



**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 DE ITRACONAZOL COM ALGINATO SABORADO COM  
EXTRATO DE CARNE PARA TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE EM GATOS.**

**DEMETRIO DE ALMEIDA QUINA**

**2025**



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

**ENCAPSULAMENTO DE ITRACONAZOL COM ALGINATO SABORADO COM  
EXTRATO DE CARNE PARA TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE EM GATOS.**

**DEMETRIO DE ALMEIDA 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  
Setembro, 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, Demetrio de Almeida, 1983-  
Encapsulamento de itraconazol com alginato  
saborado com extrato de carne para tratamento da  
esporotricose em gatos / Demetrio de Almeida Quina. -  
Seropédica, 2025.  
78 f.: il.

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

1. Esporotricose felina. 2. Itraconazol. 3.  
Encapsulamento . 4. Alginato. 5. Sabor carne. I.  
Oliveira, Renata Nunes , 1984-, orient. II  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós Graduação em Engenharia Química (PPGEQ)  
III. Título.

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

DEMETRIO DE ALMEIDA 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: 24/09/2025.

Banca

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Nunes Oliveira.  
(Departamento de Engenharia Química/IT/ UFRRJ; Orientadora)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mário Mendes Bonci  
(Instituto de Veterinária/IV/ UFRRJ)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Antonio Renato Bigansolli  
(Departamento de Engenharia Química/IT/ UFRRJ)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Antonieta Middea  
(Centro de Tecnologia Mineral/CETEM)





---

**HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 52/2025 - PPGEQ (12.28.01.00.00.00.42)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

**(Assinado digitalmente em 13/10/2025 11:00 )**

**ANTONIO RENATO BIGANSOLLI**  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DEQ (12.28.01.00.00.00.00.45)  
Matrícula: ###231#2

**(Assinado digitalmente em 13/10/2025 10:50 )**

**MARIO MENDES BONCI**  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DMIV (12.28.01.00.00.00.00.54)  
Matrícula: ###060#3

**(Assinado digitalmente em 13/10/2025 14:20 )**

**RENATA NUNES OLIVEIRA**  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DEQ (12.28.01.00.00.00.00.45)  
Matrícula: ###987#0

**(Assinado digitalmente em 13/10/2025 10:29 )**

**ANTONIETA MIDDEA**  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.317-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/documentos/> informando seu número: 52, ano: 2025, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: 13/10/2025 e o código de verificação: **e7a121f400**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus (Olorum), a Oxalá - a Jesus Cristo - aos Orixás, em especial Ogum e Oxum, Pai e Mãe, a Santa Maria mãe de Jesus, aos meus mentores e guias espirituais, aos meus guardiões e por fim aos meus ancestrais, aqueles que pavimentaram o caminho para a minha existência nessa terra

A meu Pai, Getúlio da Silva Quina (*in memoriam*) e minha mãe Odete de Almeida Quina, que cuidaram de mim, me ensinaram e me protegeram, tornando possível que eu me tornasse o homem que me tornei.

A minha esposa, Marcela Lopes de Moura Quina, 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.

A minha professora e orientadora Renata Nunes Oliveira, pela confiança no meu trabalho, pelo apoio as minhas ideias e pela orientação a cada passo, sempre confiante na minha capacidade.

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) da UFRRJ.

Ao IF/RJ pelo apoio nas análises e intercâmbio de conhecimento através da servidora Téc. Laboratório área Química Marcela Lopes de Moura Quina

Ao Central Analítica Multiusuário (CAM) da UFRRJ pela disponibilidade na realização das análises de FTIR e HPLC

Ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) pelas imagens de MEV

Ao laboratório Interdisciplinar para o desenvolvimento de nanoestruturas da Universidade Federal de Santa Catarina LINDEN/UFSC pelas análises Raman

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ) pela oportunidade de aprendizado e pelo empenho e profissionalismo de todos que mantêm o programa funcionando.

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 code 001.

“A Matemática não é apenas a linguagem da ciência; é a estrutura invisível que sustenta cada hipótese, cada cálculo e cada descoberta. Onde há medida, há busca pela razão. Onde há razão, nasce a ciência.” — *Insp. Galileu Galilei*

“A Química não é apenas uma ciência de substâncias e misturas, mas uma ponte entre o conhecimento e a melhoria da vida coletiva.” — *Insp. Linus Pauling*

“A Medicina Veterinária nasce do compromisso de proteger vidas que não têm voz. Cuidar de um animal é preservar um elo essencial entre a natureza, a ciência e a humanidade.”  
— *Insp. Rudolf Virchow (One Health)*

“A universidade pública é o espaço onde a ciência se encontra com a sociedade para construir o futuro.” — *Insp. Darcy Ribeiro*

## RESUMO

QUINA, Demetrio de Almeida. **Encapsulamento do fármaco itraconazol com alginato de sódio e sabor carne para tratamento da 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 relevância zoonótica crescente no Brasil, especialmente no estado do Rio de Janeiro. O tratamento com itraconazol, embora eficaz, apresenta baixa adesão por parte dos gatos, devido à rejeição ao sabor amargo e à dificuldade de administração forçada. Esta dissertação propõe a encapsulação do fármaco itraconazol em esferas de alginato de sódio saborizadas com extrato de carne, visando maior palatabilidade, adesão voluntária e eficácia terapêutica. As esferas foram produzidas por gelificação iônica e caracterizadas por FTIR (*Fourier transform infrared spectroscopy*), Raman, MEV (*Microscopia Eletrônica de Varredura*), HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) e ensaios de inibição fúngica. Os resultados confirmaram o encapsulamento, a interação entre fármaco e matriz, e a atividade antifúngica das formulações, especialmente na presença de proteínas do extrato de carne, sugerindo possível sinergia com o fármaco. A proposta apresenta viabilidade tecnológica e potencial aplicação no controle da esporotricose, oferecendo uma alternativa eficaz, acessível e adaptada ao comportamento alimentar felino.

**Palavras-chave:** Esporotricose felina, Itraconazol, Alginato de Sódio, Palatabilidade

## ABSTRACT

QUINA, Demetrio de Almeida. **Encapsulamento do fármaco itraconazol com alginato de sódio e sabor carne para tratamento da 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.

Feline sporotrichosis is a subcutaneous mycosis of increasing zoonotic relevance in Brazil, especially in the state of Rio de Janeiro. Although itraconazole is an effective treatment, it often shows low adherence by cats due to the drug's bitter taste and the difficulties of forced administration. This dissertation proposes the encapsulation of itraconazole in sodium alginate spheres flavored with meat extract, aiming to improve palatability, voluntary intake, and therapeutic efficacy. The spheres were produced by ionic gelation and characterized by FTIR, Raman spectroscopy, SEM, HPLC, and fungal growth inhibition assays. The results confirmed the encapsulation, interaction between the drug and the polymer matrix, and antifungal activity of the formulations, particularly in the presence of proteins from the meat extract, suggesting a possible synergistic effect. This approach demonstrates technological feasibility and potential application programs for controlling feline sporotrichosis, offering an effective, accessible, and behaviorally adapted alternative for veterinary treatment.

**Keywords:** Feline sporotrichosis, Itraconazole, Sodium alginate, Palatability.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 01</b> – GATO PREDANDO UMA PEQUENA AVE.....	04
<b>FIGURA 02</b> – GATO SELVAGEM PREDANDO UM FLAMINGO .....	04
<b>FIGURA 03</b> – COLÔNIAS DA FORMA FILAMENTOSA DE SPOROTHRIX SPP.....	06
<b>FIGURA 04</b> – MICROSCOPIA DE LEVEDURAS DE SPOROTHRIX SPP. ....	06
<b>FIGURA 05</b> – MICROSCOPIA DE LEVEDURAS DE SPOROTHRIX SPP. ....	06
<b>FIGURA 06</b> – LÂMINAS DA FORMA FILAMENTOSA DE SPOROTHRIX SPP. ....	07
<b>FIGURA 07</b> – MAPA DE KERNEL DOS CASOS DE ESPOROTRICOSE NO RIO DE JANEIRO.....	08
ENTRE 1997 E 2007.....	08
<b>FIGURA 08</b> – GATO COM LESÃO DE ESPOROTRICOSE NA FACE .....	10
<b>FIGURA 09</b> – GATO CURADO DE ESPOROTRICOSE.....	10
<b>FIGURA 10</b> – PROCESSO DE GELIFICAÇÃO POR EXTRUSÃO .....	12
<b>FIGURA 11</b> – DESTAQUE NA FORMAÇÃO DO SISTEMA “EGG-BOX” .....	12
<b>FIGURA 12</b> – ESQUEMA GRÁFICO DE REPRESENTAÇÃO DOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE ....	14
FÁRMACOS.....	14
<b>FIGURA 13</b> – SISTEMAS DE ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS.....	14
<b>FIGURA 14</b> – REAGENTES E EQUIPAMENTOS - CÁPSULAS DE ITZ ABERTA .....	19
<b>FIGURA 15</b> -- ESQUEMA DE PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE HPLC.....	20
<b>FIGURA 16(A)</b> – PROCESSO DE SOLUBILIZAÇÃO .....	20
<b>FIGURA 16(B)</b> – PELLETS DE ITZ MACERADOS .....	20
<b>FIGURA 17</b> – SOLUBILIZAÇÃO E HOMOGENEIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES .....	21
<b>FIGURA 18</b> – PROCESSO DE EXTRUSÃO POR GOTEJAMENTO. ....	22
<b>FIGURA 19</b> - SOLUÇÃO APÓS O PROCESSO DE RETICULAÇÃO POR EXTRUSÃO .....	22
<b>FIGURA 20</b> - MATERIAL RETICULADO SECANDO E SECO SOBRE O VIDRO RELÓGIO.....	23
<b>FIGURA 21</b> - AMOSTRAS RETICULADAS ACONDICIONADAS EM TUBOS DE CENTRÍFUGA ...	23
<b>FIGURA 22</b> – ILUSTRAÇÃO DO EICFI.....	26
<b>FIGURA 23</b> – ESPECTROS FTIR DAS AMOSTRAS B5,B6,B7,B8,C5,C6,C7 E C8.....	31
<b>FIGURA 24</b> -- ESPECTROS FTIR DAS AMOSTRAS B5,B6,B7,B8,C5,C6,C7 E C8 NA .....	32
FAIXA DE 1700 - 1500 $\text{cm}^{-1}$ .....	32
<b>FIGURA 25</b> – ESPECTROS RAMAN DA AMOSTRA B6.....	34
<b>FIGURA 26</b> – ESPECTROS RAMAN DA AMOSTRA B8 .....	35
<b>FIGURA 27</b> – ESPECTROS RAMAN DA AMOSTRA C6.....	35
<b>FIGURA 28</b> -- ESPECTROS RAMAN DA AMOSTRA C8.....	36
<b>FIGURA 29</b> – ESPECTROS RAMAN DE B6,B8,C6 E C8 .....	36
<b>FIGURA 30(A)</b> -- MEV DE B6 90X. ....	40
<b>FIGURA 30(B)</b> – MEV DE B6 800X.....	40
<b>FIGURA 31(A)</b> --MEV DE C6 90X.....	40
<b>FIGURA 31(B)</b> - MEV DE C6 800X .....	40

<b>FIGURA 32(A)</b> - MEV DE B8 90X. ....	40
<b>FIGURA 32(B)</b> -- MEV DE B8 800X .....	40
<b>FIGURA 33(A)</b> – MEV DE C8 90X.....	41
<b>FIGURA 33(B)</b> - MEV DE C8 800X .....	41
<b>FIGURA 34 (A)(B)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS 2014008 DE B6 E B8.....	44
<b>FIGURA 35 (C)(D)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS 2014008 DE C6 E C8.....	44
<b>FIGURA 36 (A)(B)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS 2012064 DE B6 E B8.....	45
<b>FIGURA 37 (C)(D)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS 2012064 DE C6 E C8.....	45
<b>FIGURA 38 (A)(B)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS 2012078 DE B6 E B8.....	46
<b>FIGURA 39 (C)(D)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS 2012078 DE C6 E C8.....	46
<b>FIGURA 40 (A)(B)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS INCQS4360 DE B6 E B8.....	47
<b>FIGURA 41 (c)(d)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS INCQS4360 DE C6 E C8.....	47
<b>FIGURA 42 (A)(B)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS INCQS 40236 DE B6 E B8.....	48
<b>FIGURA 43 (C)(D)</b> -- CEPA S.BRASILIENSIS INCQS 40236 DE C6 E C8.....	48
<b>FIGURA 44</b> -- HPLC DAS SUBSTÂNCIAS PADRÕES.....	50
<b>FIGURA 45</b> -- HPLC DE C6 NO TEMPO NO TEMPO .....	51
<b>FIGURA 46</b> -- HPLC DE C8 NO TEMPO.....	51

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – VIDRARIAS E MATERIAIS DE LABORATÓRIO.....	17
<b>TABELA 2</b> – REAGENTES .....	18
<b>TABELA 3</b> – EQUIPAMENTOS.....	18
<b>TABELA 4</b> – COMPOSIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS POR 100ML DE ÁGUA .....	21
<b>TABELA 5</b> – IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS UTILIZADAS .....	25
<b>TABELA 6</b> – CONFIGURAÇÕES EXPERIMENTAIS DOS TUBOS DO EICFI .....	25
<b>TABELA 7</b> – RESULTADOS APÓS A RETICULAÇÃO.....	27
<b>TABELA 8</b> - ESTATÍSTICA DE PESO E DIÂMETRO DAS ESFERAS C6 E C8.....	28
<b>TABELA 9</b> – ESTATÍSTICA DE NÚMERO DE ESFERAS DE C6 E C8 POR LOTE DE 30ML DE.....	
ÁGUA.....	30
<b>TABELA 10</b> – ESTATÍSTICA DO PESO DO FÁRMACO COMERCIAL E DO PESO DO FÁRMACO... PURO EM UNIDADES DE C6 E C8.....	30
<b>TABELA 11</b> –RESULTADOS DE FTIR E IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS QUÍMICOS DO.....	
ALGINATO.....	37
<b>TABELA 12</b> – RESULTADO RAMAN E GRUPOS QUÍMICOS CARACTERÍSTICOS .....	32
<b>TABELA 13</b> -- AVALIAÇÃO VISUAL DE PROLIFERAÇÃO FÚNGICA DE B6 E B8.....	42
<b>TABELA 14</b> -- AVALIAÇÃO VISUAL DE PROLIFERAÇÃO FÚNGICA DE C6 E C8.....	43
<b>TABELA 15</b> -- HPLC DAS AMOSTRAS DE ITZ, EXTRATO DE CARNE E ALGINATO.....	49
<b>TABELA 16</b> -- RESULTADO HPLC DE C6 NO TEMPO.....	49
<b>TABELA 17</b> -- RESULTADO HPLC DE C8 NO TEMPO.....	50



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AMSEC. Mediated Size Exclusion Chromatography
- BOD. Demanda Bioquímica de Oxigênio
- CAM. Central Analítica Multiusuário
- CAPES. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CEUA. Comissão de Ética no Uso de Animais
- CETEM. Centro de Tecnologia Mineral
- CN. Controle Negativo
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute
- CP. Controle Positivo
- DNA. Ácido desoxirribonucleico
- EMA. Agência Europeia de Medicamentos
- EICFI. Ensaio de Inibição de Crescimento Fúngico
- FTIR. Fourier Transform Infrared Spectroscopy
- FDA. Food And Drug Administration
- HPLC. High Performance Liquid Chromatography
- INS. Sistema Internacional de Numeração
- INCQS. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
- ITZ. Itraconazol
- IV. Instituto de Veterinária
- IT. Instituto de Tecnologia
- IQ. Instituto de Química
- IC. Intervalo de Confiança
- ITS. Internal Transcribed Spacer
- LINDEN. Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas
- MEV. Microscopia Eletrônica de Varredura
- MIC. Minimum Inhibitory Concentration
- MOPS. 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid
- NF. National Formulary
- Ph. Eur.. European Pharmacopoeia
- PPGEQ. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
- RT. Tempo de Retenção
- RPMI. Roswell Park Memorial Institute 1640 Medium
- SES-RJ. Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro

- TAS2R. Taste receptor, type 2, member R
- UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina
- UFRRJ. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- USP. United States Pharmacopeia

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>2</b>
2.1 <i>Paladar e a administração oral de medicamentos aos gatos.....</i>	<i>2</i>
2.2 <i>O Complexo Sporothrix Schrnckii.....</i>	<i>4</i>
2.3 <i>Esporotricose felina no rio de janeiro.....</i>	<i>7</i>
2.4 <i>Alginato de Sódio.....</i>	<i>10</i>
2.5 <i>Sistemas de Liberação prolongada a base de alginato para tratamentos.....</i>	<i>13</i>
<i>antifúngicos.....</i>	<i>13</i>
<b>3.0 OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
3.1 <i>Objetivo Geral.....</i>	<i>16</i>
3.2 <i>Objetivo específico.....</i>	<i>17</i>
<b>4.0 MATERIAIS .....</b>	<b>17</b>
<b>5.0 MÉDOTOS.....</b>	<b>19</b>
5.1 <i>Análises físico-químicas, produção e classificação.....</i>	<i>19</i>
5.2 <i>Coleta e processamento de dados.....</i>	<i>24</i>
5.2.1 <i>Pesagem e medições.....</i>	<i>24</i>
5.2.2 <i>Ensaio de Inibição do crescimento fúngico in vitro.....</i>	<i>24</i>
<b>6.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>26</b>
6.1 <i>PRODUÇÃO DO MATERIAL RETICULADO.....</i>	<i>28</i>
6.2 <i>Análise estatística do peso e dimensão das esferas.....</i>	<i>31</i>
6.3 <i>Espectroscopia no infravermelho (FTIR).....</i>	<i>31</i>
6.4 <i>Espectroscopia RAMAN.....</i>	<i>34</i>
6.5 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....</i>	<i>39</i>
6.6 <i>Ensaio de inibição do crescimento fúngico in vitro (EICFI).....</i>	<i>42</i>
6.7 <i>Análise HPLC.....</i>	<i>48</i>
<b>7.0 CONCLUSÕES .....</b>	<b>53</b>
<b>8.0 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>54</b>
<b>9.0 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>56</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A administração oral de medicamentos em felinos domésticos apresenta desafios significativos devido às particularidades fisiológicas e comportamentais da espécie. Gatos possuem um repertório gustativo amargo bem desenvolvido, sustentado por pelo menos sete receptores *Taste receptor, type 2, member R* (TAS2R) funcionalmente ativos, capazes de reconhecer compostos de diversas estruturas químicas, o que contraria a hipótese de perda adaptativa do amargor em carnívoros estritos (Lei et al., 2015). Essa sensibilidade se traduz em elevada recusa de formulações amargas, com estudos clínicos apontando rejeição de 84,5% para soluções aquosas e 58,8% para preparações oleosas aromatizadas, mesmo após período de habituação. Mini comprimidos neutros, quando oferecidos sem disfarce alimentar, são ingeridos por menos da metade dos animais (Nichelason et al., 2022; Savolainen et al., 2019). Além disso, pesquisas com tutores indicam alta frequência de resistência física durante a administração forçada, incluindo mordidas, arranhões e cuspidas (Taylor et al., 2022).

Diante dessas barreiras, o desenvolvimento de formulações palatáveis e de fácil administração tornou-se prioridade no tratamento de felinos. Estratégias como o uso de excipientes nutracêuticos, exemplificado por mini tabletes de amlodipina contendo L-lisina, mostraram-se eficazes na redução da percepção de amargor sem comprometer a liberação do fármaco (Ekweremadu et al., 2020). Complexos de  $\beta$ -ciclodextrina também têm sido amplamente utilizados para mascaramento de sabor, embora sua eficácia dependa da proporção  $\beta$ -ciclodextrina:fármaco e do pH (Adamkiewicz; Szeleszczuk, 2023). Avanços recentes incluem micro e nano encapsulação polimérica, utilizando matrizes de alginato, lipídios ou proteínas para impedir o contato do princípio ativo com as papilas gustativas e, em alguns casos, modular a cinética de absorção (Mirzapour-kouhdasht et al., 2023).

Normativamente, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) exige comprovação objetiva de palatabilidade para novos fármacos veterinários, recomendando painéis sensoriais padronizados e dispositivos *in vitro*, como línguas eletrônicas (European Medicines Agency, 2012). Entretanto, há carência de métodos validados especificamente para felinos (Nichelason et al., 2022; Savolainen et al., 2019), o que limita a aplicação prática dessas exigências.

Paralelamente, destaca-se a relevância de doenças fúngicas emergentes na medicina veterinária, com ênfase na esporotricose, micose subcutânea causada por espécies do complexo *Sporothrix schenckii*. Inicialmente descrito no final do século XIX por Benjamin Schenck, esse complexo engloba fungos dimórficos capazes de alternar entre formas miceliais e leveduriformes, característica fundamental para sua patogenicidade (Barros, 2011). Avanços em biologia molecular revelaram que o antigo conceito de *S. schenckii* englobava múltiplas

espécies crípticas, incluindo *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. luriei* (Rodrigues et al., 2016). Entre elas, *S. brasiliensis* destaca-se pela alta virulência, maior adesão celular, invasão tecidual e evasão imunológica, sendo responsável por surtos hiperendêmicos no Brasil, especialmente no estado do Rio de Janeiro (Rodrigues et al., 2014; Gremião et al., 2017).

A epidemia de esporotricose felina no Rio de Janeiro, sustentada por uma população clonal de *S. brasiliensis*, contabilizou mais de 12 mil casos animais e 9,5 mil casos humanos entre 2013 e 2020 (Ferreira et al., 2025). A transmissão ocorre principalmente por arranhaduras e mordidas de gatos infectados, mas também pode envolver gotículas respiratórias, ampliando os riscos de contágio (Bastos et al., 2022). Fatores como alta densidade de gatos errantes, ausência de controle reprodutivo e baixa cobertura de serviços veterinários contribuem para a manutenção da endemia (Falcão et al., 2022).

Apesar de a esporotricose ser de notificação obrigatória no Rio de Janeiro desde 2013 (SES-RJ, 2013), a vigilância permanece fragmentada entre os setores humano e animal, prejudicando a eficácia das medidas de controle. Estratégias como castração em massa, campanhas de conscientização, ampliação da rede diagnóstica e tratamento gratuito, associadas a protocolos terapêuticos padronizados, são essenciais para conter a expansão da zoonose.

Diante desse cenário, este trabalho propõe o desenvolvimento de um sistema de encapsulamento do itraconazol em esferas de alginato de sódio saborizadas com extrato de carne, buscando unir a eficácia antifúngica do fármaco à melhoria da aceitação oral pelos gatos. A escolha da matriz polimérica baseia-se em sua biocompatibilidade, capacidade de formar géis estáveis e potencial para mascarar o sabor amargo, enquanto a adição de extrato de carne visa aumentar a palatabilidade e propiciar a administração oral direta e voluntária. A investigação contemplará análises físico-químicas, espectroscópicas e microbiológicas, bem como testes de liberação e de estabilidade, visando estabelecer um protótipo seguro, eficaz e adaptado às particularidades da espécie felina.

## **2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Paladar dos gatos e a administração oral de medicamentos**

Os gatos domésticos dispõem de um repertório gustativo amargo bem desenvolvido, composto por pelo menos sete receptores TAS2R funcionalmente ativos (Lei et al., 2015), esses receptores respondem a compostos de estruturas químicas diversas, revelando ampla plasticidade sensorial e contrariando a hipótese de perda adaptativa do amargor em carnívoros estritos.

Os gatos domésticos (*Felis catus*) mantêm, mesmo após a domesticação, a condição de carnívoros estritos, o que impõe exigências particulares ao manejo alimentar. Diferente de animais onívoros, eles necessitam que sua dieta seja baseada em ingredientes de origem animal, com alta concentração proteica e lipídica, e baixo teor de carboidratos, pois alimentos com predominância vegetal não atendem às suas preferências nem às suas necessidades nutricionais (Zoran, 2002; Plantinga et al., 2011). Além disso, estudos apontam que os gatos apresentam aversão natural a sabores amargos, o que limita a aceitação de dietas com aditivos ou ingredientes de perfil gustativo inadequado (Hewson-Hughes et al., 2016). Nesse sentido, compreender o caráter estritamente carnívoro desses animais é fundamental para formular alimentos palatáveis e nutricionalmente adequados, capazes de garantir tanto a aceitação quanto a manutenção da saúde ao longo da vida. Nas figuras 1 e 2 ilustram como o gato doméstico conserva os hábitos de caça dos gatos selvagens.

A magnitude desse obstáculo comportamental é evidente em ensaios de aceitação clínica: 84,5 % dos gatos recusam formulações aquosas amargas e 58,8 % rejeitam preparações oleosas aromatizadas, mesmo após período de habituação (Nichelason *et al.*, 2022). Mini comprimidos neutros, quando oferecidos sem disfarce alimentar, são ingeridos por menos de 50 % dos animais (Savolainen *et al.*, 2019). Além disso, pesquisa on-line com mais de 1 200 tutores relatou 77 % de mordidas/arranhões e 78,7 % de cuspidas durante a administração direta de medicamentos (Taylor *et al.*, 2022).

Diante desse cenário, formulações palatáveis são prioridade na medicina felina. Mini tablets de amlodipina contendo L-lisina reduziram a percepção de amargor sem alterar a cinética de dissolução *in vitro*, demonstrando o potencial de excipientes nutracêuticos como flavorizantes (Ekweremadu et al., 2020). No mascaramento de sabor, os complexos de inclusão com  $\beta$ -ciclodextrina atuam sequestrando transitoriamente o fármaco na saliva e reduzindo a fração livre que alcança os receptores amargos, efeito cuja magnitude depende da razão molar  $\beta$ -ciclodextrina : fármaco, da constante de estabilidade do complexo e do pH (Adamkiewicz; Szeleszczuk, 2023).

