



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Cláudia Honara da Rosa Waisczik

**Desenvolvimento de membranas bioadesivas de κ -carragenana e
hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato visando a administração tópica de
cloridrato de terbinafina**

Florianópolis

2020

Cláudia Honara da Rosa Waisczik

Desenvolvimento de membranas bioadesivas de κ -carragenana e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato visando a administração tópica de cloridrato de terbinafina

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Luis Parize

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Waisczik, Claudia Honara da Rosa
Desenvolvimento de membranas bioadesivas de k
carragenana e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato
visando a administração tópica de cloridrato de terbinafina
/ Claudia Honara da Rosa Waisczik ; orientador, Alexandre
Luis Parize , 2020.
76 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Química. 2. Cloridrato de Terbinafina. 3. k
carragenana. 4. Hidroxipropilmetilcelulose acetato
succinato. 5. Administração tópica. I. , Alexandre Luis
Parize. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Cláudia Honara da Rosa Waisczik

Desenvolvimento de membranas bioadesivas de κ -carragenana e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato visando a administração tópica de cloridrato de terbinafina

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Marcia M. Meier, Dr.^a

Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof.^a Hellen Karine Stulzer Koerich, Dr.^a

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Giovana Carolina Bazzo, Dr.^a

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Química

Prof. Marcus Cesar Mandolesi Sá, Dr.

Coordenador do Programa

Prof. Alexandre Luis Parize, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2020

Dedico este trabalho às minhas irmãs Débora e Ana Júlia.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço aos meus pais, que sempre lutaram para garantir oportunidades melhores para mim e para as minhas irmãs por meio do suor de suas lavouras. Por todo amor, incentivo e confiança. Às minhas irmãs Débora e Ana Júlia, pelo incentivo e carinho, e ao meu namorado Jefferson pelo companheirismo.

Ao meu professor orientador Alexandre L. Parize, pela oportunidade e acolhimento na realização desta pesquisa, por toda confiança depositada, orientação e disponibilidade que sempre demonstrou. Agradeço pela sabedoria e conhecimentos transmitidos além de toda paciência e otimismo no decorrer deste percurso.

Ao Laboratório do Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos (POLIMAT) pelo acolhimento. Aos meus colegas de laboratório, pelos momentos de descontração e pelos momentos de contribuição a este trabalho, por todo apoio na superação dos desafios encontrados. Agradeço especialmente a Giuliana e ao Adalberto, pela parceria, companheirismo e pela dedicação ao contribuírem na produção dos resultados e, acima de tudo pela amizade.

Aos demais laboratórios essenciais neste trabalho, Laboratório de Controle de Qualidade (CCS), Laboratório de Controle de Processos de Polimerização, ao Núcleo de Pesquisa em materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT).

A todos que fizeram parte dessa jornada acadêmica, através do carinho e da amizade, que me fortaleceu para superar qualquer desafio encontrado. Obrigada Max, Andrei, Dani, Larissa, Michele, Paola, Bruna, Jery, Raquel, Jaque e Sebastian, e especialmente à Bruna Kelly, pelos momentos de alegria, de faxina, de foco nos estudos, pela cumplicidade e pela amizade forte e duradoura que cultivamos.

Aos mestres desta jornada, com quem tive a oportunidade de evoluir academicamente.

A UFSC pela estrutura e aos órgãos de fomento, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

*Para alcançar o equilíbrio é preciso
estar em movimento.*

Albert Einstein (adaptado)

RESUMO

Este estudo tem por objetivo o desenvolvimento e a caracterização de membranas de kappa-carragenana (CG) e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (HPMCAS) obtidos pelo método de secagem de solvente (*casting*) como sistemas carreadores do cloridrato de terbinafina (TBF) com foco em sua administração via tópica. Desta maneira, o estudo das propriedades reológicas das dispersões aquosas foi essencial para determinar as formulações das membranas baseando-se na temperatura de transição sol-gel das amostras. Foram desenvolvidas membranas de grupo controle de HPMCAS e CG puras (100H e 100C), na ausência e na presença de fármaco, em três concentrações de CG: 30% (30CH e 30CH-TBF), 40% (40CH e 40CH-TBF) e 50% (50CH e 50CH-TBF) (m/m). Na análise de viscosidade relativa das dispersões aquosas foi possível verificar um aumento gradativo da viscosidade no estado de gel das formulações na ausência de TBF e uma elevação ainda maior na presença de TBF. Nos espectros de FTIR das membranas verificou-se o deslocamento de bandas características de ambos os polímeros (CG e HPMCAS) quando presentes nas misturas, sugerindo novas interações dos grupamentos sulfato da CG, propondo a formação de redes tridimensionais entre CG e HPMCAS por meio de ligações de hidrogênio. As propriedades mecânicas das membranas são modificadas quando comparadas as propriedades dos polímeros puros. Com a adição da TBF na composição das membranas, a tensão de ruptura, a deformação e módulo de elasticidade aumentam consideravelmente, indicando a dispersão do fármaco na matriz e suas fortes interações eletrostáticas, diminuindo a mobilidade da membrana. As análises de DSC fortaleceram o pressuposto de que o fármaco se encontra no estado amorfo e disperso na matriz, pois não foi observado nenhum evento térmico de fusão nas curvas das membranas de CG/HPMCAS. Observou-se o aumento da Tg das amostras onde a TBF está dispersa quando comparadas às membranas controle, suportando os resultados da análise mecânica, que indicam a forte interação com os polímeros da matriz, ocupando volumes livres entre as cadeias. As membranas com TBF apresentaram menor intumescimento em comparação com as demais membranas. Os estudos de liberação *in vitro* da terbinafina mostraram que a liberação é rápida, eficiente, liberando o medicamento em menos de 1h. O modelo cinético que melhor descreveu o mecanismo foi o de Korsmeyer-Peppas, indicando um transporte anômalo, onde ocorre a contribuição simultânea dos processos de difusão, intumescimento, relaxação e erosão da matriz polimérica. As formulações apresentaram atividade antifúngica contra o fungo *Candida albicans*. Os resultados foram promissores para aplicação em pele, uma vez que a matriz intumescer em uma temperatura determinada pela concentração dos excipientes e possibilita o afastamento das cadeias poliméricas, devido a mudança de fase (gel) favorecendo a liberação e difusão da TBF. Ademais, a alta viscosidade do estado de gel possibilita a adesão do sistema na superfície da pele, devido às ligações de hidrogênio formadas na matriz.

Palavras-chave: Cloridrato de Terbinafina; κ -carragenana; Hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato; Administração tópica.

ABSTRACT

The aim of this study is the development and characterization of kappa-carrageenan (CG) and hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) membranes obtained by the casting method as terbinafine hydrochloride (TBF) carrier systems with a focus on their topical administration. In this way, the study of the rheological properties of the aqueous dispersions was essential to determine the formulations of the membranes based on the sol-gel transition temperature of the samples. Pure HPMCAS and CG control group membranes (100H and 100C) were developed, in the absence and presence of drug, in three GC concentrations: 30% (30CH and 30CH-TBF), 40% (40CH and 40CH-TBF) and 50% (50CH and 50CH-TBF) (w / w). In the relative viscosity analysis of the aqueous dispersions, there was a gradual increase in the viscosity in the gel state of the formulations in the absence of TBF and an even greater increase in the presence of TBF. In the FTIR spectra of the membranes, the displacement of characteristic bands of both polymers (CG and HPMCAS) is observed when present in the mixtures, suggesting new interactions of the CG sulfate groups, proposing the formation of three-dimensional networks between CG and HPMCAS by means of hydrogen bonds. The mechanical properties of the membranes are modified when comparing the properties of pure polymers. With the addition of TBF in the composition of the membranes, the rupture stress, deformation and modulus of elasticity increase considerably, indicating the dispersion of the drug in the matrix and its strong electrostatic interactions, decreasing the mobility of the membrane. DSC analyzes support the fact that the drug is in an amorphous and dispersed state in the matrix, as no thermal fusion event was observed in the curves of the GC / HPMCAS membranes, an increase in T_g was observed in the samples where TBF is present. disperses when compared to control membranes, supporting the results of mechanical analysis, which indicate the strong interaction with the matrix polymers, occupying free volumes between the chains. TBF membranes showed less swelling compared to other membranes. In vitro release tests of terbinafine showed that the release is fast, efficient, releasing the drug in less than 1 hour. The kinetic model that describes the mechanism was the Korsmeyer-Peppas model, indicating an anomalous transport, where the simultaneous contribution of the diffusion, swelling, relaxation and erosion processes of the polymeric matrix occurs. The formulations showed antifungal activity against the *Candida albicans*. The results were promising for application to skin, since the matrix swells at a temperature determined by the concentration of excipients and allows the removal of polymeric chains, due to the change of phase (gel) favoring the release and diffusion of TBF. In addition, the high viscosity of the gel state allows the system to adhere to the skin surface, due to the hydrogen bonds formed in the matrix.

