felinos. Os objetivos específicos incluem a preparação das formulações, caracterização físico-química, avaliação da morfologia e da eficiência de encapsulamento, além da análise da atividade antifúngica in vitro frente a cepas de *Sporothrix*.

### 4 OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é a produção de esferas de alginato contendo ITZ para liberação controlada desse fármaco como potencial agente antifúngico no tratamento da esporotricose em gatos.

#### 4.2 Objetivos Específicos

Producir esferas de alginato de sódio contendo itraconazol (ITZ) por meio da técnica de extrusão seguida de reticulação com cloreto de cálcio.

Caracterizar fisicamente as esferas obtidas quanto ao formato, consistência e estabilidade visual, visando sua viabilidade para administração oral em felinos.

Avaliar as interações entre o alginato, o itraconazol e os demais componentes por meio de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia RAMAN.

Investigar a capacidade das esferas contendo itraconazol em inibir o crescimento de *Sporothrix spp.* ao longo de sete dias, por meio de ensaio microbiológico in vitro.

## CAPÍTULO 5

**Resumo:** Este capítulo descreve os materiais utilizados e os procedimentos adotados para o desenvolvimento das esferas de alginato contendo itraconazol. Apresenta-se a preparação das formulações por meio da técnica de extrusão com reticulação iônica em cloreto de cálcio, seguida das etapas de caracterização físico-química por espectroscopias FTIR e RAMAN, análise morfológica por MEV e testes de atividade antifúngica *in vitro* (ICF) frente a cepas de *Sporothrix*. Também são descritos os métodos de avaliação dimensional, eficiência de encapsulamento e estabilidade das esferas.

### 5 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 5.1 Materiais

Os materiais utilizados foram divididos em grupos de vidrarias, reagentes e equipamentos, conforme as tabelas 2; 3 e 4 a seguir.

**Tabela 2 – Vidrarias**

| <i>Vidrarias usadas na:</i>                 |                              |  |
|---|------------------------------|--|
| <b>Produção</b>                             | Agitadores magnéticos        | Espátulas inox   |
|   | Balão volumétrico de 500 mL  | Peneira inox   |
|   | Bastões de vidro             | Pinça inox   |
|   | Béqueres de 50 mL            | Placas de Petri de Φ90mm   |
|   | Béqueres de 150 mL           | Provetas de 100 mL   |
|   |                              |  |
| <b>Ensaio<br/><i>in-vitro</i><br/>(ICF)</b> | Micropipetas de 1µL e 100 µL | Estante para alça de manipulação microbiológica e outros utensílios inox |
|   | Tubos de ensaio com tampas   | Alça de manipulação microbiológica                                       |
|   | Estante para tubo de ensaio  | Pinça anatômica de dissecção   |

**Fonte:** (a autora).

**Tabela 3 – Reagentes**

| <b>Reagentes</b>                            |                                 |
|---|---------------------------------|
| <b>Produção</b>                             | Sal de alginato (Sigma-Aldrich) |
|   | CaCl <sub>2</sub>               |
|   | Hidrolato de <i>melaleuca</i>   |
|   | Água destilada                  |
| <b>Ensaio<br/><i>in-vitro</i><br/>(ICF)</b> | Itraconazol                     |
|   | Ágar Sabouraud dextrose         |
|   | Cloranfenicol solidificado      |
| Solução salina estéril                      |                                 |

**Fonte:** (a autora).

**Tabela 4 – Equipamentos**

| <b>Equipamentos usados na:</b>              |   |  |
|---|---|--|
| <b>Produção</b>                             | Balança analítica AY220<br>(Marte)                                  | Agitador magnético com aquecimento C-MAG HS 7<br>(IKA)                         |
| <b>Medição</b>                              | Balança analítica AY220<br>(Marte)                                  | Paquímetro 100.002<br>(DIGIMESS),<br>Graduação 0,02 mm,<br>exatidão +/- 0,03mm |
| <b>Ensaio<br/><i>in-vitro</i><br/>(ICF)</b> | Capela de fluxo laminar vertical modelo PA-115<br>(Pachane)         | Estufa/incubadora BOD<br>(Demanda Bioquímica de Oxigênio) mantida a 36 °C      |
|   | Bico de bunsen acoplado a capela com as devidas normas de segurança |  |
| <b>Esterilização</b>                        | <i>Câmara asséptica 400 (Luca)</i>                                  | <i>Espectroscopia RAMAN</i>  |
| <b>Caracterização</b><br>(Análises)         | <i>Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)</i>                       | <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>                               |

**Fonte:** (a autora).

### **Especificações:**

#### ***Câmara asséptica 400 (Luca).***

Este é um dispositivo que utiliza a luz ultravioleta (UV) para esterilizar materiais. A luz UV-C tem um comprimento de onda curto (~254nm), danifica o material genético de microrganismos, como vírus, bactérias, fungos e protozoários, impedindo a sua reprodução e

sobrevivência. A esterilização UV é uma alternativa eficaz à desinfecção com cloro, que pode causar doenças respiratórias e não é capaz de inativar alguns microrganismos. Além disso, a esterilização UV não requer o uso de produtos químicos tóxicos, e não utiliza altas temperaturas durante seu processo. Ela é utilizada em unidades médicas, laboratórios, etc.

### ***Espectroscopia no Infravermelho***

Foram realizadas as análises de FTIR na Central Analítica Multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os espectros de FT-IR/ATR das amostras sólidas foram registrados no espectrômetro Bruker, modelo Vertex 70, na faixa de 4000 – 400 cm<sup>-1</sup>, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 64 scans.

### ***Espectroscopia RAMAN***

Foram realizadas as análises de RAMAN no Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN – SisNano) do Departamento de Engenharia Química (EQA/CTC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os espectros de RAMAN das amostras foram realizados no aparelho Anton Paar Cora 5200 Raman (Espectrômetro Raman de bancada Anton Paar) com os seguintes parâmetros: Faixa Espectral: 100 a 2300 cm<sup>-1</sup>; Potência do Laser: 450 mW e Comprimento de onda único: 785 nm.

### ***Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)***

A morfologia das amostras foi avaliada usando microscópio eletrônico de varredura (MEV), equipamento Tm3030Plus Hitachi, operando sob alto vácuo, a 15kV. As amostras foram previamente recobertas com prata (equipamento SCD 005 sputter BAL-TEC), localizado no Centro de tecnologia Mineral - CETEM.

### ***Reagentes***

O sal de alginato (Sigma-Aldrich), o CaCl<sub>2</sub> (doado pela Universidade de São Lazáro), assim como o hidrolato de *melaleuca alternifolia* da Tree Grow 100% natural, foram utilizados como recebidos sem a necessidade de tratamento prévio. A água destilada foi obtida através de destilador presente no laboratório do IFRJ (Campos Paracambi). Por fim, o itraconazol (Geolab) foi adquirido em comércio local, em cápsulas de 100mg; cada a caixa com 04 e/ou 15 cápsulas.

## 5.2 Métodos

### 5.2.1 Produção das esferas

#### *Preparo da solução de CaCl<sub>2</sub> 4% (m/v)*

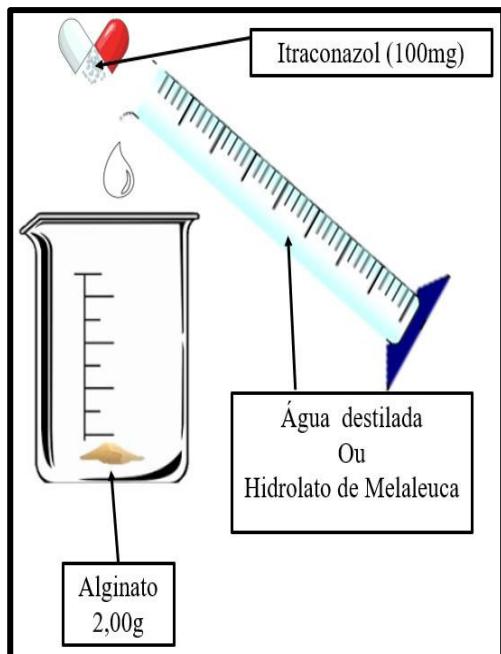
Pesou-se 20,00 g de CaCl<sub>2</sub> em um bêquer (150mL) na balança analítica, o mesmo foi dissolvido em água destilada até a marca de 500mL no balão volumétrico, resultando em uma solução a 4% (m/v) para posterior utilização.

#### *Preparo das soluções de alginato de sódio 2% (m/v)*

Em quatro bêqueres (150mL), pesou-se (na balança analítica) 2,00g de alginato de sódio a cada um deles, os mesmos foram identificados como (A1; A2; A3 e A4). Em seguida adicionou-se aos bêqueres identificados como A1 e A3, com auxílio de uma proveta, 100mL de água destilada e aos bêqueres identificados como A2 e A4, com auxílio de uma proveta, 100mL de hidrolato de melaleuca.

Aos bêqueres identificados como A3 e A4, adicionou-se 100mg de itraconazol comercial onde retirou-se os *pellets* da cápsula e os macerou em um almofariz e pistilo de cerâmica. Conforme as figuras 7 (a), 7 (b) e na tabela 5, tem-se detalhado a composição de cada amostra.

**Figura 7- (a) Preparo das soluções de alginato de sódio 2%.**



**Figura 7(b) - Pellets macerados**



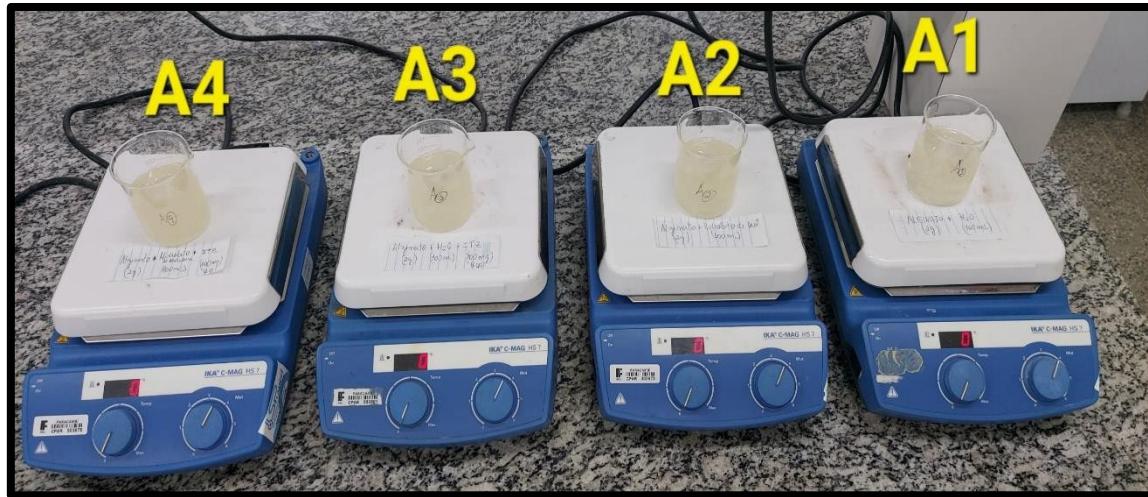
**Fonte:** (a autora).

**Tabela 5 – Composição de cada amostra**

| <b>Composição de cada amostra</b> |                 |                                       |                          |
|-----------------------------------|-----------------|---------------------------------------|--------------------------|
| <b>Amostra</b>                    | <b>Alginato</b> | <b>Meio de dissolução do alginato</b> | <b>Itraconazol (ITZ)</b> |
| <b>A1</b>                         | 2,00g           | 100 ml água destilada                 | 0 mg                     |
| <b>A2</b>                         | 2,00g           | 100 ml hidrolato de Melaleuca         | 0 mg                     |
| <b>A3</b>                         | 2,00g           | 100 ml água destilada                 | 100 mg                   |
| <b>A4</b>                         | 2,00g           | 100 ml hidrolato de Melaleuca         | 100 mg                   |

**Fonte:** (a autora).

Após o preparo acima, adicionou-se 1 agitador magnético aos respectivos bêqueres (A1; A2; A3 e A4) e em seguida os mesmos foram para placa agitadora (4rpm) por 15 minutos, cada bêquer em uma placa, até homogeneização completa das soluções de alginato de sódio 2% cada. Conforme a figura 8 a seguir.