Emerge, ainda, o uso de micro e nano encapsulação polimérica: partículas de alginato, lipídicas ou proteicas impedem o contato do fármaco com papilas gustativas, podendo também modular a cinética de absorção gástrica (Mirzapour-Kouhdasht *et al.*, 2023).

Do ponto de vista normativo, a *European Medicines Agency* (EMA) já exige comprovação objetiva de palatabilidade para novos medicamentos veterinários, recomendando painéis sensoriais padronizados e dispositivos *in vitro* como línguas eletrônicas (European Medicines Agency, 2012). Embora isso impulsione um desenvolvimento mais robusto, a

revisão bibliográfica constatou uma carência de métodos validados especificamente para felinos (Nichelason *et al.*, 2022; Savolainen *et al.*, 2019).

Apesar dos avanços, persiste uma lacuna crítica: É preciso formulações destinadas à administração voluntária, sem disfarce alimentar, pois a maioria das estratégias atuais depende da mistura com alimento — prática frequentemente ineficaz (Savolainen *et al.*, 2019; Taylor *et al.*, 2022).

Figura 1 – Gato predando uma pequena ave\*



Fonte: Terra Incognita, 2022.

Figura 2- Gato selvagem predando um flamingo\*\*



Fonte; Stogsdill, 2022

\*Os gatos domésticos extinguiram mais animais do que qualquer outro predador - Fonte: Lopez-Blanco, Moisés 2024. \*\* Foto premiada em concurso internacional de imagens da natureza

## 2.2 O Complexo *Sporothrix Schenckii*

O gênero *Sporothrix* foi inicialmente descrito no final do século XIX por Benjamin Schenck, a partir de um caso humano com lesões cutâneas nodulares (Barros et al., 2011). *Sporothrix schenckii* foi por décadas considerado a única espécie de importância clínica dentro do gênero, sendo classificado como fungo dimórfico saprofítico, amplamente distribuído no solo, plantas, matéria orgânica em decomposição e ambientes úmidos. Sua principal característica biológica é a termodimorfia: cresce na forma filamentosa (micélio septado) em temperatura ambiente (25–28 °C) e converte-se à forma leveduriforme em temperaturas fisiológicas (35–37 °C), o que está associado à sua capacidade de sobreviver e multiplicar-se em tecidos animais. Essa mudança morfológica envolve a expressão diferencial de genes, alteração na composição da parede celular e na antigenicidade, influenciando tanto a patogenicidade quanto a evasão da resposta imune (Barros et al., 2011). O fungo apresenta

grande plasticidade ecológica, sendo isolado de substratos vegetais como musgos, roseiras e feno, bem como de superfícies contaminadas por secreções de animais infectados (Rodrigues et al., 2016). As figuras 3, 4, 5 e 6 ilustram as formas de levedura e filamentosa dos fungos *Sporothrix spp.*

A evolução das técnicas de biologia molecular, especialmente o sequenciamento de regiões ITS (*Internal Transcribed Spacer*) e genes como calmodulina e  $\beta$ -tubulina, permitiu a reclassificação taxonômica do gênero *Sporothrix*. Essas análises revelaram que, o que antes se designava genericamente como *Sporothrix schenckii* consistia, na verdade, em um complexo de espécies crípticas com diferenças genéticas, fenotípicas e epidemiológicas significativas (Rodrigues et al., 2016). Atualmente, reconhecem-se espécies como *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. luriei* como patógenos primários, além de outras espécies ambientais não patogênicas. Essa diferenciação tem implicações diretas para a saúde pública e veterinária, pois algumas espécies apresentam maior contágio, resistência intrínseca a antifúngicos e padrões epidemiológicos específicos (Teixeira et al., 2015; Gremião et al., 2017).

Identificado como espécie distinta em 2007, *Sporothrix brasiliensis* emergiu como o agente mais predominante de esporotricose zoonótica no Brasil, especialmente em áreas urbanas e periurbanas com alta densidade de felinos. *S. brasiliensis* apresenta capacidade aumentada de adesão celular, invasão tecidual e evasão imunológica, além de induzir respostas inflamatórias mais intensas que outras espécies do complexo (Rodrigues et al., 2014). Sua disseminação está fortemente associada à transmissão direta entre gatos, que podem carregar elevadas cargas fúngicas em lesões ulceradas e secreções, favorecendo o contágio de outros animais e humanos (Gremião et al., 2017). Dados epidemiológicos indicam que, em surtos no estado do Rio de Janeiro, *S. brasiliensis* foi responsável por mais de 90% dos isolados identificados, com tendência de expansão para outras regiões e países vizinhos (Rodrigues et al., 2014; Gremião et al., 2017). Além de sua elevada virulência, a espécie apresenta menor suscetibilidade *in vitro* a alguns antifúngicos, como itraconazol (em regimes subterapêuticos) e anfotericina B (em casos refratários), fato que reforça a necessidade de protocolos terapêuticos bem estruturados, diagnóstico precoce e medidas integradas de vigilância e controle populacional felino (Rodrigues et al., 2014; Gremião et al., 2017).



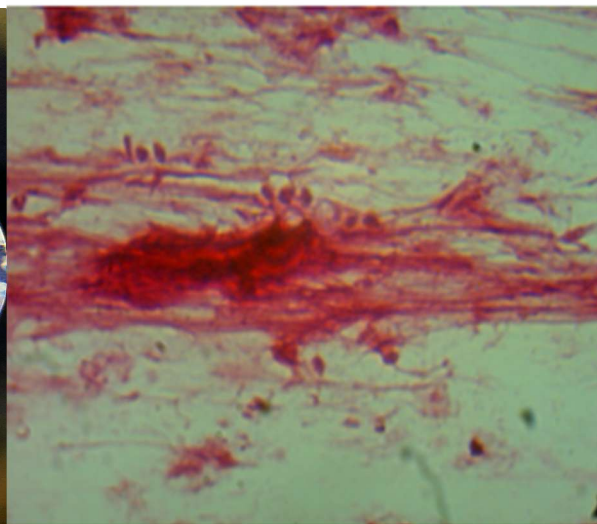
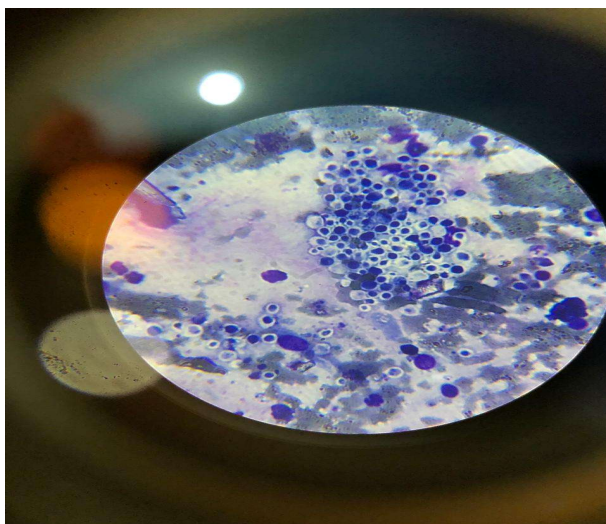
Figura 3 - Colônias da forma filamentosa de *Sporothrix* spp.\*



\*Cultivo em ágar Sabouraud com cloranfenicol a 25°C – O fungo produz melanina, e por isso as colônias ganham coloração escura com o passar dos dias.

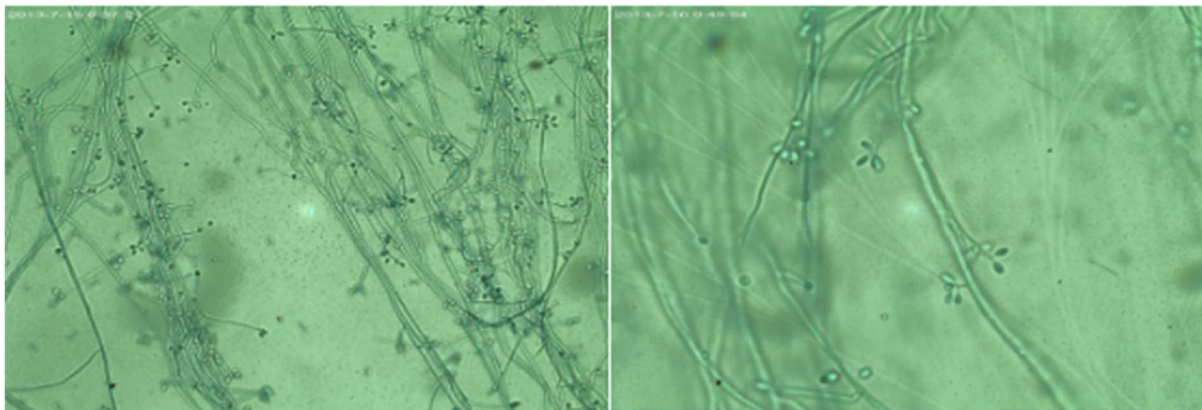
Fonte: UFRRJ, acervo institucional, [s.d].

Figura 4 - Microscopia de leveduras de *Sporothrix* spp.\* Figura 5 - Microscopia de leveduras de *Sporothrix* spp.\*\*



Fonte: UFRRJ, acervo institucional, [s.d].\*forma parasitária em lâmina corada com panótico rápido (1000x) lâmina feita a partir de swab de lesão em felino. \*\*forma parasitária em lâmina corada com fucsina (1000x) lâmina feita a partir de swab de lesão em felino.

Figura 6 - Lâminas da forma filamentosa de *Sporothrix* spp.\*



Fonte: UFRRJ, acervo institucional, [s.d].\*coradas com Lactofenol Azul de Algodão (400x) – foram feitas a partir de colônias cultivadas a 25°C. Hifas hialinas septadas, com conidióforos curtos e conídios em forma lágrima em arranjos de margaridas.

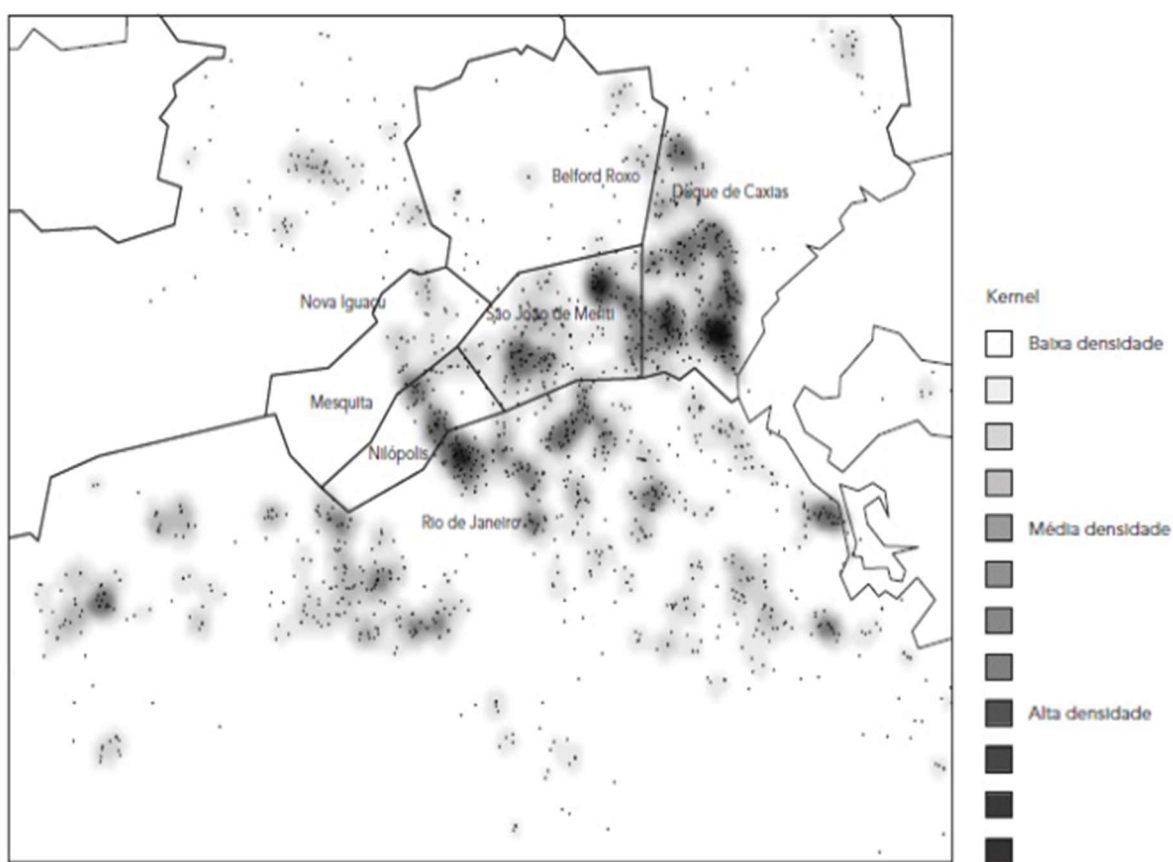
### 2.3 Esporotricose felina no Rio de Janeiro

A epidemia hiperendêmica de esporotricose no Estado do Rio de Janeiro persiste há mais de duas décadas, sustentada por uma população clonal altamente virulenta de *Sporothrix brasiliensis*, responsável por dezenas de milhares de casos de esporotricose em felinos e humanos desde o final da década de 1990. Análises genômicas desses isolados revelam baixa variabilidade intraespecífica e forte sinal de expansão recente, reforçando a hipótese de um surto clonal contínuo. Essa uniformidade genética favorece elevada adaptação ao hospedeiro felino e explica a alta taxa de ataque observada em populações urbanas de gatos (Boechat *et al.*, 2022).

A esporotricose felina, causada sobretudo pelo *Sporothrix brasiliensis*, é considerada hiperendêmica na Região Metropolitana do Rio de Janeiro, com 12.532 casos animais e 9.552 humanos notificados entre 2013 e 2020, evidenciando forte ligação zoonótica (Ferreira *et al.*, 2025). Essa doença emergente tem sua proliferação favorecida pelo convívio intenso entre gatos e humanos em ambientes urbanos periféricos, pelo aumento de populações felinas sem controle reprodutivo e pela transmissão eficaz via arranhaduras e mordidas, em especial em comunidades com menor acesso a serviços veterinários e de saúde (Scientific Society Journal, 2024; Vet. Zootec., 2022). No Rio de Janeiro, desde 2013, a esporotricose é doença de notificação obrigatória, o que tem permitido alguma organização da vigilância epidemiológica; além disso, o Centro de Controle de Zoonoses recebe denúncias por meio da central 1746 e dispõe de inspeções para animais suspeitos (SES-RJ, 2013; Prefeitura do Rio, 2025). Contudo, a vigilância segue fragmentada entre os setores humano e animal, o que dificulta a compreensão completa da dinâmica da doença e a efetividade das medidas (Ferreira *et al.*, 2025). Tornam-se

urgentes ações integradas, como programas permanentes de castração e controle populacional de felinos, campanhas de conscientização comunitária e vacinação, ampliação das redes de diagnóstico precoce e tratamento gratuito com acompanhamento clínico, atendendo às áreas mais vulneráveis e periféricas, para contenção eficaz da zoonose. A figura 7 ilustra, através do mapa de kernel, os municípios do Rio de Janeiro mais afetados pela zoonose no período de 1997 a 2007, os municípios mais afetados foram: São João de Meriti, Duque de Caxias, Nilópolis, Nova Iguaçu, Mesquita, Belford Roxo e Rio de Janeiro.

Figura 7 - Mapa de kernel dos casos de esporotricose, entre 1997-2007\*



Fonte: Silva et al., 2012. \*segundo município de residência na Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, com destaque das localidades de transmissão intensa.

Gatos sintomáticos carregam cargas fúngicas significativamente maiores em cavidade oral e garras, enquanto felinos saudáveis, ainda que expostos ao mesmo ambiente, raramente apresentam colonização detectável, confirmando o papel do gato infectado como reservatório e fonte primária de infecção. Esses dados justificam triagem microbiológica sistemática de gatos com lesões cutâneas suspeitas (Macêdo-Sales *et al.*, 2018).

Embora o contato traumático (arranhões e mordidas) continue a via clássica de contágio, pesquisa experimental mostrou que gotículas respiratórias originadas de espirros de gatos doentes podem transportar leveduras viáveis de *S. brasiliensis*, ampliando os cenários de risco e exigindo protocolos de biossegurança como uso de máscaras, higienização de superfícies e ventilação adequada (Bastos *et al.*, 2022). A detecção esporádica de ácido desoxirribonucleico (DNA) de *S. brasiliensis* no solo urbano indica reservatório ambiental secundário, porém com relevância epidemiológica inferior à transmissão gato-gato ou gato-humano (Rossow *et al.*, 2020).

Do ponto de vista clínico, a doença se manifesta majoritariamente como nódulos e úlceras cutâneas na cabeça, membros e cauda, frequentemente acompanhadas de rinite fúngica com espirros e secreção nasal (Gremião *et al.*, 2015). Lesões mucosas ou disseminação sistêmica — acometendo olhos, pulmões e linfonodos — ocorrem em cerca de 10–20 % dos casos felinos, particularmente naqueles com carga fúngica elevada ou coinfeções bacterianas (Gremião *et al.*, 2015). Análises espaço-temporais evidenciam expansão centrífuga dos focos para bairros periféricos socioeconomicamente vulneráveis, onde alta densidade de gatos errantes, subnotificação de casos e baixa cobertura de serviços veterinários dificultam o controle (Falcão *et al.*, 2022).

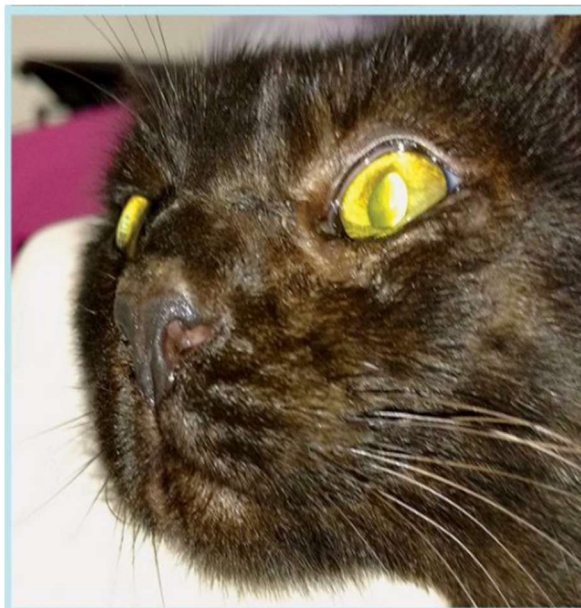
O itraconazol (ITZ) consolidou-se como o fármaco de primeira escolha e padrão-ouro no tratamento da esporotricose felina pela elevada eficácia clínica, segurança e boa tolerabilidade em regimes prolongados; diretrizes e sumários terapêuticos recomendam ITZ por via oral (5–10 mg/kg/dia) até a remissão completa e por ao menos 30 dias adicionais para reduzir recidivas (Gull; Abuelo, 2024; Lloret *et al.*, 2013). Em ensaio clínico randomizado com 166 gatos, o ITZ permaneceu a base do tratamento e a associação com iodeto de potássio aumentou a chance de cura e encurtou o tempo terapêutico frente à monoterapia, reforçando o papel do ITZ como pilar terapêutico (Reis *et al.*, 2024). Ainda há a melhor relação eficácia–segurança do ITZ frente a alternativas como cetoconazol (mais hepatotóxico) e anfotericina B (nefrotoxicidade), reservando estas para casos específicos ou refratários (Gremião *et al.*, 2022). Em conjunto, recomendações, evidência clínica e perfil farmacológico sustentam o ITZ como opção mais efetiva e segura para o manejo de rotina da esporotricose felina (Gull; Abuelo, 2024; Gremião *et al.*, 2022; Reis *et al.*, 2024). A figura 8 ilustra gatos com esporotricose e a remissão da doença.



Figura 8 – Gato com lesão de esporotricose na face\*



Figura 9 – Gato curado da esporotricose\*\*



Fonte: Soares, 2018. \*Paciente felino do sexo masculino de um ano no momento do primeiro atendimento para tratar esporotricose. \*\*Paciente felino do sexo masculino de um ano com remissão completa das lesões após 65 dias de tratamento.

À luz da persistência do contágio, estratégias *One Health* tornam-se essenciais: integração de vigilância veterinária, humana e ambiental; padronização diagnóstica com cultura + PCR em tempo real; campanhas de castração para reduzir brigas; educação sobre posse responsável e profilaxia pós-exposição; e bancos de dados unificados para mapear *hotspots* em tempo real (Rossow *et al.*, 2020; Falcão *et al.*, 2022; Macêdo-Sales *et al.*, 2018).

Em síntese, a esporotricose felina no Rio de Janeiro configura um modelo de micose zoonótica emergente mantida por patógeno clonal, alta densidade felina urbana e vulnerabilidades socioeconômicas. O controle efetivo depende da combinação de terapias antifúngicas otimizadas, intervenções de saúde pública baseadas em evidências e estrita adesão a princípios *One Health* para interromper a transmissão zoonótica e prevenir novas ondas epidêmicas (Rossow *et al.*, 2020).

## 2.4 Alginato de sódio

O alginato de sódio (Na-Alg) é um polissacarídeo aniônico naturalmente presente na parede celular de diversas algas marrons pertencentes às ordens *Laminariales* e *Fucales*. A biomassa dessas algas, colhida em regiões temperadas ou subárticas, sofre inicialmente um processo de limpeza para remoção de sais e areia, seguido de desmineralização ácida branda. Em etapa subsequente, aplica-se extração alcalina (geralmente com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaOH}$  a 60–80

°C), solubilizando o polissacarídeo em forma de alginato sódico. A solução viscosa obtida é filtrada a vácuo e submetida a precipitação controlada, convertendo-se primeiro em alginato de cálcio, depois novamente em alginato de sódio por troca iônica, antes da secagem final por atomização ou liofilização. Fatores como espécie da alga, época de colheita e intensidade de pré-tratamento repercutem diretamente no rendimento (20–45 % p/p) e na proporção entre blocos gulurônicos (G) e mannurônicos (M) (Rahman et al., 2024).

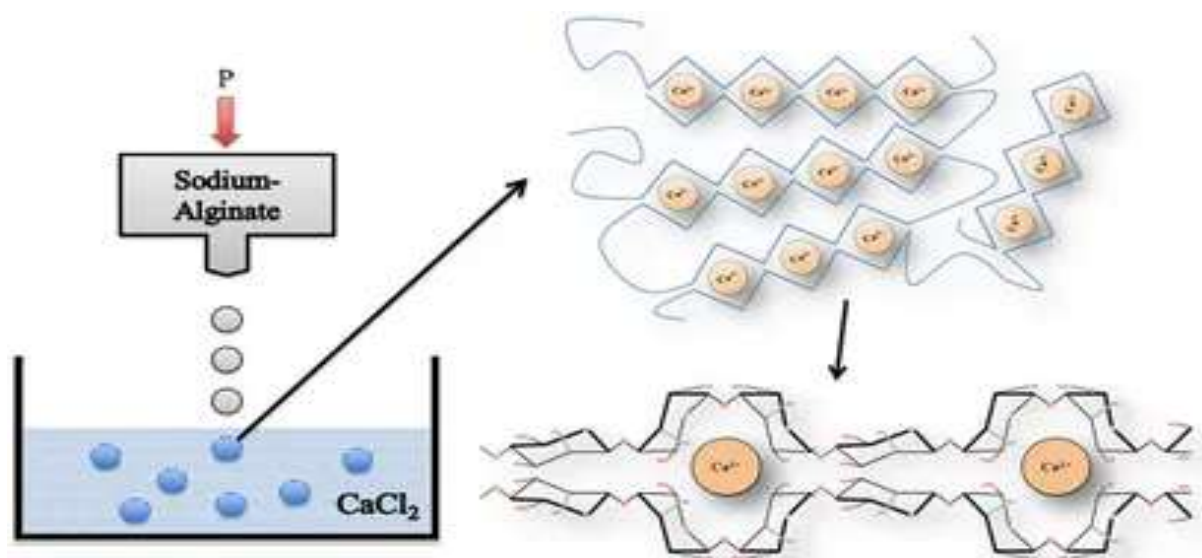
Quimicamente, o Na-Alg consiste em unidades repetitivas de ácido  $\beta$ -D-manurônico (1→4) e ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (1→4) distribuídas em blocos (MM, GG e GM). Essa microarquitetura confere grande polidispersidade estrutural: alginatos ricos em blocos GG formam redes mais rígidas quando expostos a cátions divalentes, enquanto frações MM elevadas resultam em soluções de alta viscosidade, porém géis mecanicamente frágeis. A razão M/G pode variar de 0,4 a 2,0 dependendo da espécie, sendo que valores inferiores a 0,6 costumam produzir hidrogéis com módulo de armazenamento superior a 100 kPa, adequados a aplicações em engenharia óssea (Wang et al., 2025).

O fenômeno de gelificação iônica constitui o ponto chave da versatilidade tecnológica do Na-Alg. Em meio fisiológico, cátions  $\text{Ca}^{2+}$  difundem-se pela matriz e se coordenam a pares de grupos carboxilato adjacentes em segmentos GG, originando a chamada estrutura “egg-box”. A densidade de junções, determinada pela concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  e pela fração G, controla porosidade, taxa de intumescimento e velocidade de degradação do hidrogel. Como demonstrado por análises, microscopia, ajustes de pH, adição de quelantes fosfatados ou emprego de cátions concorrentes ( $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ) possibilitam modular reversivelmente as propriedades mecânicas e a difusão de solutos, credenciando o alginato a sistemas responsivos de fármacos (Ren et al., 2024).