Keywords: Terbinafine hydrochloride; κ-carrageenan; Hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate; Topical administration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ilustração de um corte transversal da pele.	16
Figura 2 - Estrutura química do cloridrato de terbinafina.	18
Figura 3 - Estrutura química das diferentes carragenanas encontradas em algas marinhas vermelhas.	21
Figura 4 - Modelo de gelificação da carragenana. A seta em azul indica resfriamento, enquanto a seta em vermelho indica aquecimento.	22
Figura 5 - Estrutura química do hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (HPMCAS). ...	24
Figura 6 - Análise da viscosidade relativa das suspensões de CG (100C).	37
Figura 7 – Análise da viscosidade relativa das suspensões em diferentes proporções de CG/HPMCAS sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) e com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF).	38
Figura 8 - Estudo reológico da dispersão aquosa do grupo controle de CG (100C).	39
Figura 9 - Estudo reológico das suspensões em diferentes proporções de CG/HPMCAS sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) e com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF).	40
Figura 10 - Característica macroscópica das membranas sem fármaco: (a) 30CH; (b) 40CH; (c) 50CH; com fármaco: (d) 30CH-TBF; (e) 40CH-TBF; (f) 50CH-TBF e grupo controle: (g) 100H e (h) 100C.	43
Figura 11 - Microscopia ótica convencional (esquerda) e microscopia de luz polarizada (direta) das membranas sem fármaco: (a) 30CH; (b) 40CH; (c) 50CH; com fármaco: (d) 30CH-TBF; (e) 40CH-TBF; (f) 50CH-TBF e grupo controle: (g) 100H e (h) 100C. As barras indicam tamanho de 500 μ m.	44
Figura 12 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da membrana de hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (100H), κ -carragenana (100C) e do Cloridrato de Terbinafina (TBF).	45
Figura 13 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das membranas sem fármaco (50CH; 40CH; 30CH) e com fármaco (50CH-TBF; 40CH-TBF; 30CH-TBF). ..	47
Figura 14 - Curvas de tensão vs deformação dos ensaios resultantes de tensão-deformação das membranas do grupo controle (100H;100C) e com diferentes composições de HPMCAS/CG sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) (A) e na presença de fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) (B).	49

Figura 15 - Curvas de DSC das membranas do grupo controle (100H;100C) e com diferentes composições de CG/HPMCAS sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) (A) e na presença de fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) (B).....	51
Figura 16 – Curvas de TG das membranas do grupo controle (100H;100C) e com diferentes composições de HPMCAS/CG sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) (A) e na presença de fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) (B).....	53
Figura 17 - Absorção de água das membranas sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) e com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF), realizadas em tampão fosfato pH 7,4.....	55
Figura 18 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura das membranas com fármaco: (a) 30CH-TBF; (b) 40CH-TBF; (c)50CH-TBF e membranas do grupo controle: (d) 100H e (e) 100C. As barras em branco indicam um tamanho de 50µm.....	57
Figura 19 - Curva de calibração do cloridrato de terbinafina ($\lambda_{max}= 285$ nm).	58
Figura 20 – Perfis de liberação das membranas com fármaco em solução tampão de pH 7,4 à temperatura de 37 °C.....	59
Figura 21 – Fotografia das microplacas de MIC das membranas 30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF (esquerda) e da terbinafina em pó e creme comercial (direita) e respectivos grupos controle positivo e negativo.....	63
Figura 22 - Concentração inibitória mínima (MIC) dos géis a base de HPMCAS/CG determinados <i>in vitro</i> pelo método de microdiluição.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações das membranas e sua respectiva nomenclatura.....	31
Tabela 2 - Temperatura de transição sol-gel das suspensões.	41
Tabela 3 – Grupos funcionais identificados nos espectros de FTIR das membranas de hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (100H), κ -carragenana (100C) e do Cloridrato de Terbinafina (TBF).....	46
Tabela 4 - Propriedades mecânicas das membranas descritas na Figura 14.	49
Tabela 5 - Dados Termogravimétricos obtidos a partir da análise termogravimétrica diferencial das amostras.....	52
Tabela 6 – Intumescimento (%) das membranas sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH), com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) e grupo controle (100H) realizadas em tampão fosfato pH 7,4.	55
Tabela 7 - Parâmetros cinéticos para a liberação da terbinafina em solução tampão pH 7,4...	60

LISTA DE ACRÔNIMOS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A – Área	SDS – Dodecilsulfato de sódio
Abs – Absorbância	T – Temperatura absoluta
A_{abs} – absorção	Tan δ - tangente de fase
AFM – microscopia de força atômica	TBF – Terbinafina
CG - Carragenana	TDDS – <i>Transdermal drug delivery system</i>
DSC – Calorimetria Diferencial de Varredura	Tg – Transição vítrea
E% - Elongação em %	TG – Análise Termogravimétrica
EtOH – Etanol	TM – Tensão máxima
FTIR – Infravermelho com transformada de Fourier	TR – Tensão de Ruptura
G' - Módulo elástico	UV-vis – Ultravioleta-visível
G'' - Módulo viscoso	<i>vs</i> – <i>versus</i>
HPC - hidroxipropilcelulose	μ - micrometro
HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose	λ - comprimento de onda
HPMCAS - Hidroxipropilmetilcelulose Acetato Succinato	
iCG – Iota-carragenana	
κ CG – <i>kappa</i> -carragenana	
λ CG – <i>Lambda</i> -carragenana	
$_{\text{max}}$ – Máximo	
MC – Metilcelulose	
ME – Módulo de Elasticidade	
MEV – Microscopia eletrônica de varredura	
MIC – Concentração Inibitória Mínima	
min – Minutos	
Pa – Pascal	
PBS – Meio simulado tampão fosfato	
pH – Potencial hidrogeniônico	
rad - Radiano	
rpm – Rotação por minuto	
s – segundos	

SUMÁRIO

1	JUSTIFICATIVA DO TRABALHO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	A PELE	15
2.2	ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS NA PELE	16
2.3	CLORIDRATO DE TERBINAFINA.....	17
2.4	SISTEMAS POLIMÉRICOS DE LIBERAÇÃO EM PELE	19
2.5	CARRAGENANAS	20
2.6	HIDROXIPROPILMETILCELULOSE ACETATO SUCCINATO (HPMCAS).....	23
2.7	ESTUDOS REOLÓGICOS	26
2.7.1	Ponto de gel e medidas reológicas oscilatórias	27
3	OBJETIVOS	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4	METODOLOGIA.....	30
4.1	MATERIAIS.....	30
4.2	MÉTODOS.....	30
4.2.1	Estudo Reológico.....	30
4.2.2	Preparação das membranas pela técnica de <i>casting</i>	30
4.2.3	Microscopia Óptica de Luz Polarizada.....	32
4.2.4	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	32
4.2.5	Ensaio de Tensão <i>versus</i> Deformação	32
4.2.6	Análises Térmicas	33
4.2.7	Grau de Intumescimento.....	34
4.2.8	Microscopia Eletrônica de Varredura	34
4.2.9	Quantificação do fármaco em meio biológico simulado	34
4.2.9.1	<i>Preparação do meio biológico simulado.....</i>	34
4.2.9.2	<i>Elaboração da Curva Analítica.....</i>	34
4.2.9.3	<i>Perfil de liberação in vitro da terbinafina.....</i>	35

4.2.10	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) através do método de microdiluição	35
4.2.10.1	<i>Reativação da cepa e preparo do inóculo</i>	35
4.2.10.2	<i>Ensaio de microdiluição</i>	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	ESTUDOS REOLÓGICOS PARA O PREPARO DAS MEMBRANAS	37
5.2	ASPECTO VISUAL DAS MEMBRANAS E MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA	42
5.3	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER..	45
5.4	ENSAIOS DE TENSÃO vs DEFORMAÇÃO	48
5.5	ANÁLISES TÉRMICAS	50
5.5.1	Calorimetria Exploratória Diferencial	50
5.5.2	Análise Termogravimétrica	52
5.6	Grau de intumescimento	54
5.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	56
5.8	PERFIL DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA TERBINAFINA	58
5.9	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	62
5.9.1	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) por microdiluição	62
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	65

1 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

Muitos fármacos apresentam complicações quando administrados pela via oral, devido à baixa solubilidade, toxicidade e efeitos colaterais. A via tópica evita o efeito de primeira passagem, permite a utilização de fármacos com curto tempo de meia vida, é de fácil aplicação permitindo a autoadministração, maior eficácia com menor dosagem. As formas mais comuns incluem pomadas, cremes, géis, formulações semissólidas, soluções e suspensões (ALBERTI *et al.*, 2001; BANERJEE *et al.*, 2014; DELGADO-CHARRO; GUY, 2014).

No tratamento de infecções fúngicas superficiais cutâneas, a administração tópica de medicamentos é frequentemente preferida, pois a concentração necessária para a atividade antimicótica no local alvo da pele pode ser alcançada facilmente, se for garantida uma boa liberação e penetração do fármaco, reduzindo a toxicidade e evitando riscos e efeitos adversos causados pelo sistema de administração oral (ALBERTI *et al.*, 2001).