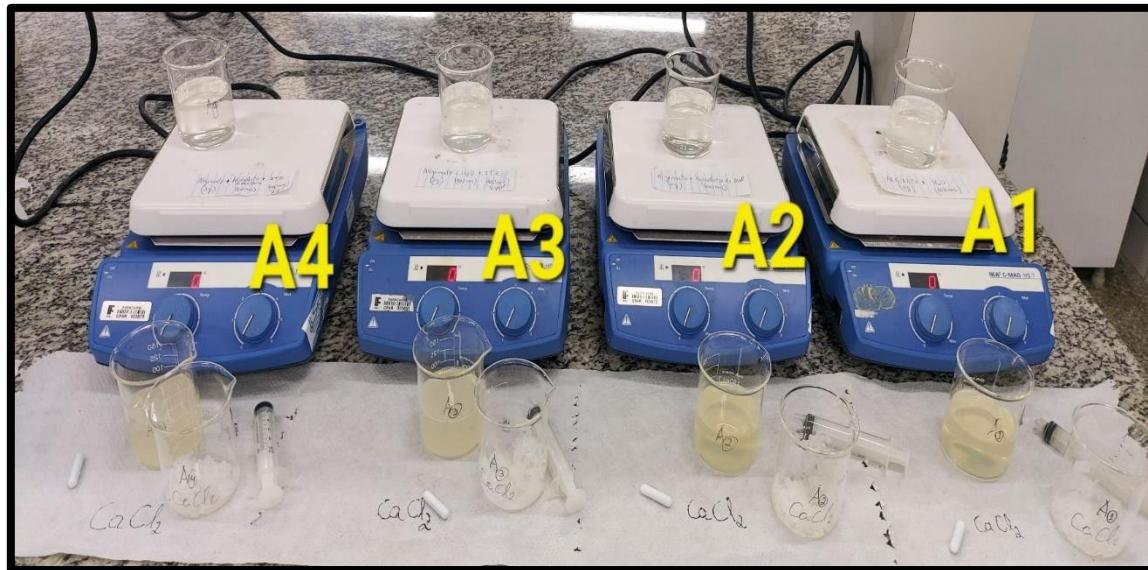
**Figura 8 – Formação das soluções de alginato de sódio 2%.**

**Fonte:** (a autora).

#### **Extrusão por gotejamento das soluções de alginato de sódio 2% na solução de $\text{CaCl}_2$ 4% (m/v).**

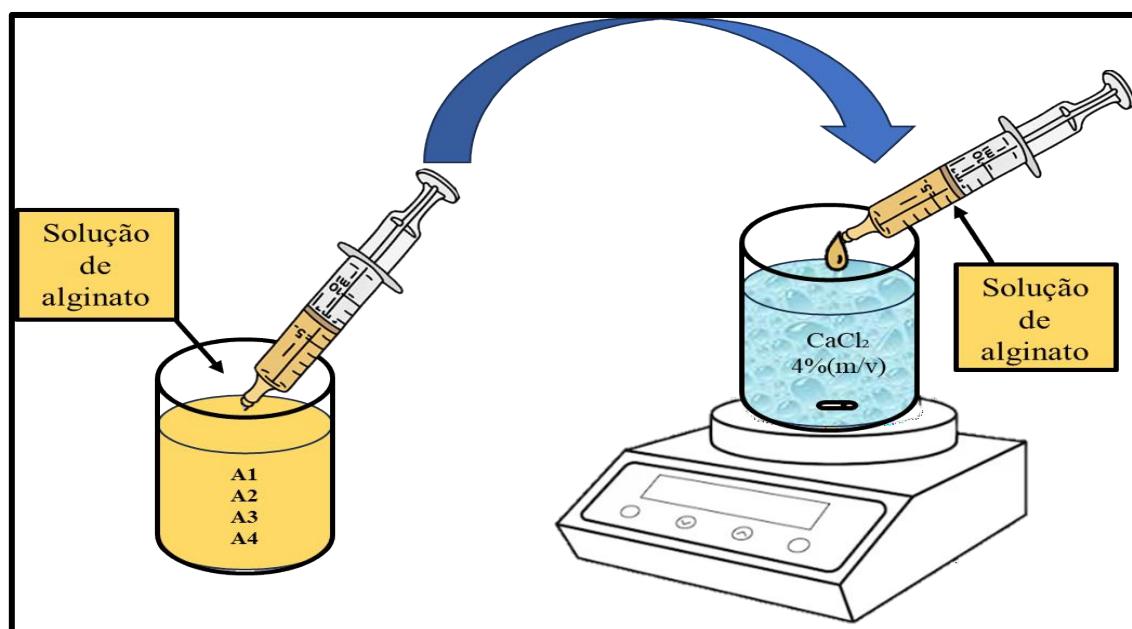
Em outros quatro bêqueres (150mL), adicionou-se 100 mL da solução de  $\text{CaCl}_2$  4%, (m/v) mais 1 agitador magnético, em cada bêquer. Aos mesmos adicionou-se, utilizando uma seringa graduada e por gotejamento, 20,00 mL de cada solução da etapa anterior (A1, A2, A3, A4) obtendo-se as esferas de alginato de todas as amostras, conforme as figuras 9 e 10 a seguir.

**Figura 9 – Esferas formadas por extrusão.**



**Fonte:** (a autora).

**Figura 10 – Ilustração da formação das esferas por extrusão.**



**Fonte:** (a autora).

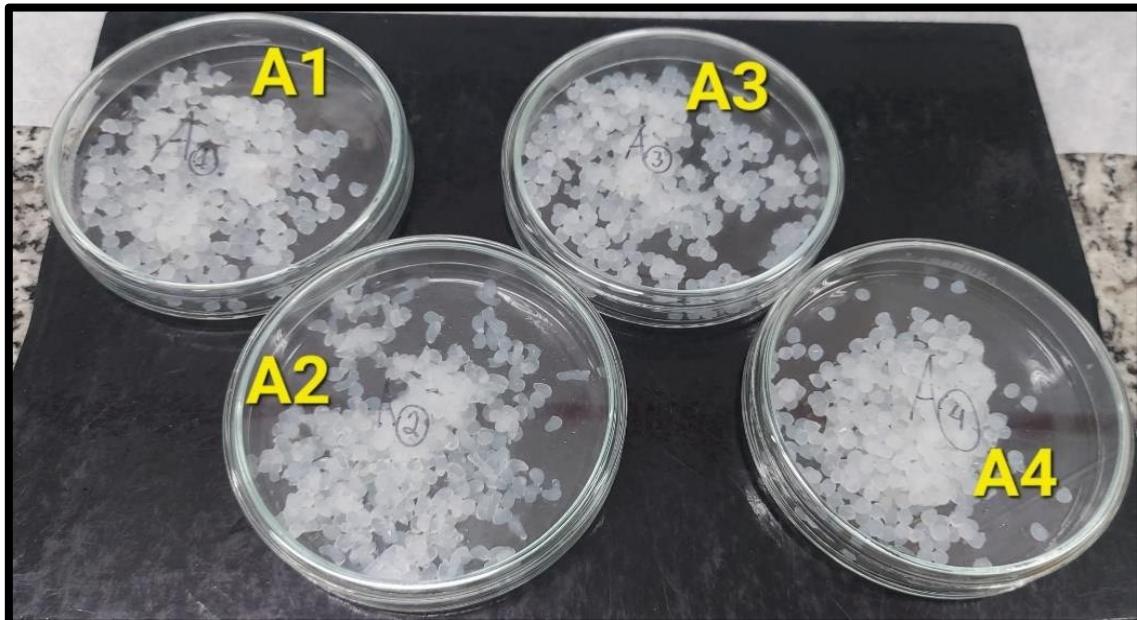
#### *Separação das Esferas de alginato da fase líquida*

A solução líquida ( $\text{CaCl}_2$  4%, (m/v)) foi removida com o auxílio de uma peneira inox, separando as esferas de alginato da fase líquida, aquelas em seguida foram lavadas com água destilada e colocadas sobre vários papeis toalhas até a retirada, quase total, da água adsorvida. Uma vez retirada o máximo de água adsorvida, observou-se que esse lote possuía as melhores

estruturas, mais firme e homogênea, por isso o mesmo foi escolhido para retirada de 20 esferas aleatórias (sendo 5 esferas de cada amostra) posteriormente.

Após retirada da água adsorvida, as esferas foram transferidas para placas de Petri e foram cobertas com filme de PVC para o armazenamento em refrigerador, transporte, esterilização e as análises de caracterização. Figuras 11 e 12.

**Figura 11**—Esferas na placa de petri.



**Fonte:** (a autora).

**Figura 12** – Ilustração das esferas na placa de petri para posterior tratamento e análises.



**Fonte:** (a autora).

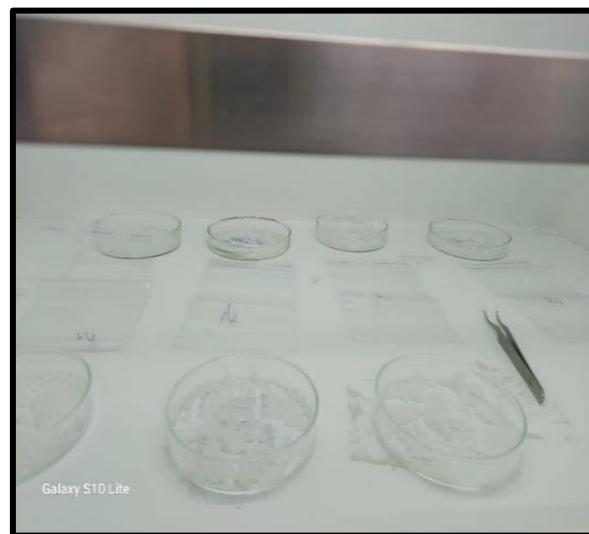
### 5.2.2 Esterilização das Esferas

As amostras foram esterilizadas numa câmara asséptica UV, permanecendo por 15 min a cada vez que foram revolvidas com auxílio de espátula, figura 13 (a) e 13 (b) após esterilização. Pós esterilização a estrutura das esferas, aparentemente, permaneceram mantiveram suas dimensões, morfologia, cor etc.

**Figura 13 (a)** –Esterilização das Esferas.



**Figura 13 (b)** –Esferas após esterilização



**Fonte:** (a autora).

### *Repetições da produção das Esferas*

O processo de produção e esterilização das esferas foi realizado em triplicata, ou seja, ao longo da pesquisa, foram produzidos três lotes de mesma composição. Todas as repetições seguiram as mesmas condições experimentais e utilizaram os mesmos insumos.

### 5.2.3 Coleta e processamento dos dados

Foram selecionadas 20 esferas aleatórias do lote 3, as quais tiveram seus pesos e diâmetros mensurados. A pesagem foi realizada em balança analítica de precisão de 0,0001 g, e o diâmetro foi aferido com paquímetro digital de precisão de 0,01 mm. Os valores obtidos foram submetidos a tratamento estatístico para cálculo da média amostral ( $\bar{x}$ ), variância ( $s^2$ ), desvio padrão (s) e intervalo de confiança a 95%, permitindo estimar a variabilidade dimensional e ponderal das esferas.

Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando as equações 1 – 5 a variabilidade dimensional e ponderal das esferas.

$$\text{Média Amostral: } \bar{x} = \frac{\sum xi}{n} \quad (1)$$

$$\text{Variância Amostral: } s^2 = \frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n-1} \quad (2)$$

$$\text{Desvio Padrão: } s = \sqrt{s^2} \quad (3)$$

$$\text{Intervalo de Confiança a 95\%: } IC = \bar{x} \pm t \times SE \quad (4)$$

Erro Padrão (SE):  $SE = \frac{s}{\sqrt{n}}$  onde  $t$  é o valor crítico da distribuição t de Student para 95% de confiança. (5)

#### **5.2.4 Inibição do Crescimento Fúngico (ICF)**

Os ensaios sobre a proliferação fúngica foram conduzidos com o objetivo de avaliar a eficácia de diferentes formulações das esferas de alginato reticuladas com cloreto de cálcio na inibição *in vitro* do crescimento de fungos do gênero *Sporothrix*, microrganismos causadores da esporotricose em pessoas e animais.

#### **5.2.5 Cepas Utilizadas**

Para confiabilidade e a repetibilidade dos métodos e resultados, bem como para a conformidade com parâmetros éticos, foram utilizadas cepas isoladas de animais – gatos domésticos (*Felis silvestris catus*) com esporotricose – pertencentes ao acervo micológico do Laboratório de Leveduras Patogênicas e Ambientais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Fungos isolados em procedimento aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais sob o protocolo CEUA/UFRRJ: 135/2014. Também foram utilizadas cepas padrões de *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix mexicana* e *Sporothrix schenckii*, tabela 6.

**Tabela 6 – Identificação de cada Cepa utilizada**

| <i>Identificação das Cepas</i>               |                      |
|--|----------------------|
| <b>Código/nome de identificação</b>          | <b>Tipo de Cepa</b>  |
| 269/2013                                     | Isolada de um animal |
| 056/2014                                     | Isolada de um animal |
| 064/2014                                     | Isolada de um animal |
| 078/2014                                     | Isolada de um animal |
| 008/2014                                     | Isolada de um animal |
| <i>Sporothrix schenckii</i> (INCQS 40286)    | <b>Padrão</b>        |
| <i>Sporothrix mexicana</i> (CBS 120341)      | <b>Padrão</b>        |
| <i>Sporothrix brasiliensis</i> (INCQS 40360) | <b>Padrão</b>        |

**Fonte:** (a autora).

As cepas fúngicas utilizadas – leveduriformes (*Sporothrix* possui dimorfismo térmico) – possuíam incubação prévia de 7 dias a 36 °C em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) em tubos de ensaio contendo ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol solidificado em rampa.

#### **5.2.6 Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico (ICF)**

Os procedimentos relacionados à verificação da inibição fúngica foram realizados no Laboratório de Micologia Clínica Veterinária, localizado no Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Os ensaios foram realizados em tubos de ensaio contendo 9 mL de meio de cultura caldo Sabouraud suplementado com cloranfenicol, a fim de prevenir contaminações bacterianas (pH 6,8-6,9) (CLSI, 2012 – adaptado). Quatro configurações experimentais foram estabelecidas para os ensaios de proliferação fúngica, conforme a tabela 7.