O método de extrusão, também chamado de *simple dripping*, é uma das técnicas mais utilizadas para a produção de partículas de alginato por gelificação iônica com cálcio, dada sua simplicidade e ampla aplicação em escala laboratorial. Nesse processo, a solução de alginato é extrudada gota a gota por meio de uma seringa ou bomba peristáltica diretamente em um banho de cloreto de cálcio, onde ocorre a gelificação imediata da superfície das gotas. O tamanho e a morfologia das esferas obtidas são influenciados por fatores como viscosidade da solução, diâmetro da agulha, altura de queda e taxa de fluxo da extrusão, podendo variar tipicamente na faixa milimétrica. Apesar de gerar partículas relativamente grandes e apresentar limitações quanto à escalabilidade, o método de extrusão é amplamente empregado para encapsular células, óleos, enzimas, extratos vegetais e compostos bioativos, sendo uma abordagem versátil

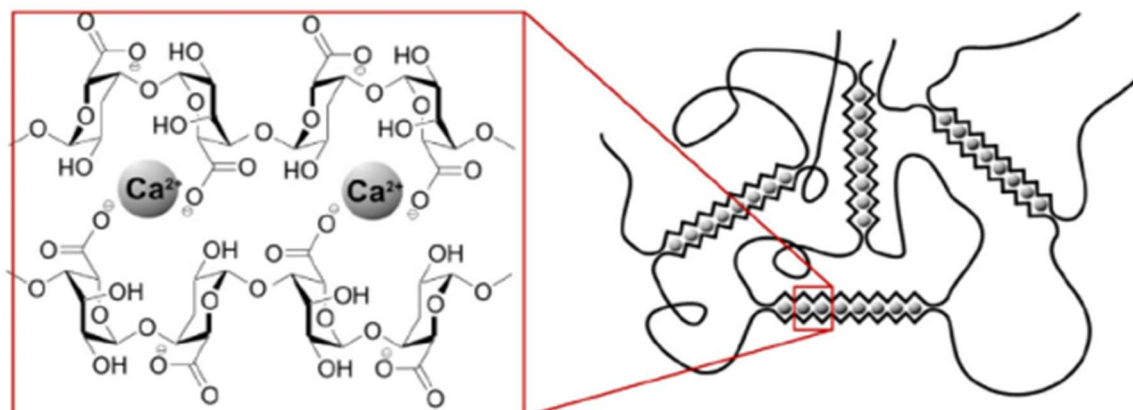
e eficiente para estudos de encapsulamento em sistemas de alginato (Ching S.H. et al., 2017). A figura 9 ilustra o processo de gelificação por extrusão.

Figura 10 - Processo de gelificação por extrusão\*.



Fonte: Adaptado de Juarez *et al.*, 2014. \*formação de sistema “egg-box” no processo de gelificação por extrusão.

Figura 11 – Destaque na formação do sistema “egg-box”



Fonte: Adaptado de Juarez *et al.*, 2014.

Do ponto de vista biológico, o Na-Alg exibe citotoxicidade mínima, capacidade hemostática moderada — devida à liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  — e raros relatos de reação imunológica significativa *in vivo*. Esse histórico de segurança levou à sua inclusão em três compêndios normativos de referência.: A *United States Pharmacopeia (USP)*, *National Formulary (NF)* e a USP 47–NF 42, 2024. Esta que publica a monografia: “Sodium Alginate”. A qual fixa critérios oficiais de identidade, espectro IR, pureza, cinzas sulfatadas, metais pesados e viscosidade.

Qualquer insumo rotulado com “qualidade USP” deve atender a estes requisitos, o que facilita a submissão de dossiês à *Food and Drug Administration* (FDA). De forma análoga, a *European Pharmacopeia* (Ph. Eur.) (Council of Europe, 2023) lista o polímero como excipiente e agente de suspensão, definindo métodos validados e limites de contaminantes exigidos para o registro de medicamentos nos 39 Estados signatários da Convenção Farmacopeica Europeia. Já o código E-401, atribuído pelo Regulamento (CE) n.º 1333/2008 e pelo Sistema Internacional de Numeração (INS) de aditivos alimentares, atesta que o alginato de sódio foi submetido a avaliação toxicológica e pode ser empregado como espessante e gelificante em alimentos, sob regime *quantum satis*. A presença simultânea em USP, Ph. Eur. e na lista E-401 comprova um padrão de qualidade internacional, simplifica a aprovação regulatória de novos produtos e garante reprodutibilidade. Além disso, a biodegradação do Na-Alg ocorre por troca iônica com cátions monovalentes e pela ação de alginases endógenas ou bacterianas, resultando em meias-vidas que variam de poucos dias, em géis pouco reticulados, a várias semanas, em hidrogéis densos. Esses atributos, somados à robusta aceitação regulatória, sustentam aplicações que vão de curativos para feridas exsudativas e *scaffolds* tridimensionais para regeneração de cartilagem a biotintas para impressão 3D e matrizes encapsulantes de fármacos hidrofóbicos, probióticos ou células vivas (Lai et al., 2024).

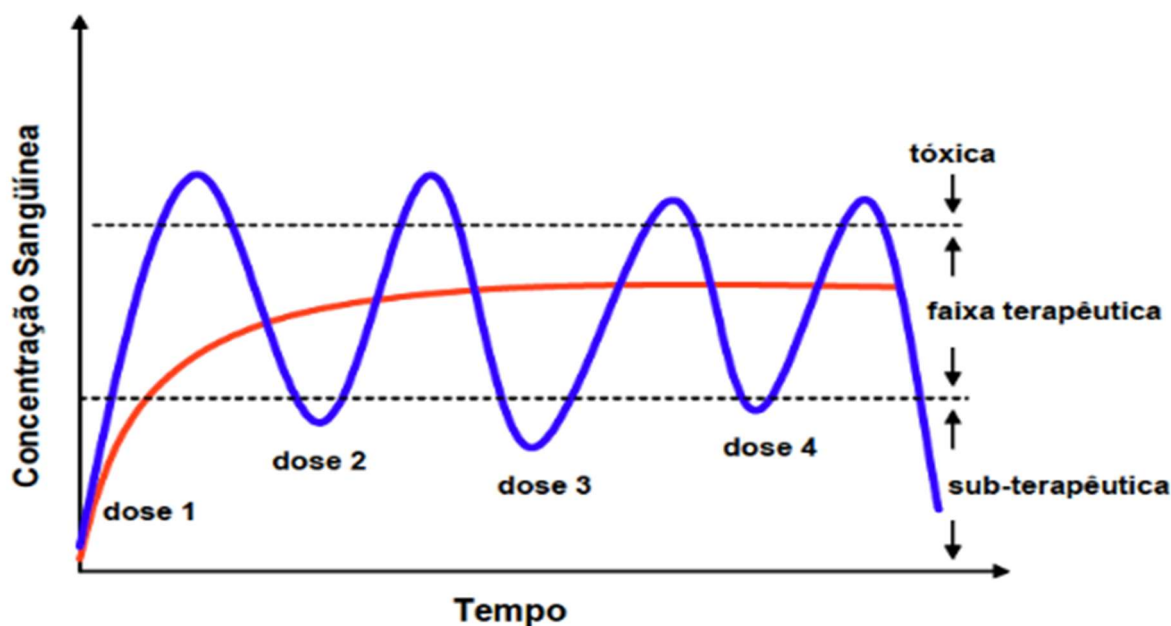
## **2.5 Sistemas de liberação prolongada a base de alginato para tratamentos antifúngicos**

Historicamente, os sistemas clássicos de administração de fármacos, como comprimidos e soluções de liberação imediata, dominaram a terapêutica farmacológica ao longo do século XX, ainda que limitados pelo controle deficiente das concentrações plasmáticas e pela necessidade de múltiplas doses diárias (Langer, 1990). O avanço da ciência dos materiais possibilitou a introdução dos sistemas de liberação controlada, nos quais a cinética de liberação é modulada para reduzir oscilações plasmáticas, minimizar efeitos adversos e otimizar a adesão ao tratamento (Siepmann; Siepmann, 2008). Dentro desse contexto, destacam-se os sistemas multiparticulados, compostos por múltiplas unidades discretas (como grânulos, pellets e microesferas) que oferecem maior homogeneidade da liberação no trato gastrointestinal; um exemplo relevante é o itraconazol comercial, que se apresenta em cápsulas contendo pellets recobertos para modular sua dissolução. Em paralelo, os sistemas matriciais — baseados na dispersão do fármaco em uma matriz polimérica que regula sua difusão e liberação — consolidaram-se como estratégia versátil e de grande aplicabilidade, sendo o modelo adotado no presente trabalho para a formulação de esferas de alginato (Park, 2014). Dessa forma, a



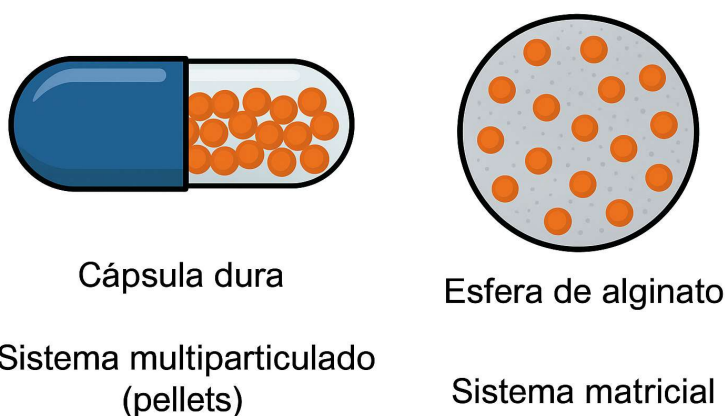
evolução de sistemas clássicos para estratégias controladas, incluindo multiparticulados e matriciais, representa um marco na farmacoterapia moderna, unindo eficácia clínica, segurança e inovação tecnológica. As figuras 12, 13 e 14 ilustram sistemas matriciais e multiparticulados de fármacos e um esquema gráfico do sistema de liberação controlada em comparação com a liberação imediata.

Figura 12 – Esquema gráfico de representação dos sistemas de liberação\*



Fonte: Primo 2006.\*linha azul (terapia clássica de liberação imediata), linha vermelha (terapia de liberação controlada)

Figura 13 – Sistemas de administração de fármacos\*



\*Esferas amarelas representam o fármaco ITZ. O sistema multiparticulados em cápsula dura é uma representação do ITZ comercial. No sistema matricial está representado o alginato com o ITZ encapsulado em seu interior – proposta desse trabalho.

Fonte: O autor.

O encapsulamento de fármacos em matrizes de alginato de cálcio tem sido amplamente investigado como uma abordagem eficiente para superar barreiras farmacocinéticas e otimizar a administração de agentes antifúngicos. A versatilidade desse biopolímero permite sua aplicação em diferentes formatos, como micro e nanopartículas, filmes, géis e revestimentos, que podem ser adaptados de acordo com as necessidades do tratamento. Esses sistemas apresentam vantagens expressivas, como a redução da toxicidade, a diminuição da dose necessária, o prolongamento do tempo de ação e a melhora da biodisponibilidade oral de diversos antifúngicos. Essas propriedades derivam não apenas da capacidade do alginato de formar redes poliméricas tridimensionais capazes de reter e proteger moléculas bioativas, mas também de sua habilidade em modular a liberação de forma dependente de parâmetros como pH, tempo de trânsito gastrointestinal e presença de íons no meio (Spadari et al., 2017).

No caso dos antifúngicos da classe dos azóis, como itraconazol, fluconazol, econazol e clotrimazol, a utilização de sistemas de liberação à base de alginato de cálcio tem potencial para contornar limitações importantes. Estes compostos apresentam baixa solubilidade aquosa e, frequentemente, absorção oral variável, o que compromete a eficácia terapêutica. A incorporação desses fármacos em sistemas de alginato não apenas os protege de condições adversas — como degradação enzimática ou variações bruscas de pH —, mas também proporciona uma liberação mais controlada, que mantém concentrações plasmáticas terapêuticas por períodos mais longos (Spadari et al., 2017). Embora ainda sejam relativamente escassos os trabalhos que explorem diretamente o encapsulamento de itraconazol nesse tipo de matriz, a experiência acumulada com outros azóis fornece uma base sólida para considerar sua aplicação, visto que resultados positivos incluem aumento da biodisponibilidade, redução da toxicidade sistêmica e melhoria da adesão ao tratamento (Dherange et al., 2025).

Os avanços tecnológicos no processamento do alginato têm possibilitado a criação de sistemas de liberação cada vez mais sofisticados e reprodutíveis. Métodos modernos, como a produção de microesferas via emulsões duplas ou por gelificação controlada, permitem não apenas encapsular fármacos hidrofóbicos de forma eficiente, mas também ajustar parâmetros críticos como esfericidade, diâmetro médio e distribuição de tamanho. A fabricação de microesferas de alginato por gelificação induzida por difusão em gotículas de emulsão dupla tem mostrado elevado controle sobre a morfologia e a porosidade da matriz, o que se traduz em perfis de liberação mais previsíveis e adaptáveis às exigências do tratamento. A consistência estrutural obtida por esses métodos é fundamental para assegurar que cada lote de formulação tenha desempenho semelhante, requisito indispensável para aplicações farmacêuticas (Xia et al., 2024).

O processo de formação das partículas é influenciado por fatores físico-químicos que vão desde a viscosidade da solução de alginato até a tensão superficial do banho de cálcio utilizado para a reticulação. Alterações nessas variáveis impactam diretamente o formato, a integridade estrutural e a eficiência de encapsulamento das microesferas. Soluções mais viscosas tendem a gerar partículas maiores e mais resistentes, enquanto a modulação da tensão superficial pode favorecer a formação de microesferas mais uniformes e com menor tendência à coalescência. Esse controle fino é particularmente relevante quando se busca uma liberação sustentada e reproduzível de antifúngicos ao longo do tempo (Davarci et al., 2017).

Além das aplicações voltadas à administração oral de fármacos, estudos recentes destacam a versatilidade do alginato como material de suporte para agentes antifúngicos em outras áreas, como curativos medicados, revestimentos antimicrobianos para superfícies e embalagens ativas. A modificação química do alginato para a obtenção de derivados com propriedades intrínsecas antifúngicas amplia seu espectro de aplicação e possibilita a combinação de ação física (barreira e controle de liberação) com ação bioquímica direta sobre o microrganismo. Essas inovações indicam que, além de funcionar como carreador, o alginato pode ser funcionalizado para desempenhar um papel terapêutico ativo (Alhussaini et al., 2025).

Diante desse conjunto de evidências, observa-se que os sistemas baseados em alginato de cálcio reúnem características desejáveis para o desenvolvimento de formulações antifúngicas mais seguras e eficazes (Spadari; Lopes; Ishida, 2017; Dherange et al., 2025; Xia et al., 2024; Davarci et al., 2017; Alhussaini et al., 2025). Para fármacos da classe dos azóis, em particular, essa plataforma oferece soluções para problemas como baixa solubilidade, absorção irregular e necessidade de doses elevadas ou frequentes (Dherange et al., 2025). Ao modular a taxa de liberação, proteger o princípio ativo das condições adversas do meio gastrointestinal e potencialmente melhorar a biodisponibilidade, o alginato se confirma como um excipiente-chave na busca por terapias antifúngicas mais eficientes, com impacto positivo na eficácia clínica e na adesão ao tratamento (Spadari et al., 2017; Dherange et al., 2025; Alhussaini et al., 2025).

### **3.0 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Preparo e caracterização de amostras para encapsulação de itraconazol em esferas de alginato de sódio saboradas com extrato natural de carne.

### 3.2 Objetivos Específicos

- **Produzir** esferas de alginato de sódio contendo itraconazol por meio da gelificação iônica utilizando o método de extrusão em banho de cloreto de cálcio.
- **Avaliar** parâmetros físico-químicos e tecnológicos das esferas, como eficiência de encapsulamento, tamanho, peso, morfologia e estabilidade.
- **Incorporar** extrato natural de carne às formulações, de modo a adequá-las às preferências gustativas dos gatos e possibilitar aceitação voluntária, sem necessidade de administração forçada.
- **Analisar** a viabilidade tecnológica e econômica da formulação visando sua futura aplicação em programas de tratamento e controle da esporotricose em unidades de saúde pública veterinária, considerando o potencial de melhorar a adesão ao tratamento e reduzir os impactos epidemiológicos dessa zoonose.

### 4.0 MATERIAIS

Os materiais utilizados foram divididos em grupos de vidrarias, reagentes e equipamentos, conforme as tabelas 1, 2 e 3

Tabela 1 – Vidrarias e materiais de laboratório

	<i>Vidrarias</i>	<i>materiais de laboratório</i>
<b>Produção</b>	Agitadores magnéticos	Espátulas inox
	Balão volumétrico de 500 mL	Peneira inox 200µm
	Bastões de vidro	Pinça inox
	Béqueres de 50 mL	Vidros relógio
	Béqueres de 150 mL	Provetas de 100 mL
		Seringas plásticas padrão de 30mL
<b>(EICFI)*</b>		
	Tubos de ensaio com tampas	

\* EIFI (Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngica In vitro)

Tabela 2 – Reagentes

<i>Reagentes</i>	
<b>Produção</b>	Sal de Alginato de Sódio (Sigma-Aldrich)
	CaCl <sub>2</sub> P.A
	Água destilada
	Itraconazol comercial Geolab 100 mg
<b>(EICFI)</b>	Ágar Sabouraud dextrose
	Cloranfenicol solidificado
	Solução salina estéril

Tabela 3 – Equipamentos

<i>Equipamentos usados na:</i>		
<b>Produção</b>	Balança analítica AY220 (Marte)	Agitador magnético com aquecimento C-MAG HS 7 (IKA)
	Balança analítica AY220 (Marte)	Paquímetro 100.002 (DIGIMESS), Graduação 0,02 mm, exatidão +/- 0,03mm
<b>(EICFI)</b>	Capela de fluxo laminar vertical modelo PA-115 (Pachane)	Estufa/incubadora BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) mantida a 36 °C
	Bico de bunsen	Alça de manipulação
	Pinça de dissecação	Micropipetas de 1 µL e 100 µL
	Estante para alça e tubos	
<b>Caracterização</b> (Análises)	Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC)	Espectrômetro RAMAN
	Espectrômetro FTIR	Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

Reagentes e equipamentos são ilustrados na figura 14 abaixo:

Figura 14 – Reagentes e equipamentos – cápsula de itraconazol comercial aberta



Fonte: O autor.

## 5.0 MÉTODOS

### 5.1 Análises físico-químicas, produção e classificação

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 FTIR/ATR das amostras sólidas foram registrados no espectrômetro Bruker, modelo Vertex 70, na faixa de  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ , com resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  e 64 scans.

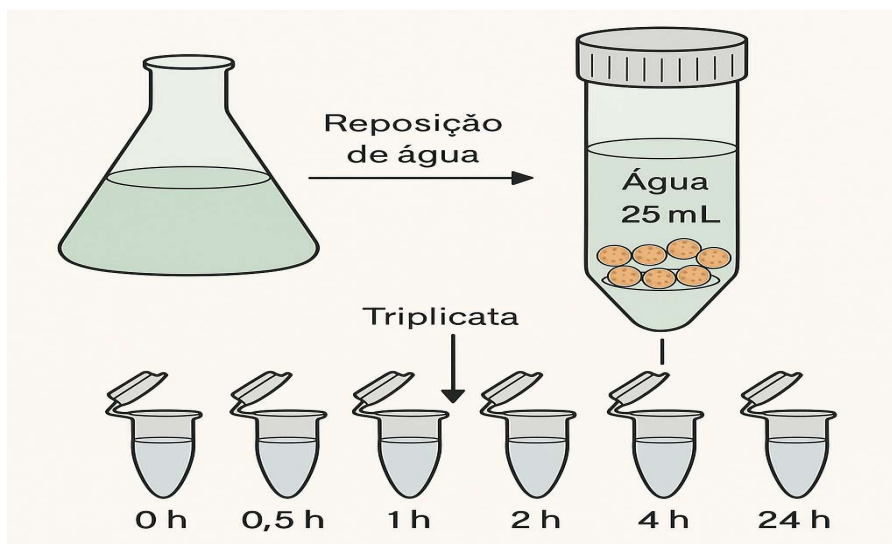
Foram realizadas as análises de RAMAN no Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN) do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os espectros de RAMAN das amostras foram realizados no aparelho Anton Paar Cora 5200 Raman (Espectrômetro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

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.

As análises HPLC foram feitas na UFRRJ, no Instituto de Química (IQ), no Laboratório de Cromatografia, no equipamento HPLC SHIMADZU – PROMINENCE LC-20AT, CBM-20<sup>a</sup>. A análise foi operacionalizada da seguinte forma: Em um tudo de centrífuga foi colocado 10 esferas (C6 ou C8) imersas em 25ml de água destilada e da solução foram retiradas alíquotas de 2ml com reposição de água. As alíquotas de 2ml foram colocadas em ependorfs, em triplicata

e no tempo de 0h, 0.5h, 1h, 2h, 4h e 24h. Dessa forma, as substâncias presentes na solução contendo as 10 esferas são coletas e identificadas no tempo, a figura 15 ilustra o procedimento:

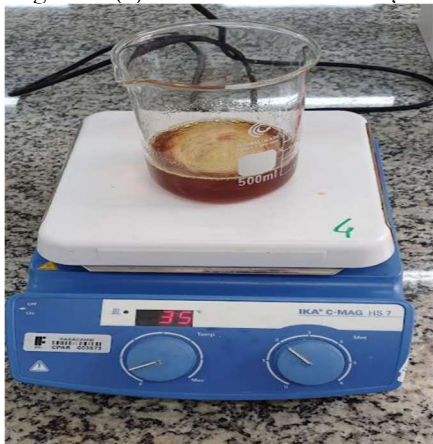
Figura 15 – Esquema de preparo das amostras para análise HPLC



Fonte: (o autor).

A produção das esferas começa na definição da proporção de cada componente, que segue as especificações da tabela 4. Todas as concentrações são expressas em m/v (massa/volume de solvente). Dessa forma, foram usados 1 ou 4% de alginato de sódio e de cloreto de cálcio, a adição ou não de ITZ e a adição ou não de extrato de carne. O alginato de sódio, o ITZ e o extrato de carne se apresentam na forma sólida. No preparo das soluções, os componentes sólidos são pesados cada um na sua proporção e misturados (o ITZ é macerado antes de ser solubilizado, conforme ilustra a figura 16(b), por fim adiciona-se água destilada para solubilização sob agitação magnética por 15 minutos em 20rpm e 35 °C para solubilização eficiente (figura 16(a) e figura 17).

Figura 16(a) Processo de solubilização.



Fonte: (o autor).

Figura 16(b) - Pellets de ITZ macerados



Fonte: (o autor).

Tabela 4 – Composição e classificação das amostras por 100ml de água

<b>Grupo</b>	<b>Alginato</b>	<b>CaCl<sub>2</sub></b>	<b>ITZ</b>	<b>Extrato de carne</b>
<i>B1</i>	<i>1g</i>	<i>1g</i>	<i>0 g</i>	<i>0 g</i>
<i>B2</i>	<i>1g</i>	<i>4g</i>	<i>0 g</i>	<i>0 g</i>
<i>B3</i>	<i>1g</i>	<i>1g</i>	<i>0 g</i>	<i>25g</i>
<i>B4</i>	<i>1g</i>	<i>4g</i>	<i>0 g</i>	<i>25g</i>
<i>B5</i>	<i>4g</i>	<i>1g</i>	<i>0 g</i>	<i>0 g</i>
<i>B6</i>	<i>4g</i>	<i>4g</i>	<i>0 g</i>	<i>0 g</i>
<i>B7</i>	<i>4g</i>	<i>1g</i>	<i>0 g</i>	<i>25g</i>
<i>B8</i>	<i>4g</i>	<i>4g</i>	<i>0g</i>	<i>25g</i>
<i>C1</i>	<i>1g</i>	<i>1g</i>	<i>100m g</i>	<i>0g</i>
<i>C2</i>	<i>1g</i>	<i>4g</i>	<i>100m g</i>	<i>0g</i>
<i>C3</i>	<i>1g</i>	<i>1g</i>	<i>100m g</i>	<i>25g</i>
<i>C4</i>	<i>1g</i>	<i>4g</i>	<i>100m g</i>	<i>25g</i>
<i>C5</i>	<i>4g</i>	<i>1g</i>	<i>100m g</i>	<i>0g</i>
<i>C6</i>	<i>4g</i>	<i>4g</i>	<i>100m g</i>	<i>0g</i>
<i>C7</i>	<i>4g</i>	<i>1g</i>	<i>100m g</i>	<i>25g</i>
<i>C8</i>	<i>4g</i>	<i>4g</i>	<i>100m g</i>	<i>25g</i>

Figura 17 – Solubilização e Homogeneização das soluções



Fonte: (o autor).



Após a solubilização e homogeneização das amostras líquidas, estas são submetidas a reticulação pelo método de extrusão com o uso de uma seringa de 10ml para gotejamento da solução em uma solução de cloreto de cálcio, conforme ilustra a figura 18.

Figura 18 – Processo de extrusão por gotejamento



Fonte: (o autor).

Após o processo de reticulação por gotejamento com uso de seringa (método de extrusão) obtém-se a solução reticulada, como ilustra figura 19.

Figura 19 – Soluções após o processo de reticulação por extrusão.



Fonte: (o autor).