Sistemas de polissacarídeos bicomponentes e suas propriedades mecânicas, químicas e reológicas são amplamente estudadas, o processo de gelificação das carragenanas (CG) tem recebido atenção especial nos últimos anos demonstrando aplicabilidade potencial na indústria farmacêutica (DU *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2014; LIU; HUANG; LI, 2016; NECAS; BARTOSIKOVA, 2013), podendo ser utilizada na matriz para preparação de comprimidos de liberação prolongada e controlada de fármacos, microcápsulas, microesferas, agente gelificante e principalmente como bioadesivo para administração de medicamentos tópicos (LIU *et al.*, 2009b; SONAWANE; PATIL, 2018).

As interações das carragenanas (CG) com demais excipientes desempenham papel importante no desenvolvimento de formulações farmacêuticas, pois podem auxiliar no controle de liberação de fármacos. Éteres de celulose como metilcelulose (MC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroxilpropilcelulose (HPC) e carboximetilcelulose de sódio (NaCMC) ganharam popularidade na formulação de matrizes hidrofílicas devido às suas propriedades intumescentes, levando a formação de hidrogéis (DOROYŃSKI *et al.*, 2011; GHORPADE; YADAV; DIAS, 2016; IJIMA; HATAKEYAMA; HATAKEYAMA, 2014; NERURKAR *et al.*, 2005).

Os hidrogéis possuem propriedades físicas únicas, são redes reticuladas de polímeros solúveis em água que tendem a inchar sob condições fisiológicas. Eles são insolúveis em solventes aquosos devido à presença de ligações físicas e químicas entre as cadeias poliméricas individuais, no entanto, possuem uma enorme tendência para absorver água, apresentando um alto grau de porosidade que permitem o carregamento e a liberação de fármacos na matriz do gel (HOARE; KOHANE, 2008; KONDAVEETI *et al.*, 2017).

Buscando alternativas de liberação tópica, poucos estudos são citados na literatura tratando-se de sistemas de carragenana e hidroxipropilmetilcelulose. Foram encontrados dezesseis trabalhos na Web of Science® utilizando como palavras-chave na pesquisa “carragenana”, “HPMC” e “filmes”. Destes trabalhos apenas duas citações fazem ligação ao estudo em questão: Pawar *et al.*, (2013) e colaboradores desenvolveram filmes de cicatrização de feridas utilizando óxido de etileno com diferentes polímeros naturais, entre eles HPMC e CG (formulações independentes) para liberação de estreptomicina e diclofenaco em conjunto a fim de tratar infecções decorrentes do processo de cicatrização e, em, Sun *et al.* (2018) e colaboradores caracterizaram filmes por suas propriedades mecânicas, térmicas, químicas e reológicas de kappa-carragenana e hidroxipropilmetilcelulose na presença de plastificantes (PAWAR; TETTEH; BOATENG, 2013; SUN *et al.*, 2018a, 2018b).

Dessa maneira, nenhum trabalho até então desenvolveu e caracterizou membranas bioadesivas de CG e HPMCAS como potencial alternativa para liberação tópica de fármacos.

A fim de estudar a liberação de fármacos da membrana, optou-se por incorporar o cloridrato de terbinafina (TBF), um antifúngico com muitas complicações quando administrado por via oral (ALBERTI *et al.*, 2001), visto que na literatura, apenas quatro trabalhos utilizando adesivos/filmes foram encontrados como veículos deste fármaco (IIZHAR *et al.*, 2016; ÖZCAN *et al.*, 2009; TANRIVERDI; ÖZER, 2013; YANG *et al.*, 2020).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A PELE

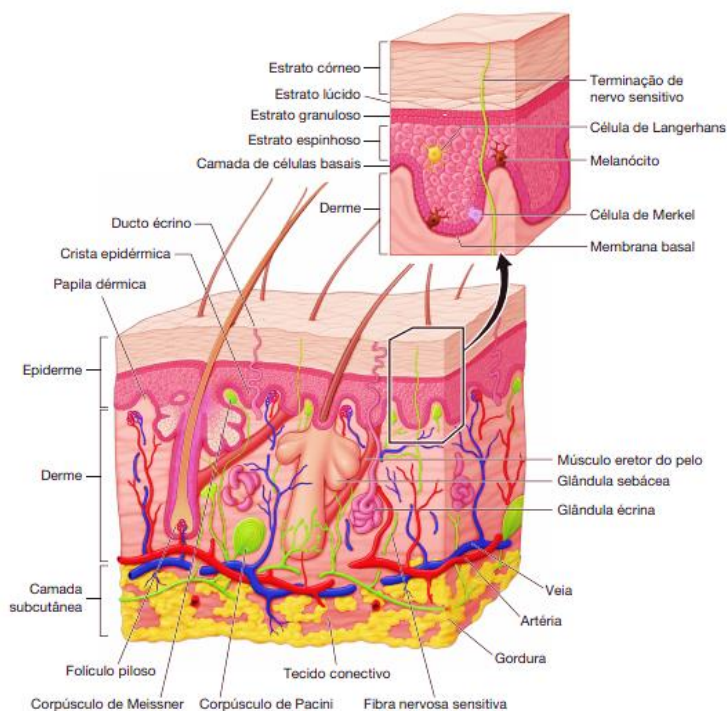
A pele é o maior órgão do corpo, atuando como uma barreira contra a perda de substâncias endógenas, penetração de agentes externos e protegendo os órgãos internos. Metabolicamente ativa, a pele é composta por três camadas distintas: a epiderme, derme e o tecido subcutâneo (Figura 1) (BARONI *et al.*, 2012).

A região mais interna da pele humana é o tecido subcutâneo, também chamado de hipoderme, composta por adipócitos cuja função é o armazenamento de energia, a proteção contra choques mecânicos e o isolamento do corpo contra temperaturas extremas (BARONI *et al.*, 2012).

A derme é uma camada hidrofílica vascularizada por vasos sanguíneos e linfáticos, composta por proteínas fibrosas como colágeno, elastina e reticulina que competem as propriedades mecânicas e elásticas da pele (BOLZINGER *et al.*, 2012).

A epiderme é a camada mais superficial da pele, um epitélio de renovação contínua composto por 95% de queratinócitos sendo o restante formado por melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Está subdividido em diferentes camadas ou estratos: logo acima da derme presencia-se a camada basal, seguido da camada espinhosa, granular até a camada superior, o estrato córneo. Sua função principal é proteger a pele, fornecendo barreiras imunológicas físicas, químicas e bioquímicas e adaptativas. A barreira física baseia-se no estrato córneo, constituída de células queratinizadas mortas chamadas de corneócitos. Sua estrutura apresenta espaços intracelulares ricos em proteínas de caráter hidrofílico e lipídios extracelulares de caráter hidrofóbico, este fato permite que apenas substâncias com ambas as propriedades possam penetrar facilmente através do estrato córneo (BARONI *et al.*, 2012; MENON, 2002; MENON; CLEARY; LANE, 2012).

Figura 1- Ilustração de um corte transversal da pele.



Fonte:(FILHO; BOHJANEN, [s.d.]

Em contato com o meio externo, a pele é um habitat propício para hospedagem de uma grande variedade de micróbios, bactérias, vírus e parasitas. Fungos comensais e patogênicos como *Malassezia*, *Cândida* e dermatofitoses são infecções frequentes que afetam toda a população, tornando-se práticas clínicas cotidianas nos postos de atendimento de saúde em todo mundo (JO *et al.*, 2016).

Conforme Hay (2017), infecções fúngicas superficiais ficam na quarta posição das doenças mais comuns causadas em humanos. São caracterizadas pelo ataque de fungos no estrato córneo e nos tecidos queratinizados como a epiderme, unhas e cabelos. Mecanismos para o tratamento dessas infecções e outros problemas dermatológicos vêm sendo operados através da administração oral e tópica de fármacos na pele (HAY, 2017).

2.2 ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS NA PELE

A absorção de fármaco na pele é afetada por diversos fatores, tais como espessura, temperatura, grau de hidratação, limpeza da pele, fluxo sanguíneo, concentração de lipídios, número de folículos pilosos, função das glândulas sudoríparas, raça, pH, superfície da pele e integridade do estrato córneo (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; DONNELLY, RYAN F. SINGH, 2015).

A administração de fármacos através da pele é obtida por dois mecanismos: a administração tópica e a administração transdérmica. A administração tópica proporciona uma ação terapêutica local, onde o fármaco atua diretamente na região alvo, maximizando sua eficácia e originando menores efeitos secundários.

A via tópica evita o efeito de primeira passagem, permite a utilização de fármacos com curto tempo de vida, é de fácil aplicação permitindo a autoadministração, maior eficácia com menor dosagem. As formas mais comuns incluem pomadas, cremes, géis, formulações semissólidas, soluções e suspensões (ALBERTI *et al.*, 2001; BANERJEE *et al.*, 2014; DELGADO-CHARRO; GUY, 2014).