**Tabela 7 – Configurações experimentais para os tubos no ensaio de proliferação fúngica**

| <b>Configurações estabelecidas para os tubos no ensaio de ICF</b> |  |             |             |                 |
|---|--|-------------|-------------|-----------------|
| <b>Tubo</b>   | <b>Tubo</b>  | <b>Tubo</b> | <b>Tubo</b> | <b>Conteúdo</b> |
| CN  | Sem esferas, para observar o crescimento natural dos fungos sem intervenção de substâncias antifúngicas (Controle -) |             |             |                 |
| 5E  | Contendo 5 esferas   |             |             |                 |
| 3E  | Contendo 3 esferas   |             |             |                 |
| CP  | Contendo 1 esfera e sem inoculação fúngica (Controle +).   |             |             |                 |

**Fonte:** (a autora).

Os controles experimentais incluíram um controle negativo, composto por tubos contendo apenas fungos inoculados, sem adição de esferas, para monitorar o crescimento fúngico natural, e um controle positivo, formado por tubos contendo uma única esfera, sem a inoculação de fungos, para validar a esterilidade do sistema experimental.

Utilizando-se alça de manipulação microbiológica estéril, uma alíquota de cada fungo foi cuidadosamente coletada e dissolvida em escala 0,5 de McFarland em tubos de ensaio contendo 5 mL de solução salina estéril, formando uma suspensão padronizada e homogênea.

Em seguida, alíquotas de 100 µL dessas suspensões foram transferidas, com o auxílio de pipetas estéreis, para os tubos de ensaio contendo caldo Sabouraud previamente preparados com as diferentes esferas de alginato ou nenhuma esfera (apenas os tubos 1, 2 e 3). Os tubos foram incubados em estufa BOD a 36 °C por 7 dias após inoculação dos fungos e adição das esferas, condições consideradas ideais para o crescimento fúngico.

Após os 7 dias de incubação foi realizada uma avaliação visual da proliferação fúngica. O crescimento foi considerado positivo (+) quando observada a presença de colônias ou sinais de proliferação do microrganismo (turbidez do caldo Sabouraud) incluindo o tubo CN; e negativo (-) quando não houve indícios de crescimento fúngico (ausência de colônias e de turbidez no caldo Sabouraud) incluindo o tubo CP.

## CAPÍTULO 6

**Resumo:** Este capítulo apresenta os resultados experimentais obtidos e sua análise crítica. São discutidos os dados estatísticos relativos às dimensões das esferas produzidas, bem como os resultados das análises de espectroscopia no infravermelho (FTIR), espectroscopia RAMAN, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e ensaio de inibição do crescimento fúngico (ICF). A interpretação dos resultados permite avaliar a eficácia do processo de encapsulamento, a interação entre os componentes e o potencial da formulação no controle da esporotricose em felinos domésticos.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Análise Estatística da dimensão das Esferas

Os valores estatísticos obtidos para o peso, o diâmetro das esferas, assim como a média, desvio padrão, variância e intervalo de confiança estão na Tabela 8 a seguir.

**Tabela 8 - Valores Medidos de Peso e Diâmetro das Esferas de Alginato com ITZ**

| Número da esfera | Peso (mg) | Diâmetro (mm) |
|------------------|-----------|---------------|
| 1                | 0,0525    | 4,02          |
| 2                | 0,0518    | 3,85          |
| 3                | 0,0530    | 3,92          |
| 4                | 0,0527    | 4,15          |
| 5                | 0,0519    | 3,81          |
| 6                | 0,0523    | 3,94          |
| 7                | 0,0529    | 4,05          |
| 8                | 0,0518    | 4,10          |
| 9                | 0,0526    | 3,88          |
| 10               | 0,0521    | 4,18          |
| 11               | 0,0524    | 3,95          |
| 12               | 0,0520    | 4,07          |
| 13               | 0,0528    | 3,89          |
| 14               | 0,0523    | 3,99          |
| 15               | 0,0521    | 4,12          |
| 16               | 0,0526    | 3,77          |
| 17               | 0,0519    | 4,20          |
| 18               | 0,0525    | 3,83          |
| 19               | 0,0527    | 4,23          |

|                  |        |       |
|------------------|--------|-------|
| <b>20</b>        | 0,0522 | 3,97  |
| <b>Total = x</b> | 1,0471 | 79,92 |

**Parâmetros**

|  |   |                          |
|--|---|--------------------------|
| <b>Média amostral = (<math>\bar{x}</math>)</b> | <b>0,0524 ou <math>5,2 \times 10^{-5}</math>g</b> | <b>3,996 ou 0,3996cm</b> |
| <b>Desvio Padrão amostral = (s)</b>            | 0,0004  | 0,1377                   |
| <b>Erro Padrão da Média = (E)</b>              | 0,0001  | 0,0308                   |
| <b>Variância amostral = (<math>s^2</math>)</b> | 0,00000014  | 0,0190                   |
| <b>Intervalo de Confiança (95%)</b>            | [0,0522 ; 0,0525]                                 | [3,9316 ; 4,0604]        |

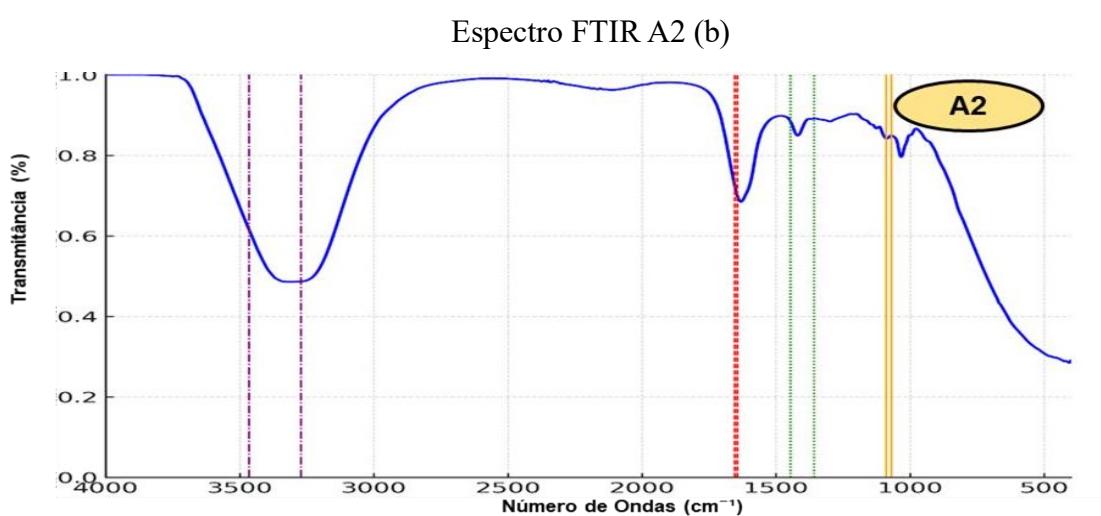
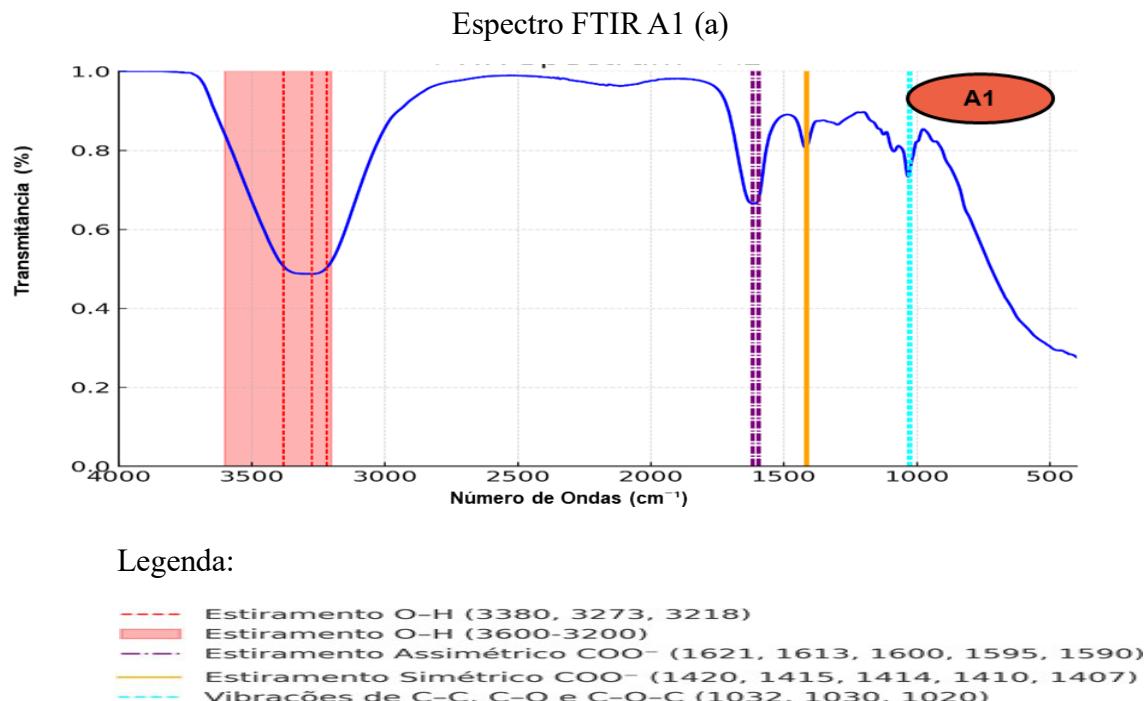
**Fonte:** (a autora).

A análise estatística dos dados obtidos evidenciou baixa dispersão nos valores de peso e diâmetro, refletindo alta reprodutibilidade no processo de produção das esferas de alginato contendo itraconazol. Essa uniformidade dimensional é essencial para garantir a previsibilidade da liberação do fármaco, uma vez que influencia diretamente sua difusão no trato gastrointestinal felino (LEE; MOONEY, 2012). As esferas apresentaram distribuição homogênea, com diâmetro médio de aproximadamente 4 mm (figura 14) e peso médio de 0,0524 g, sendo, portanto, classificadas como macroscópicas, visíveis e manipuláveis. Tais características são desejáveis em formulações veterinárias, pois facilitam a administração e o fracionamento da dose. Os valores obtidos, combinados com o baixo desvio padrão e intervalo de confiança estreito, atestam a estabilidade da metodologia adotada e reforçam a aplicabilidade da formulação proposta no tratamento da esporotricose felina, especialmente diante das limitações impostas pela baixa aceitação oral do fármaco em sua forma convencional.

### 6.1.1 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

A figuras 14 e 15 apresentam as sobreposições dos espectros completos de FTIR na faixa de  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  para as amostras. Lembrando que as composições das mesmas são: A1 (alginato + água); A2 (alginato + hidrolato); A3 (alginato + água + ITZ) e A4 (alginato + hidrolato + ITZ).

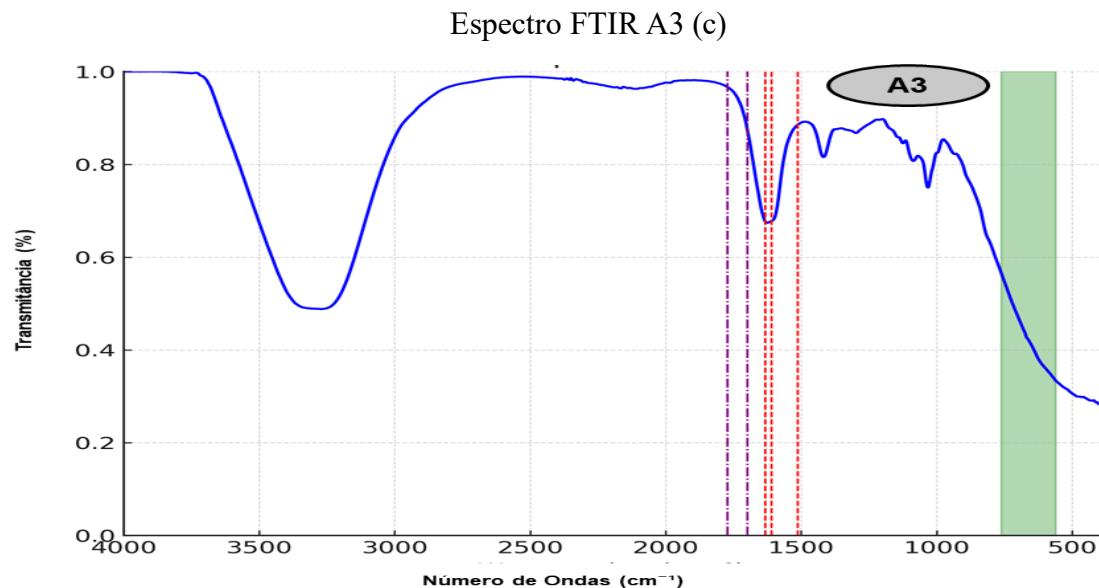
**Figura 14 –Espectros FTIR completos das amostras A1 (a) e A2 (b)**