Nessa fase, a solução é peneirada (peneira inox-200 $\mu$ m) para separação da fase líquida e da fase sólida, dessa forma somente o material reticulado permanece. Após essa separação o material reticulado é lavado com água destilada e seco ao ar sobre papel toalha, figura 20.

Figura 20 – Material reticulado secando e seco sobre vidro relógio



Fonte: (o autor).

Após retirada da água adsorvida pela secagem ao ar e sobre papel toalha seco, as esferas foram transferidas dos vidros relógio para tubos de centrífugas para o armazenamento em refrigerador e posterior transporte, ensaio de inibição fúngica *in vitro* e as análises de caracterização de RAMAN, FTIR, HPLC e MEV. A figura 21 ilustra as amostras reticuladas acondicionadas em tubos de centrífuga.

Figura 21 – Amostras reticuladas acondicionadas em tubos de centrífuga



Fonte: (o autor).

## 5.2 Coleta e processamento dos dados

### 5.2.1 Pesagem e medição

Para pesagem e medição foram selecionadas 20 esferas C8 de forma aleatória, as quais tiveram seus pesos e diâmetros mensurados. Os valores obtidos foram submetidos a tratamento estatístico para cálculo da média amostral ( $\bar{x}$ ), desvio padrão ( $s$ ), erro padrão da média (SE) e intervalo de confiança a 95% (IC), permitindo estimar a variabilidade dimensional e ponderal das esferas. A população tem variância desconhecida, o tamanho da amostra é pequeno, considera-se que a amostra segue uma distribuição normal, logo, aplica-se a estatística *t* de Student (Brunner e Hanson, 2001), conforme as equações (1-5):

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

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

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

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

$$\text{Erro Padrão da média (SE): } SE = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

### 5.2.2. Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico *in Vitro* (EICFI)

O ensaio de inibição do crescimento fúngico *in vitro* foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficácia de diferentes amostras, testando a inibição *in vitro* do crescimento de fungos da espécie *Sporothrix Brasiliensis*, seja cepas padrões ou retiradas de animais doentes.

#### 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 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*, conforme tabela 5.

Tabela 5 – Identificação das cepas utilizada

<i>Identificação das Cepas</i>	
Código/nome de identificação	Tipo de Cepa
<i>brasiliensis</i> 008/2014	Isolada de um felino
<i>brasiliensis</i> 064/2012	Isolada de um felino
<i>brasiliensis</i> 078/2012	Isolada de um felino
<i>Sporothrix brasiliensis</i> (INCQS* 40360)	Padrão
<i>Sporothrix brasiliensis</i> (INCQS* 40236)	Padrão

Fonte: (o autor). \* Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

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

#### Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico in vitro (EICFI)

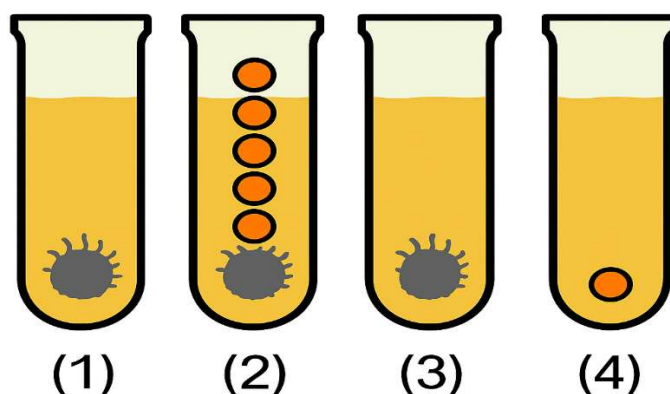
Os procedimentos relacionados à verificação da inibição fúngica foram realizados no Laboratório de Micologia Clínica Veterinária, localizado no Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os ensaios foram realizados em tubos de ensaio contendo 9 mL de meio de cultura caldo Sabouraud suplementado com cloranfenicol, a fim de prevenir contaminações bacterianas. Quatro configurações experimentais foram estabelecidas para os ensaios de proliferação fúngica, conforme a tabela 6 e figura 22.

Tabela 6 – Configurações experimentais dos tubos no EICFI

<i>Configurações estabelecidas para os tubos no EICFI</i>				
Tubo1	Tubo2	Tubo3	Tubo4	Conteúdo
CN				Sem esferas, para observar o crescimento natural dos fungos sem intervenção de substâncias antifúngicas (Controle -)
	5E			Contendo 5 esferas
		1E		Contendo 1 esfera
			CP	Contendo 1 esfera e sem inoculação fúngica (Controle +).

Fonte: (o autor).

Figura 22 – Ilustração do EICFI



Fonte: O autor

Os controles experimentais incluíram um controle negativo (CN), composto por tubos contendo apenas fungos inoculados, sem adição de esferas, para monitorar o crescimento fúngico natural (viabilidade das cepas) e um controle positivo (CP), formado por tubos contendo uma única esfera, sem a inoculação de fungos, para validar a esterilidade das esferas.

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  $\mu$ L 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 sete dias de incubação, foi realizada a avaliação visual do crescimento fúngico. O resultado foi considerado positivo (+) quando observada a presença de colônias, e negativo (–) quando não houve indícios de crescimento fúngico.

## 6.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Produção do material reticulado

Após a reticulação das amostras foram observados os resultados conforme tabela 7. Os resultados experimentais mostraram que as amostra com apenas 1% de alginato, independentemente da presença de dopantes ou da concentração de  $\text{CaCl}_2$ , não foram capazes

de gerar unidades esféricas. Esse comportamento está de acordo com a literatura, que aponta a necessidade de concentrações mínimas de alginato para promover uma reticulação eficaz e a formação de hidrogéis coesos. Por outro lado, todas as formulações com 4% de alginato apresentaram reticulação bem-sucedida e formaram unidades esféricas, indicando que essa concentração é suficiente para sustentar a formação de uma matriz reticulada esferóide. (Changcharoensuk et al., 2023; Ciarleglio et al., 2023; Jeong et al., 2020; Valente et al., 2019).

Tabela 7 - Resultados após a reticulação

Grupo	Alginato (%)	CaCl <sub>2</sub> (%)	ITZ (100mg/L)/30ml água	Extrato de carne (25%)	Formato das unidades reticuladas	Manuseabilidade de unidades
B1	1	1	Não	Não	X	X
B2	1	4	Não	Não	X	X
B3	1	1	Não	Sim	X	X
B4	1	4	Não	Sim	X	X
B5	4	1	Não	Não	Esferóide	Manuseável
B6	4	4	Não	Não	Esferóide	Manuseável
B7	4	1	Não	Sim	Esferóide	Não-manuseável
B8	4	4	Não	Sim	Esferóide	Manuseável
C1	1	1	Sim	Não	X	X
C2	1	4	Sim	Não	X	X
C3	1	1	Sim	Sim	X	X
C4	1	4	Sim	Sim	X	X
C5	4	1	Sim	Não	Esferóide	Manuseável
C6	4	4	Sim	Não	Esferóide	Manuseável
C7	4	1	Sim	Sim	Esferóide	Não-manuseável
C8	4	4	Sim	Sim	Esferóide	Manuseável

As amostras B6, B8, C6 e C8, formuladas com 4% de alginato e 4% de CaCl<sub>2</sub>, geraram unidades esféricas e manuseáveis, indicando que o ITZ e o extrato de carne, isolados ou combinados, não interferem no processo de reticulação nessas condições. Isso indica que, sob condições de reticulação robusta, a matriz polimérica é capaz de incorporar esses dopantes sem prejuízo à sua estrutura.

Contudo, em condições com apenas 1% de  $\text{CaCl}_2$ , o desempenho estrutural variou. As amostras B5 e C5, contendo apenas ITZ como dopante, formaram unidades esféricas e manuseáveis, o que demonstra que o ITZ não interfere negativamente na reticulação do alginato mesmo em baixas concentrações de cálcio. Já as amostras B7 e C7, geraram unidades esféricas e não manuseáveis, sugerindo que, em baixa concentração de cálcio, o extrato de carne interfere no processo de reticulação.

A interferência do extrato de carne na reticulação pode ocorrer por dois mecanismos: (i) competição dos grupos aminoácidos/peptídicos do extrato de carne com os grupos carboxilato do alginato pelos íons  $\text{Ca}^{2+}$ , reduzindo a eficiência de reticulação; ou (ii) associação direta entre as proteínas/peptídeos do extrato e o alginato, bloqueando sítios de ligação com o cálcio e prejudicando a formação de zonas iônicas homogêneas. Proteínas e peptídeos podem interagir tanto com íons cálcio quanto com o próprio alginato, alterando a cinética de gelificação, promovendo reticulações mais lentas e heterogêneas e afetando a densidade e a estabilidade dos hidrogéis resultantes (Mession et al., 2013; Xie et al., 2016).

Dessa forma, os dados permitem concluir que a presença do ITZ não compromete a reticulação da matriz de alginato em nenhuma das concentrações testadas, enquanto o extrato de carne interfere negativamente apenas quando a concentração de  $\text{CaCl}_2$  é baixa (1%). Em condições adequadas (4% de alginato e 4% de  $\text{CaCl}_2$ ), o sistema suporta a presença de ambos os dopantes e forma esferas manuseáveis, o que é essencial para o desempenho de formulações biofarmacêuticas com dupla funcionalidade (fármaco + atrativo alimentar). Os dados reforçam ainda que a concentração de 4% de alginato é um parâmetro crítico para garantir a estabilidade da rede polimérica, sendo insuficiente a 1%, mesmo na presença de altos níveis de cálcio.

Alginato e peptídeos na presença de íons cálcio origina um hidrogel híbrido com características superiores de resistência e liberação controlada, relata que os peptídeos sofrem automontagem desencadeada pelos íons cálcio gerando nano fibras. A adição do extrato de carne nesse trabalho visa a saborização das esferas conforme a preferência alimentar dos gatos, porém, a formação de um gel híbrido deve ser destacada como uma característica positiva para os objetivos do trabalho. (Xie et al., 2016; Çelik et al., 2016; Ochbaum et al., 2018; Chen et al., 2018).

## 6.2 Análise Estatística do peso e da dimensão das Esferas

Os valores estatísticos obtidos para o peso e para o diâmetro das esferas C6 e C8, assim como a média, desvio padrão, erro padrão da média e intervalo de confiança estão na Tabela 8, 9 e 10.

Tabela 8 - Estatística de Peso e Diâmetro das Esferas C6 e C8 com IC95%

Número da esfera	Peso (mg)		Diâmetro (mm)	
	C8	C6	C8	C6
1	88,10	58,50	6,00	5,10
2	87,80	53,50	5,40	5,00
3	85,00	58,50	5,50	5,80
4	85,40	53,20	5,20	5,20
5	86,80	58,20	4,50	6,20
6	87,10	54,40	6,00	5,10
7	86,20	56,10	4,90	5,00
8	84,50	55,50	5,30	5,00
9	89,50	54,30	5,20	6,30
10	87,40	56,50	5,50	5,20
11	87,50	63,20	4,80	4,70
12	85,90	59,50	5,50	4,80
13	89,50	56,80	5,30	5,20
14	89,80	56,40	5,40	5,20
15	87,30	57,90	4,90	4,50
16	87,20	57,00	5,40	4,50
17	85,60	58,00	5,00	5,10
18	84,80	54,50	5,80	5,50
19	85,20	52,20	5,50	5,10
20	86,90	58,60	5,10	5,10
<b>Parâmetros</b>				
Média amostral = ( $\bar{x}$ )	<b>86,87</b>	<b>56,64</b>	<b>5,31</b>	<b>5,18</b>
Desvio Padrão amostral = (s)	0,00158(g) / 0,00258(g)		0,0382(g) / 0,0471(g)	
Erro Padrão da Média = (SE)	0,00035(g) / 0,00058(g)		0,0086 (g) / 0,0105(g)	
Intervalo de Confiança (95%)	[86,14 - 87,61] / [55,43 – 57,84]		[4,96–5,40] / [5,13 - 5,49]	



Tabela 9 – Estatística de número de esferas C6 e C8 por lote de 30ml de água com IC95%

	Peso Lote (g)	Número de Esferas
<b>C8</b>	<b>35,50</b>	[405 - 412]
<b>C6</b>	<b>29,97</b>	[518 - 541]

Tabela 10 – Estatística do peso do fármaco comercial e do peso do fármaco puro em unidades de C6 e C8-IC95%

Número da esfera	Peso Fármaco/Cápsula(mg)		Peso ITZ*
<b>1</b>	458,40	C8	[1,01 – 1,03]mg
<b>2</b>	480,10	C6	[0,82 – 0,85]mg
<b>3</b>	446,90		<b>Peso ITZ**</b>
<b>4</b>	448,20	C8	[0,22 – 0,22]mg
<b>5</b>	471,60	C6	[0,18 – 0,19]mg
<b>6</b>	453,30	Intervalo de Confiança (95%)	
<b>7</b>	466,20		
<b>8</b>	465,00		
<b>Parâmetros</b>			
Média amostral = ( $\bar{x}$ )	461,21		
Desvio Padrão amostral = (s)	0,01164 (g)		
Erro Padrão da Média = (SE)	0,00412 (g)		
Intervalo de Confiança (95%)	[451,48 - 470,95]		

Os resultados de peso e dimensão mostram que as esferas C8 são mais pesadas que as esferas C6 na ordem de 51,47% - 55,40% e possuem maior diâmetro que C6, na ordem de 1,60% - 3,49%. Esses resultados sugerem que a presença de extrato de carne nas esferas C8 deixa as esferas mais densas e proporcionam uma menor retração (maior diâmetro) no processo de reticulação.

O fármaco comercial se apresenta na forma de cápsula dura guardando microesferas com o ITZ no núcleo envolto em excipientes de liberação controlada, o levantamento estatístico dos pesos de cápsulas do fármaco comercial resultou no percentual médio de 21,68% de ITZ puro por cápsula.

A quantidade de ITZ encapsulado em unidades e C8 é maior que em unidades de C6 da ordem de 21% a 23%. Nas esferas C8, por serem mais densas devido a presença de extrato de

carne, o ITZ se associa ao saborizante propiciando uma maior quantidade do fármaco nessas esferas. Esse é um resultado desejável uma vez que a redução da quantidade de esferas por dosagem favorece a administração do fármaco.

No experimento, uma cápsula de ITZ foi usada para produzir entre 518-541 esferas C8 dopadas com o fármaco, esse número de esferas C8, se ingeridas pelo animal, garantiria a ingestão da dosagem de 100mg de ITZ diária.

Destaca-se que é possível, por exemplo, produzir a metade de quantidade de esferas C8 para uma cápsula de ITZ contendo 100mg de ITZ, e que para isso bastaria diminuir o volume de solvente (água destilada) mantendo as concentrações estipuladas, dessa forma, uma dosagem diária de 100mg de ITZ estaria contido em aproximadamente 259 – 270 esferas C8. De forma que essa dosagem de esferas poderia ser ajustada para uma porção adequada de esferas C8 a ser administrada ao animal (gato) em tratamento de esporotricose. Destaca-se que a variação do volume de solvente carece de testes experimentais para verificação da viabilidade.

### 6.3 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

A figuras 23 e 24 apresentam as sobreposições dos espectros de FTIR das amostras B5, B6, B7 e B8 e C5, C6, C7 e C8 e um zoom das sobreposições na faixa de 1700 – 1500  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. A tabela 11 mostra as bandas características do alginato.

Figura 23 –Espectros FTIR das amostras B5, B6, B7, B8, C5, C6, C7, C8.

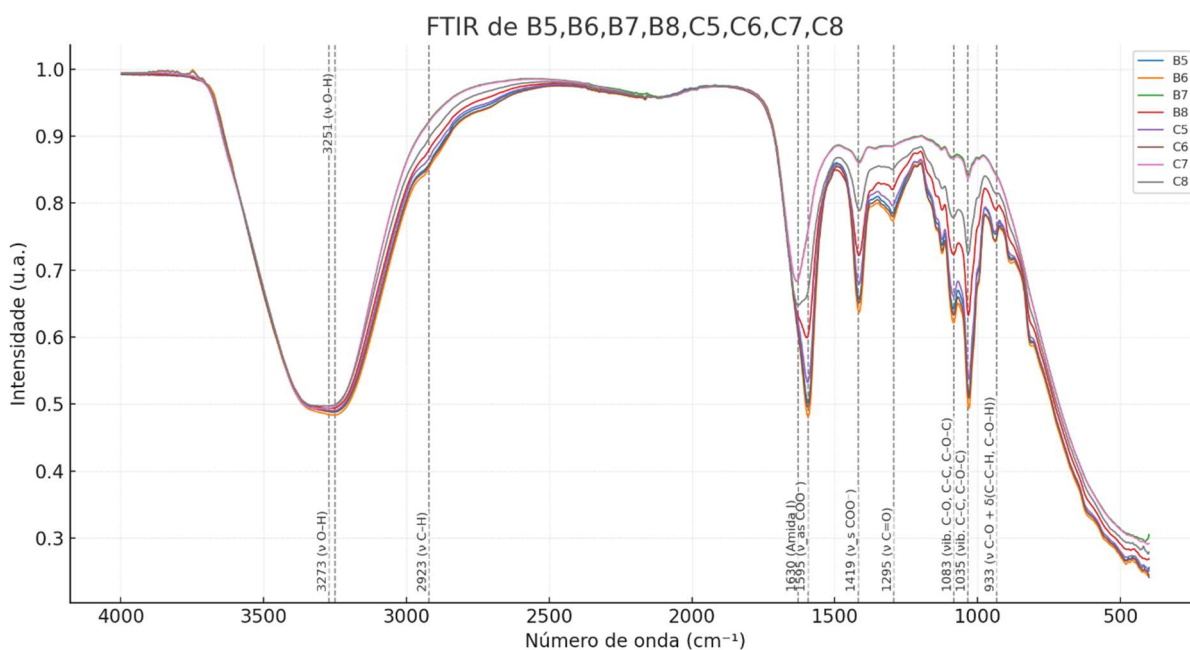


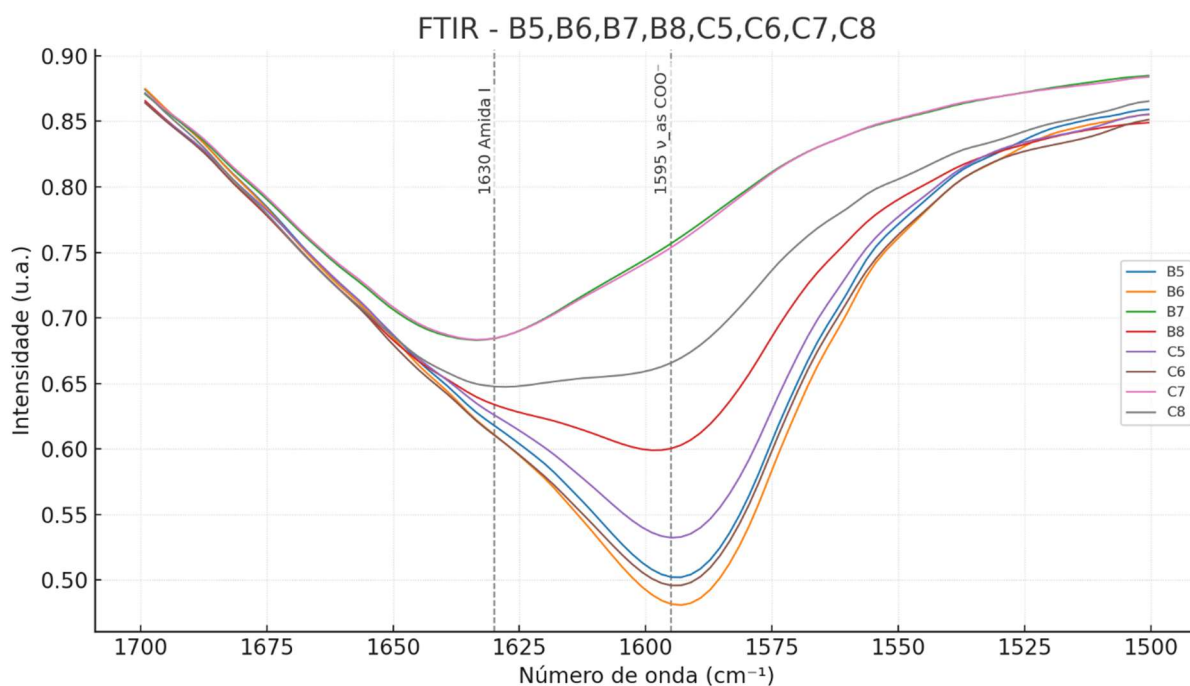
Figura 24 –Espectros FTIR das amostras B5, B6, B7, B8, C5, C6, C7, C8 na faixa de 1700 – 1500  $\text{cm}^{-1}$ 

Tabela 11 – Resultado do FTIR e identificação de grupos químicos do alginato

Nº de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Grupo Funcional	Referência*
933	Estiramento C–O com deformações C–C–H e C–O–H	[1]
1035	Vibrações de C–C e C–O–C	[2], [3],[4]
1083	Vibrações de C–O, C–C e C– O–C	[3],[4]
1295	Estiramento C–O	[3],[4]
1419	Estiramento simétrico de COO⁻	[5], [6]
1595	Estiramento assimétrico COO⁻	[5], [6],[7]
1630	Amida I	[9]
2923	Estiramento C - H	[10]
3251 - 3273	Estiramento O–H	[8][3][7]

\* [1] Larosa et al., 2018 [2] Fernandes et al., 2018 [3] Nastaj et al., 2016 [4] Cheng et al., 2011 [5] Sarmento et al. 2006 [6] Pascalau et al., 2016 [7] Kurt et al., 2016 [8] Adzmi et al., 2012 [9] Usoltsev et al., 2019 [10] Dalal et al., 2021.

A banda amida I, correspondente às vibrações de estiramento C=O, aparece tipicamente na faixa de 1600–1700  $\text{cm}^{-1}$  (Usoltsev et al., 2019). Trata-se da região espectral mais sensível da proteína para determinar a estrutura secundária (Susi; Byler, 1983). A ligação C=O da amida I está diretamente relacionada às conformações da estrutura principal, de modo que cada tipo de estrutura secundária apresenta um estiramento C=O característico. Assim, a espectroscopia FTIR constitui uma ferramenta útil para determinação da estrutura secundária de proteínas a partir das vibrações da banda da amida I (Kong; Yu, 2007; Jiang et al., 2011). No presente trabalho, a banda em 1630  $\text{cm}^{-1}$  presente nas amostras B7, B8, C7 e C8 pode ser atribuída à conformação de folha  $\beta$  das proteínas do extrato de carne (Dong et al., 1990; Derkach, 2019). Confirmando a presença do extrato de carne nas amostras B7, B8, C7 e C8 (Luo et al., 2022; Derkach, 2019).

O alginato apresenta forte afinidade pelo cálcio, que interage preferencialmente com os blocos de ácido gulurônico (G) por meio dos grupos carboxilato. Essa interação resulta em ligações cruzadas que estabilizam a rede polimérica, descritas pelo clássico modelo *egg-box* (Grant et al., 1973). Paralelamente, proteínas também demonstram afinidade com o  $\text{Ca}^{2+}$  (Zhou et al., 2013). No caso do extrato de carne, além dessa afinidade pelo íon divalente ( $\text{Ca}^{+2}$ ), há ainda sua capacidade de interagir com o próprio alginato, estabelecendo ligações eletrostáticas com os grupos carboxilato da matriz algínica (Mession et al., 2013; Xie et al., 2016; Dobrosłavić et al., 2024; Gombotz; Wee, 2012). Nesse contexto, ocorre competição pelo cálcio dissolvido entre a rede algínica e os constituintes proteicos do extrato de carne. Nas amostras B7 e C7 (reticuladas em 1%  $\text{CaCl}_2$ ), a baixa concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  favoreceu a interação alginato–extrato, levando ao desaparecimento da banda assimétrica do  $\text{COO}^-$  (1595  $\text{cm}^{-1}$ ) e ao predomínio da banda amida I (1630  $\text{cm}^{-1}$ ). Já nas amostras B8 e C8 (reticuladas em 4%  $\text{CaCl}_2$ ), a maior disponibilidade de íons cálcio possibilitou a formação predominante de estruturas *egg-box*, de forma que a banda assimétrica do  $\text{COO}^-$  foi preservada, enquanto a banda da amida I se manifestou como um ombro (shoulder) adjacente à banda principal assimétrica do  $\text{COO}^-$ .

A maior absorbância de FTIR está associada a interações moleculares mais intensas ou a uma maior concentração de grupos funcionais ativos na matriz (Athokpam, et al., 2017). Os resultados de FTIR de B5, B6, C5 e C6 variam pouco em relação a intensidade, com C5 e C6 (amostras contendo ITZ) apresentando intensidades ligeiramente maiores devido a presença do ITZ. B8 (amostra contendo extrato de carne reticuladas em 4% de cálcio) apresentam intensidade das bandas consideravelmente maiores na grandeza de aproximadamente 0,1 u.a em relação as amostras B5 e B6 (amostras de alginato puro). C8 (amostra contendo extrato de

carne + ITZ reticulada em 4% de cálcio) apresentou intensidade das bandas maior que B5 e B6 na ordem de 0.15 u.a aproximadamente. Já em relação a B7 e C7 (amostras com extrato e extrato + ITZ, respectivamente, ambas reticuladas em 1% de cálcio) apresentaram intensidade de bandas maiores que B5 e B6 na ordem de 3.5 u.a aproximadamente. Esses resultados relativos a intensidade corroboram a tese anterior que em baixa concentração de cálcio as ligações predominantes ocorrem entre o alginato e o extrato de carne, que, conforme já citado anteriormente, promovem fortes interações químicas, e por conseguinte apresentam maiores intensidades no FTIR. Apesar de não ter surgido nenhuma banda que caracterizasse o ITZ nas amostras, o fármaco não interfere na força das ligações alginato-extrato em meio com 4% cálcio, e já em amostras reticuladas com 1% de cálcio o ITZ promove o aumento das forças de interação entre o alginato e o extrato de carne.