Uma substância aplicada topicamente tem basicamente três possibilidades de penetrar no estrato córneo intacto da epiderme através das vias transcelular ou intracelular (diretamente através das células), intercelular (em torno das células) e através dos anexos cutâneos (glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas ou pelos foliculos pilosos). Pode ocorrer a permeação deste fármaco através da combinação destas vias, sendo o fluxo maior determinado pelas propriedades físico-químicas da molécula (KATHE; KATHPALIA, 2017)

Tratando-se de preparações dermatológicas (bactericidas, antifúngicas, entre outros) é desejado que o fármaco permeie além da superfície da pele e, que esta permeabilidade não alcance a circulação sistêmica. Para isso vêm sendo desenvolvidos diferentes matrizes (adesivos, filmes, hidrogéis, entre outros) que permitam a administração de fármacos na pele. Dessa forma, a liberação do fármaco através da membrana adesiva requer que esta tenha uma alta adesão a pele, seja maleável e permita a liberação do medicamento.

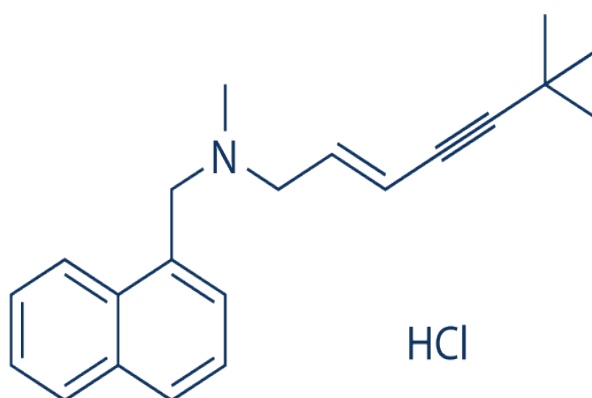
2.3 CLORIDRATO DE TERBINAFINA

O Cloridrato de terbinafina (TBF) (cloridrato de (E)-(N)-(6,6-dimetil-2-hepten-4-inil)-N-metil-1-naftalenometilamina) é um agente antifúngico derivado de alilamina, usualmente utilizado na ocorrência de infecções fúngicas, dermatofitoses, pitiríase versicolor, candidíase cutânea e onicomicoses (GUPTA; FOLEY; VERSTEEG, 2017).

O TBF é um pó branco, com massa molar de 327,9 g/mol, ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em etanol anidro e metanol e levemente solúvel em acetona. Apresenta faixa de fusão entre 204 e 208 °C. A estrutura química do TBF (Figura 2) apresenta um anel naftaleno substituído com cadeia lateral amina insaturada e grupo

terminal-butil. O grupamento amina fornece a molécula caráter básico e apresenta pKa 7,1 (ALBERTI *et al.*, 2001). É ainda, altamente distribuído no tecido adiposo, derme, epiderme e unhas devido sua lipofilicidade (log P 3,3), sendo classificado como um fármaco da classe II no Sistema de Classificação Biofarmacêutico, devido a sua baixa solubilidade em água (0,000738 mg/L) (KUMINEK *et al.*, 2013).

Figura 2 - Estrutura química do cloridrato de terbinafina.



Fonte: Kuminek, *et al.*, 2013.

No Brasil, o TBF é comercializado na forma de comprimidos e cápsulas contendo 125 e 250 mg, na forma de cremes (10 mg/g) e sprays de soluções (10 mg/mL). A administração é realizada por via oral (250 a 500 mg por dia) ou tópica (1% creme, aplicada uma ou duas vezes por dia), usualmente durante 2 ou 4 dias chegando em até 4 semanas dependendo do tipo de infecção. De natureza altamente lipofílica, tende a se acumular na pele, unhas e tecido adiposo, apresentando alta permeabilidade e pouca solubilidade. Rapidamente o fármaco é metabolizado pelo fígado e é biotransformado através de N-desmetilização e oxidação do grupo butil. Após a administração oral o fármaco tem meia-vida de eliminação de 16 a 26 horas (ALBERTI *et al.*, 2001).

Somente nos Estados Unidos, 1,5 milhões de prescrições médicas foram preenchidas em 2010, no entanto, o uso da terbinafina apresenta um risco raro de toxicidade idiossincrática no fígado. Em um a cada 45000 pacientes essas reações adversas podem ser graves podendo levar a insuficiência hepática e transplante ou morte (BARNETTE *et al.*, 2019).

Estudos revelam que aproximadamente 70 a 80 % da administração oral é absorvida pelo trato gastrointestinal, dessa forma a administração tópica se apresenta como uma alternativa altamente eficaz, visto que a administração oral do fármaco está relacionada a interações medicamentosas, hepatotoxicidade, baixa concentração nos locais infectados, efeitos colaterais gastrointestinais e sistêmicos e outros efeitos adversos (DARKES; SCOTT; GOA, 2003).

Tendo em vista a baixa solubilidade em água do TBF, e as condições adversas causadas pela administração oral, as dispersões sólidas e matrizes adesivas demonstram-se boas alternativas para a administração tópica do fármaco.

2.4 SISTEMAS POLIMÉRICOS DE LIBERAÇÃO EM PELE

Usualmente utilizados os sistemas transdérmicos de administração de fármacos (TDDS, do inglês *Transdermal drug delivery systems*), também conhecidos como "*patches*", são dosagens controladas que atingem toda a pele através de um adesivo. O principal desafio é o design da matriz adesiva, seguida pela otimização do carregamento do fármaco, não apenas em termos de propriedades de liberação, mas também em relação ao seu equilíbrio de adesão-coesão, propriedades físico-químicas, compatibilidade e estabilidade com outros componentes do sistema, bem como com a pele (BANERJEE *et al.*, 2014; KATHE; KATHPALIA, 2017).

Uma nova abordagem que pode ser usada como alternativa às formulações tópicas e transdérmicas convencionais é o sistema de formação de filmes. Esse possui diversas vantagens em relação a outros sistemas, pois evitam o metabolismo hepático de primeira passagem: fenômeno em que a concentração do fármaco é ligeiramente reduzida ao passar pelo processo de absorção no fígado. Reduz a programação típica de dosagem uma vez por dia ou até mesmo em uma vez por semana, é adequado para pacientes inconscientes, reduz a incidência de toxicidade sistêmica e evita efeitos colaterais gástricos, degradação e transtornos (BANERJEE *et al.*, 2014).

Duas técnicas principais encontram-se na literatura para obtenção de filmes poliméricos: o processo de nebulização (*spraying*) e o processo de evaporação do solvente (do inglês, *solvent casting*).

No processo de evaporação do solvente o fármaco, os polímeros e demais excipientes são dissolvidos em um solvente ou mais escolhidos adequadamente até a obtenção de uma mistura homogênea. Em seguida, essa solução é vertida sobre uma

superfície não adesiva (suporte) e colocada em uma estufa para que o solvente evapore. Após evaporação, o filme seco pode ser retirado do suporte. É importante ressaltar que a escolha do solvente e as condições de evaporação exercem forte influência nas propriedades finais dos filmes poliméricos. Uma boa escolha baseia-se na semelhança entre os valores de solubilidade do polímero e do solvente, e do fármaco introduzido, pois durante sua evaporação ocorre um aumento da concentração da dispersão e, dessa maneira as forças intermoleculares são mais significativas levando a um entrelaçamento entre os segmentos das cadeias das moléculas poliméricas presentes (LIU *et al.*, 2009a).

O processo de aplicação consiste na adesão da matriz na pele, para isso esta é intumescida e aplicada, produzindo uma mudança conformacional das cadeias devido a formação de hidrogéis que facilitam o controle da liberação do fármaco.

Polissacarídeos e derivados de celulose tem se mostrado funcionais na formulação das membranas, devido a sua similaridade com a matriz extracelular, baixa ou nula toxicidade, hidrofiliçidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e compatibilidade química com o fármaco, além da alta adesão com a pele favorecida através da formação de hidrogéis - estrutura tridimensional de polímeros contendo aproximadamente 90% de água - no sistema (HOARE; KOHANE, 2008).