Legenda:

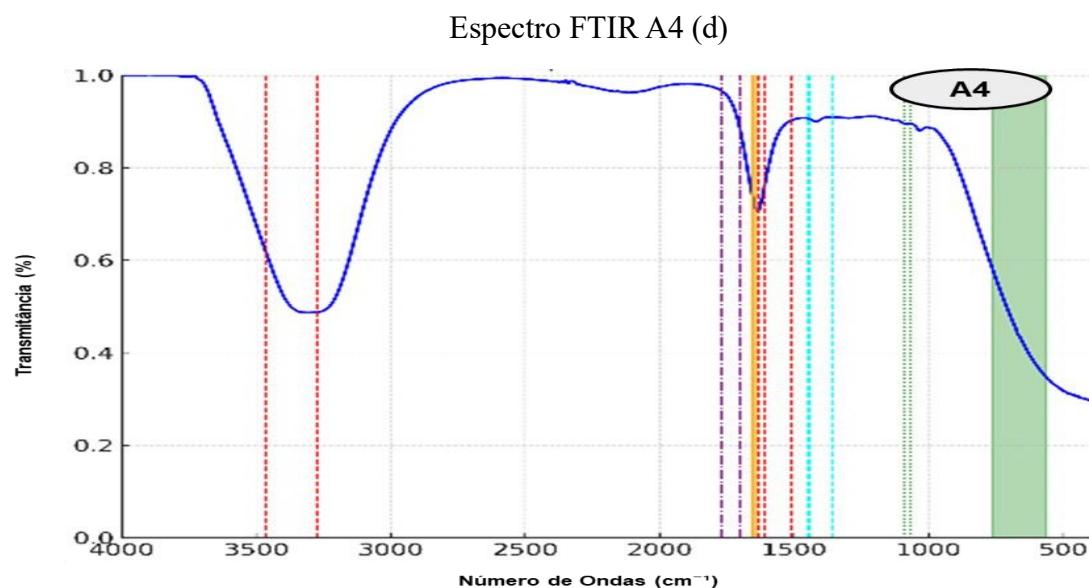
- Estiramento C=O (1653, 1643)
- Dobramento simétrico e assimétrico de C-H no metil e metíleno (1357, 1446, 1444)
- Estiramento O-H (3272, 3464)
- Estiramento C-O (1089, 1068)

**Figura 15-** Espectros FTIR completos das amostras A3 (c) e A4 (d).



Legenda:

- Vibração de estiramento C=N (1609, 1632, 1512)
- Vibração de estiramento do grupo C-Cl (561-762)
- Vibração de estiramento no anel aromático C=C (1772, 1699)



Legenda:

- Vibração de estiramento C=N (1609, 1632, 1512) [Itraconazol]
- Vibração de estiramento do grupo C-Cl (561-762) [Itraconazol]
- Vibração de estiramento no anel aromático C=C (1772, 1699) [Itraconazol]
- Estiramento C=O (1653, 1643) [Hidrolato de melaleuca]
- Dobramento simétrico e assimétrico de C-H no metil e metileno (1357, 1446, 1444) [Hidrolato de melaleuca]
- Estiramento O-H (3272, 3464) [Hidrolato de melaleuca]
- ... Estiramento C-O (1089, 1068) [Hidrolato de melaleuca]

**Fonte:** (a autora).

Os espectros completos evidenciam as principais bandas vibracionais correspondentes aos grupos funcionais dos compostos presentes. A presença de uma banda larga na região de 3300–3500 cm<sup>-1</sup>, característica do estiramento das ligações O-H, foi observada em todas as amostras (PAVIA *et al.*, 2014; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

O espectro da amostra A1 exibe bandas vibracionais típicas do alginato de sódio. O estiramento assimétrico do grupo carboxilato (-COO<sup>-</sup>) na faixa de 1600–1650 cm<sup>-1</sup>, enquanto a vibração simétrica 1400–1450 cm<sup>-1</sup> indica a presença dos grupos carboxílicos do alginato (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Além disso, a banda em 1000–1100 cm<sup>-1</sup> corresponde ao estiramento C-O-C do esqueleto polimérico do alginato, evidenciando sua estrutura de polissacarídeo (DRAGET *et al.*, 1996).

O espectro da amostra A2 mantém as bandas típicas do alginato, mas apresenta modificações na região da carbonila (~1700 cm<sup>-1</sup>), indicando interações entre o hidrolato e o alginato (GUO *et al.*, 2017). A banda em 3400 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao estiramento das hidroxilas (-OH), mantém-se evidente, sugerindo a presença de água residual e hidroxilas do alginato. O deslocamento das bandas do carboxilato em relação à amostra A1 sugere que componentes do hidrolato interagiram com os grupos ácidos do alginato, o que pode influenciar suas propriedades estruturais e reológicas (ATKINS *et al.*, 1971).

A incorporação do ITZ na matriz do alginato (amostra A3) pode ser identificada por novas bandas vibracionais. O estiramento C-H aromático aparece na faixa de 3000–3100 cm<sup>-1</sup>, enquanto o estiramento C=C de anéis aromáticos e a vibração de iminas (C=N) são evidenciados entre 1500–1600 cm<sup>-1</sup> e 1400–1500 cm<sup>-1</sup>, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). A presença de um pico em ~1510 cm<sup>-1</sup> é atribuída às iminas (C=N) do ITZ, evidenciando sua incorporação na matriz (PERLIN *et al.*, 2017). Um novo sinal em 1600 cm<sup>-1</sup> pode estar associado ao anel aromático do ITZ, indicando interações com os grupos carboxilato do alginato. A redução da intensidade da banda da hidroxila sugere que o ITZ pode estar competindo pelas ligações de hidrogênio com o alginato, o que pode alterar a reticulação da matriz polimérica (BALTHAZAR *et al.*, 2019). Além disso, a presença de uma banda em 700–750 cm<sup>-1</sup>, atribuída à vibração C-Cl, confirma a presença do fármaco encapsulado (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

O espectro da amostra A4 apresenta a superposição de bandas associadas ao ITZ, ao hidrolato e ao alginato. A banda de carbonila (~1700 cm<sup>-1</sup>) sofreu deslocamento, indicativo de interação entre os componentes (PAVIA *et al.*, 2014). A presença do ITZ é confirmada pelos

sinais em 1500–1600 cm<sup>-1</sup> e 1400–1500 cm<sup>-1</sup>, atribuídos aos anéis aromáticos e grupos imina, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). A banda C-H em 2900 cm<sup>-1</sup> sugere interações entre o ITZ e os componentes do hidrolato, indicando a formação de um sistema encapsulante complexo (KIM *et al.*, 2020). O enfraquecimento da banda carboxilato (-COO<sup>-</sup>) sugere que o hidrolato pode estar interferindo na reticulação do alginato, impactando sua estabilidade e capacidade de encapsulação.

As diferenças observadas entre A1 e A2 indicam que o hidrolato de melaleuca interage diretamente com o alginato, possivelmente afetando a organização dos grupos carboxilato. A amostra A3 evidencia a incorporação do ITZ na matriz do alginato, conforme demonstrado pelas bandas de iminas e grupos aromáticos. A presença simultânea do ITZ e do hidrolato (A4), com deslocamentos e sobreposições de bandas vibracionais, sugerem interações entre os três componentes (SCHUBACH *et al.*, 2014).

A inspeção visual dos espectros FTIR revelou semelhanças estruturais marcantes entre as amostras, sobretudo nas faixas características do alginato de sódio, como as bandas atribuídas aos estiramentos assimétrico (1610–1630 cm<sup>-1</sup>) e simétrico (1400–1420 cm<sup>-1</sup>) dos grupos carboxilato, além das vibrações de C–O–C na região de 1020–1080 cm<sup>-1</sup>. As amostras A1 e A2, que não contêm itraconazol, apresentaram perfis espectrais intensos e bem definidos nessas regiões. Com a introdução do fármaco nas amostras A3 e A4, observou-se uma leve atenuação das bandas e deslocamentos sutis, indicando possíveis interações entre os grupos funcionais do alginato e o itraconazol. Essas alterações são compatíveis com a hipótese de que o fármaco foi incorporado de forma difusa à matriz polimérica, promovendo reorganização das ligações internas do biopolímero.

Essas observações são corroboradas pelos dados numéricos apresentados na Tabela 9 a seguir, que consolida os principais valores de picos observados nas regiões funcionais mais relevantes. A comparação entre os valores reforça a evidência de que a presença do itraconazol influencia diretamente a intensidade e a posição dos picos de absorção, contribuindo para a confirmação do encapsulamento do fármaco no interior das esferas.

**Tabela 9 – Resultado do FTIR**

| Nº de Onda (cm <sup>-1</sup> ) | Grupo Funcional                 | Amostra Envolvida               | Descrição  | Referência                          |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|-------------------------------------|
| <b>3300-3500</b>               | O-H (hidroxila)                 | Alginato, Hidrolato             | Estiramento de hidroxilas presente em álcoois, água e polissacarídeos.                                       | PAVIA <i>et al.</i> , 2014.         |
| <b>3000-3100</b>               | C-H aromático                   | ITZ, Alginato + ITZ             | Estiramento C-H típico de compostos aromáticos, característico do Itraconazol.                               | SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005. |
| <b>1700-1750</b>               | C=O (carbonila)                 | Hidrolato, Alginato + Hidrolato | Vibração de carbonila em aldeídos e cetonas, presentes no hidrolato e compostos voláteis.                    | PAVIA <i>et al.</i> , 2014.         |
| <b>1600-1650</b>               | C=O (carboxilato)               | Alginato, Alginato + ITZ        | Estiramento assimétrico do grupo carboxilato (-COO <sup>-</sup> ), comum em ácidos carboxílicos e seus sais. | SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005. |
| <b>1500-1600</b>               | C=C (anéis aromáticos)          | Alginato, Alginato + ITZ        | Vibrações de estiramento de C=C em anéis aromáticos, típico de compostos como o Itraconazol.                 | PAVIA <i>et al.</i> , 2014.         |
| <b>1400-1500</b>               | C-N (Aminas aromáticas)         | ITZ                             | Vibrações do grupo C-N, característica de aminas aromáticas presentes no Itraconazol.                        | SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005. |
| <b>1000-1100</b>               | C-O (ésteres/ Polis sacarídeos) | Alginato, Alginato + Hidrolato  | Vibrações de estiramento de C-O, comuns em ésteres e polissacarídeos como o alginato.                        | PAVIA <i>et al.</i> , 2014.         |

**Fonte:** (a autora).

Conforme os gráficos e a Tabela 10, a análise dos espectros FTIR demonstrou que o alginato de sódio foi capaz de encapsular o itraconazol, preservando a estrutura química do polímero e permitindo a incorporação do fármaco de maneira homogênea na matriz. As amostras contendo itraconazol apresentaram attenuações sutis nas bandas características do alginato, especialmente nas regiões associadas aos estiramentos dos grupos carboxilato e C–O–C, o que sugere a ocorrência de interações intermoleculares entre os constituintes da

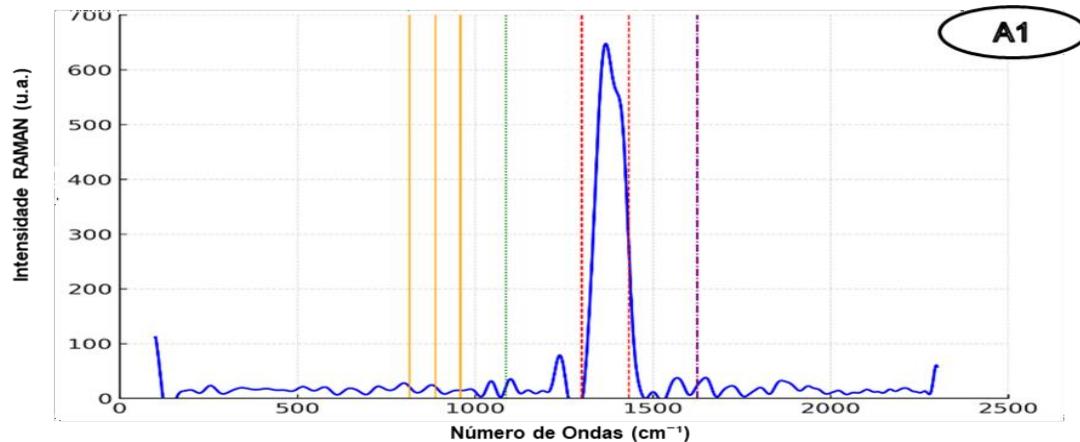
formulação. Além disso, a presença do hidrolato de *Melaleuca alternifolia* pode ter contribuído para alterações na intensidade das bandas de carboxilato, indicando possível modulação da matriz polimérica, o que pode impactar a estabilidade ou o perfil de liberação do sistema encapsulante. A manutenção das principais bandas vibrationais do alginato nas diferentes formulações reforça a integridade estrutural do biopolímero. Assim, os dados obtidos por FTIR fornecem evidências consistentes da formação de um sistema monolítico, no qual o itraconazol encontra-se incorporado de forma difusa, caracterizando esferas poliméricas homogêneas adequadas à proposta de liberação controlada.