Conforme os resultados, C8 apresenta uma matriz polimérica algínica ligada fortemente ao extrato de carne, de forma que a presença de ITZ modula a intensidade dessa interação química quando comparada a C7.

## 6.4 Espectroscopia RAMAN

As Figuras 25, 26, 27 e 28 apresentam os espectros Raman das amostras B6, C6, B8 e C8 respectivamente, e a figura 29, de todas as amostras juntas. A tabela 12 lista os picos e grupos químicos associados.

Figura 25 – Espectros RAMAN da amostra B6

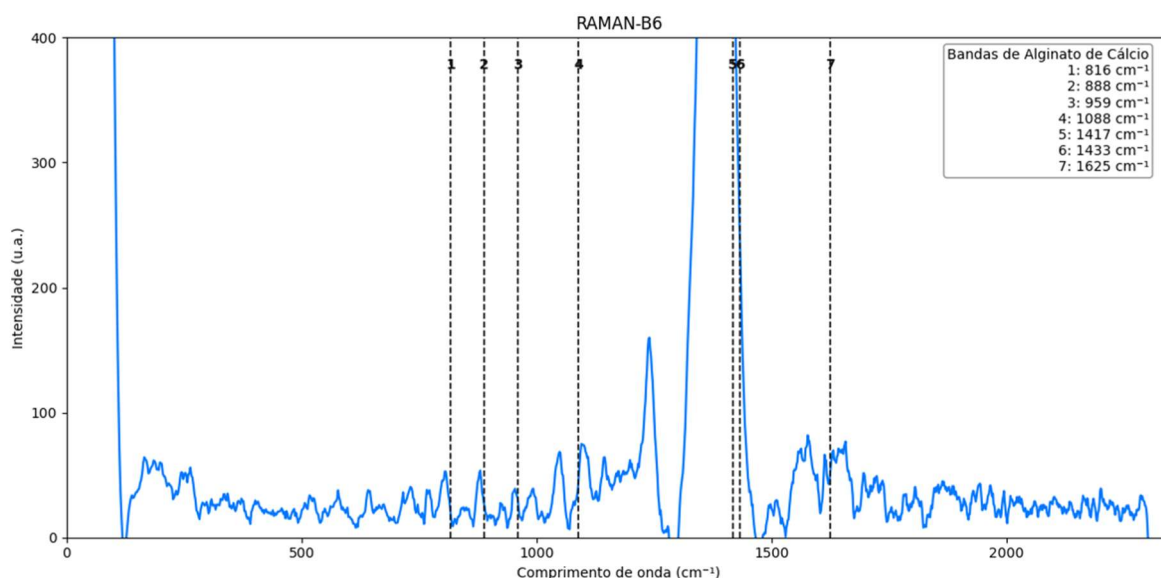


Figura 26 - Espectro RAMAN C6

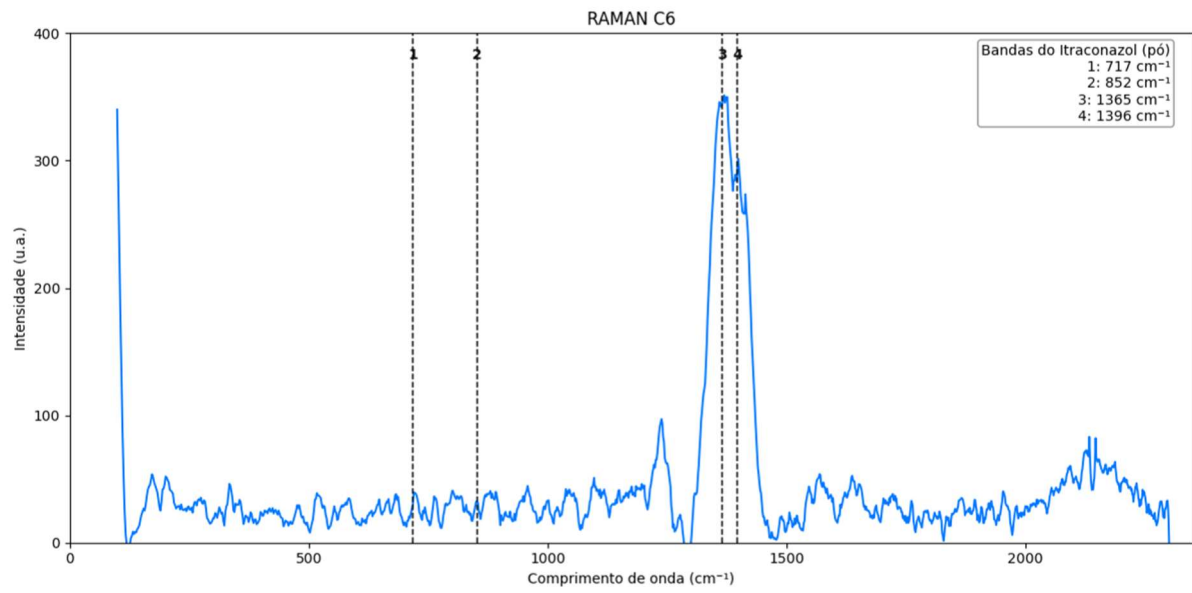


Figura 27 - Espectro RAMAN da amostra B8

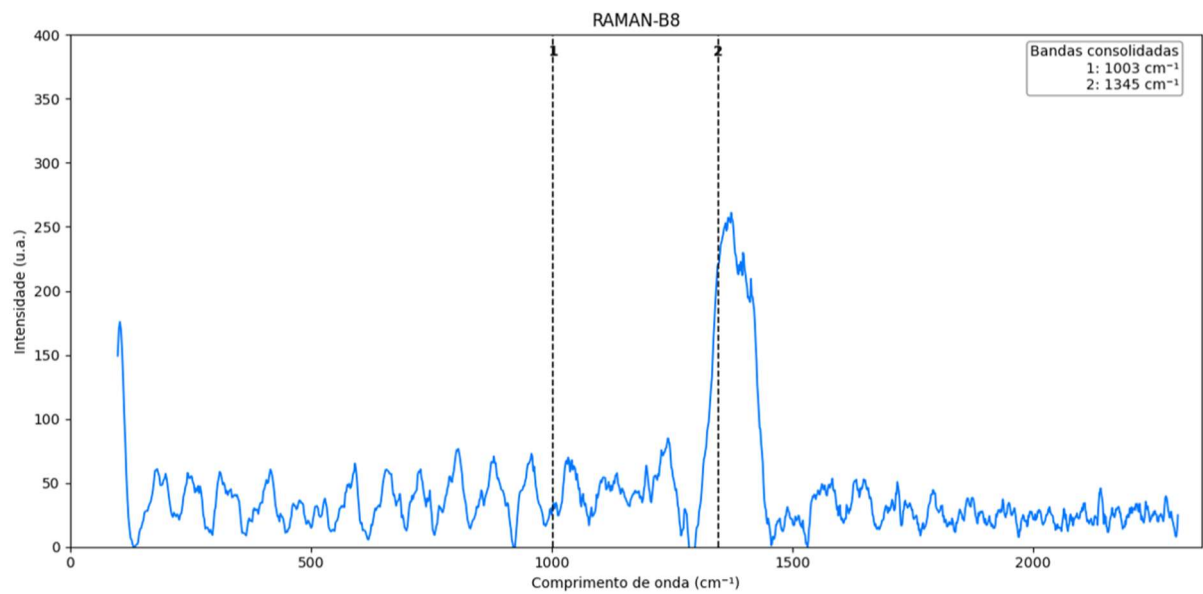


Figura 28 - Espectro RAMAN da amostra C8

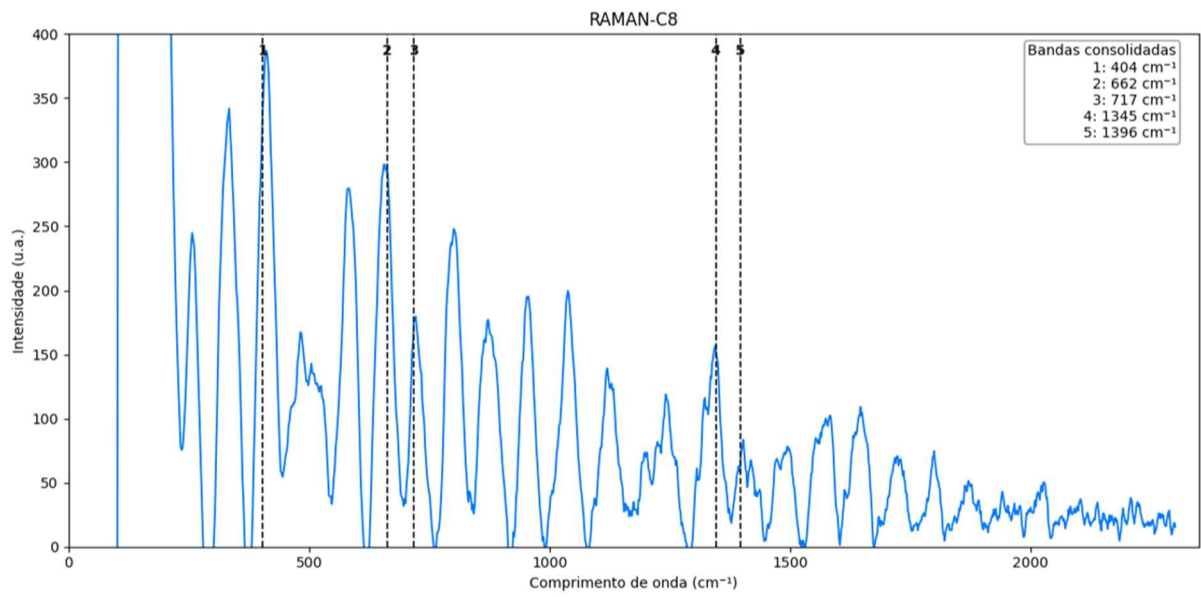


Figura 29 - Espectro RAMAN das amostras B6, C6, B8 e C8

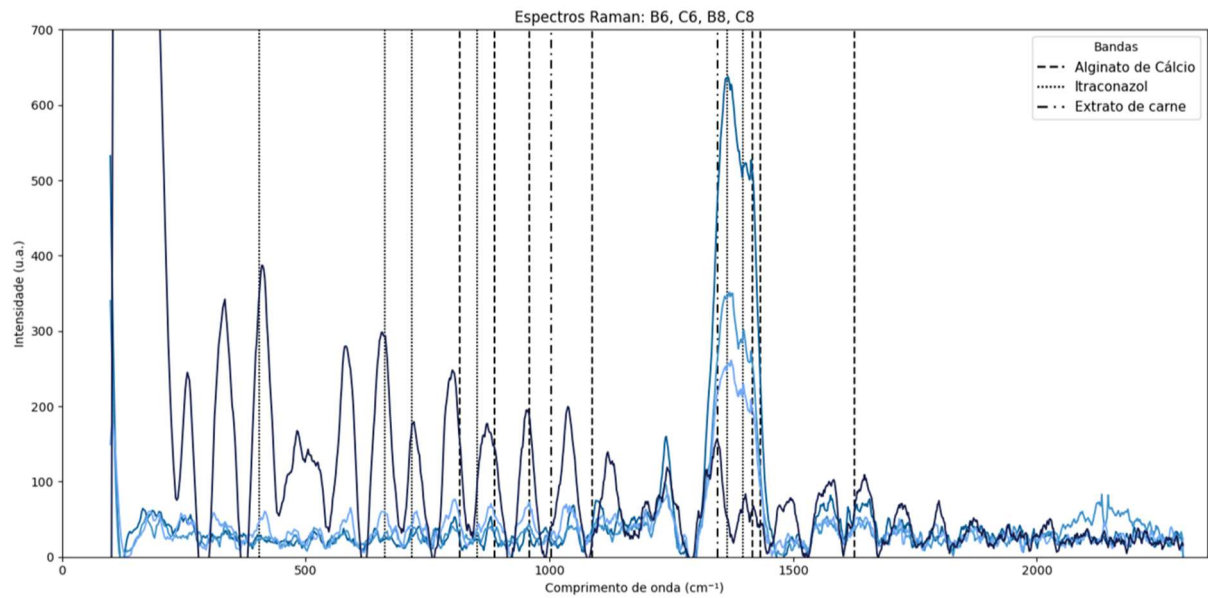


Tabela 12 – Resultado RAMAN e grupos químicos característicos

Substância	Comp. de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição vibracional (resumo**)	Ref. [n]*
Alginate de Cálcio	816	Modo esquelético $\nu(\text{C}-\text{C})$	[1],[2],[3]
	888	Estiramento $\nu(\text{C}-\text{O})$	[1],[4],[2]
	959	Deformação $\delta(\text{C}-\text{C}-\text{H})$ ; $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{C})$	[1],[4],[2]
	1088	“Breathing” do anel glicosídico	[1],[3]
	1417	Estiramento simétrico $\nu_s(\text{COO}^-)$	[4],[3]
	1433	Estiramento simétrico $\nu_s(\text{COO}^-)$	[1],[3]
	1625	Estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{COO}^-)$	[1],[3]
Itraconazol	367	$\omega(\text{C}-\text{N})$	[5],[6]
	404	$\beta(\text{C}-\text{C})$	[5],[6]
	662	$\beta(\text{C}-\text{C})$	[5],[6]
	717	$\gamma(\text{C}-\text{H})$	[5],[6]
	852	$\gamma(\text{CNH})$	[5],[6]
	1365	$\nu(\text{N}-\text{N})$	[5],[6]
	1396	$\nu(\text{C}-\text{N})$	[5],[6]
Extrato de Carne	1003	$\beta(\text{C}-\text{C})$ anel (Phe) – “marker”	[7],[8]
	1345	$\delta(\text{CH})+\nu(\text{C}-\text{N})$ indol (Trp)	[7],[3]

\*[1] Schmid et al., 2008 [2] Campos-Vallette et al. 2010 [3] Cheng et al., 2011 [4] Ivleva et al., 2009, [5] Ferreira et al. 2019 [6] Wang et al. 2014, [7] Nunes, 2019, [8] Li-Chan, 1996.\*\*  $\nu$  (estiramento),  $\nu_s$  (estiramento simétrico),  $\nu_{as}$  (estiramento assimétrico),  $\delta$  (deformação angular no plano),  $\gamma$  (deformação fora do plano),  $\beta$  (deformação angular), Phe (fenilalanina), Trp (Triptofano).

O espectro Raman de B6 apresentou sete bandas características do alginato de cálcio, sendo utilizado como padrão de referência para comparação com as demais amostras. A amostra C6 revelou quatro bandas adicionais não presentes em B6, atribuídas ao itraconazol (ITZ), confirmando sua presença e encapsulamento eficiente nas esferas. Na amostra B8, foram observados dois picos novos em relação a B6, característicos de proteínas do extrato de carne, corroborando sua incorporação nas amostras. Em C8, surgiram cinco picos adicionais em relação a B6, todos atribuídos ao ITZ, confirmando a presença e encapsulamento do fármaco. A detecção de picos do ITZ em C8 não visíveis em C6 sugere que o fármaco se encontra mais solubilizado e homogeneizado em C8 (De Beer et al., 2006; Pryce-Lewis et al., 2005; Park et al., 2019).

A intensidade Raman da amostra C6 apresenta redução acentuada em comparação à B6, especialmente na faixa de 1000 a 1800 cm<sup>-1</sup>. Esse comportamento pode ser atribuído à adição de ITZ, um fármaco hidrofóbico e cristalino/semicristalino, que favorece a formação de microcristais e domínios semicristalinos na matriz. Tais estruturas podem restringir a variação



de polarizabilidade associada aos modos vibracionais ativos, reduzindo a intensidade e, em alguns casos, o número de bandas Raman observadas (Everall, 2006)

Em B8, a intensidade continua decrescente na faixa de 1000 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , sugerindo mudanças de simetria molecular e a presença de nanoestruturas (Colomban & Slodczyk, 2009a) e, mais especificamente, indicando para o extrato de carne, empilhamento e ordenação supramolecular de proteínas e nucleotídeos (Small; Peticolas, 1971; Wüthrich, 1977). Essa organização espacial pode estar relacionada à formação de nano fibrilas auto-organizadas, resultado da organização de peptídeos induzida por íons cálcio, conforme descrito por Xie et al. (2016).

Por outro lado, a amostra C8 apresenta um comportamento espectral anômalo: a intensidade Raman aumenta gradativamente no sentido decrescente do eixo-x, ou seja, das bandas de maior número de onda para as de menor número de onda. Esse perfil contrasta com todas as demais amostras e sugere uma forte interação do ITZ com proteínas do extrato de carne, mediada por forças hidrofóbicas, eletrostáticas e  $\pi$ - $\pi$  stacking, capazes de induzir alterações conformacionais e modificar o ambiente eletrônico local. Tais interações resultam em alterações nos modos vibracionais observados e nas intensidades relativas das bandas, particularmente nas frequências mais baixas, associadas a vibrações coletivas e deslocalizadas que indicam a formação de estruturas supramoleculares altamente organizadas (Schäfer-Korting et al., 1991; Guo et al., 2009). Esse perfil é compatível com o empacotamento/ordenação supramolecular das proteínas do extrato e as mudanças conformacionais associadas, processos nos quais a intensidade Raman atua como sonda direta de organização estrutural (Colomban & Slodczyk, 2009). Além disso, interações fortes de azóis com sítios proteicos são conhecidas por modular modos de baixa energia e suas intensidades relativas, reforçando a plausibilidade de que o contato ITZ-proteínas contribua para o padrão de resultado observado em C8 (Matsuura et al., 2005).

Fármacos hidrofóbicos podem induzir mudanças conformacionais em proteínas e peptídeos, promovendo sua reorganização tridimensional e a formação de complexos ordenados. A inserção de moléculas apolares em domínios proteicos pode desencadear transições estruturais e organização supramolecular mediadas por interações hidrofóbicas e  $\pi$ - $\pi$ , resultando em rearranjos conformacionais profundos (Yin et al., 2024). A auto-organização de peptídeos é sensível à presença de fármacos, que podem atuar como gatilhos para a montagem de novas topologias, especialmente em ambientes carregados com íons ou com propriedades anfífilas (Zhang et al., 2024).

Além disso, o extrato de carne, por conter peptídeos curtos e proteínas parcialmente hidrolisadas, age como co-encapsulante funcional ao interagir e reorganizar-se em torno do fármaco. Em condições sem o ITZ (B8), pode haver empilhamento e ordenação supramolecular de proteínas e nucleotídeos (Small; Peticolas, 1971; Wüthrich, 1977), com formação de nano fibras, possivelmente ainda em conformação do tipo  $\alpha$ -hélice. No entanto, com a introdução do ITZ (C8), ocorre uma reorganização profunda, possivelmente incluindo transição conformacional de  $\alpha$ -hélice para folha- $\beta$  (em conformidade com os resultados do FTIR, que sugerem organização conformacional de folhas  $\beta$ ), estabilizada pela presença do fármaco e pelo ambiente iônico com o cálcio.

Nambiar e Schneider (2022) demonstraram que peptídeos auto-organizáveis podem formar domínios hidrofóbicos capazes de encapsular compostos pouco solúveis como o ITZ, funcionando como reservatórios bioativos ou co-encapsulante com liberação controlada por afinidade molecular. De forma semelhante, Thota et al. (2016) relataram que hidrogéis injetáveis baseados em peptídeos ultracurtos podem se reorganizar em presença de fármacos, moldando sua estrutura supramolecular conforme a natureza do ativo incorporado.

Dessa forma, a amostra C8 configura um sistema de dupla barreira de liberação, um encapsulante e um co-encapsulante: (1) a matriz polimérica de alginato reticulada com cálcio e intimamente associada ao extrato de carne (2) o complexo proteína-ITZ. Essa dupla encapsulação do fármaco sugere uma maior proteção do fármaco no ambiente estomacal e uma liberação mais prolongada no ambiente intestinal.

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

Partículas produzidas por gotejamento costumam ser submetidas a processos de secagem como liofilização, secagem ao ar livre ou tratamento com soluções de água e etanol. A escolha do método e das condições de secagem exerce influência direta nas propriedades morfológicas da superfície das partículas (Santagapita et al., 2012). A secagem das partículas de alginato de sódio pode afetar as características morfológicas, acarretando rachaduras, fissuras e regiões ocas no interior das partículas, estando diretamente relacionado à velocidade de remoção de água e ao encolhimento das partículas ao longo do tempo de secagem. (Vargas, 2017). A seguir, as figuras 30 a 33 ilustram as imagens de MEV das esferas B6, C6, B8 e C8, ampliadas 90x e 800x.

Figura 30(a) – MEV de B6 90x

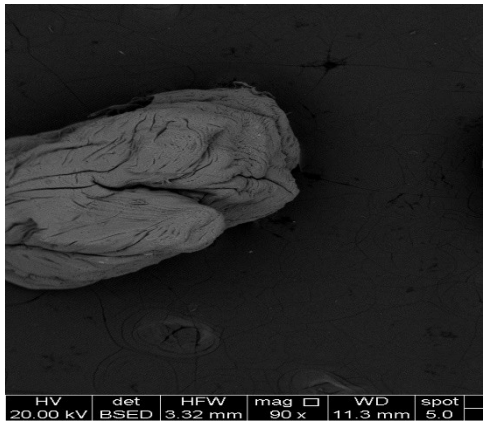


Figura 30(b) – MEV de B6 800x

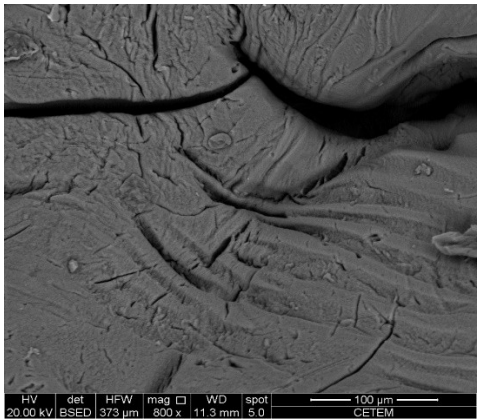


Figura 31(c) – MEV de C6 90x

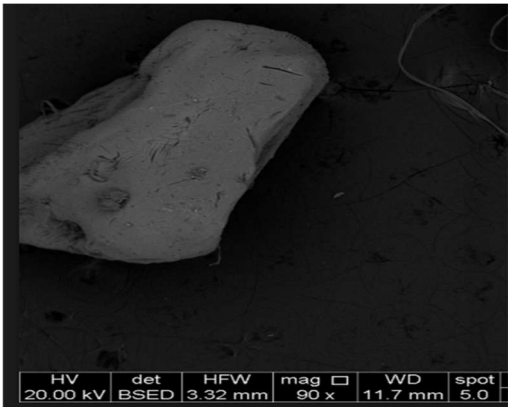


Figura 31(d) – MEV de C6 800x

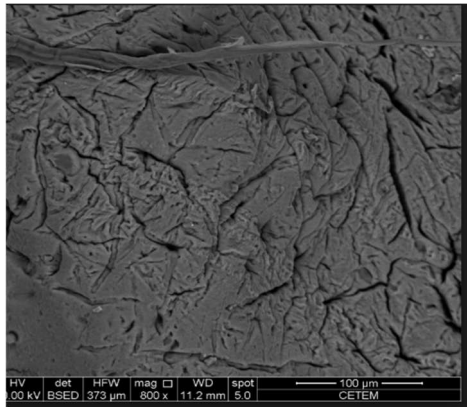


Figura 32(e) – MEV de B8 90x

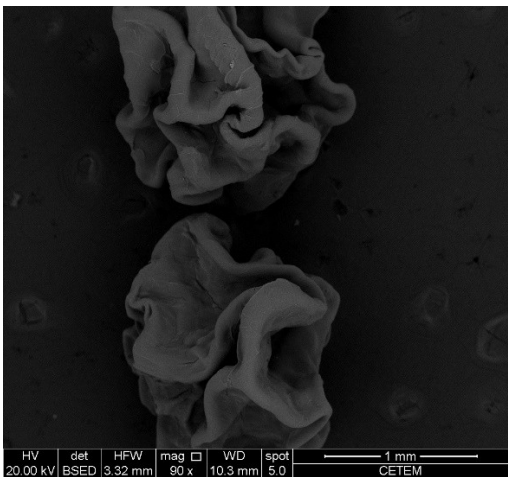


Figura 32(f) – MEV de B8 800x

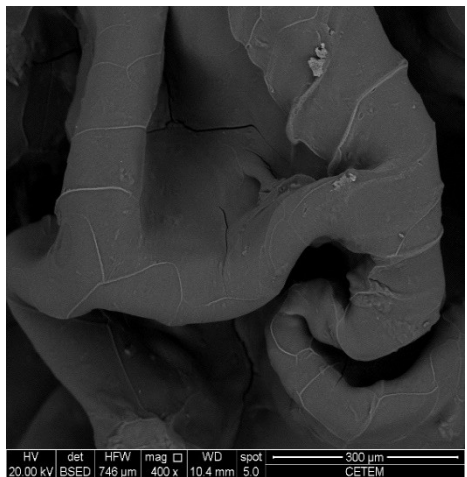


Figura 33(g) – MEV de C8 90x

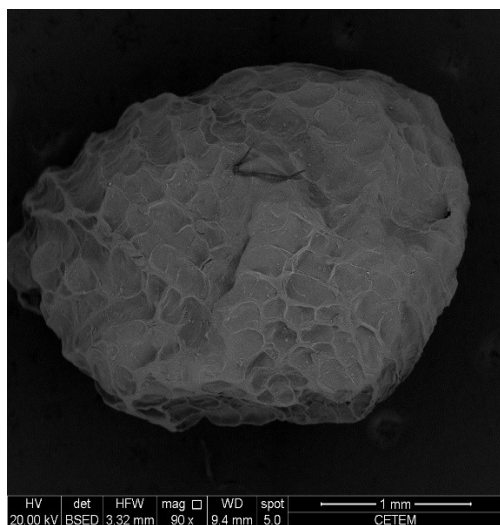
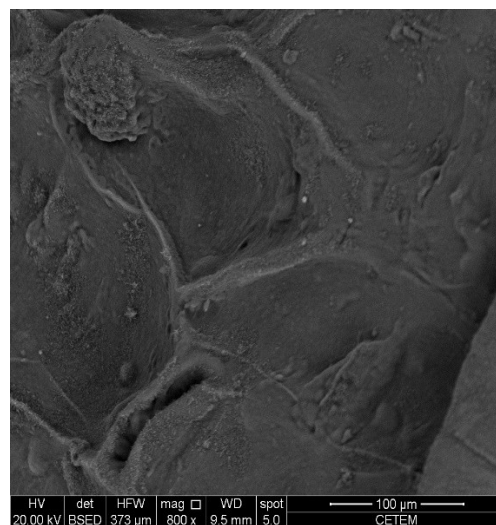


Figura 33(h) – MEV de C8 800x



#### Amostra B6 (controle)

As esferas de alginato sem aditivos, ao serem desidratadas, apresentam perda acentuada de água com encolhimento/colapso da rede sem poros visíveis, apesar da rugosidade, resultando em estrutura mais densa e rígida (Abowska et al., 2023). Como os hidrogéis possuem alto teor de água (70–99%), a remoção desse conteúdo durante a secagem explica a contração volumétrica e a aparência externa mais compacta observadas (Li; mooney, 2016).