2.5 CARRAGENANAS

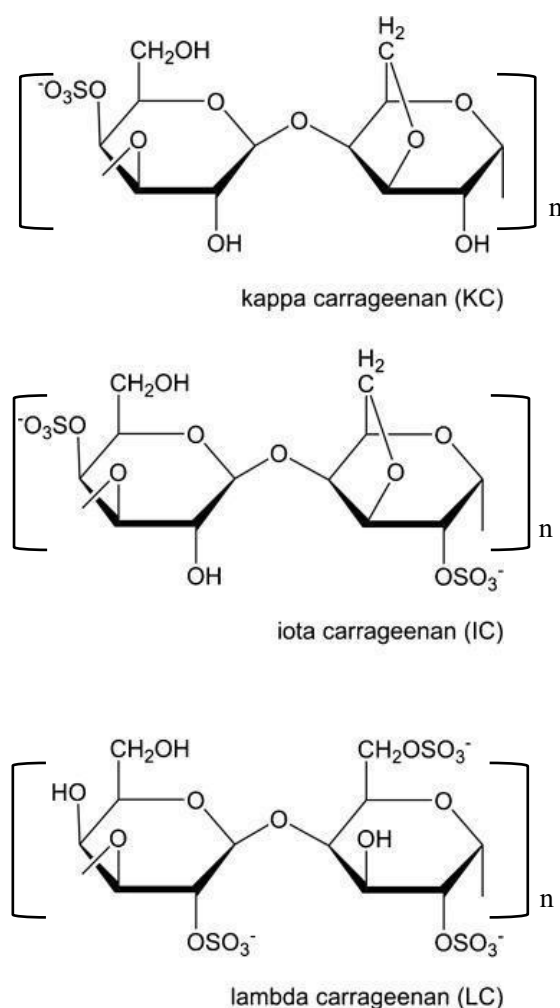
Alguns polissacarídeos têm atraído a atenção de pesquisadores e empresários da área de desenvolvimento de dispositivos biomédicos, pois além de gelificar formando curativos, podem atuar como excipiente na liberação controlada de fármacos. Os polissacarídeos mais utilizados para essa finalidade são o alginato, ácido hialurônico, carragenana (CG) entre outros. Dentre esses, podemos destacar a utilização das carragenanas.

As carragenanas (CG) pertencem a família de polissacarídeos sulfatados lineares de moléculas alternadas de D-galactose e 3-6 anidro-D-galactose unidas por ligações glicosídicas α -1,3 e β -1,4. Elas estão presentes na estrutura celular de diversas espécies de algas marinhas vermelhas. Espécies de algas denominadas *Gigartinaceae* produzem Lambda CG (λ -CG) e Kappa CG (CG), enquanto as *Solieriaceae* produzem CG do tipo Iota (ι -CG) (Figura 3). A kappa e a iota contêm unidade de 3,6 anidrogactose e são polímeros formadores de gel e a lambda contém apenas unidades

de galactose e atua como agente espessante (LI *et al.*, 2014; NECAS; BARTOSIKOVA, 2013).

Essa diferença reológica é resultante devido a existência da conformação 1C_4 presente somente nas conformações κ e ι capazes de formar uma estrutura secundária helicoidal, essencial para formação de gel.

Figura 3 - Estrutura química das diferentes carragenanas encontradas em algas marinhas vermelhas.

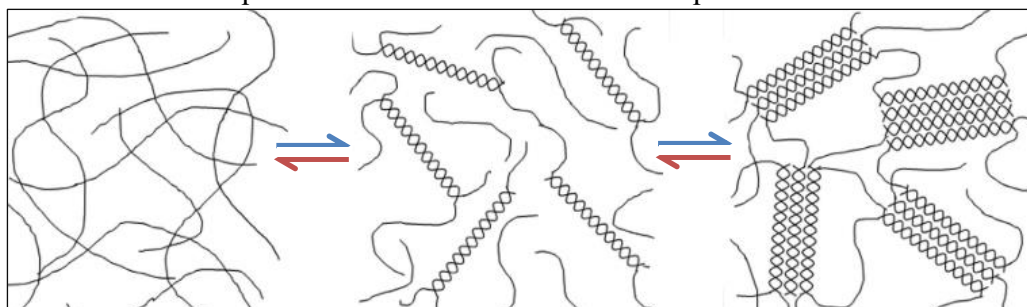


Fonte: Adaptado de Dul, *et al.*, 2015 (DUL *et al.*, 2015).

A Kappa Carragenana (CG) contém de 25 a 30% de éster sulfato e de 28 a 35% de 3-6 anidro-D-galactose, forma géis firmes e quebradiços em soluções aquosas com sais de potássio e apresentam certa sinérese, ela pode ser dispersa em água fria e solubilizada com aquecimento acima de 80 °C (pKa ~4,9). Após solubilização, possui a habilidade de formar géis termorreversíveis através do seu resfriamento, conforme a

Figura 4. Este fenômeno acontece primeiramente devido ao resfriamento da solução, no qual uma rede de polímeros tridimensional é formada tal que, as hélices duplas constituem os pontos de junção das cadeias dos polímeros. Em seguida, o resfriamento adicional gera a agregação dos pontos de junção para formar a estrutura de gel tridimensional. A presença de alças na cadeia, bem como o número, tipo e posição dos grupos de éster sulfato, têm efeitos importantes nas propriedades de gelificação.

Figura 4 - Modelo de gelificação da carragenana. A seta em azul indica resfriamento, enquanto a seta em vermelho indica aquecimento.



Fonte: Adaptado de Liu, Bao e Li, 2016 (LIU; BAO; LI, 2016).

O mecanismo de gelificação é considerado como um processo em duas etapas, sendo a primeira a formação de duplas-hélices ordenadas (transição conformacional), seguida pela interação entre as hélices (transição sol – gel) (CAMPO *et al.*, 2009; LIU; BAO; LI, 2016; MIYOSHI; TAKAYA; NISHINARI, 1996; PARKER *et al.*, 1993).

Imagens de microscopia de força atômica (AFM) mostram que géis de CG apresentam processo de gelificação onde a agregação das moléculas se dá pelo modelo fibroso. Segundo esse, a associação de polímeros de comprimentos diferentes, durante a formação das duplas-hélices leva à formação de fibras alongadas e ocasionalmente de ramificações (IKEDA; MORRIS; NISHINARI, 2001).

Em relação às atividades antivirais, as carragenanas apresentaram inibição seletiva e bloqueiam a transmissão do vírus da herpes simples (HSV-1 e HSV-2), da imunodeficiência humana (HIV), papilomavírus humano (HPV), da dengue e o rinovírus humano (HRV) (BUCK *et al.*, 2006; CÁCERES *et al.*, 2000).

Estudos *in vitro* e *in vivo* relatam ações anticoagulantes e antioxidantes que podem contribuir também para o tratamento de feridas, proporcionando o uso da CG como polissacarídeo base para o desenvolvimento de curativos. Neste contexto, muitas matrizes poliméricas vêm sendo estudadas na associação da goma a outros biopolímeros,

como nanofibras de quitina (SHANKAR *et al.*, 2015), extrato de semente de toranja (KANMANI; RHIM, 2014), goma de alfarroba (MARTINS *et al.*, 2012), alginato (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016) e aditivos como curcumina (LIU *et al.*, 2018) e óleos essenciais (SHOJAEI-ALIABADI *et al.*, 2014).

Assim, no preparo de matrizes intumescíveis a base de CG, a incorporação de um segundo componente pode melhorar seu potencial de liberação. Destacam-se os derivados de celulose incorporados à estrutura para formar um sistema composto que pode superar as desvantagens de uma baixa resistência à tração e fragilidade (SUN *et al.*, 2018b), neste estudo optamos pela inserção de HPMCAS na matriz.

2.6 HIDROXIPROPILMETILCELULOSE ACETATO SUCCINATO (HPMCAS)

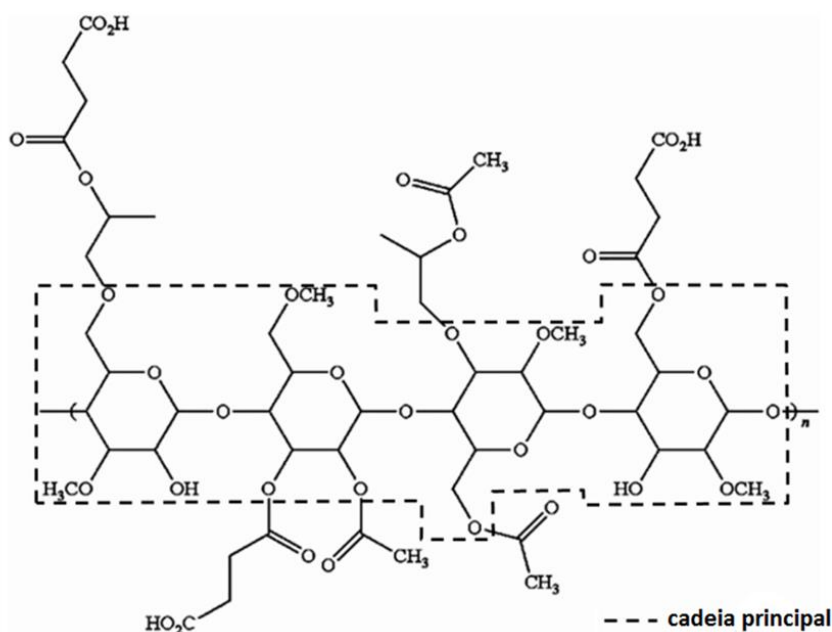
Devido à sua abundância na natureza e biodegradabilidade, os derivados de éter de celulose são altamente empregados em aplicações biotecnológicas, podendo atuar como uma matriz na entrega de medicamentos em virtude da alta solubilidade em água, grande disponibilidade, qualidade superior da capacidade de formação de filme, baixa toxicidade e boa biocompatibilidade (KONDAVEETI *et al.*, 2017).

O hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) apresenta excelente espessamento, formação de filme, inchaço e miscibilidade (ROTA *et al.*, 2009). Na indústria farmacêutica, é amplamente utilizado como filme de revestimento (OCHOA MACHISTE, 1996), transportador de agente de liberação sustentada (EVERAERT *et al.*, 2017) e invólucro de cápsula oca (BARHAM, TEWES e HEALY, 2015).

Alguns derivados de HPMC são obtidos para melhorar as propriedades de barreira, dentre eles podemos destacar o hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (HPMCAS), que apresenta aplicabilidade como polímero de revestimento entérico para pellets, comprimidos e cápsulas (SIEPMANN *et al.*, 2006). (Figura 5). As formulações aquosas de revestimento polimérico, como o HPMCAS, são preferidas para a fabricação em larga escala, pois são ambientalmente amigáveis, mais seguras para os trabalhadores e reduzem as preocupações com a toxicidade do produto (DESHPANDE *et al.*, 2018). Além destas propriedades, o HPMCAS é usado por manter por mais tempo o fármaco em seu estado amorfo, no desenvolvimento de dispersões sólidas amorfas. Assim consegue-se além da estabilidade, formulações com boa solubilidade e aplicação farmacêutica (DONG; CHOI, 2008).

O HPMCAS é um polímero bastante rígido com uma alta temperatura de transição vítrea (T_g) que varia de 120 °C a 135 °C. O HPMCAS não pode formar filmes contínuos flexíveis sem o uso plastificantes ou misturas poliméricas que aumentam o volume livre e proporcionam flexibilidade às cadeias poliméricas. O HPMCAS contém grupos de ácido succínico que ionizam em $\text{pH} > 5$, dependendo do grau de HPMCAS, e na maioria das vezes permanece em estado coloidal em pH mais altos, esse fato auxilia no preparo de soluções poliméricas estáveis que possam ser utilizadas como veículo de dissolução e liberação de fármacos (DONG; CHOI, 2008; SIEPMANN *et al.*, 2006; SIEPMANN; PEPPAS, 2012a).

Figura 5 - Estrutura química do hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (HPMCAS).



Fonte:(STURM *et al.*, 2016).

Membranas compósitas de HPMCAS com outros polímeros podem atuar como alternativas em sistemas de liberação controlada de fármacos, apresentando características de hidrogéis. Estes absorvem grande quantidade de água, e possuem uma natureza elástica similar aos tecidos naturais, apresentam biocompatibilidade e podem controlar a taxa de liberação do fármaco em função de estímulos externos e condições do meio que sem encontram (LI *et al.*, 2014).

Pawar *et al.*, (2013) desenvolveram filmes de cicatrização de feridas utilizando óxido de etileno com diferentes polímeros naturais, entre eles HPMC e CG (formulações independentes) para liberação de estreptomicina e diclofenaco em conjunto a fim de tratar infecções decorrentes do processo de cicatrização.

Os filmes foram produzidos através do método por casting, com agitação magnética e aquecimento a 70 °C, cuja concentração dos polímeros foram de 75/25 (1% m/m) em relação ao óxido de etileno (POL), seguida da adição de plastificante e do medicamento. Os filmes foram caracterizados pelas propriedades físico-químicas, mecânicas, intumescimento e liberação *in vitro*. Os filmes com HPMC foram muito finos por natureza e difíceis de remover da placa de Petri, enquanto os filmes com carragenana foram transparentes, uniformes e flexíveis quando manuseados. Conforme a análise de MEV os filmes baseados em CG e HPMC mostraram uma superfície lisa e homogênea, e na análise de DRX eles não mostraram quaisquer picos distintos sugerindo sua natureza amorfa. O intumescimento dos filmes com CG em PBS foi investigado em pH 7,3 e a influência de um plastificante. Os resultados obtidos mostraram que a porcentagem de intumescimento aumentou com o tempo, aumentando na presença de plastificante. A liberação do fármaco deste sistema com CG foi controlada para até 72h, mostrando-se um sistema potencial para ser usada como um curativo de administração de medicamento para cicatrização de feridas.

Sun *et al.*, (2018) caracterizaram filmes por suas propriedades mecânicas, térmicas, químicas e reológicas de kappa-carragenana e hidroxipropilmetilcelulose na presença de plastificantes (glicerol, sorbitol e PEG-400), cuja concentração dos polímeros foi de 80:20 de k-carragenana e HPMC respectivamente. Os filmes foram preparados por *casting* à 85°C sob agitação magnética.

Os resultados de reologia e DRX mostraram que o filme de mistura de κ -carragenana e HPMC foram uniformes. Os resultados do FTIR mostraram que os plastificantes formaram ligações de hidrogênio com κ -carragenana e HPMC e reduziram suas interações intramoleculares ou intermoleculares originais. A adição de plastificantes reorganizou a estrutura espacial dos polímeros e formou novas ligações de hidrogênio com κ -carragenana e HPMC, o que resultou em espaçamento molecular do polímero e aumento no volume de movimento livre molecular. Como resultado, a barreira ao oxigênio, a resistência à tração, a transmissão de luz e as propriedades ópticas do filme plastificado diminuíram e a taxa de intumescimento e a flexibilidade do

filme plastificado aumentaram com o aumento do conteúdo do plastificante. Os sistemas com sorbitol mostraram-se mais adequados para a preparação do filme de CH tornando-o uma alternativa promissora para os materiais de embalagem ecológicos.

2.7 ESTUDOS REOLÓGICOS

Para compreender as propriedades físicas e químicas das membranas é indispensável o seu estudo reológico, pois a partir da reologia é possível identificar se existem interações entre o fármaco e seus excipientes, além da formação de hidrogel que favorece a adesividade do sistema na pele.

A reologia é uma ciência que estuda a deformação e o escoamento de materiais sólidos ou fluidos (gases ou líquidos). Todos os materiais possuem propriedades reológicas. É possível obter informações sobre a resposta de um material quando esse é sujeito a uma interferência de caráter mecânico, expressando informações da sua estrutura, composição química e interações entre os componentes que pertencem a substância (BARNES, 2000; BARNES; BELL, 2003; GOODWIN, JIM W.; HUGHES, 2008).

De uma maneira geral, é possível classificar o comportamento reológico dos materiais, através de dois extremos idealizados: sólidos perfeitos (hookeanos) e fluidos perfeitos (newtonianos). Enquanto os sólidos ideais se deformam elasticamente e a energia de deformação é, completamente recuperada, quando cessa o estado de tensão, fluidos ideais escoam, ou seja, se deformam de forma irreversível e a energia de deformação é dissipada na forma de calor (BARNES, 2000; BARNES; BELL, 2003; GOODWIN, JIM W.; HUGHES, 2008).

Sabendo que a viscosidade é definida como a propriedade física dos fluidos que caracterizam sua resistência ao escoamento, não existem, naturalmente, fluidos perfeitos ou ideais (sem viscosidade), mas somente fluidos cujo comportamento se aproxima do newtoniano, como é o caso de líquidos puros, soluções verdadeiras diluídas e poucos sistemas coloidais (GOODWIN, JIM W.; HUGHES, 2008).

Existem três testes reológicos utilizados na avaliação do comportamento reológico: estacionários, oscilatórios e estáticos. Muitos materiais apresentam propriedades viscosas e elásticas ao mesmo tempo e, neste caso, o método de estudo baseia-se em testes oscilatórios onde a amostra é submetida à deformação ou tensão

(com taxa controlada), que varia harmonicamente com o tempo. Através deste estudo é possível avaliar a força de um gel e acompanhar sua gelificação (BARNES; BELL, 2003).

2.7.1 Ponto de gel e medidas reológicas oscilatórias

A gelificação ocorre quando se excede um número crítico de ligações intermoleculares. O ponto de gel se caracteriza pela expansão da maior molécula individual por toda amostra, pelo aumento do peso molecular médio para infinito e pela conectividade que passa a ser de longo alcance. Este ponto é definido considerando as propriedades reológicas dos géis (BARNES; BELL, 2003).

Na reologia de baixa deformação, um dos métodos mais utilizados envolve a aplicação de uma pequena força ou deformação oscilatória, a uma frequência fixa, medindo-se uma resposta oscilatória – deformação ou força ao longo do tempo. A resposta e a variável aplicada estão um ângulo δ fora de fase.