### 6.1.2 Espectroscopia RAMAN

As Figuras 16, 17 e 18 apresentam os espectros Raman das amostras A1 (alginato de sódio em água), A2 (alginato de sódio em hidrolato de melaleuca), A3 (alginato de sódio com ITZ) e A4 (alginato de sódio com hidrolato de melaleuca e ITZ), na faixa espectral de 100 a 2300 cm<sup>-1</sup>.

**Figura 16** –Espectros RAMAN das amostras A1 (a)

Espectro RAMAN A1 (a)

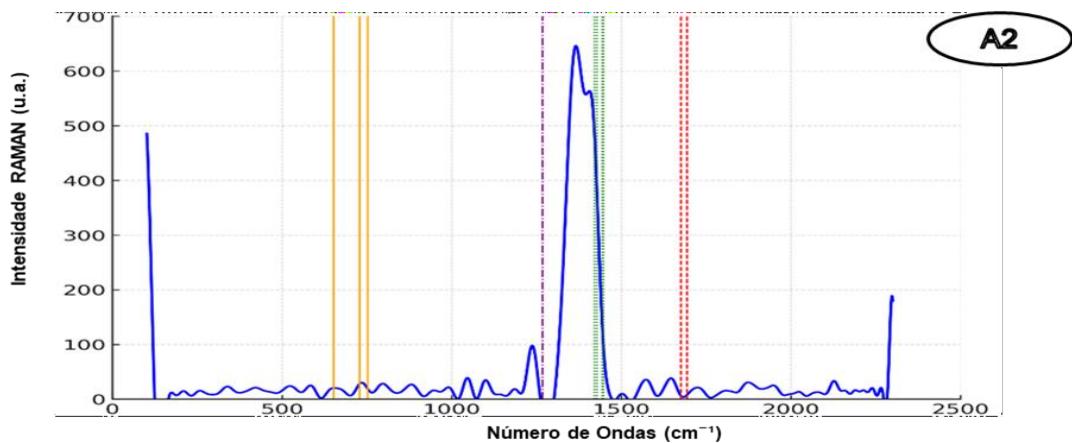


Legenda:

- Vibração de estiramento simétrico (COO<sup>-</sup>) (1433, 1300)
- Respiração do anel glicosídico (1088)
- Estiramento assimétrico (COO<sup>-</sup>) (1625)
- Estiramentos dos grupos C-C e C-O e dobramento dos grupos C-C-H e C-C-O (959, 888, 816)

**Figura 17- Espectro RAMAN A2 (b) e A3 (c)**

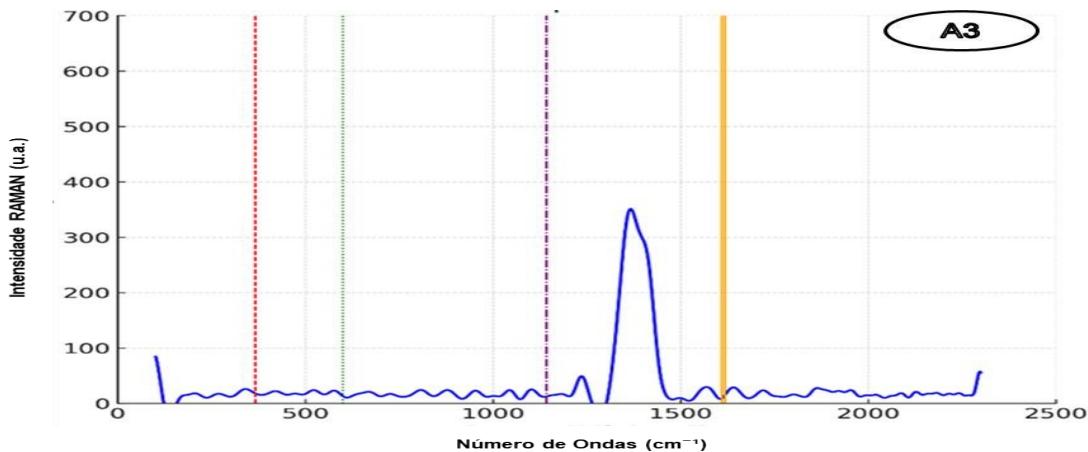
Espectro RAMAN A2 (b)



Legenda:

- Vibração C=C (1676, 1694)
- .... Dobramento simétrico e assimétrico de C-H no metil e metileno (1429, 1443, 1420, 1448)
- - Vibração C-O-C (1267)
- Deformação do anel (728, 752, 652)

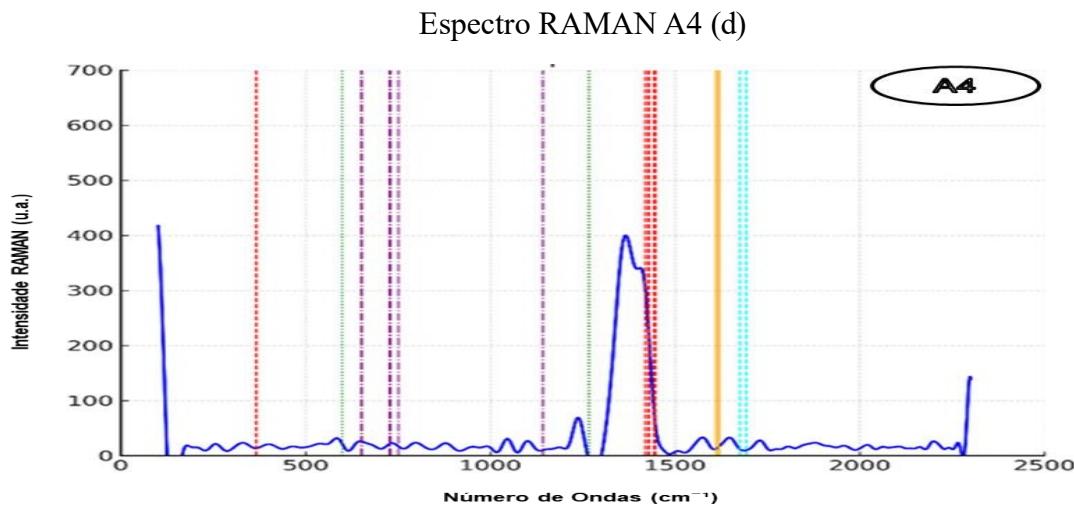
Espectro RAMAN A3 (c)



Legenda:

- Oscilação no anel triazólico ( $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}$ ) (367)
- .... Torção do anel triazólico ( $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}$ ) (600)
- - Vibração de estiramento do grupo C-Cl (1142)
- Vibração de estiramento no anel aromático C=C (1610, 1618)

**Figura 18 - Espectro RAMAN A4 (d)**



Legenda:

- Oscilação no anel triazólico ( $C_2N_2H$ ) (367) [Hidrolato de melaleuca]
- Torção do anel triazólico ( $C_2N_2H$ ) (600) [Hidrolato de melaleuca]
- Vibração de estiramento do grupo C-Cl (1142) [Itraconazol]
- Vibração de estiramento no anel aromático C=C (1610, 1618) [Itraconazol]
- Vibração C=C (1676, 1694) [Itraconazol]
- Dobramento simétrico e assimétrico de C-H no metil e metíleno (1429, 1443, 1420, 1448) [Hidrolato de melaleuca]
- Vibração C-O-C (1267) [Hidrolato de melaleuca]
- Deformação do anel (728, 752, 652) [Hidrolato de melaleuca]

**Fonte:** (a autora).

O espectro da amostra A1 é caracterizado por picos intensos associadas ao alginato e seus sais carboxilatos. A presença dos picos em  $1433\text{ cm}^{-1}$  e  $1300\text{ cm}^{-1}$  corresponde às vibrações de estiramento simétrico do carboxilato ( $COO^-$ ), enquanto a pico em  $1625\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao estiramento assimétrico do mesmo grupo, confirmando a estrutura polimérica do alginato de sódio (PAVIA *et al.*, 2014). Além disso, observa-se um pico em  $1088\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à respiração do anel glicosídico, evidenciando a preservação da estrutura polissacarídica do alginato (SMIDSROD; SKJAK-BRAEK, 1990).

Na amostra A2, além dos picos atribuídos ao alginato, há picos associados aos componentes voláteis do hidrolato de melaleuca. A pico em  $1267\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à vibração do grupo C-O-C, característico de compostos fenólicos e do terpinen-4-ol, principal constituinte da melaleuca (PAVIA *et al.*, 2014). Adicionalmente, a presença dos picos em 1429- $1448\text{ cm}^{-1}$  indica os modos vibracionais de dobramento C-H, sugerindo a incorporação de compostos aromáticos ou insaturados à matriz polimérica (SILVERSTEIN; WEBSTER;

KIEMLE, 2005). A comparação entre os espectros de A1 e A2 evidencia que a introdução do hidrolato altera ligeiramente as interações moleculares do alginato, possivelmente modificando sua organização estrutural.

A amostra A3 apresenta picos adicionais características do itraconazol. Os picos em 367  $\text{cm}^{-1}$  e 600  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídos à oscilação e torção do anel triazólico (C-N-H), respectivamente, evidenciando a presença do fármaco na matriz encapsulante (PAVIA *et al.*, 2014). O pico em 1142  $\text{cm}^{-1}$  refere-se à vibração do grupo C-Cl, um indicativo da estrutura química do itraconazol (PAVIA *et al.*, 2014). Além disso, observa-se um pico em 1610-1618  $\text{cm}^{-1}$ , característico da vibração de estiramento do anel aromático C=C do fármaco, reforçando sua incorporação na formulação (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Esses resultados sugerem que o ITZ foi encapsulado de forma eficiente, mantendo sua estrutura química dentro da matriz polimérica.

O espectro da amostra A4 apresenta uma combinação dos picos características do alginato, do hidrolato de melaleuca e do itraconazol. Os picos em 367  $\text{cm}^{-1}$  e 600  $\text{cm}^{-1}$  permanecem evidentes, confirmando a presença do anel triazólico do ITZ. Além disso, a pico em 1142  $\text{cm}^{-1}$ , atribuído ao estiramento C-Cl, indica que a estrutura do fármaco foi mantida mesmo na presença do hidrolato (PAVIA *et al.*, 2014). A presença dos picos em 1429-1448  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes ao dobramento C-H no metil e metíleno, sugere uma interação entre o fármaco e os compostos do hidrolato (PAVIA *et al.*, 2014). A presença dos picos em 1772-1699  $\text{cm}^{-1}$ , associados ao estiramento C=C aromático, indica um efeito sinérgico entre o itraconazol e os componentes do hidrolato, podendo afetar a estabilidade e a liberação controlada do fármaco (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

A comparação entre A1 e A2 sugere que o hidrolato de melaleuca interage diretamente com o alginato, possivelmente alterando sua organização estrutural e propriedades físico-químicas. A A3 confirma a incorporação do ITZ, conforme evidenciado pelos picos do anel triazólico, C-Cl e C=C aromático. A análise da A4 indica que a presença simultânea do ITZ e do hidrolato resulta em um espectro modificado, sugerindo interações entre o fármaco e os compostos da melaleuca. Esses resultados indicam que o hidrolato pode influenciar a estrutura da matriz de alginato e a liberação do ITZ, um aspecto relevante para formulações destinadas à administração veterinária.

Essas observações são corroboradas pelos dados consolidados na Tabela 10 a seguir, que reúne os principais valores de picos vibracionais detectados por espectroscopia Raman nas

amostras analisadas. A tabela sintetiza as regiões espectrais mais relevantes e permite uma comparação direta entre as quatro formulações. Os deslocamentos e intensidades diferenciadas dos picos confirmam a incorporação do itraconazol à matriz de alginato, além de evidenciar a interação entre o hidrolato de melaleuca e os componentes da formulação. As alterações nos sinais atribuídos aos grupos triazólicos, ao estiramento C–Cl e às ligações C=C aromáticas, especialmente nas amostras A3 e A4, reforçam a hipótese de encapsulamento eficiente e apontam para possíveis efeitos sinérgicos entre os constituintes. Tais resultados fornecem suporte espectroscópico relevante para a avaliação da estabilidade química e do comportamento funcional do sistema encapsulante proposto.