#### Amostra B8 (contendo extrato de carne)

Apresentou superfície lisa, irregular e segmentada, com grandes ondulações na superfície devido ao núcleo colapsado e com ausência de poros e fissuras visíveis. A segmentação da superfície está relacionada à presença do extrato de carne, que possui afinidade química com o alginato e pode permanecer parcialmente na rede do gel (Chaudhari et al., n.d.; Paul et al., 2021). O colapso do centro da esfera seca decorre da gelificação não homogênea, devido à presença do extrato de carne, uma vez que em esferas de alginato carregadas com proteína, a gelificação externa gera gradiente de  $\text{Ca}^{2+}$  que produz casca periférica mais reticulada e núcleo menos reticulado, como observado por microscopia em esferas alginato–espirulina (Rajmohan; Bellmer, 2019)

#### Amostra C6 (com ITZ)

Apresentou superfície lisa e uniforme, com fissuras/poros visíveis próximos à superfície. A rede polimérica retrai de forma homogênea, mas deixando poros e fissuras devido à natureza hidrofóbica do ITZ (Quina, 2025). Annisa et al. em (2023) encapsularam cetoconazol

em esferas de alginato (com polímero aniônico) e relataram, por MEV, superfície rugosa com poros/microporos nas microesferas carregadas, evidenciando que a incorporação de um fármaco azólico, similar ao ITZ, influencia o surgimento de poros na microestrutura do gel de alginato.

#### Amostra C8 (ITZ + Extrato de carne)

Apresentou superfície segmentada e irregular, com ausência de poros e fissuras visíveis na superfície, e com formato esférico mantido. Diferentemente de B8 o núcleo não colapsou após a secagem, o que pode ser em decorrência da formação de nano fibrilas porosas de peptídeos, que pode deixar o núcleo mais coeso (Xie et al., 2016; Annisa et al., 2023). Nesse sentido, cabe destacar que os resultados RAMAN corroboram a tese de que o ITZ promove um núcleo mais estável e coeso, uma vez que a presença do ITZ foi associada a ligações mais fortes entre o alginato e o extrato de carne.

Dessa forma, C8 demonstra que possui um núcleo estável, que sugere uma capacidade de retenção do fármaco e uma liberação mais controlada. E mesmo que não apresente poros visíveis na superfície, assim como C6, a formação de um núcleo mais coeso devido a presença de ITZ, sugere um núcleo poroso com formação nano fibras e microporos não visíveis na superfície.

## 6.6 Ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico in vitro (EICFI)

A avaliação do crescimento fúngico permitiu analisar a eficácia das esferas de alginato contendo itraconazol (ITZ) no controle da proliferação de fungos da espécie *Sporothrix Brasiliensis*. As Tabelas 13 e 14, apresentam os resultados obtidos para cada cepa testada, considerando os diferentes tipos de esferas e suas respectivas condições experimentais.

Tabela 13 – Avaliação visual de proliferação fúngica de B6 e B8

<i>Avaliação visual da proliferação fúngica</i>									
Amostra	B6				B8				
Identificação									
Controle	CN	5E	3E	CP	CN	5E	3E	CP	
008/2014*	+	+	+	-	+	+	+	-	

064/2012*	+	+	+	-	+	+	+	-
078/2012*	+	+	+	-	+	+	+	-
INCQS 40360**	+	+	+	-	+	+	+	-
INCQS 40236**	+	+	+	-	+	+	+	-

\*Cepas fúngicas retiradas de animais (gatos) com esporotricose no hospital veterinário da UFRRJ. \*\*Cepas Padrões – INCQS (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde)

Tabela 14 – Avaliação visual de proliferação fúngica de C6 e C8.

<i>Avaliação visual da proliferação fúngica</i>								
Amostra	C6				C8			
Identificação Controle	CN	5E	3E	CP	CN	5E	3E	CP
008/2014*	+	-	-	-	+	-	-	-
064/2012*	+	-	-	-	+	-	-	-
078/2012*	+	-	-	-	+	-	-	-
INCQS 40360**	+	-	-	-	+	-	-	-
INCQS 40236**	+	-	-	-	+	-	-	-

\*Cepas fúngicas retiradas de animais (gatos) com esporotricose no hospital veterinário da UFRRJ. \*\*Cepas Padrões – INCQS (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde)

Nas figuras 34 a 43, está ilustrado os ensaios de inibição fúngica in vitro das esferas B6, B8, C6 e C8 para as diferentes cepas de fungos *S. brasiliensis*.

Foram utilizados fungos da espécie *Sporothrix brasiliensis*, sejam cepas padrões ou retiradas de gatos infectados com a doença esporotricose e em tratamento. Destaca-se que essa espécie do fungo *Sporothrix* é a principal espécie que infecta os gatos causando a esporotricose. Após a inoculação dos fungos nos tubos contendo 0, 5 ou 1 esferas, observou-se após 7 dias, se o fungo havia ou não se proliferado. Nos tubos contendo as esferas C6 e C8 não houve

crescimento fúngico, já nos tubos contendo B6 e B8, houve crescimento fúngico, isso se deve a presença do ITZ nas esferas C6 e C8 e na ausência do fármaco nas esferas B6 e B8.

Figura 34(a) – Cepa *S. brasiliensis* 2014008 - B6

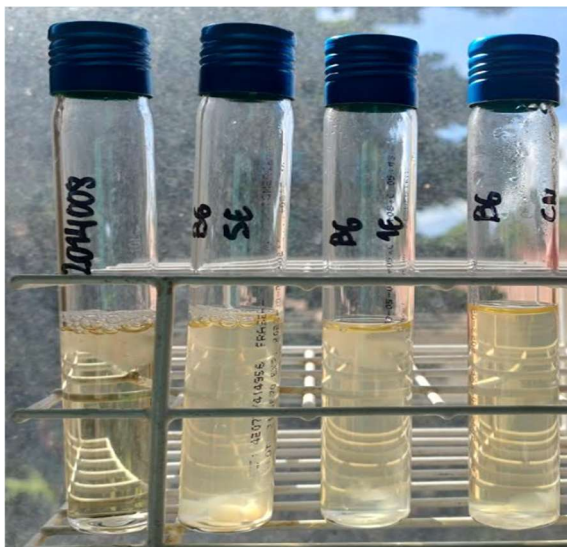


Figura 34(b) – Cepa *S. brasiliensis* 2014008 – B8



Figura 35(c) – Cepa *S. brasiliensis* 2014008 – C6

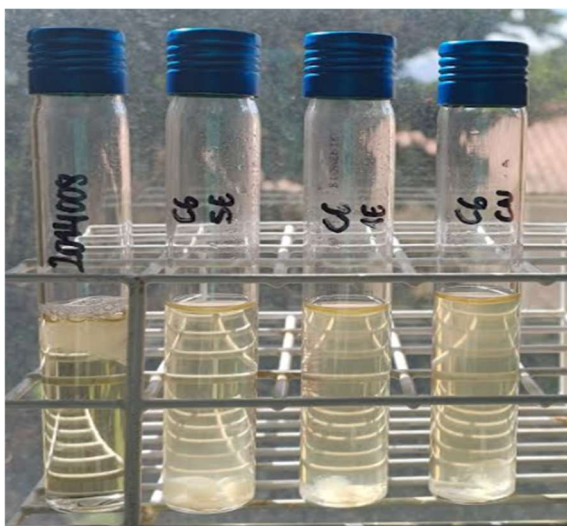


Figura 35(d) – Cepa *S. brasiliensis* 2014008 – C8



Os tubos contendo 1 esfera e sem inoculação do fungo (CP) não apresentaram contaminação, e os tubos sem esferas e com fungos inoculados (CN) apresentaram crescimento fúngico normal. 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.



Os tubos contendo as esferas B6 apresentaram crescimento fúngico mais intenso em relação a B8, o que sugere que a presença de extrato de carne, de alguma forma, pode ter reduzido o crescimento fúngico.

Figura 36(a) – Cepa *S. brasiliensis* 2012064 - B6



Figura 36(b) – Cepa *S. brasiliensis* 2012064 – B8

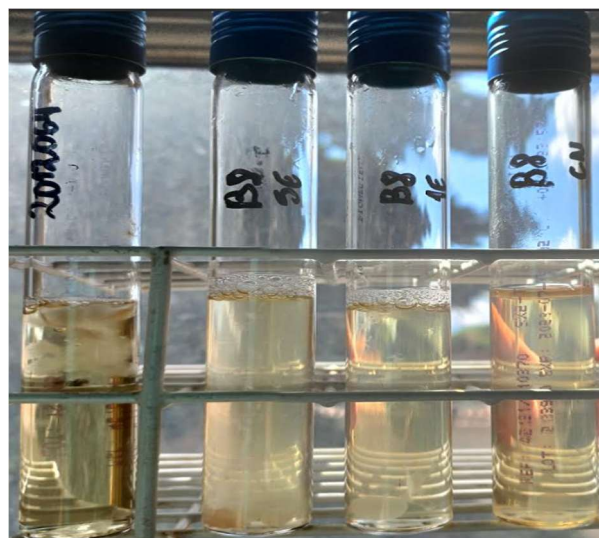


Figura 37(c) – Cepa *S. brasiliensis* 2012064 - C6



Figura 37(d) – Cepa *S. brasiliensis* 2012064 – C8



Estudos de atividade antifúngica realizados por Brilhante et al. (2016), Almeida-Paes et al. (2017) e Gonçalves et al. (2023) confirmam a eficácia, *in vitro*, do itraconazol (ITZ) contra o fungo *Sporothrix brasiliensis* isolados de gatos infectados. Nesses trabalhos, foi empregado o método de micro diluição em caldo padronizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI M38-A2), no qual se determina a concentração inibitória mínima (MIC, *Minimum Inhibitory Concentration*), definida como a menor concentração do fármaco capaz de



inibir visivelmente o crescimento do fungo em meio líquido RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640 Medium – meio de cultura sintético) tamponado com MOPS (3-(N-morpholino)propanesulfonic acid – tampão biológico). De maneira geral, os isolados felinos apresentaram valores de MIC para o ITZ variando entre 0,125 e 4  $\mu\text{g/mL}$ , evidenciando atividade antifúngica consistente do ITZ contra o fungo *Sporothrix brasiliensis*.

Figura 38(a) – Cepa *S. brasiliensis* 2012078 - B6

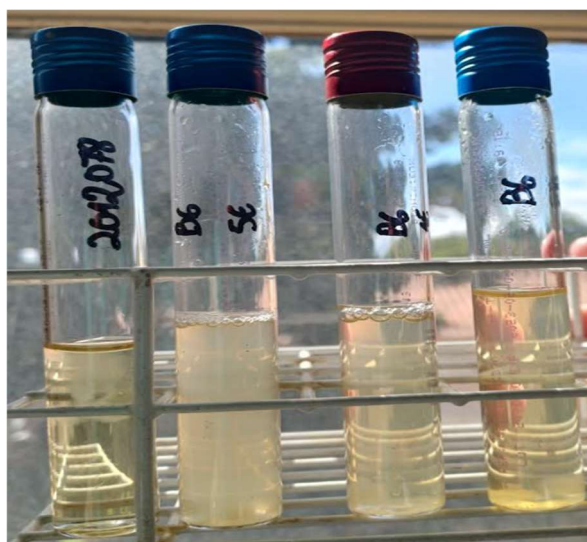


Figura 38(b) – Cepa *S. brasiliensis* 2012078 – B8



Figura 39(c) – Cepa *S. brasiliensis* 2012078 - C6

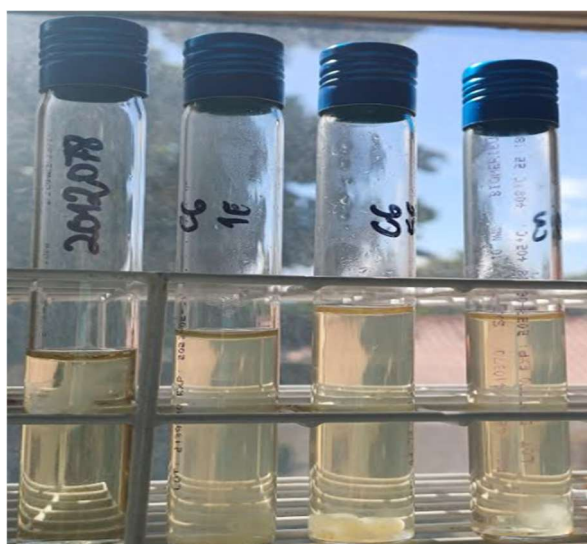
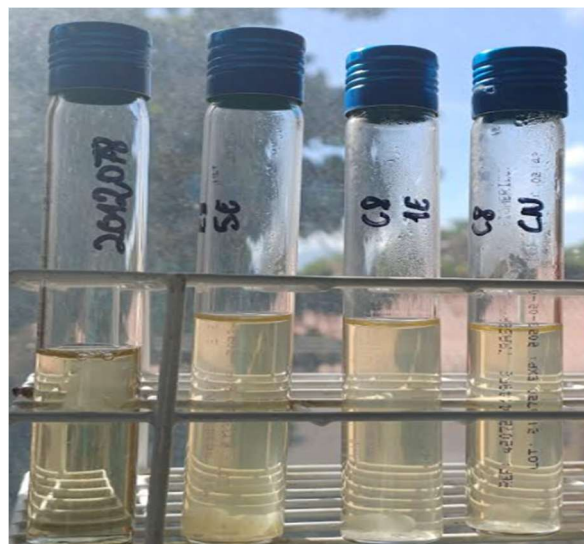


Figura 39(d) – Cepa *S. brasiliensis* 2012078 – C8



Dessa forma, o ITZ mostra-se eficaz contra as cepas de *S. brasiliensis*, in vitro, corroborando os resultados do presente trabalho, no qual a difusão do fármaco a partir das esferas também foi capaz de inibir o crescimento fúngico dos fungos *Sporothrix brasiliensis*.

Os resultados abrem a possibilidade de viabilidade técnica do uso das esferas C8 como alternativa para o tratamento da esporotricose felina, essas esferas são palatáveis para os gatos

e de fácil administração, o que pode contribuir para a redução drástica da resistência ao tratamento e por conseguinte para o aumento da taxa de cura.

Figura 40(a) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40360 - B6

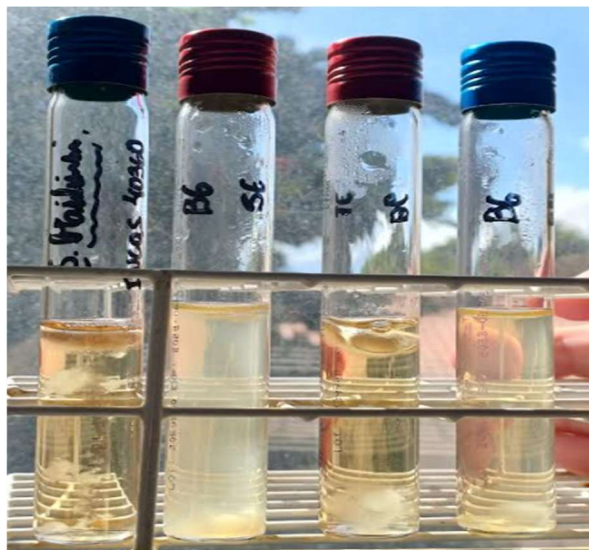


Figura 40(b) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40360 – B8



Figura 41(c) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40360 - C6



Figura 41(d) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40360 – C8



É importante destacar que todas as esferas contendo ITZ, seja, C6 ou C8, demonstraram eficácia na inibição do crescimento fúngico, isso demonstra a uniformidade de produção das esferas e um sistema de difusão do fármaco das esferas para o meio líquido eficaz e suficiente para promover um efeito fungicida. Destaca-se também que a presença do extrato de carne não interfere na ação inibitória do fármaco tornando viável a saborização das esferas. O conjunto de resultados deste trabalho sugere uma forte interação química ITZ-Extrato capaz até de, em



tese, mudar a conformação das proteínas do extrato. Porém, fica confirmado através dos resultados do EICFI, que o ITZ mantém sua ação antifúngica mesmo quando ‘complexado’ a proteínas

Figura 42(a) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40236 - B6    Figura 42(b) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40236 – B8

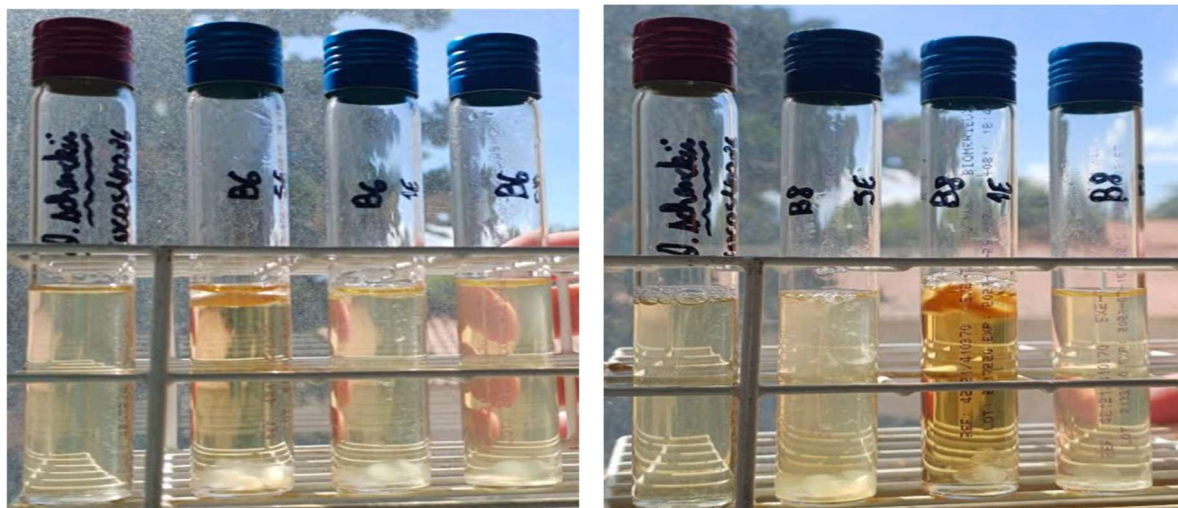
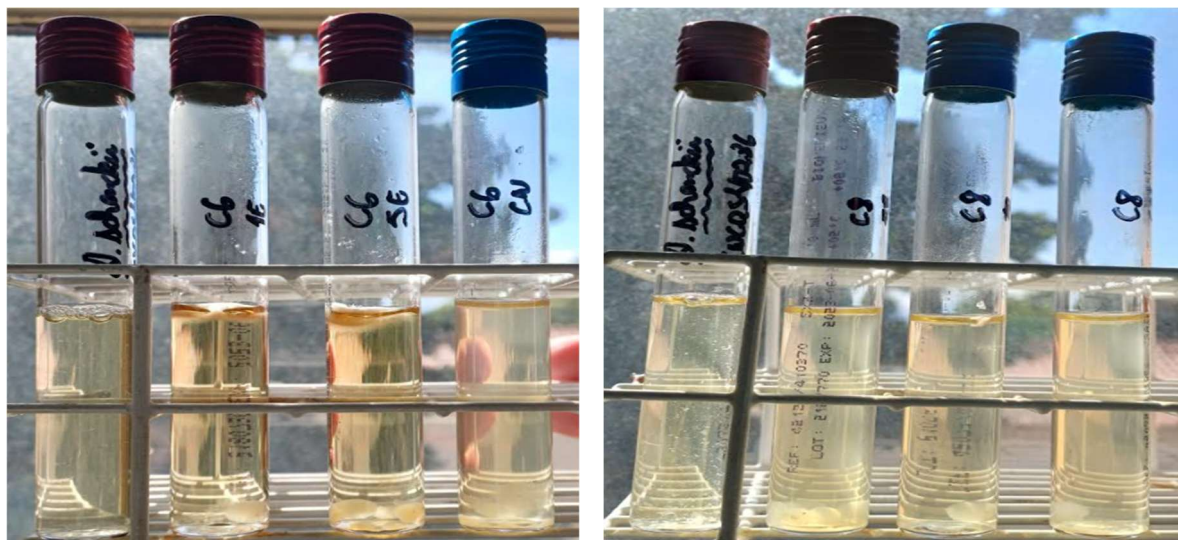


Figura 43(c) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40236 - C6    Figura 43(d) – Cepa *S. brasiliensis* INCQS 40236-C8



## 6.7 Análise HPLC

A tabela 15 estabelece os resultados de HPLC das amostras padrões de alginato, extrato de carne e ITZ, com tempo de retenção (RT) e porcentagem de área. A tabela 16 e 17 traz os resultados de C6 e C8 no tempo de 0h, 0.5h, 1h, 2h, 4h e 24h. As figuras 44, 45 e 46 ilustram os resultados dos padrões e de C6 e C8 no tempo.