Definindo-se o módulo de cisalhamento (G) como a relação entre a variável (tensão ou deformação) aplicada a resposta em cisalhamento. Esse módulo complexo é uma quantidade vetorial que pode ser decomposta em dois componentes: G' que constitui uma medida da energia armazenada devido à deformação elástica da amostra (módulo elástico de armazenamento) conforme a Equação 1:

$$G' = G \cos\delta \quad G' = G \cos\delta \quad (1)$$

E G'' trata-se de uma medida da energia dissipada na forma de calor devido ao escoamento viscoso no interior da amostra (módulo viscoso de armazenamento) conforme a Equação 2:

$$G'' = G \sin\delta \quad G'' = G \sin\delta \quad (2)$$

A razão entre G'' e G' define a tangente do ângulo fase ($\tan \delta$), um líquido ideal apresenta $\delta=90^\circ$ enquanto um sólido ideal, $\delta=0^\circ$, dessa forma materiais viscoelásticos possuem valores entre esses dois extremos. O ponto de gel pode ser reologicamente definido como o ponto em que ocorre a interseção de G' e G'' sendo assim, os módulos

de armazenamento se igualam, onde $\tan \delta=1$, ou seja, o ângulo de fase é igual a 45° (BARNES, 2000; BARNES; BELL, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar membranas de kappa-carragenana (CG) e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (HPMCAS) obtidas pelo método por *casting* para uso como carreadores do cloridrato de terbinafina visando a administração via tópica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar as propriedades reológicas de soluções de CG e HPMCAS, bem como suas misturas para adequar as melhores condições de preparo de membranas a base dos dois biopolímeros;

Caracterizar as membranas quanto às suas propriedades físico-químicas por Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (FTIR), ensaio de Tensão *versus* Deformação, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TGA) e propriedades morfológicas pelas análises de Microscopia Ótica de Luz Polarizada.

Avaliar o efeito do intumescimento das membranas em solução tampão de pH simulado e sua estrutura interna por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Avaliar o perfil de liberação do fármaco a partir das membranas desenvolvidas em solução tampão de pH simulado e quantificá-lo por espectroscopia de UV-vis.

Investigar a ação antifúngica por meio de estudos de Microdiluição.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

O Hidroxipropilmetilcelulose Acetato Succinato (HPMCAS) da empresa - Aquasolve® foi adquirida por doação do Laboratório de Controle de Qualidade (CCS-UFSC). A Kappa-carragenana (CG) foi obtida da Sigma Aldrich e o agente antifúngico Cloridrato de Terbinafina (98% de pureza) é proveniente da farmácia de manipulação Magistrale (Florianópolis, Brasil). Dodecilsulfato de sódio (SDS) foram adquiridos da Sigma-Aldrich, Cloreto de potássio, cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico foram comprados da NEON. Caldo de Sabouroud Dextrose, *Candida albicans* (ATCC) foi obtida da Microbiologics® (Minnessota, USA). Os demais reagentes e solventes empregados no desenvolvimento deste trabalho são de grau analítico e utilizados sem purificação prévia. Água deionizada foi utilizada durante todo trabalho.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Estudo Reológico

Para desenvolver membranas com formulações adequadas a sua aplicação foram realizadas medidas reológicas no Laboratório de Controle de Processos de Polimerização do departamento de Engenharia Química da UFSC, num reômetro modelo Haake Mars II (Thermo Scientific), equipado com geometria placa/placa de 60 mm de diâmetro. Utilizou-se um gap (espaço delimitado entre as placas) de 0,2 mm e um volume de amostra de 0,58 mL, conforme indicado pelo software do referido equipamento. Para determinar a temperatura de transição sol gel das suspensões, as amostras foram aquecidas até 80 °C. Em seguida, realizaram-se medidas oscilatórias com rampa de temperatura com uma taxa de resfriamento de 1 °C min⁻¹ na faixa de 45 a 30 °C à uma tensão de cisalhamento fixa de 1,0 % e frequência de 5,0 rad s⁻¹ (0,7958 Hz) (LIU; HUANG; LI, 2016).

4.2.2 Preparação das membranas pela técnica de *casting*

Um estudo preliminar foi realizado para a escolha dos melhores reagentes e condições ótimas para o desenvolvimento das membranas. Dessa forma, foram testados

HPMCAS em diferentes tamanhos de partícula, e dois tipos de carragenanas (Kappa e Iota) em diferentes pH, temperaturas de preparo e secagem. A determinação da melhor metodologia e escolha dos reagentes foi baseada nas propriedades visuais e avaliação das características das membranas, como menor quantidade de bolhas, menor rigidez e melhor interação entre o fármaco e seus excipientes, analisados visualmente.

As proporções determinadas da matriz da membrana foram baseadas no estudo reológico das suspensões. A concentração de fármaco foi baseada na solubilidade com o sistema.

As membranas foram preparadas pelo método por *casting*, a partir de dispersões aquosas de 20 mg mL⁻¹ de HPMCAS em água deionizada, mantida sob agitação magnética por 30 min e seguida do ajuste do pH para neutro com uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹. A dispersão foi aquecida até 80 °C para a adição de diferentes proporções de κ -carragenana. Ao final, o fármaco (0,2% (m/v)) foi solubilizado em álcool etílico 99,8% P.A. (0,05% m/v) e adicionado na dispersão polimérica, sob agitação até formar uma solução homogênea. Essa dispersão foi vertida sobre uma superfície não adesiva (placa de PET) e mantidas sobre a capela com exaustão e temperatura ambiente até a secagem completa. Assim que o solvente evaporou, a membrana seca foi retirada do suporte e armazenada em um local de baixa umidade para posteriores caracterizações.

A Tabela 1 apresenta as formulações preparadas para as membranas e suas respectivas nomenclaturas utilizados no decorrer do trabalho.

Tabela 1 – Formulações das membranas e sua respectiva nomenclatura.

Amostra	Nomenclatura	% HPMCAS (m/m)	% CG (m/m)
Controle	100H	100	0
	100C	0	100
Sem TBF	30CH	70	30
	40CH	60	40
	50CH	50	50
Com TBF (0,2% m/v)	30CH-TBF	70	30
	40CH-TBF	60	40
	50CH-TBF	50	50

Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

4.2.3 Microscopia Óptica de Luz Polarizada

A caracterização foi realizada em um microscópio óptico convencional (Motic Microscopes, modelo SMZ-168-BL) contendo uma lente polarizadora, no laboratório POLIMAT do Departamento de Química da UFSC. Foi possível observar a presença ou ausência de domínios cristalinos do fármaco no filme a partir da presença e ausência de partículas luminosas, além da sua morfologia superficial.

4.2.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise foi realizada no equipamento modelo IR-PRESTIGE21, da Shimadzu localizado no Laboratório do Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos (POLIMAT) no Departamento de Química da UFSC. As membranas com diferentes formulações de CG na presença e ausência de fármaco foram caracterizadas através da técnica de refletância atenuada (ATR-FTIR), enquanto o fármaco puro foi analisado por pastilha de KBr, utilizando-se uma faixa de absorção de 750 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} com 32 varreduras e resolução de $2,0\text{ cm}^{-1}$. Com esta caracterização foi possível identificar funções químicas características dos compostos e verificar regiões de interação entre os polímeros e o fármaco por deslocamento de bandas.

4.2.5 Ensaio de Tensão *versus* Deformação

A caracterização da propriedade mecânica das membranas foi realizada em uma Máquina Universal de Ensaio (EMIC) modelo DL2000 em modo de tração, utilizando uma célula de carga TRD21 com capacidade de 50 Kgf, segundo a norma (ASTM, 2002). O ensaio foi realizado utilizando corpos de prova ($n \geq 7$) previamente preparados e condicionados por 48h em uma câmara com umidade relativa controlada de $58 \pm 5\%$ (solução saturada de NaBr).

As membranas obtidas por secagem de solvente foram cortadas em corpos de prova retangulares com 90 mm de comprimento, 12,3 mm de largura e a espessura medida em três pontos a fim de se tomar a média.

A resistência a tração (T) e a porcentagem de alongação (E%) foram calculadas pelas Equações 3 e 4, respectivamente.

$$T = \frac{F_m}{A} \quad (3)$$

Em que T é a tensão obtida quando as amostras são expostas à tração (MPa), F_m corresponde a força máxima no momento da ruptura da membrana (N) e A é a área da secção transversal da membrana (m^2).

$$E\% = \frac{d_r - d_{inicial}}{d_{inicial}} \times 100 \quad (4)$$

Onde, E% é a elongação (%), d_r a distância no momento da ruptura (mm) e $d_{inicial}$ é a distância inicial de separação das garras (50 mm). Possibilitando avaliar a influência da terbinafina e composição dos polímeros nas propriedades mecânicas das membranas desenvolvidas.

4.2.6 Análises Térmicas

Estudos calorimétricos de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimétrica (TGA) são essenciais para o conhecimento de propriedades físico-químicas das membranas, estes foram realizados no POLIMAT nos equipamentos modelo DSC-50 e TGA-50 da Shimadzu.

No DSC foram procedidas duas corridas sob atmosfera inerte e dinâmica de N_2 a uma taxa de 50 mL min^{-1} , na primeira corrida a amostra foi aquecida a uma taxa de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $150 \text{ }^\circ\text{C}$ para a evaporação completa da umidade residual presentes nas amostras e destruição da história térmica. Para segunda corrida a amostra foi submersa em nitrogênio líquido rapidamente após alcançar-se 150°C na primeira corrida e resfriada à $20 \text{ }^\circ\text{C}$ seguida da corrida com aquecimento a uma taxa de $5,0 \text{ }^\circ\text{C}$ até $250 \text{ }^\circ\text{C}$.