**Tabela 10 – Resultado do RAMAN**

| Nº de Onda<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Grupo<br>Funcional   | Amostra<br>Envolvida                  | Descrição   | Referência                                |
|-----------------------------------|--|---------------------------------------|---|---|
| 367                               | Oscilação no<br>anel triazólico<br>(C <sub>2</sub> N <sub>3</sub> H) | ITZ,<br>Alginato +<br>ITZ             | Pico característico<br>do Itraconazol,<br>indicando a presença<br>do anel triazólico.                     | PAVIA <i>et al.</i> ,<br>2010.            |
| 600                               | Torção do anel<br>triazólico<br>(C <sub>2</sub> N <sub>3</sub> H)    | ITZ,<br>Alginato +<br>ITZ             | Modo vibracional<br>associado à torção<br>do anel triazólico.   | SILVERSTEIN;<br>WEBSTER;<br>KIEMLE, 2005. |
| 1142                              | Vibração de<br>estiramento do<br>grupo C–Cl                          | ITZ,<br>Alginato +<br>ITZ             | Confirma a presença<br>do itraconazol na<br>matriz polimérica.  | PAVIA <i>et al.</i> ,<br>2010.            |
| 1267                              | Vibração<br>C–O–C  | Hidrolato,<br>Alginato +<br>Hidrolato | Característica de<br>compostos fenólicos<br>e do terpinen-4-ol,<br>presente no hidrolato<br>de melaleuca. | PAVIA <i>et al.</i> ,<br>2014.            |
| 1420-1448                         | Dobramento<br>C–H no metil e<br>metíleno                             | ITZ,<br>Alginato +<br>ITZ             | Modos vibracionais<br>característicos do<br>hidrolato de<br>melaleuca.                                    | SILVERSTEIN;<br>WEBSTER;<br>KIEMLE, 2005. |
| 1610-1618                         | Vibração de<br>estiramento no<br>anel aromático<br>C=C               | ITZ,<br>Alginato +<br>ITZ             | Pico associado ao<br>Itraconazol,<br>caracterizando sua<br>presença na matriz<br>polimérica.              | SILVERSTEIN;<br>WEBSTER;<br>KIEMLE, 2005. |
| 1772-1699                         | Vibração C=C<br>aromático  | ITZ,<br>Alginato +<br>ITZ             | Bandas<br>características do<br>anel aromático do<br>Itraconazol.   | SILVERSTEIN;<br>WEBSTER;<br>KIEMLE, 2005. |

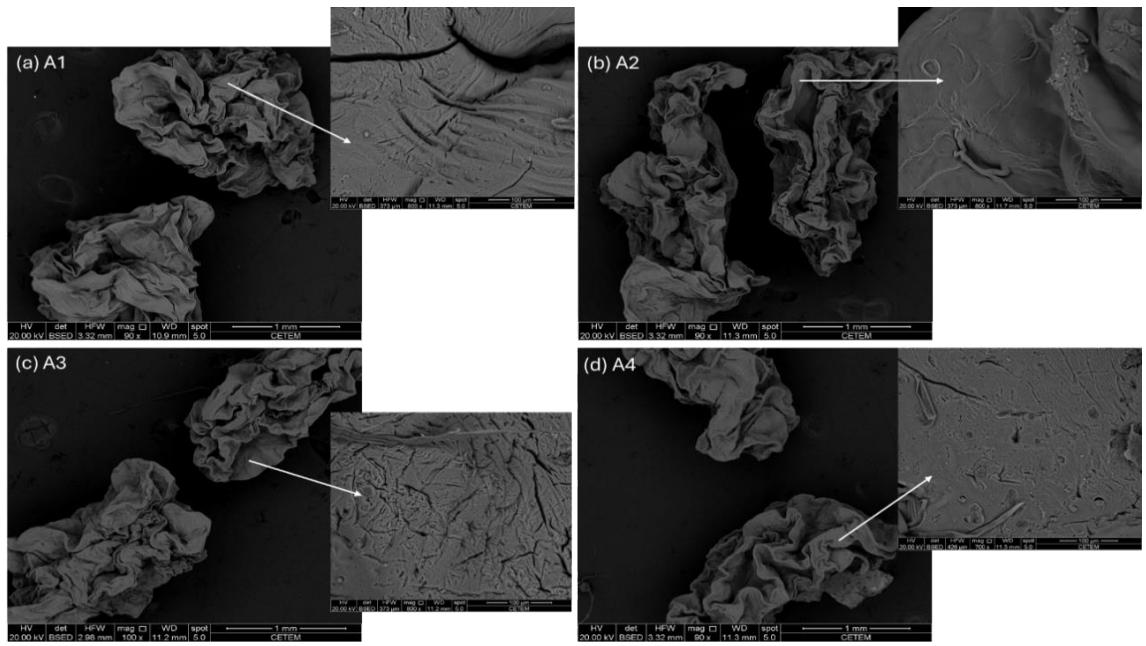
**Fonte:** (a autora).

Conforme os dados apresentados na Tabela 10, a análise espectroscópica por Raman confirma a incorporação do itraconazol na matriz de alginato, mantendo a integridade estrutural dos componentes. Os picos característicos do alginato, como os associados aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo carboxilato ( $\text{COO}^-$ ), bem como os sinais referentes ao anel glicosídico, mantiveram-se presentes nas amostras, evidenciando que a estrutura do biopolímero foi preservada durante o processo de encapsulamento. A presença dos picos atribuídos ao itraconazol, especialmente nas amostras A3 e A4, como os relacionados ao anel triazólico, ao grupo C–Cl e às ligações C=C aromáticas, reforça a conclusão de que o fármaco foi eficientemente incorporado à formulação. Além disso, as alterações nos picos nas amostras contendo hidrolato de melaleuca sugerem interações entre os constituintes voláteis do hidrolato e a matriz polimérica, podendo influenciar na estabilidade química e na liberação do ativo. Dessa forma, os dados obtidos por espectroscopia Raman corroboram as evidências fornecidas pelo FTIR e reforçam a caracterização das esferas como sistemas monolíticos homogêneos, nos quais o fármaco encontra-se distribuído de maneira difusa e estável.

### 6.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica essencial para a caracterização morfológica de sistemas poliméricos, permitindo a observação detalhada da superfície, estrutura e porosidade das partículas encapsulantes. No contexto da encapsulação de fármacos, essa análise é fundamental para avaliar a estabilidade estrutural das esferas de alginato e sua capacidade de controle na liberação do fármaco (SIEPMANN; PEPPAS, 2012). A Figura 20 apresenta as imagens obtidas por MEV das esferas de alginato analisadas.

**Figura 19 - Imagens de MEV e suas ampliações, sendo as amostras (a) A1, (b) A2, (c) A3 e (d) A4.**



Na Figura 20, que apresenta as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras A1, A2, A3 e A4, observa-se que as partículas colapsaram durante a secagem ao ar, um fenômeno comum em sistemas poliméricos à base de alginato, causado pela retração estrutural durante a remoção do solvente (SIEPMANN; PEPPAS, 2012). Ainda assim, as amostras mantiveram diâmetros milimétricos, como esperado para esferas de alginato obtidas por extrusão iônica. A porosidade superficial foi pouco evidente em algumas formulações, possivelmente devido ao colapso estrutural durante a secagem. Contudo, é importante considerar que sistemas poliméricos destinados à liberação controlada frequentemente apresentam porosidade nanométrica, o que pode dificultar sua visualização em análises por MEV (ALONSO-SANZ *et al.*, 2024).

De forma comparativa, a amostra A1 (alginato em água) apresentou superfície lisa e homogênea, sugerindo uma matriz densa e bem reticulada, com baixa porosidade aparente. A amostra A2 (alginato em hidrolato de melaleuca), por sua vez, mostrou superfície mais rugosa e a presença de microporos visíveis, indicando que o hidrolato pode ter interferido na organização estrutural do gel, promovendo maior porosidade. A amostra A3 (alginato com itraconazol) revelou formações irregulares e fissuras discretas, atribuídas à incorporação do fármaco, que, por ser hidrofóbico, pode induzir separação de fases e alterar o arranjo das cadeias poliméricas durante a gelificação (MAKKAR *et al.*, 2021). A amostra A4 (alginato com hidrolato de melaleuca e ITZ) evidenciou poros bem definidos e uma distribuição heterogênea,

reforçando o possível efeito combinado do hidrolato e do fármaco na indução de porosidade significativa, provavelmente por reorganização da matriz polimérica.

Esse comportamento já foi descrito em sistemas de liberação controlada contendo fármacos hidrofóbicos, onde a interação entre o polímero e o fármaco leva à formação de uma rede porosa interna (SANTOS *et al.*, 2012). Assim, conclui-se que a porosidade aumentou progressivamente da amostra A1 para A4, sendo mais pronunciada nas formulações contendo simultaneamente hidrolato e itraconazol. A estrutura porosa formada pode facilitar a difusão do fármaco, otimizando sua biodisponibilidade e tornando o sistema proposto potencialmente eficaz para liberação controlada em aplicações terapêuticas. Esses achados reforçam a hipótese de que a composição da formulação influencia diretamente na microestrutura das esferas e, consequentemente, no desempenho do sistema encapsulante.

#### **6.1.4 Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico (ICF)**

A avaliação da inibição do crescimento fúngico (ICF) permitiu analisar a eficácia das esferas de alginato contendo itraconazol (ITZ) e hidrolato de melaleuca no controle da proliferação de fungos do gênero *Sporothrix*. As Tabelas 11 e 12, apresentam os resultados obtidos para cada cepa testada, considerando os diferentes tipos de esferas e suas respectivas condições experimentais.

**Tabela 11** – Avaliação visual dos tubos para o ensaio de proliferação fúngica (ICF) em A1 e A2.

| Avaliação visual da proliferação fúngica (ICF) |                                    |    |    |    |           |    |    |    |    |
|--|------------------------------------|----|----|----|-----------|----|----|----|----|
| Amostra  | A 1                                |    |    |    | A2 c/ Hid |    |    |    |    |
|  | Código/nome<br>de<br>Identificação | CN | 5E | 3E | CP        | CN | 5E | 3E | CP |
| <b>269/2013</b>                                |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <b>056/2014</b>                                |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <b>064/2014</b>                                |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <b>078/2014</b>                                |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <b>008/2014</b>                                |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <i>S. schenckii</i><br>(INCQS40286)            |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <i>S. mexicana</i><br>(CBS 120341)             |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |
| <i>S. brasiliensis</i><br>(INCQS 40360)        |                                    | +  | +  | +  | -         | +  | +  | +  | -  |

**Legenda:** A1 (Amostra 1: alginato e água); A2 (Amostra 2: alginato e hidrolato); CN (Controle Negativo); CP (Controle Positivo); 5E (5 esferas); 3E (3 esferas); Crescimento de fungos sinal (+); não crescimento de fungo sinal (-). **Fonte:** (a autora).

**Tabela 122 – Avaliação visual dos tubos para o ensaio de proliferação fúngica (ICF) em A3 e A4.**

| <b>Avaliação visual da proliferação fúngica (ICF)</b> |                  |           |           |           |                        |           |           |           |  |
|---|------------------|-----------|-----------|-----------|------------------------|-----------|-----------|-----------|--|
| <b>Amostra</b>  | <b>A3 c/ ITZ</b> |           |           |           | <b>A4 c/ ITZ e Hid</b> |           |           |           |  |
| <b>Código/nome<br/>de<br/>Identificação</b>           | <b>CN</b>        | <b>5E</b> | <b>3E</b> | <b>CP</b> | <b>CN</b>              | <b>5E</b> | <b>3E</b> | <b>CP</b> |  |
| <b>269/2013</b>                                       | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b>056/2014</b>                                       | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b>064/2014</b>                                       | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b>078/2014</b>                                       | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b>008/2014</b>                                       | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b><i>S. schenckii</i><br/>(INCQS40286)</b>           | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b><i>S. mexicana</i><br/>(CBS 120341)</b>            | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |
| <b><i>S. brasiliensis</i><br/>(INCQS 40360)</b>       | +                | -         | -         | -         | +                      | -         | -         | -         |  |

**Legenda:** A3 (Amostra 3: alginato e água e ITZ); A4 (Amostra 4: alginato e hidrolato e ITZ); CN (Controle Negativo); CP (Controle Positivo); 5E (5 esferas); 3E (3 esferas); ); Crescimento de fungos sinal (+); não crescimento de fungo sinal (-). **Fonte:** (a autora).

Os controles utilizados garantiram a validade dos resultados. O controle negativo (CN) confirmou a capacidade dos fungos de crescerem em meio Sabouraud sem intervenção de agentes antifúngicos, enquanto o controle positivo (CP) demonstrou que as esferas estavam estéreis antes da inoculação (CLSI, 2012).

Observou-se que os tubos contendo esferas formuladas apenas com alginato (A1 e A2) não apresentaram efeito significativo na inibição do crescimento fúngico, mantendo a turbidez do meio semelhante ao controle negativo. Tal resultado indica que o alginato de sódio, por si só, não possui propriedades antifúngicas significativas (PAVIA *et al.*, 2014), bem como o hidrolato de melaleuca.

Nos testes com a amostra A3, verificou-se uma redução do crescimento fúngico em comparação ao controle negativo, sugerindo que o ITZ encapsulado nas esferas foi liberado e

exerceu efeito inibitório sobre os fungos. Tal efeito é correlacionado com a eficácia do itraconazol no tratamento da esporotricose, inibindo a biossíntese de ergosterol, que é essencial para a integridade da membrana celular fúngica (SILVA *et al.*, 2018). No entanto, o crescimento não foi completamente eliminado em algumas cepas, indicando que a liberação do fármaco pode ter ocorrido de forma gradual, influenciada pela matriz polimérica de alginato (MAPA, 2020).