Tabela 15 – HPLC das amostras padrões de ITZ, Extrato de carne e Alginato

<b>Amostra padrão</b>	<b>Tipo de Dado</b>	<b>Valor / RT (min ou nm)</b>	<b>Intensidade (mAU)/area</b>
ITZ Comercial em cápsula	RT (HPLC)	4,517 min	100%
	UV-Vis ( $\lambda_{\text{máx}}$ )	262 nm	4 mAU
Extrato de Carne 25%	RT (HPLC)	1,979 min	100%
	UV-Vis ( $\lambda_{\text{máx}}$ )	210 nm	>10 mAU
Alginato de Cálcio 4/4 %	RT (HPLC)	1,857 min	29,2%
	RT (HPLC)	1,959 min	70,8%
	UV-Vis ( $\lambda_{\text{máx}}$ )	149 nm	45 mAU

Tabela 16 – Resultado HPLC de C6 no tempo

<b>Tempo</b>	<b>Pico</b>	<b>RT (min)</b>	<b>Área (%)</b>	<b>UV-Vis <math>\lambda</math> (nm)</b>
0 h	1	2,584	71,893	233, 261
	2	3,472	3,604	
	3	4,852 (ITZ)	24,503	
0,5 h	1	2,769	35,873	227, 230, 218
	2	2,888	29,352	
	3	3,134	22,011	
	4	4,834 (ITZ)	12,764	
1 h	1	2,771	43,596	227
	2	3,123	25,710	
	3	4,831 (ITZ)	30,694	
2 h	1	2,779	58,303	—
	2	3,121	14,299	
	3	3,275	15,537	
	4	4,839 (ITZ)	11,862	
4 h	1	2,781	34,448	217
	2	3,229	21,969	
	3	4,851 (ITZ)	11,935	
	4	5,165	31,648	
24 h	1	2,771	53,144	218
	2	3,227	19,310	
	3	4,307	6,113	
	4	4,828	14,920	
	5	6,857	6,513	

Tabela 17 – Resultado HPLC de C8 no tempo

<b>Tempo</b>	<b>Pico</b>	<b>RT (min)</b>	<b>Área (%)</b>	<b>UV-Vis <math>\lambda</math> (nm)</b>
0 h	1	2,361	87,724	263
	2	4,631 (ITZ)	12,276	
0,5 h	1	1,818	100,000	276
1 h	1	1,810	100,000	250, 277
2 h	1	2,118	95,228	214, 230, 269
	2	3,006	4,772	
4 h	1	2,118	95,228	214, 230, 269
	2	3,006	4,772	
24 h	1	1,936	100,000	261

Figura 44 – HPLC das substâncias padrões de Alginato, extrato de carne e ITZ

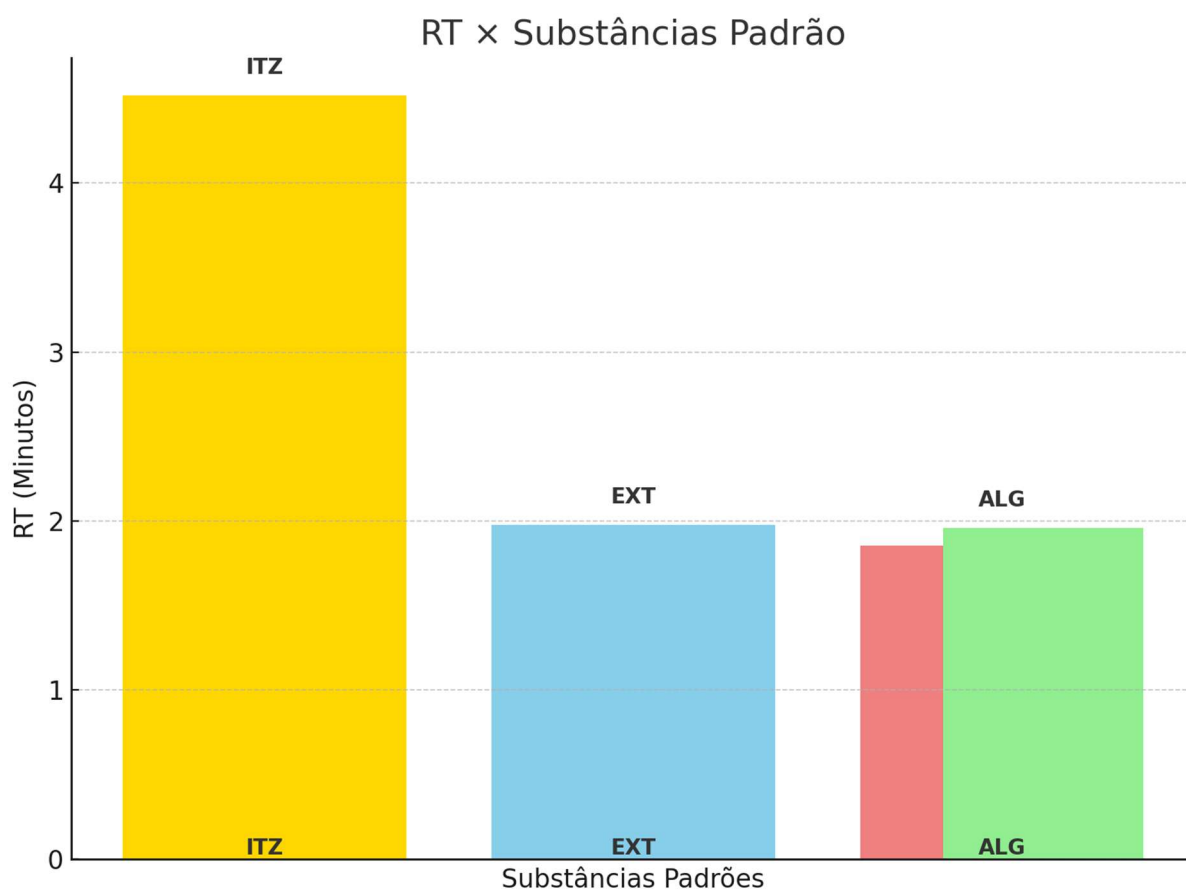


Figura 45 – HPLC de C6 no tempo

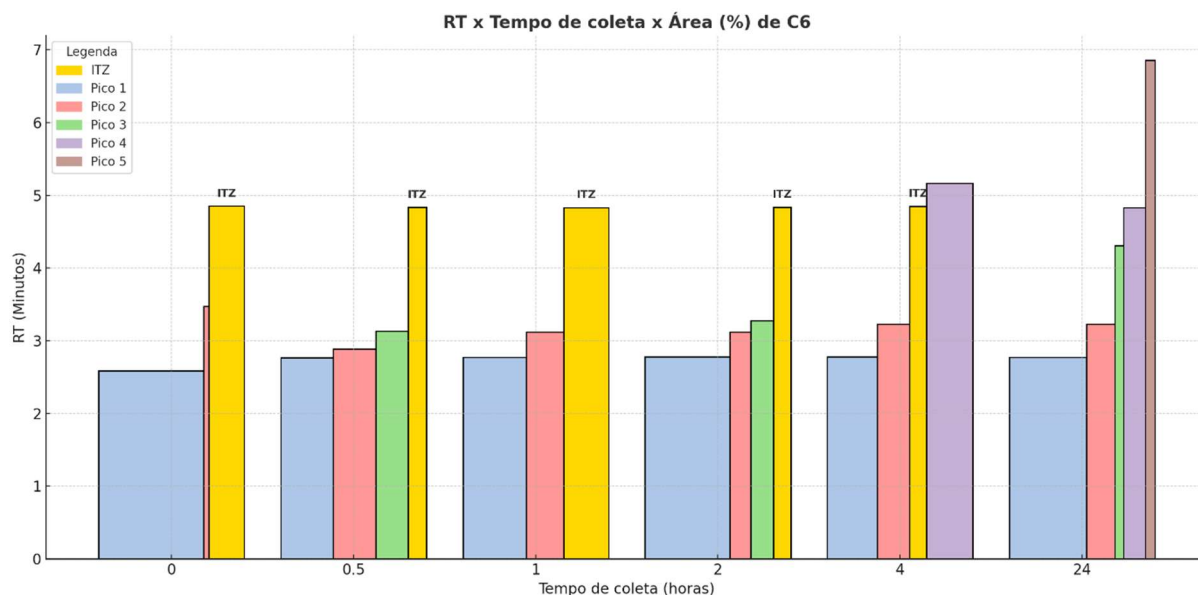
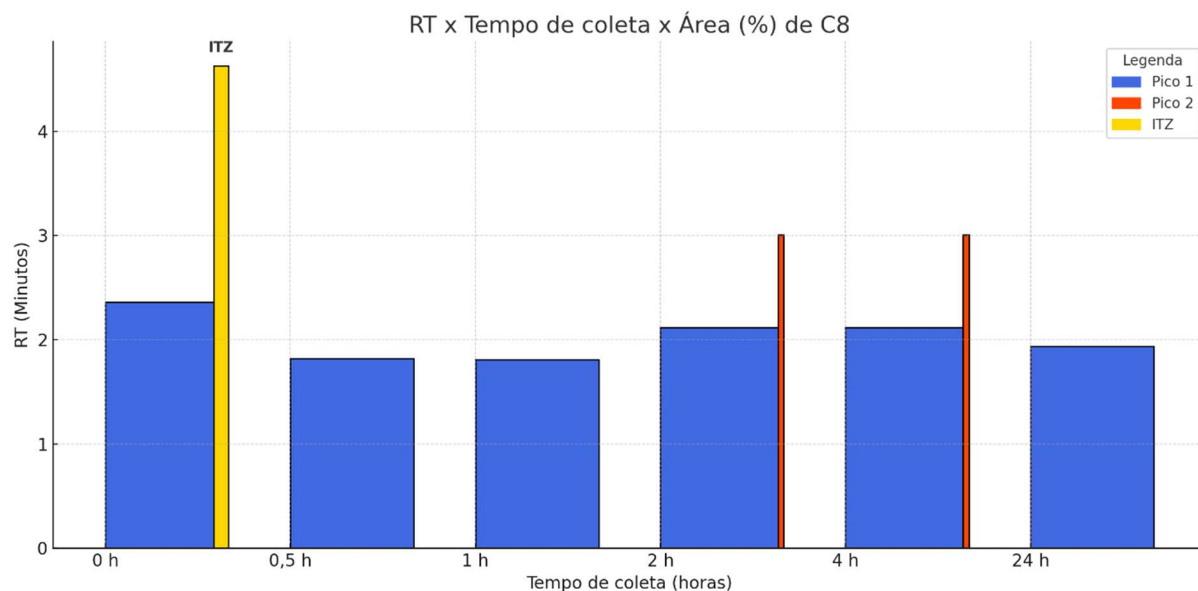


Gráfico 46 – HPLC de C8 no tempo



Na amostra C6, composta por alginato e itraconazol (ITZ), observou-se liberação progressiva do fármaco nas primeiras quatro horas, com um pico característico de tempo de retenção (RT) entre 4,83 e 4,85 minutos, ausente em 24 horas, ou seja, entre os tempos de 4h e 24h a difusão do ITZ para o meio líquido cessou. Demais tempos de retenção não identificam

o sinal padrão do alginato e possivelmente representam as substâncias excipientes presentes na cápsula comercial do ITZ.

A análise cromatográfica das formulações contendo itraconazol em associação ao extrato de carne (C8) revelou um perfil de co-eluição com dominação proteica do tempo de retenção (RT). O extrato proteico, quando analisado isoladamente, apresentou RT de 1,98 min, valor que se manteve como referência em todas as misturas contendo o fármaco. No tempo inicial (0 h), observaram-se dois picos: um majoritário em 2,361 min (87,7% da área total), coincidente com a região cromatográfica do extrato, e outro minoritário em 4,631 min (12,3%), compatível com o RT do itraconazol puro. Após 0,5 h de incubação, a fração correspondente ao fármaco livre praticamente desapareceu, restando um único pico dominante entre 1,81–2,12 min, responsável por mais de 95% da área. Ao final de 24 h, o cromatograma exibiu apenas um pico em 1,936 min (100% da área), praticamente sobreposto ao RT do extrato. Esses resultados demonstram que, em presença do extrato, o itraconazol passa a ser detectado predominantemente associado às proteínas, tendo seu sinal cromatográfico absorvido pelo RT proteico.

Esse comportamento é coerente com observações clássicas de interações droga–proteína em sistemas cromatográficos. Shibukawa et al. (1989) mostraram, em coluna ISRP, que fármacos fortemente ligados à albumina apresentam um pico precoce amplo, representativo da fração complexada, cujo RT reflete o da proteína, enquanto apenas uma pequena fração livre pode originar um segundo pico tardio, quando presente. De forma complementar, a revisão crítica de Hage et al. (2011) descreve que, em metodologias como SEC, ISRP e HPAC, o RT observado para drogas de alta afinidade passa a ser dominado pela proteína transportadora, resultando em eluição praticamente coincidente com esta, ao passo que sistemas de ligação intermediária podem gerar dois picos e sistemas de baixa afinidade exibem apenas o RT do fármaco livre. Mais recentemente, Kunert et al. (2022) introduziram o método *Albumin-Mediated Size Exclusion Chromatography* (AMSEC), demonstrando que o tempo de retenção de um ligante é governado pelo tempo médio em que permanece complexado à albumina, deslocando-se para o RT da proteína independentemente do peso molecular real do fármaco. Em analogia ao que foi verificado para radio ligantes em AMSEC, os resultados obtidos neste trabalho indicam que o itraconazol, uma molécula altamente hidrofóbica e de forte afinidade por proteínas plasmáticas, passa a ser eluído no RT do extrato proteico, de modo que o sinal cromatográfico reflete prioritariamente o comportamento da proteína e não do fármaco livre.

Assim, a interpretação conjunta dos dados permite supor que, nas condições estudadas, o itraconazol encontra-se complexado às proteínas do extrato nas esferas C8, o que explica a

convergência dos cromatogramas para aproximadamente o RT do extrato (1,98 min) com variação mínima ao longo do tempo. Tal fenômeno de dominação proteica do RT constitui evidência robusta de que a detecção do fármaco nas amostras ocorreu em associação direta às proteínas, reforçando a hipótese de co-encapsulamento do ITZ pelo extrato de carne discutida nos resultados RAMAN.

## 7.0 CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou, de forma integrada e consistente, a viabilidade técnico-científica da encapsulação do antifúngico itraconazol (ITZ) em matrizes de alginato de cálcio saborizadas com extrato natural de carne, como estratégia inovadora para o tratamento oral da esporotricose felina. A proposta partiu da necessidade concreta de superar os desafios de adesão terapêutica em gatos, cuja natureza carnívora e seletividade alimentar dificultam a administração de medicamentos convencionais, sobretudo os de sabor amargo.

As esferas produzidas por gelificação iônica apresentaram formato regular, estrutura sólida e manuseável, confirmadas pelos testes de esfericidade, peso e diâmetro. As imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelaram superfícies compactas, contínuas e sem porosidade excessiva, o que favorece a estabilidade física e a liberação controlada do fármaco.

A caracterização espectroscópica por FTIR e Raman confirmou a presença de ITZ nas esferas e evidenciou interações químicas relevantes entre o fármaco e componentes proteicos do extrato de carne. Destacou-se a amostra C8, na qual foi observado um perfil Raman anômalo, com reorganização intensa das bandas e acréscimo de sinais específicos do fármaco, sugerindo a formação de complexos supramoleculares ITZ-proteína. Tais interações indicam a existência de duas barreiras de liberação: a matriz polimérica de alginato e os complexos moleculares formados com proteínas, ambos potencialmente modulando a biodisponibilidade do ativo.

Os dados de HPLC reforçaram essas observações, com a identificação de múltiplos tempos de retenção e bandas associadas não apenas ao ITZ puro, mas também a intermediários formados com proteínas do extrato, caracterizando um sistema encapsulante multifásico. Essas evidências confirmam o aprisionamento do fármaco em diferentes ambientes químicos, favorecendo uma liberação prolongada e gradual.

O ensaio de Inibição do Crescimento Fúngico (EICFI) demonstrou a efetividade do sistema, com inibição expressiva do crescimento de *Sporothrix brasiliensis* pelas esferas



contendo ITZ. Notavelmente, esferas contendo apenas extrato de carne também apresentaram efeito antifúngico parcial, indicando que alterações estruturais em peptídeos cárneos durante a reticulação com  $\text{Ca}^{2+}$  podem gerar compostos bioativos com atividade antifúngica complementar.

Além da eficácia terapêutica demonstrada *in vitro*, a formulação proposta atende aos critérios de palatabilidade, biocompatibilidade, custo acessível e aplicabilidade em larga escala, podendo ser utilizada em farmácias veterinárias, projetos de saúde pública ou programas de controle da esporotricose. A presença do extrato de carne agrega valor sensorial à formulação, aumentando a probabilidade de aceitação espontânea pelos animais e reduzindo a necessidade de administração forçada.

Em síntese, a tecnologia desenvolvida oferece uma alternativa inovadora e adaptada à realidade clínica felina, com potencial de transformar a forma como se administra antifúngicos em gatos, reduzindo falhas terapêuticas, ampliando a adesão e contribuindo para o controle de uma grave zoonose emergente. Os resultados obtidos fornecem base sólida para ensaios *in vivo* futuros e aplicações translacionais, abrindo caminho para novas formulações farmacêuticas direcionadas à medicina veterinária de precisão.

## 8.0 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Dada a complexidade do tema e o caráter inovador da proposta desenvolvida, os resultados obtidos neste estudo abrem diversas possibilidades para investigações futuras. A seguir, são sugeridas linhas de pesquisa que poderão aprofundar, expandir e validar as descobertas aqui relatadas:

### 1. Ensaios clínicos *in vivo* com gatos infectados por *Sporothrix brasiliensis*

Avaliar a eficácia terapêutica real da formulação encapsulada, mensurando parâmetros como tempo de cura, adesão espontânea ao tratamento, efeitos colaterais e resposta imunológica.

### 2. Testes de palatabilidade e aceitação voluntária da formulação

Realizar experimentos de campo para avaliar se a saborização com extrato de carne aumenta de fato a aceitação espontânea por gatos em condições reais de uso, com controle estatístico da adesão ao tratamento.

3. Estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos da formulação encapsulada

Investigar a liberação controlada do ITZ no trato gastrointestinal felino, correlacionando a estrutura do sistema encapsulante com a biodisponibilidade do fármaco no plasma.

4. Otimização da formulação com polímeros combinados ou revestimentos entéricos

Testar combinações de alginato com outros biopolímeros (como quitosana, pectina ou gelatina) ou revestimentos gastro-resistentes que favoreçam a liberação entérica do fármaco.

5. Caracterização de peptídeos antifúngicos no extrato de carne reticulada com cálcio

Identificar, isolar e estudar os peptídeos ou estruturas secundárias formadas após reticulação que apresentaram atividade antifúngica parcial nos ensaios com esferas sem ITZ.

6. Estudos de estabilidade e shelf-life da formulação

Avaliar a estabilidade físico-química das esferas encapsuladas ao longo do tempo, considerando diferentes condições de armazenamento, com vistas à produção em escala e comercialização.

7. Desenvolvimento de formulações adaptadas a outras vias de administração ou espécies animais

Explorar o uso da tecnologia encapsulante para formulações transdérmicas, orais líquidas ou adaptadas para outras espécies de interesse veterinário (como cães ou animais silvestres).

8. Aplicação da tecnologia para outros fármacos de difícil administração oral em gatos

Estender a metodologia para encapsular antibióticos, anti-inflamatórios ou antiparasitários cuja administração seja igualmente comprometida por baixa palatabilidade ou efeitos adversos.

## 9.0 REFERÊNCIAS

ABOWSKA, M. B.; SKRODZKA, M.; SICIŃSKA, H.; MICHALAK, I.; DETYNA, J. Influence of cross-linking conditions on drying kinetics of alginate hydrogel. *Gels*, v. 9, n. 1, p. 63, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels9010063>.

ADAMKIEWICZ, L.; SZELESZCZUK, Ł. Review of applications of cyclodextrins as taste-masking excipients for pharmaceutical purposes. *Molecules*, Basel, v. 28, n. 19, p. 6964, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28196964>.

ADZMI, F.; MEON, S.; MUSA, M. H.; YUSUF, N. A. Preparation, characterisation and viability of encapsulated *Trichoderma harzianum* UPM40 in alginate-montmorillonite clay. *Journal of Microencapsulation*, v. 29, n. 3, p. 205–210, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3109/02652048.2012.659286>.

ALBARELLI, J. Q. et al. Encapsulação de corantes funcionais em matriz de alginato puro ou recoberto por biopolímeros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 10., 2009, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: [s.n.], 2009. Disponível em: <https://www.sbpol.org.br/cbp>.

ALMEIDA-PAES, R.; OLIVEIRA, M. M. E.; FREITAS, D. F. S.; DO VALLE, A. C. F.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects and treatment with itraconazole. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 112, n. 1, p. 31–39, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760160527>.

ALHUSSAINI, M. S.; ALYAHYA, A. A. A. I.; AL-GHANAYEM, A. A. Alginate-derived antibacterial and antifungal agents: a review of applications and advances (2019–2025). *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 318, parte 4, p. 145333, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.145333>.

ANNISA, V.; SULAIMAN, T. N. S.; NUGROHO, A. K.; NUGROHO, A. E. Uma nova formulação de cetoconazol encapsulado em alginato com esferas de polímero aniônico para aumento da solubilidade: preparação e caracterização. *Pharmacia*, v. 70, n. 4, p. 1423–1438, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e108120>.

ASSIS, G. S.; ROMANI, A. F.; SOUZA, C. M.; VENTURA, G. F.; RODRIGUES, G. A.; STELLA, A. E. Esporotricose felina e saúde pública. *Veterinária e Zootecnia*, v. 29, p. 001-010, 2022.

BARROS, M. B. de L.; ALMEIDA-PAES, R.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 24, n. 4, p. 633–654, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.00007-11>.

BASTOS, F. A. G. D.; COGNIALLI, R. C. R.; FARIAS, M. R.; et al. Spread of *Sporothrix* spp. through respiratory droplets from infected cats: a potential route of transmission. *Medical Mycology*, v. 60, n. 11, eMyac079, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myac079>.

BOECHAT, J. S.; OLIVEIRA, M. M. E.; GREMIÃO, I. D. F.; et al. Sporothrix brasiliensis and feline sporotrichosis in the metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil (1998–2018). *Journal of Fungi, Basel*, v. 8, n. 7, p. 749, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof8070749>.

BRILHANTE, R. S. N.; PEREIRA, V. S.; OLIVEIRA, J. S.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; ESPOSITO, T. S.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Terbinafine and itraconazole in the treatment of cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*: in vitro and in vivo study. *Medical Mycology*, v. 54, n. 7, p. 706–712, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myv039>.

CAMPOS-VALLETTE, M.; CHANDÍA, N. P.; CLAVIJO CAMPOS, E.; LEAL, D.; MATSUHIRO, B.; OSORIO ROMÁN, I.; TORRES, S. Characterization of sodium alginate and its block fractions by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 41, n. 7, p. 758–763, 2010. Disponível em: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/119262>.

CARR, D. A guide to the analysis and purification of proteins and peptides by reversed-phase HPLC. Aberdeen: ACE HPLC Columns, 2010. Disponível em: [https://www.hplc.eu/Downloads/ACE\\_Guide\\_Peptides.pdf](https://www.hplc.eu/Downloads/ACE_Guide_Peptides.pdf).

CERQUEIRA, L. B. G.; DE SOUSA, A. C.; DA SILVA, Y. M.; BASTOS, T. S. A. Esporotricose em felinos no Brasil: breve revisão de literatura. *Revista Sociedade Científica*, v. 7, n. 1, p. 5245-5253, 2024. DOI: <https://doi.org/10.61411/rsc202484117>.

ÇELİK, E.; BAYRAM, C.; AKÇAPINAR, R.; TÜRK, M.; DENKBAŞ, E. B. The effect of calcium chloride concentration on alginate/Fmoc-diphenylalanine hydrogel networks. *Materials Science and Engineering: C*, v. 66, p. 221–229, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.04.084>.

CHANGCHAROENSUK, C.; PHONGPHISUTTHINAN, A.; PICHAYAKORN, W.; CHAIPETCH, P.; WANICHPAKORN, P.; MANKHONGPHITHAKKUL, S.; SONGKRAM, C. Formulation, optimization, and evaluation of extemporaneous potassium chloride-loaded alginate beads. *Science & Technology Asia*, v. 28, n. 2, p. 196–203, 2023. DOI: <https://doi.org/10.14456/scitechasia.2023.38>.

CHAUDHARI, S. A.; KAR, J. R.; SINGHAL, R. S. Immobilization of proteins in alginate: functional properties and applications. *Current Protein & Peptide Science*, v. 19, n. 17, p. 1732–1754, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2174/1385272819666150429232110>.

CHENG, Y.; LUO, X.; BETZ, J.; PAYNE, G. F.; BENTLEY, W. E.; RUBLOFF, G. W. Mechanism of anodic electrodeposition of calcium alginate. *Soft Matter*, v. 7, p. 5677–5684, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1039/c0sm01428a>.

CIARLEGLIO, G.; CINTI, F.; TOTO, E.; SANTONICOLA, M. G. Synthesis and characterization of alginate gel beads with embedded zeolite structures as carriers of hydrophobic curcumin. *Gels*, v. 9, n. 9, p. 714, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels9090714>.

COLOMBAN, P.; SLODCZYK, A. Raman intensity: an important tool in the study of nanomaterials and nanostructures. *Acta Physica Polonica A*, v. 116, n. 1, p. 7–12, 2009a. Disponível em: <http://przyrbwn.icm.edu.pl/APP/PDF/116/a116z101.pdf>.

COLOMBAN, P.; SLODCZYK, A. Raman intensity: an important tool to study the structure and phase transitions of amorphous/crystalline materials. *Optical Materials*, v. 31, n. 12, p. 1759–1763, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2008.12.030>.

COUNCIL OF EUROPE. European Pharmacopoeia. 11. ed., monografia 0625 “Sodium Alginate”. Strasbourg: EDQM, 2023. Disponível em (acesso restrito por assinatura): <https://pheur.edqm.eu/>.

DALAL, S. R.; HUSSEIN, M. H.; EL-NAGGAR, N. E.; MOSTAFA, S. I.; SHAABAN-DESSUUKI, S. A. Characterization of alginate extracted from *Sargassum latifolium* and its use in *Chlorella vulgaris* growth promotion and riboflavin drug delivery. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 16741, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96202-0>.

DAVARCI, F.; TURAN, D.; OZCELIK, B.; PONCELET, D. The influence of solution viscosities and surface tension on calcium-alginate microbead formation using dripping technique. *Food Hydrocolloids*, v. 62, p. 119-127, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.004>.

DE BEER, T.; BAEYENS, W. R. G.; OUYANG, J.; VERVAET, C.; REMON, J. P. Raman spectroscopy as a process analytical technology tool for the understanding and the quantitative in-line monitoring of the homogenization process of a pharmaceutical suspension. *Analyst*, v. 131, n. 10, p. 1137–1144, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1039/B605299A>.

DE MELO TEIXEIRA, M.; et al. Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 52, n. 2, p. 273–283, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.04.005>.

DERKACH, S. R.; VORON'KO, N. G.; SOKOLAN, N. I.; KOLOTOVA, D. S.; KUCHINA, Y. A. Interações entre gelatina e alginato de sódio: estudos UV e FTIR. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 41, n. 5, p. 690–698, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1611437>.

Dobrosłavić, E.; Cegledi, E.; Robić, K.; Elez Garofulić, I.; Dragović-Uzelac, V.; Repajić, M. Encapsulation of Fennel Essential Oil in Calcium Alginate Microbeads via Electrostatic Extrusion. *Applied Sciences*, v. 14, n. 8, p. 3522, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/app14083522>.

DONG, A.; HUANG, P.; CAUGHEY, W. S. Protein secondary structures in water from second-derivative amide I infrared spectra. *Biochemistry*, v. 29, n. 13, p. 3303–3308, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi00465a022>.

EKWEREMADU, C. S.; ABDELHAKIM, H. E.; CRAIG, D. Q. M.; BARKER, S. A. Development and evaluation of feline tailored amlodipine besylate mini-tablets using L-lysine as a candidate flavouring agent. *Pharmaceutics*, v. 12, n. 10, p. 917, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100917>.