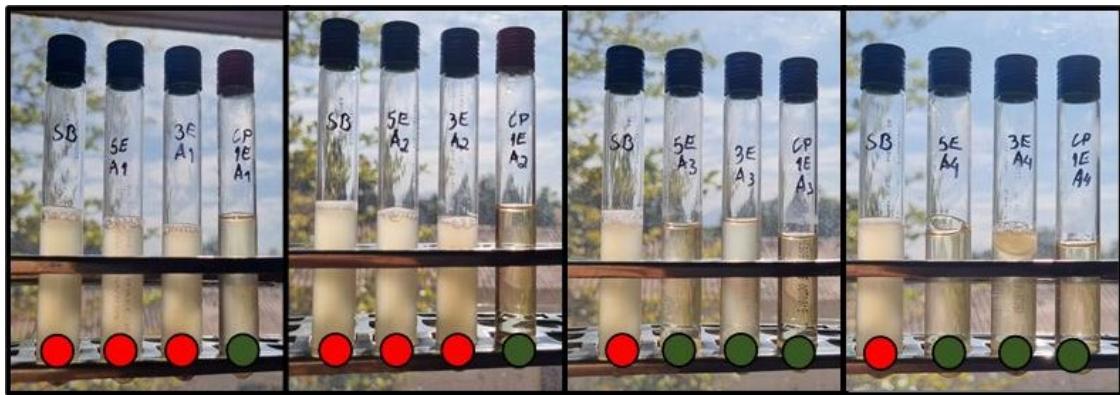
A amostra A4, que continha ITZ associado ao hidrolato de melaleuca, apresentou os melhores resultados, com ausência de crescimento fúngico em vários tubos de ensaio, conforme observado na avaliação visual. Esse resultado sugere uma possível sinergia entre o hidrolato e o antifúngico, potencializando a inibição do fungo. Esse efeito pode estar relacionado à ação do terpinen-4-ol, composto majoritário do hidrolato de melaleuca, que atua desestabilizando a membrana celular fúngica e facilitando a penetração do ITZ (HAMMER *et al.*, 2003). Estudos prévios demonstram que óleos essenciais, incluindo o de melaleuca, podem aumentar a permeabilidade da membrana fúngica e potencializar o efeito de antifúngicos convencionais (PAVELA & BENELLI, 2017).

As análises confirmam que a encapsulação do ITZ em esferas de alginato preserva sua atividade antifúngica, sendo uma alternativa promissora para a administração do fármaco. Além disso, os resultados indicam que a adição do hidrolato de melaleuca pode otimizar a eficácia do tratamento, tornando a formulação ainda mais eficiente no combate à *Sporothrix spp.* (SOUZA *et al.*, 2021).

Os achados reforçam a viabilidade da técnica como uma abordagem alternativa para o tratamento da esporotricose felina, possibilitando o desenvolvimento de formulações mais bem aceitas pelos animais e de fácil administração, contribuindo para a redução da resistência ao tratamento e da transmissão da doença (GREMIÃO *et al.*, 2020).

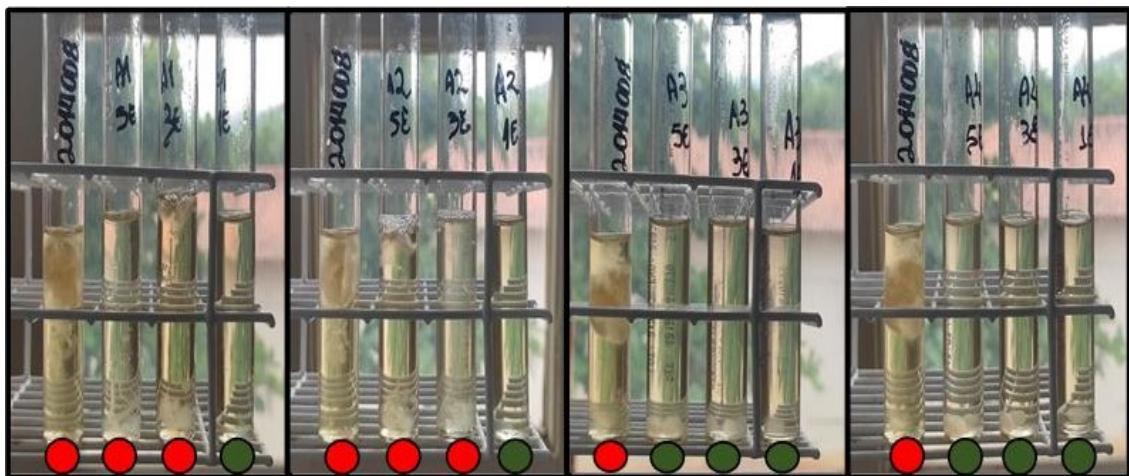
Nas figuras 21 e 22, podemos verificar a proliferação fúngica, após os 7 dias de incubação das cepas *S. brasiliensis* (INCQS 40360) e 008/2014 para as amostras A1, A2, A3 e A4.

**Figura 20** –Resultados (ICF) da cepa *S. brasiliensis* (INCQS 40360) para as amostras A1, A2, A3 e A4.



**Fonte:** (a autora).

**Figura 21** –Resultados (ICF) da cepa 008/2014 nas esferas das amostras A1, A2, A3 e A4.



**Fonte:** (a autora).

## CAPÍTULO 7

**Resumo:** Este capítulo apresenta as conclusões obtidas com o desenvolvimento da formulação de esferas de alginato contendo itraconazol, abordando sua viabilidade farmacotécnica, eficácia antifúngica e aplicabilidade clínica no tratamento da esporotricose felina.

### 7 CONCLUSÕES

Neste capítulo, descreve-se o conjunto de evidências obtidas ao longo do desenvolvimento e caracterização das esferas de alginato de sódio contendo itraconazol, com foco na aplicação terapêutica voltada à esporotricose felina.

A encapsulação do fármaco itraconazol em esferas de alginato mostrou-se eficaz e viável do ponto de vista técnico e funcional. A produção das esferas por extrusão iônica demonstrou ser simples, econômica e reproduzível, resultando em unidades macroscópicas de dimensões adequadas à administração oral em felinos. As esferas apresentaram homogeneidade nos pesos e diâmetros, com baixa variabilidade entre as unidades, fator crucial para a previsibilidade da liberação do fármaco e que reforça o controle eficiente do processo produtivo (ver Apêndice A.1 e A.2 – Gráficos de Distribuição dos Pesos e Diâmetros das Esferas de Alginato).

A caracterização físico-química por espectroscopias FTIR e Raman confirmou a presença do itraconazol na matriz polimérica e evidenciou interações intermoleculares entre os constituintes da formulação, sem comprometer a integridade estrutural do alginato. Esses dados apontam para a formação de um sistema monolítico estável e potencialmente eficaz para liberação controlada do princípio ativo.

A aplicação da microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiu a observação das superfícies das esferas, revelando colapso e contração dos poros durante a secagem, um fenômeno típico de sistemas alginato-base. No entanto, observou-se que a adição do fármaco e do hidrolato de Melaleuca alternifolia promoveu alterações morfológicas importantes, como aumento da porosidade, o que pode favorecer a difusão do fármaco e otimizar sua biodisponibilidade.

Nos ensaios de inibição do crescimento fúngico (ICF), as esferas contendo itraconazol mantiveram atividade antifúngica eficaz contra as espécies *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix brasiliensis*. As formulações que incluíram o hidrolato de melaleuca apresentaram desempenho superior, indicando um efeito sinérgico entre o itraconazol e os compostos bioativos do

hidrolato. Essa combinação pode potencializar a ação terapêutica e ampliar o espectro de atividade da formulação.

Além da eficácia, destaca-se o aspecto funcional da forma farmacêutica: a estrutura gelatinosa, manipulável e com possibilidade de saborização torna as esferas mais atrativas para os felinos, superando barreiras como o sabor amargo do itraconazol e a dificuldade de dosagem precisa, problemas recorrentes em tratamentos convencionais.

Dessa forma, a formulação desenvolvida reúne características desejáveis de palatabilidade, liberação controlada, estabilidade e manutenção da atividade antifúngica, configurando-se como uma alternativa inovadora e promissora para a administração de itraconazol em gatos. Os resultados obtidos abrem perspectivas para estudos complementares, incluindo testes *in vivo* e o desenvolvimento de formulações comerciais voltadas à medicina veterinária.

## CAPÍTULO 8

**Resumo:** Esse capítulo apresenta propostas para o aprofundamento da pesquisa, visando validar e aprimorar a formulação desenvolvida.

### 8 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Recomenda-se a realização de estudos de liberação *in vitro* com o intuito de analisar a cinética do itraconazol em meios que simulem as condições do trato gastrointestinal de felinos. Testes de aceitabilidade também são sugeridos, com foco na resposta comportamental dos animais e na adesão ao tratamento. Além disso, propõe-se a modulação da formulação por meio da variação da concentração de alginato, do teor de cálcio utilizado na reticulação e da adição de agentes saborizantes, buscando maior palatabilidade e eficácia terapêutica. A aplicação de análises térmicas, como DSC e TGA, pode contribuir para a avaliação da estabilidade físico-química da formulação e das possíveis interações entre seus componentes. Por fim, a utilização de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é indicada para quantificação precisa do itraconazol encapsulado e para o monitoramento da liberação do fármaco ao longo do tempo, fornecendo subsídios importantes para a validação biofarmacêutica do sistema.

## 9 REFERÊNCIAS

- AGÜERO, L.; ZALDIVAR-SILVA, D.; PEÑA, L.; DIAS, M. L. *Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review.* **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 32–43, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.033>
- AHMAD, A.; GHULAM, A.; JAWAD, A.; MUNIR, A.; ZAHID, M.; NADEEM, M. *The potential of hydrolates for use in the production of alfalfa micro-sprouts, sanitizers and flavour enhancers.* ResearchGate, 2021.
- ALONSO-SANZ, M.; QUINTANILLA-LÓPEZ, J. E.; PÉREZ-BALLESTEROS, A.; CUESTA, C.; FERNÁNDEZ-BARBERO, A.; VALLET-REGÍ, M. *Microstructural features and ionic crosslinking in calcium alginate hydrogels: impact on drug delivery performance.* **Carbohydrate Polymers**, v. 316, 121026, 2024.
- ATKINS, E. D. T.; PAPPENBERGER, J.; SKJÅK-BRÆK, G. *Alginates as gelling polymers.* **Carbohydrate Research**, v. 60, p. 97-106, 1973.
- ATKINS, E. D. T.; PARKER, K. D.; PRESTON, R. D. *The structure of alginic acid.* **Journal of Molecular Biology**, v. 62, p. 89-94, 1971.
- AZEVEDO, E. P. C. *Nanopartículas biodegradáveis de PLGA, recobertas com DMSA, contendo itraconazol para o tratamento da paracoccidioidomicose*, 2011 (Tese de doutorado). Universidade de Brasília, Brasília.
- BALTHAZAR, L. M.; LOVERO, K. L.; MOURA, D. J. *Triazóis e seu papel no tratamento de infecções fúngicas emergentes.* **Mycopathologia**, v. 184, p. 65-78, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-018-0299-6>
- BARROS, M. B. L.; FREITAS, D. F. S.; MACEDO, P. M.; PAES, R. A.; COSTA, R. O.; FERRAZ, C. E.; VEASEY, J. V.; ENGEMANN, A. R. B.; ALMEIDA-PAES, R.; QUINTELLA, L.; SOUSA, M. S. L. A.; RODRIGUES, A. M.; RODRIGUES, A. M.; TALHARI, C. *Esporotricose humana: recomendações da Sociedade Brasileira de Dermatologia para o manejo clínico, diagnóstico e terapêutico.* **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 6, p. 757–777, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.abd.2022.09.026> Acesso em: 02 mar. 2025.
- BASSOLÉ, I. H. N., & JULIANI, H. R. "Essential oils in combination and their antimicrobial properties." **Molecules**, 17(4), 3989-4006, 2012.
- BRADSHAW, J. W. *The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (*Canis familiaris*) and cats (*Felis catus*).* **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 7, p. 1927S-1931S, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 110, de 24 de novembro de 2020.*
- CACURO, T. A.; WALDMAN, W. R. *Alginate e seu Uso Como Polímero Sensível a pH.* **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, p. 1607-1617, 2018.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties.* **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 50–62, 2006.

CARVALHO, M. T.; MOURA, T. C. S. R.; GONÇALVES, J. N. S.; PINTO, D. P.; ROSA, M. M. *Avaliação do potencial antimicrobiano do óleo essencial e hidrolato de Lavandula dentata frente cepas de interesse clínico e agrícola.* **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, e95111436076, 2022.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard – ninth edition.* CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

COSTA, G. C. S. *Uso da terbinafina comparado ao iodeto de potássio e itraconazol no tratamento da esporotricose felina.* 2017. 47p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ.

COUTO, R.; MAESTRI, G.; BOEMO, R. L.; SOARES, L. A.; IMMICH, A. P. S. Encapsulação de fármaco com alginato de sódio e ágar-ágár. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS – CBPol, 2020, São Pedro, SP. Anais [...]. São Pedro: CBPol, 2020.