EMAMI, S.; VALIZADEH, H.; ISLAMBULCHILAR, Z.; ZAKERI-MILANI, P. Development and physicochemical characterization of sirolimus solid dispersions prepared by solvent evaporation method. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, v. 4, n. 4, p. 369–374, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5681/apb.2014.054>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on the demonstration of palatability of veterinary medicinal products. EMA/CVMP/EWP/206024/2011. London, 2012.

EUROPEAN UNION. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council on food additives. Official Journal of the European Union, 31 dez. 2008. Anexo II – código E-401 (sodium alginate).

EVERALL, N. J. Raman spectroscopy of the condensed phase. In: CHALMERS, J. M.; GRIFFITHS, P. R. (ed.). Handbook of Vibrational Spectroscopy. Chichester: John Wiley & Sons, 2006.

FALCÃO, E. M. M.; ROMÃO, A. R.; MAGALHÃES, M. A. F. M.; et al. A spatial analysis of the spread of hyperendemic sporotrichosis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Fungi*, v. 8, n. 5, p. 434, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof8050434>.

FERNANDES, R. S.; MOURA, M. R.; GLENN, G. M.; AOUADA, F. A. Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca<sup>2+</sup> alginate/clay nanocomposite hydrogel beads. *Journal of Molecular Liquids*, v. 265, p. 327–336, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.05.107>.

FERREIRA, Q. S.; SILVA, J. R.; SILVA, R. C.; PY-DANIEL, K. R.; AZEVEDO, R. B.; MORAIS, P. C.; SILVA, S. W. Surface-enhanced Raman spectroscopy for successful probing of itraconazole within poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 50, n. 7, p. 1085–1093, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jrs.5628>.

FERREIRA, V. C. D.; FIGUEIREDO, A. B. F.; MAGALHÃES, M. A. F. M.; PEREIRA, S. A.; TASSINARI, W. Distribuição temporal e espacial da esporotricose na Região Metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil: uma comparação de casos humanos e animais (2013–2020). *Cadernos de Saúde Pública*, v. 41, n. 2, e00133024, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-311XEN133024>.

FOODADDITIVES.NET. Sodium alginate (E-401): uses, structure, side effects. 2024. Disponível em: <https://foodadditives.net/thickeners/sodium-alginate/>.

GONÇALVES, S. S.; POLA, C. C.; HOCKE, A. C.; et al. *Sporothrix brasiliensis*: epidemiology, clinical aspects, and antifungal susceptibility profiles. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 8, p. 831, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof9080831>.

GRANT, G. T.; MORRIS, E. R.; REES, D. A.; SMITH, P. J. C.; THOM, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Letters*, v. 32, n. 1, p. 195–198, 1973. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7).

GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R. C.; SCHUBACH, T. M. P.; et al. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. *Medical Mycology*, v. 53, n. 1, p. 15–21, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myu061>.

GREMIÃO, I. D. F.; MIRANDA, L. H. M.; PEREIRA-OLIVEIRA, G. R.; MENEZES, R. C.; MACHADO, A. C. S.; RODRIGUES, A. M.; PEREIRA, S. A. Advances and challenges in the management of feline sporotrichosis. *Revista Ibero-Americana de Micologia*, v. 39, n. 3–4, p. 61–67, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2022.05.002>.

GREMIÃO, I. D. F.; OLIVEIRA, M. M. E.; BARROS, M. B. L.; et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS Pathogens*, v. 13, n. 1, e1006077, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077>.

GULL, T.; ABUELO, A. Sporotrichosis in animals. *MSD Veterinary Manual* (versão profissional). Atualizado set. 2024. Disponível em: <https://www.merckvetmanual.com/infectious-diseases/fungal-infections/sporotrichosis-in-animals>.

GUO, Q. Characterization of the interactions between itraconazole and human and bovine serum albumins by a spectroscopic method. *Acta Physico-Chimica Sinica*, v. 25, n. 11, p. 2205–2210, 2009. Disponível em: [https://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-WLHX200910034.htm](https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-WLHX200910034.htm).

HAGE, D. S.; ANGUIZOLA, J. A.; JACKSON, A. J.; MATSUDA, R.; PAPASTAVROS, E.; PFAUNMILLER, E.; TONG, Z.; VARGAS-BADILLA, J.; YOO, M. J.; ZHENG, X. Chromatographic analysis of drug interactions in the serum proteome. *Analytical Methods*, v. 3, n. 7, p. 1449–1460, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1039/C1AY05068K>.

HEWSON-HUGHES, A. K.; COLYER, A.; SIMPSON, S. J.; RAUBENHEIMER, D. Balancing macronutrient intake in a mammalian carnivore: disentangling the influences of flavour and nutrition. *Royal Society Open Science*, v. 3, n. 6, p. 160081, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.160081>

HIBUKAWA, A.; NAKAGAWA, T.; MIYAKE, M.; NISHIMURA, N.; TANAKA, H. Effect of protein binding on high performance liquid chromatography analysis of drugs with an internal-surface reversed-phase silica column. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 37, n. 5, p. 1311–1315, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.37.1311>.

IVLEVA, N. P.; WAGNER, M.; SAUER, K.; HORN, H.; NIESSNER, R.; HIRSCHL, T.; HOLLER, R. Towards a nondestructive chemical characterization of biofilm matrix by Raman microscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 393, n. 1, p. 197–206, 2009. DOI: [10.1007/s00216-008-2470-5](https://doi.org/10.1007/s00216-008-2470-5).

JADHAV, P.; DEORE, P.; GANGURDE, A. An overview of sustained release matrix system. *International Journal of Current Science*, v. 12, n. 1, p. 649–656, 2022. Disponível em: <https://rjpn.org/ijcspub/papers/IJCSP22A1203.pdf>.

JEONG, C.; KIM, S.; LEE, C.; CHO, S.; KIM, S.-B. Changes in the physical properties of calcium alginate gel beads under a wide range of gelation temperature conditions. *Foods*, v. 9, n. 2, p. 180, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9020180>.

JIANG, Y.; LI, C.; NGUYEN, X.; MUZAMMIL, S.; TOWERS, E.; GABRIELSON, J.; NARHI, L. Qualification of FTIR spectroscopic method for protein secondary structural analysis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 100, n. 11, p. 4631–4641, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.22686>.

JUAREZ, G. A. P. et al. Immunological and technical considerations in application of alginate-based microencapsulation systems. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 2, artigo 26, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2014.00026>.

KAPOOR, D. U.; PAREEK, A.; SHARMA, S.; PRAJAPATI, B. G.; THANAWUTH, K.; SRIAMORNSAK, P. Alginate gels: Chemistry, gelation mechanisms, and therapeutic applications with a focus on GERD treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 675, p. 125570, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125570>.

KONG, J.; YU, S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, v. 39, n. 8, p. 549–559, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>.

KUNERT, J. P.; FISCHER, S.; WURZER, A.; WESTER, H. J. Albumin-mediated size exclusion chromatography: the apparent molecular weight of PSMA radioligands as novel parameter to estimate their blood clearance kinetics. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 9, p. 1161, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15091161>.

KURT, O.; KAYKISIZ, K.; YILDIZ, T.; BILGIN, B. Biosorption of Ni(II), Pb(II) and Zn(II) on calcium alginate beads: equilibrium, kinetic and mechanism studies. *Polish Journal of Chemical Technology*, v. 18, n. 3, p. 81–87, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1515/pjct-2016-0052>.

LAI, J.; AZAD, A. K.; SULAIMAN, W. M. A. W.; KUMARASAMY, V.; SUBRAMANIYAN, V.; ALSHEHADE, S. A. Alginate-based encapsulation fabrication technique for drug delivery: an updated review of particle type, formulation technique, pharmaceutical ingredient, and targeted delivery system. *Pharmaceutics*, v. 16, n. 3, p. 370, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030370>.

LANGER, R. New methods of drug delivery. *Science*, v. 249, n. 4976, p. 1527–1533, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.2218494>

LAROSA, M.; et al. Thermal and structural behaviour of Ca–alginate beads embedded with clay nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, v. 1167, p. 351–360, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.04.026>.

LEI, W.; RAVONINJOHARY, A.; LI, X.; MARGOLSKEE, R. F.; REED, D. R.; BEAUCHAMP, G. K.; et al. Functional analyses of bitter taste receptors in domestic cats (*Felis catus*). *PLoS ONE*, v. 10, n. 10, e0139670, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139670>.

LI, J.; MOONEY, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nature Reviews Materials*, v. 1, n. 12, p. 16071, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.71>.

LI-CHAN, E. C. Y. The applications of Raman spectroscopy in food science. *Trends in Food Science & Technology*, v. 7, n. 11, p. 361–370, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(96\)10037-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(96)10037-6).

LLORET, A.; HARTMANN, K.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T.; HOSIE, M. J.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; MÖSTL, K.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. Sporotrichosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 15, n. 7, p. 619–623, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1177/1098612X13489225>.



LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000200003>.

LOPEZ-BLANCO, M. Los gatos domésticos han extinguido más animales que ningún otro depredador. *The Conversation*, 11 abr. 2024. Disponível em: <https://theconversation.com/los-gatos-domesticos-han-extinguido-mas-animales-que-ningun-otro-depredador-220233>.

LUO, X.; FAN, S.; HE, Z.; NI, F.; LIU, C.; HUANG, M.; CAI, L.; REN, G.; ZHU, X.; LEI, Q.; FANG, W.; XIE, H. Preparation of alginate-whey protein isolate and alginate-pectin-whey protein isolate composites for protection and delivery of *Lactobacillus plantarum*. *Food Research International*, v. 161, p. 111794, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111794>.

MACÊDO-SALES, P. A.; SOUTO, S. R. L. S.; DESTEFANI, C. A.; et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. *BMC Veterinary Research*, v. 14, art. 19, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1340-4>.

MATSUURA, K.; YOSHIOKA, S.; TOSHA, T.; HORI, H.; ISHIMORI, K.; KITAGAWA, T.; MORISHIMA, I.; KAGAWA, N.; WATERMAN, M. R. Structural diversities of active site in clinical azole-bound forms between sterol 14 $\alpha$ -demethylases (CYP51s) from human and *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Biological Chemistry*, v. 280, n. 10, p. 9088–9096, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M413042200>.

MELLO, A. V. S.; FONTES, D. A. F. Tecnologias aplicadas para prolongar a liberação de fármacos: uma revisão integrativa. *Diversitas Journal*, v. 8, n. 2, p. 185–202, 2023. DOI: <https://doi.org/10.48017/dj.v8i2.2429>.

MISSION, J. L.; BLANCHARD, C.; MINT-DAH, F. V.; LAFARGE, C.; ASSIFAOU, A.; SAUREL, R. The effects of sodium alginate and calcium levels on pea proteins cold-set gelation. *Food Hydrocolloids*, v. 31, n. 2, p. 446–457, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.004>.

MERCK VETERINARY MANUAL. Overview of fungal infections in animals. 2024. Disponível em: <https://www.merckvetmanual.com/infectious-diseases/fungal-infections/sporotrichosis-in-animals>.

MERCK VET MANUAL. Dosages of antifungal medications. Disponível em: <https://www.merckvetmanual.com/multimedia/table/dosages-of-antifungal-medications>.

MIRZAPOUR-KOUHDASHT, A.; MCCLEMENTS, D. J.; TAGHIZADEH, M. S.; NIAZI, A.; GARCIA-VAQUERO, M. Strategies for oral delivery of bioactive peptides with focus on debittering and masking. *NPJ Science of Food*, v. 7, n. 1, p. 22, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00198-y>.

MÜLLER, M.; TORGER, B.; KESSLER, B. In situ ATR-FTIR spectroscopy on the deposition and protein interaction of polycation/alginate multilayers. *Advanced Engineering Materials*, v. 12, n. 12, p. 1187–1195, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/adem.201080059>.

NAMBIAR, M.; SCHNEIDER, J. P. Hidrogéis peptídicos para liberação controlada por afinidade de carga terapêutica: estratégias atuais e potenciais. *Journal of Peptide Science*, v. 28, n. 1, e3377, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/psc.3377>.

NASTAJ, J.; PRZEWLOCKA, A.; RAJKOWSKA-MYŚLIWIEC, M. Biosorption of Ni(II), Pb(II) and Zn(II) on calcium alginate beads: equilibrium, kinetic and mechanism studies. *Polish Journal of Chemical Technology*, v. 18, n. 3, p. 81–87, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1515/pjct-2016-0052>.

NICHELASON, A. E.; SCHULTZ, K. K.; BERNARD, A. J.; CAVINESS, J. E.; ALVAREZ, E. E. Oil-based compounding flavors more accepted by feline patients. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 261, n. 1, p. 104–110, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.22.07.0338>.

NUNES, K. M. Aplicação de técnicas espectroscópicas vibracionais e imagens hiperespectrais na detecção de fraudes em carnes bovinas in natura. 2019. 132 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

OCHBAUM, G.; DAVIDOVICH-PINHAS, M.; BITTON, R. Tuning the mechanical properties of alginate–peptide hydrogels. *Soft Matter*, v. 14, p. 4364–4373, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8SM00059J>.

PAȘCALĂU, V.; POPESCU, V.; POPESCU, G. L.; DUDESCU, M. C.; BORODI, G.; DINESCU, A.; PERHAIȚA, I.; PAUL, M. The alginate/k-carrageenan ratio's influence on the properties of the cross-linked composite films. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 536, p. S418–S423, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2011.12.026>.

PAUL, P.; NANDI, G.; ABOSHEASHA, M. A.; BERA, H. Alginate-based systems for protein and peptide delivery. In: WOODHEAD PUBLISHING (ed.). *Advances in pharmaceutical product development and research*. Cambridge: Elsevier, 2021. p. 85–113. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821437-4.00011-6>.

PARK, I. H.; YANG, H.; KIM, J. H.; KIM, K. J. Solubility measurement study on a metastable polymorph of  $\beta$ -2,4,6,8,10,12-hexanitro-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitane by Raman spectroscopy. *Crystal Growth & Design*, v. 19, n. 9, p. 4990–5004, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00245>.

PARK, K. Controlled drug delivery systems: Past forward and future back. *Journal of Controlled Release*, v. 190, p. 3–8, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.054>.

PLANTINGA, E. A.; BOSCH, G.; HENDRIKS, W. H. Estimation of the dietary nutrient profile of free-roaming feral cats: possible implications for nutrition of domestic cats. *British Journal of Nutrition*, v. 106, suppl. 1, p. S35–S48, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114511002285>.

PRYCE-LEWIS, W.; SUN, E.; SHIMIZU, K. Quantitative measurements of concentration and solubility using Raman spectroscopy. 2005. Disponível em: <https://www.freepatentsonline.com/7521254.html>.

QUINA, D. Encapsulamento do fármaco itraconazol com alginato de sódio e sabor carne para tratamento da esporotricose em gatos. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2025.

RAHMAN, M. M.; SHAHID, M. A.; HOSSAIN, M. T.; et al. Sources, extractions, and applications of alginate: a review. *Discover Applied Sciences*, v. 6, p. 443, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42452-024-06151-2>.

RAJMOHAN, D.; BELLMER, D. Characterization of Spirulina-alginate beads formed using ionic gelation. *International Journal of Food Science*, v. 2019, e7101279, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/7101279>.

RAO, N. G. R.; RAJ, R. P.; NAYAK, S. Review on matrix tablet as sustained release. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, v. 2, n. 3, p. 57–65, 2013. Disponível em: <https://sl1nk.com/D5n6H>.

REIS, E. G.; PEREIRA, S. A.; MIRANDA, L. H. M.; et al. Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study. *Medical Mycology*, v. 54, n. 7, p. 684–690, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myw027>.

REIS, E. G.; PEREIRA, S. A.; MIRANDA, L. H. M.; OLIVEIRA, R. V. C.; QUINTANA, M. S. B.; VIANA, P. G.; FIGUEIREDO, A. B. F.; HONORATO, C. C. S.; PEREIRA-OLIVEIRA, G. R.; SILVA, J. N.; SCHUBACH, T. M. P.; GREMIÃO, I. D. F. Um ensaio clínico randomizado comparando itraconazol e uma terapia combinada com itraconazol e iodeto de potássio para o tratamento da esporotricose felina. *Journal of Fungi*, v. 10, n. 2, p. 101, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof10020101>.

REN, Y.; WANG, Q.; XU, W.; YANG, M.; GUO, W.; HE, S.; LIU, W. Alginate-based hydrogels mediated biomedical applications: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 279, parte 1, p. 135019, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135019>.

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.; QUEIROZ-TELLES, F.; CACERES, D. H.; 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. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof6040247>.

SALVE, S.; HINGNE, L.; KAMBLE, S. Development and validation of stability indicating RP-HPLC and UV-spectrophotometric method for estimation of itraconazole in bulk and formulation. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, v. 10, n. 8, 2023. Disponível em: <https://www.jetir.org/view?paper=JETIR2308190>.

SANTAGAPITA, P. R.; MAZZOBRE, M. F.; BUERA, M. P. Invertase stability in alginate beads: effect of trehalose and chitosan inclusion and of drying methods. *Food Research International*, v. 47, n. 2, p. 321–330, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.042>.

SARMENTO, B.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydrate Polymers*, v. 66, n. 1, p. 1–7, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.02.008>.

SAVOLAINEN, S.; HAUTALA, J.; JUNNILA, J.; AIRAKSINEN, S.; JUPPO, A. M.; RAEKALLIO, M.; VAINIO, O. Acceptability of flavoured pharmaceutically non-active mini-tablets in pet cats tested with a rapid 3-portal acceptance test with and without food. *Veterinary and Animal Science*, v. 7, p. 100054, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vas.2019.100054>.

SCHÄFER-KORTING, H.; KORTING, H. C.; AMANN, F.; PEUSER, R.; LUKACS, A. Influence of albumin on itraconazole and ketoconazole antifungal activity: results of a dynamic in vitro study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 35, n. 10, p. 2053–2056, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.35.10.2053>.

SCHMID, T.; MESSMER, A.; YEO, B. S.; ZHANG, W.; ZENOBI, R. Towards chemical analysis of nanostructures in biofilms II: tip-enhanced Raman spectroscopy of alginates. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 391, n. 5, p. 1907–1916, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2101-1>.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO (SES-RJ). Resolução SES-RJ nº 674/2013 — Notificação obrigatória da esporotricose no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: SES-RJ, 2013.

SHIBUKAWA, A.; NAKAGAWA, T.; MIYAKE, M.; NISHIMURA, N.; TANAKA, H. Effect of protein binding on high performance liquid chromatography analysis of drugs with an internal-surface reversed-phase silica column. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 37, n. 5, p. 1311–1315, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.37.1311>.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 364, n. 2, p. 328–343, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.09.004>

SILVA, M. B. et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 28, n. 10, p. 1867-1880, out. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2012001000006>.

SINGH, S.; BHANDOLE, A.; LODHI, D. Review on analytical methods for estimation of itraconazole in bulk and pharmaceutical dosage form. *International Journal of Research and Review*, v. 8, p. 30–37, 2021. DOI: <https://doi.org/10.52403/ijrr.20210506>.

SKJÅK-BRAEK, G.; GRASDALEN, H.; SMIDSRØD, O. Inhomogeneous polysaccharide ionic gels. *Carbohydrate Polymers*, v. 10, p. 31–54, 1989. DOI: [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(89\)90030-4](https://doi.org/10.1016/0144-8617(89)90030-4).

SMALL, E. W.; PETICOLAS, W. L. Conformational dependence of the Raman scattering intensities from polynucleotides. *Biopolymers*, v. 10, n. 8, p. 1377–1418, 1971. DOI: <https://doi.org/10.1002/bip.360100811>.

SOARES, Gustavo Forlani et al. Esporotricose em um felino soropositivo para FeLV – relato de caso. *Revista Clínica Veterinária* [online], 20 nov. 2018. Disponível em: <https://www.revistaclinicaveterinaria.com.br/noticias/especialidades/clinica/esporotricose-em-um-felino-soropositivo-para-felv-relato-de-caso/>.

SPADARI, C. C.; LOPES, L. B.; ISHIDA, K. Potential use of alginate-based carriers as antifungal delivery system. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 97, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00097>.

STOGSDILL, Dennis. Foto de gato selvagem caçando flamingo ganha prêmio de imagens de natureza. *G1*, 11 ago. 2022. Disponível em: <https://g1.globo.com/meio-ambiente/noticia/2022/08/11/foto-de-gato-selvagem-cacando-flamingo-ganha-premio-de-imagens-de-natureza-veja-outras-premiadas.ghtml>.

SUSI, H.; BYLER, D. M. Protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy: second derivative spectra. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 115, n. 1, p. 391–397, 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(83\)91016-1](https://doi.org/10.1016/0006-291X(83)91016-1).

TAYLOR, S.; CANEY, S.; BESSANT, C.; GUNN-MOORE, D. Online survey of owners' experiences of medicating their cats at home. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 24, n. 12, p. 1283–1293, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1177/1098612X221083752>.

TERRA INCOGNITA. O gato que extinguiu uma espécie inteira. [S.l.]: Terra Incognita, 2022. Disponível em: <https://terraincognita.com.br/post/o-gato-que-extinguiu-uma-especie-inteira>.

THERMO SCIENTIFIC. HPLC analysis of biomolecules: technical guide – successful separations of peptides, proteins and other biomolecules. Waltham: Thermo Fisher Scientific, 2021. Disponível em: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/TG-HPLC-Biomolecules-TGCCSBIOMOL-EN.pdf>.

THOTA, C.; YADAV, N.; CHAUHAN, V. Um novo hidrogel altamente estável e injetável baseado em um peptídeo ultracurto restrito conformacionalmente. *Scientific Reports*, v. 6, p. 31167, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep31167>.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. NF Monographs, Sodium Alginate. USP–NF Online, Rockville, MD, 2022. DOI: [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M75750\\_04\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M75750_04_01). Disponível em: [https://doi.usp.org/USPNF/USPNF\\_M75750\\_04\\_01.html](https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M75750_04_01.html).

USOLTSEV, D.; SITNIKOVA, V.; KAJAVA, A.; USPENSKAYA, M. Systematic FTIR spectroscopy study of the secondary structure changes in human serum albumin under various denaturation conditions. *Biomolecules*, v. 9, n. 8, p. 359, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9080359>.

VALENTE, J. F. A.; DIAS, J. R.; SOUSA, A.; ALVES, N. Composite Central Face Design—An approach to achieve efficient alginate microcarriers. *Polymers*, v. 11, n. 12, p. 1949, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym11121949>.

VARGAS, P. O. Secagem de partículas de alginato de cálcio. 2017. 95 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2017. Disponível em: <https://sl1nk.com/EetRe>.

VASVÁRI, G.; KALMÁR, J.; VERES, P.; VECSENYÉS, M.; BÁCSKAY, I.; FEHÉR, P.; UJHELYI, Z.; HAIMHOFFER, Á.; RUSZNYÁK, Á.; FENYVESI, F.; VÁRADI, J. Matrix systems for oral drug delivery: formulations and drug release. *Drug Discovery Today: Technologies*, v. 27, p. 71–80, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.06.009>.

WANG, Y.; LUO, Y. H.; ZHAO, J.; et al. Selection of excipients for dispersible tablets of itraconazole through the application of thermal techniques and Raman spectroscopy. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 115, p. 2391–2400, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10973-013-3330-x>.

WANG, Y.; SHEN, Z.; WANG, H.; SONG, Z.; YU, D.; LI, G.; LIU, X.; LIU, W. Progresso na pesquisa sobre géis de alginato à base de reticulação de íons metálicos. *Gels*, v. 11, n. 1, p. 16, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels11010016>.

WEE, S.; GOMBOTZ, W. R. Protein release from alginate matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 31, n. 3, p. 267–285, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(97\)00124-5](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(97)00124-5).

WÜTHRICH, K. Estudos de RMN de estrutura e conformação em peptídeos e proteínas. In: VAN GERVEN, L. (ed.). *Ressonância Magnética Nuclear em Sólidos*. NATO Advanced Study Institutes Series, v. 22. Boston: Springer, 1977. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2808-7\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2808-7_22).

XIA, E.; WANG, X.; LI, J.; LI, J.; MAN, J. Fabricação de microesferas de Ca-alginato por gelificação induzida por difusão em gotículas de emulsão dupla para insulina oral. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 277, parte 3, p. 134141, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134141>.

XIE, Y.; ZHAO, J.; HUANG, R.; QI, W.; WANG, Y.; SU, R.; HE, Z. Calcium-ion-triggered co-assembly of peptide and polysaccharide into a hybrid hydrogel for drug delivery. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, n. 1, p. 184, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1415-8>.

YIN, B.; WANG, R.; GUO, Y.; LI, L.; HU, X. Injectable thermo-responsive peptide hydrogels with enzyme-triggered dynamic self-assembly. *Polymers*, v. 16, n. 9, p. 1221, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym16091221>.

ZHANG, Z.; GAO, J.; YUAN, L.; DUAN, B.; YANG, H.; MA, L.; LU, K. Self-assembling peptide hydrogels: design, mechanisms, characterization, and biomedical applications. *Soft Matter*, v. 21, n. 24, p. 5433–5453, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1039/D5SM00396B>.

ZHOU, Y.; XUE, S.; YANG, J. J. Calciomics: integrative studies of Ca<sup>2+</sup>-binding proteins and their interactomes in biological systems. *Metallomics*, v. 5, n. 1, p. 29–42, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2mt20009k>.

ZORAN, D. L. The carnivore connection to nutrition in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 221, n. 11, p. 1559–1567, 2002. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.1559>.