DE CELIS ALONSO, B.; RAYMENT, P.; CIAMPI, E.; ABLETT, S.; MARCIANI, L.; SPILLER, R. C.; NORTON, I. T.; GOWLAND, P. A. *NMR relaxometry and rheology of ionic and acid alginate gels.* **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 663-669, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.019>

DRAGET, K. I.; SKJÅK-BRÆK, G.; STOKKE, B. T. *Alginates: molecular and functional properties in drug delivery.* **Biomacromolecules**, v. 7, n. 6, p. 1470-1480, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm050164b>

DRAGET, K. I.; SKJÅK-BRÆK, G.; STOKKE, B. T. *Similarities and differences between alginate gels and cellulose gels.* **Carbohydrate Polymers**, v. 33, n. 2, p. 105-112, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(96\)80037-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(96)80037-3)

ERDAL, N.; HAKKARAINEN, M.; BLOMQVIST, A. *Polymers, Giant Molecules with Properties: An Entertaining Activity Introducing Polymers to Young Students.* **Journal of Chemical Education**, v. 96, n. 7, p. 1410-1416, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00110>

FERNANDES, G. F. et al. *Dimorphic Fungi: Biology and Clinical Implications.* **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 5, n. 4, p. 213-223, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40588-018-0100-0>

FOSTER, A. P., et al. "Mucormycosis in cats." **Journal of Small Animal Practice**, 45(4), 212-216, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2004.tb00244.x>

FRENT, O. D. et al. Sodium Alginate-Natural Microencapsulation Material of Polymeric Microparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 20, p. 12108, 2022.

Disponível em: . GEOLAB. Bula do Itraconazol 100 mg Geolab. Disponível em: <https://consultaremedios.com.br/itraconazol-geolab/bula> Acesso em: 17 mar. 2025.

GHANNOUN, M. A.; ROGERS, P. D.; JAIN, N.; CHOWDHARY, A.; SINGH, A.; MUKHERJEE, P. K. *Molecular mechanisms of antifungal resistance and therapeutic strategies*. **Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. 486-500, 2018. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30210-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30210-1)

GINN, P. E.; KIM, D. Y.; SHIVAPRASAD, H. L. *Sporotrichosis in cats: A review of 26 cases*. **Veterinary Dermatology**, v. 18, n. 2, p. 78-82, 2007.

GOLDSTEIN, E. J. "Bite wounds and infection." **Journal of American Veterinary Medical Association**, 237(3), 274-280, 2010.

GÓMEZ, C. M.; REYES, J. M. *Alginate as a bioadhesive polymer in gastric drug delivery*. **Journal of Controlled Release**, v. 113, p. 149-160, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.05.005>

GONSALES, F. F. *Chlamydophila felis em gatos (Felis catus): detecção do antígeno e avaliação de anticorpos*. 2008. 80 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

GOULART, C. P.; MENDES, F. R.; PINTO, L. S.; CASTRO, J. L. *Topical Itraconazole-loaded alginate hydrogels: Controlled drug release for fungal infections*. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 32, p. 120-130, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2012.06.005>

GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. Elsevier Health Sciences, 2012.

GREMIÃO, I. D. F. et al. *Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by Sporothrix brasiliensis and literature revision*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 107–124, 2021.

GREMIÃO, I. D. F. et al. *Sporotrichosis: an emerging and neglected zoonosis*. **The Veterinary Journal**, v. 255, p. 105407, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.105407>

GREMIÃO, I. D. F. et al. *The emergence of feline sporotrichosis*. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 87-93, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-016-0076-0>

GUO, J. et al. *Influence of alginate structure on complex coacervates of chitosan-alginate*. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 372-382, 2017.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. *Antifungal effects of tea tree oil and its components on Candida albicans, Candida glabrata and Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, p. 1223-1229, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkg155>

HARTMANN, K. "Feline leukemia virus infection: an update." **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 35(5), 1111-1136, 2005.

- KIM, S.; WANG, H.; YAN, L.; ZHANG, X.; CHENG, Y. *Continuous preparation of itraconazole nanoparticles using droplet-based microreactor.* **Chemical Engineering Journal**, v. 393, 2020.
- LACAZ, C. S. *Tratado de Micologia Médica.* São Paulo: **Sarvier**, 2002.
- LI, J.; ZHANG, C.; LI, Y.; ZHANG, H. *Fabrication of aerogel-templated oleogels from alginate-gelatin conjugates for in vitro digestion.* **Carbohydrate Polymers**, v. 291, p. 119603, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119603>
- LUCENA, P. A. *Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo itraconazol,* 2014. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Goiás, Goiania.
- MAHAJAN, V. K. *Sporotrichosis: An Overview and Therapeutic Options.* **Dermatology Research and Practice**, v. 2014, p. 1-13, 2014.
- MAKKAR, P. et al. *Microstructural analysis of polymeric drug carriers for controlled release applications.* **International Journal of Pharmaceutics**, v. 3, p. 100074, 2021.
- MARTINS, E. M.; FERREIRA, P. R.; ANDRADE, D. A. *Itraconazole in fungal infections: mechanisms of action and efficacy.* **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 234-245, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200009>
- MARTINS, M. D. et al. *Estudo sobre antifúngicos azólicos e poliênicos em uso veterinário.* **Journal of Medical Mycology**, v. 47, n. 4, p. 302–310, 2007.
- MIRANDA, L. H. M.; REIS, E. G.; GOMES, C. C. *Avaliação dos efeitos hepáticos do itraconazol em felinos com esporotricose.* **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 245-252, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000300008>
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION.** *Itraconazole – Compound Summary.* Bethesda: NCBI, 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Itraconazole>. Acesso em: 17 mar. 2025.
- PAULA, J. et al. *Encapsulação de óleo essencial de Croton zehntneri em esferas de alginato reticuladas com cálcio e revestidas com goma do cajueiro.* **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 78, n. 1, p. 15-21, 2010.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. *Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints.* **Trends in Plant Science**, v. 22, p. 1000-1015, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.001>
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. *Introduction to Spectroscopy.* 5. ed. **Cengage Learning**, 2014. ISBN 978-1285460123.
- PEREIRA, S. A. et al. *Aspectos terapêuticos da esporotricose felina.* **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 4, p. 311–321, 2018.
- PERLIN, D. S. et al. Mechanisms of antifungal drug resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 7, n. 7, 2017. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019752>
- PERLIN, D. S. et al. *The echinocandin antifungal resistance: Perspectives and new strategies.* **Medical Mycology**, v. 55, p. 69-83, 2017.

PINA-Vázquez, C., et al. "Antifungal activity of thymol and carvacrol against fungal biofilms." **Journal of Applied Microbiology**, 113(6), 1399-1406, 2012.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. *Sporothrix species causing outbreaks in animals and humans driven by animal-animal transmission.* **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 7, e1005638, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005638>

ROSSOW, J. A. et al. *A One Health Approach to Combatting Sporothrix brasiliensis: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America.* **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 247, 2020.

SANTOS, L. et al. *Influence of hydrophobic drugs on the porosity and release profile of polymeric matrices.* **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 4, p. 623-631, 2012.

SARMIENTO HUERTAS, P. A.; SUAREZ ARNEDO, A. *Desenvolvimento de géis à base de alginato de sódio com alto conteúdo de ácido αL-gulurônico para uso potencial como adesivo para ossos.* 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade de los Andes, Faculdade de Engenharia, Departamento de Engenharia Química, Bogotá D.C.

SAUTER, E. A., et al. "Coccidioidomycosis in cats." **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 34(2), 301-314, 2004.

SCHELOTTO, C.; CORDOVES, C.; ROMERO, L.; MARTÍNEZ, A. *Mechanisms of azole resistance in Sporothrix schenckii isolates from feline sporotrichosis.* **Medical Mycology**, v. 53, p. 312-319, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myv091>

SCHELOTTO, G. et al. *Antifúngicos e sua aplicação clínica.* **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 51, n. 2, p. 321–334, 2015.

SCHUBACH, T. M. P. et al. *Feline sporotrichosis: a zoonotic transmission.* **Mycopathologia**, v. 157, n. 2, p. 181-185, 2004.

SCHUBACH, T. M. P. et al. *Itraconazole as treatment for feline sporotrichosis.* **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 9, p. 749-757, 2014.

SCHUBACH, T. M. P. et al. *Sporotrichosis: a neglected emerging zoonosis.* **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 6, p. 549-553, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000600001>

SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A.; BARROS, M. B. *Esporotricose felina e seu manejo terapêutico.* **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 125-136, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000200005>

SCHUBACH, T. P. et al. *Epidemic cat-transmitted sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: description of a hyperendemic area.* **International Journal of Dermatology**, v. 45, n. 12, p. 1211-1216, 2006.

SCHUBACH, T. P. et al. *Epidemic cat-transmitted sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: zoonotic transmission, atypical clinical presentation, and antifungal therapy outcomes.* **Clinical Infectious Diseases**, v. 58, p. 1251-1259, 2014.

SCHUBACH, T. P. et al. *Sporotrichosis: epidemiological aspects in the state of Rio de Janeiro, Brazil.* **International Journal of Dermatology**, v. 59, n. 3, p. 372-378, 2020.

SELIMOGLU, M.; ELIBOL, M. *Alginate as an immobilization material for MAb production via encapsulated hybridoma cells.* **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, n. 5, p. 583-588, 2009.

SILVA, A. M.; SCHUBACH, T. M.; PEREIRA, S. A. *Itraconazole for the treatment of feline sporotrichosis.* **Veterinary Dermatology**, v. 29, n. 5, p. 427-e141, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/vde.12671>

SILVA, A. R. et al. Complicações do uso do Itraconazol – Revisão. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 5, n. 2, p. 191-193, 2017.

SILVA, C. J. et al. *Functional properties of alginate-based films: Effects of crosslinking agents and ph on the physical and structural properties.* **Food Hydrocolloids**, v. 107, p. 105921, 2020.

SILVA, C. M.; FIDELIS, T. L.; DOS SANTOS, P. O.; GREMIÃO, I. D. *Eficácia do itraconazol no tratamento da esporotricose felina: revisão de literatura.* **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 475-489, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4883>

SILVA, C. M.; FIDELIS, T. L.; DOS SANTOS, P. O.; GREMIÃO, I. D. *Esporotricose e sua importância como zoonose emergente.* **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 75-89, 2021.

SILVA, D. T. et al. *Sporotrichosis in Brazil: an emerging public health problem.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, 2021.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Spectrometric Identification of Organic Compounds.* 7th ed. **John Wiley & Sons**, 2005.

SMIDSROD, O., & Skjak-Braek, G. "Alginate as immobilization matrix for cells." **Trends in Biotechnology**, 8(2), 71-78, 1990.

SOUZA, C. S.; COSTA, J. F.; MIRANDA, M. C. *Synergistic antifungal activity of essential oils and conventional antifungals against dermatophytes.* **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 668529, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.668529>

SPADARI, C. C.; LOPES, L. B.; ISHIDA, K. *Alginate nanoparticles as non-toxic delivery system for miltefosine in the treatment of fungal infections.* **Mycoses**, v. 60, n. 7, p. 402-411, 2017.

TAYLOR, K. P. et al. *Challenges in feline medication administration: A review of palatability and acceptance of oral medications in cats.* **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 45, n. 2, p. 112-125, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvp.13045>

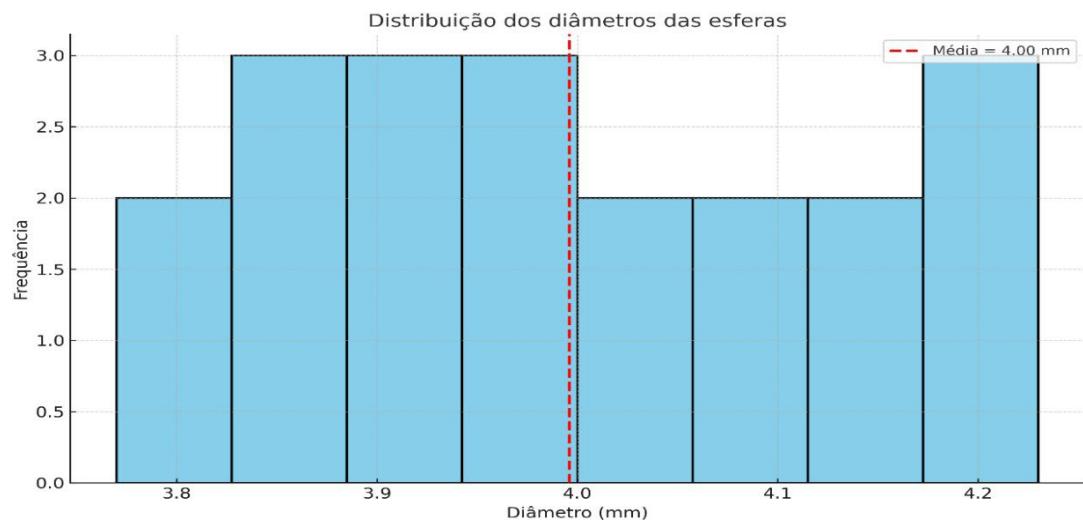
THOMBRE, A. *Oral delivery of medications to companion animals: palatability considerations.* **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1399–1413, 2004.

## 10 APÊNDICE

- **APÊNDICE A – Distribuição dos Pesos e Diâmetros das Esferas**

A Figura A.1 apresenta a distribuição dos diâmetros, figura A.2, das esferas de alginato contendo itraconazol, evidenciando a homogeneidade dimensional das unidades produzidas.

**Figura 222 - Apêndice A.1 Distribuição dos diâmetros das esferas**



**Figura 23 - Apêndice A.2 Distribuição dos pesos das esferas**