No TGA, as perdas de massa das membranas foram analisadas, adicionando-se amostras de 5,0 a 10 mg em um cadinho de platina, seguida do aquecimento da temperatura ambiente até $600 \text{ }^\circ\text{C}$ a uma taxa de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ sob fluxo dinâmico de nitrogênio de 50 mL min^{-1} .

4.2.7 Grau de Intumescimento

Para o estudo de capacidade de intumescimento uma amostra circular de 1,0 cm de diâmetro da membrana previamente mensurada em relação a sua massa, foi seca em uma estufa à 100 °C por 1 hora e dissolvida em 2 mL de solução tampão fosfato pH 7,4 em um tubo Falcon, seguida para uma centrifuga da marca Excelsa, modelo 206 BL, com uma rotação de 3600 rpm durante 30 min. O sobrenadante foi retirado e a massa da amostra foi mensurada. O cálculo de absorção de água foi realizado utilizando a Equação 5 descrita abaixo.

$$\%WA = \frac{w_t - w_0}{w_0} \cdot 100 \quad (5)$$

Onde, WA é o grau de intumescimento (%), W_0 refere-se a massa inicial da amostra e W_t a massa da amostra no tempo t.

4.2.8 Microscopia Eletrônica de Varredura

As membranas foram caracterizadas por MEV no Núcleo de Pesquisa em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT), após serem intumescidas em solução tampão de fosfato pH 7,4, congeladas e liofilizadas. Estas foram colocadas em suportes, e pulverizadas com uma fina camada de ouro. Utilizou-se o microscópio eletrônico de varredura da marca Hitachi e modelo TM3030.

4.2.9 Quantificação do fármaco em meio biológico simulado

4.2.9.1 Preparação do meio biológico simulado

Foram preparados meios biológicos simulados de solução tampão fosfato pH 7,4. A escolha desta solução foi feita pela similaridade com a composição do fluido intersticial da pele.

4.2.9.2 Elaboração da Curva Analítica

Para realização da curva analítica preparou-se uma solução estoque com 10 mg de terbinafina dissolvida no tampão de fosfato pH 7,4 com 0,5% (m/v) de lauril sulfato de sódio (SDS), com intuito de auxiliar na dissolução do fármaco. A partir da solução estoque foram preparadas diluições na faixa de 0,2 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e analisadas no espectrofotômetro de UV visível (Cary-50 Varian) na faixa de 200 a 400 nm com

resolução de 1 cm^{-1} obtendo-se curvas cuja absorvância no comprimento de onda máximo foi de $\lambda_{\text{max}} = 285 \text{ nm}$.

4.2.9.3 Perfil de liberação *in vitro* da terbinafina

Foram adicionadas 25 mL da solução tampão fosfato pH 7,4 com SDS (0,5% m/v) em um erlenmeyer, que permaneceu em um banho dubnoff da marca Quimis, a 37°C sob agitação mecânica variando linearmente de um lado para o outro, para estabilização da temperatura e alcance da condição *sink*. Nestas soluções adicionou-se amostras das membranas com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF e 50CH-TBF), retirando-se alíquotas de 500 uL em tempos pré-determinados, diluídas em 2 mL da solução tampão e analisadas no espectrofotômetro de UV visível (Cary-50 Varian) na faixa de 200 a 300 nm com resolução de 1 cm^{-1} obtendo-se a absorvância no comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{max}} = 285 \text{ nm}$) para o respectivo cálculo de determinação do perfil de liberação. Este experimento foi realizado durante 120 minutos em duplicata. Os pontos experimentais foram ajustados aos seguintes modelos cinéticos: Primeira Ordem (Equação 6), Higuchi (Equação 7), e Korsmeyer-Peppas (Equação 8), utilizando o programa do excel contendo o suplemento DDSolver (QUADRADO; FAJARDO, 2020; SIEPMANN; PEPPAS, 2012b).

$$Q = Q_{\text{max}}(1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (6)$$

$$Q = k_H \cdot t^{0.5} \quad (7)$$

$$Q = k_{KP} \cdot t^n \therefore \log\left(\frac{Q_t}{Q_\infty}\right) = \log(k_{KP}) + n \log(t) \quad (8)$$

4.2.10 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) através do método de microdiluição

Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade do Departamento de Farmácia da UFSC.

4.2.10.1 Reativação da cepa e preparo do inóculo

Os ensaios foram conduzidos conforme metodologia descrita por Khodavandi *et al.*, (2014), com algumas modificações. Foi empregada cepa-padrão do fungo *Candida albicans* (ATCC) obtida da Microbiologics® (Minnessota, USA). A cultura foi ativada em Caldo Sabouraud-dextrose e incubada durante 48 h a 35°C . Foi realizado, também, um repique para placa contendo Ágar Sabouraud-dextrose, para verificar a

pureza da cepa. A concentração do inóculo foi então ajustada com salina estéril, tendo como base o tubo 0,5 da escala de Mc Farland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Em seguida, a suspensão microbiana foi diluída com salina estéril até uma concentração aproximada de 1 a 5×10^3 UFC/mL, foi empregada nos ensaios posteriores.

4.2.10.2 *Ensaio de microdiluição*

A determinação da CIM foi realizada com as seguintes amostras:

- ✓ Cloridrato de terbinafina (fármaco em pó);
- ✓ Creme de terbinafina (1%) produzido pelo laboratório Medley e adquirido em uma farmácia local,
- ✓ Três diferentes formulações das membranas: 30CH-TBF, 40CH-TBF e 50 CH-TBF.

Para determinação da CIM, pesou-se uma quantidade de cada amostra equivalente a 10 mg de terbinafina e adicionou-se 10 mL de salina estéril, obtendo-se uma solução na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ de terbinafina. Desta forma, foram pesados:

- ✓ 10 mg de cloridrato de terbinafina (fármaco em pó);
- ✓ 1 g do creme de terbinafina 1%;
- ✓ 10,21 g de cada formulação (3CH-TBF, 40CH-TBF e 50 CH-TBF).

A partir da diluição inicial foram preparadas diluições seriadas, nos próprios poços da placa de microdiluição, nas concentrações de 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 e 7,8 $\mu\text{g/mL}$ de terbinafina, em duplicata. Para a realização do ensaio adicionaram-se, a cada poço da microplaca, 100 μL de cada diluição, 80 μL de Caldo Sabouraud-dextrose e 100 μL da suspensão do micro-organismo. Controles de esterilidade do meio de cultivo e do diluente foram conduzidos em cada ensaio, assim como controles de crescimento da levedura e de ausência de contaminação nas amostras. As microplacas foram incubadas por 48 h a 35 °C e o crescimento evidenciado através de turvação e pela adição de 20 μL de solução aquosa de cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio a 0,5% (m/v) com incubação adicional de 2 h, à mesma temperatura. Poços com crescimento celular adquirem a coloração rosa, enquanto os poços sem crescimento permanecem incolores. A CIM foi determinada como a menor concentração da diluição da amostra que inibiu o crescimento microbiano.

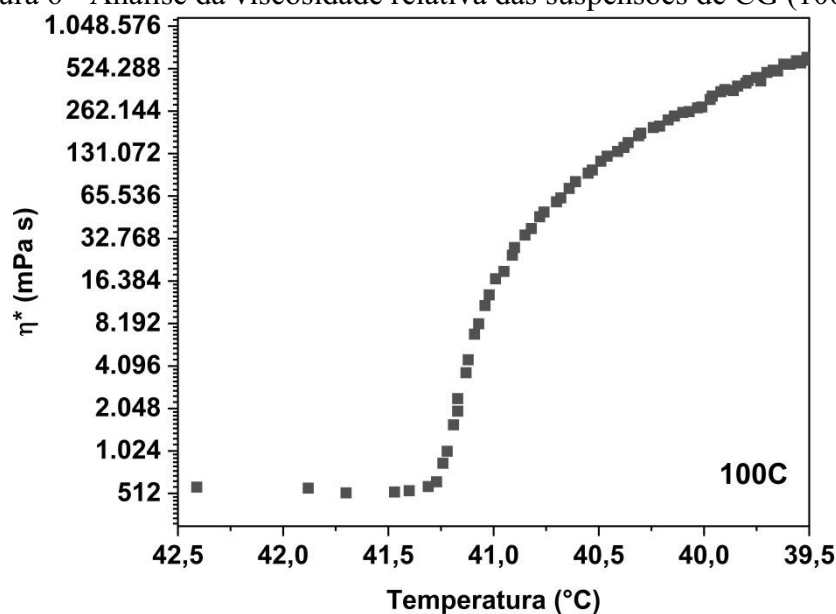
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDOS REOLÓGICOS PARA O PREPARO DAS MEMBRANAS

Os ensaios de viscosidade e temperatura de transição sol-gel foram realizados a fim de avaliar as mudanças nas propriedades reológicas dos sistemas produzidos em função do aumento da quantidade de κ -CG presentes e da adição de TBF. A temperatura de transição sol-gel foi determinada baseado no método utilizado por Barrera *et al.*, (2010), extrapolando as assíntotas de viscosidade e temperatura e considerando a temperatura correspondente à intersecção das retas.

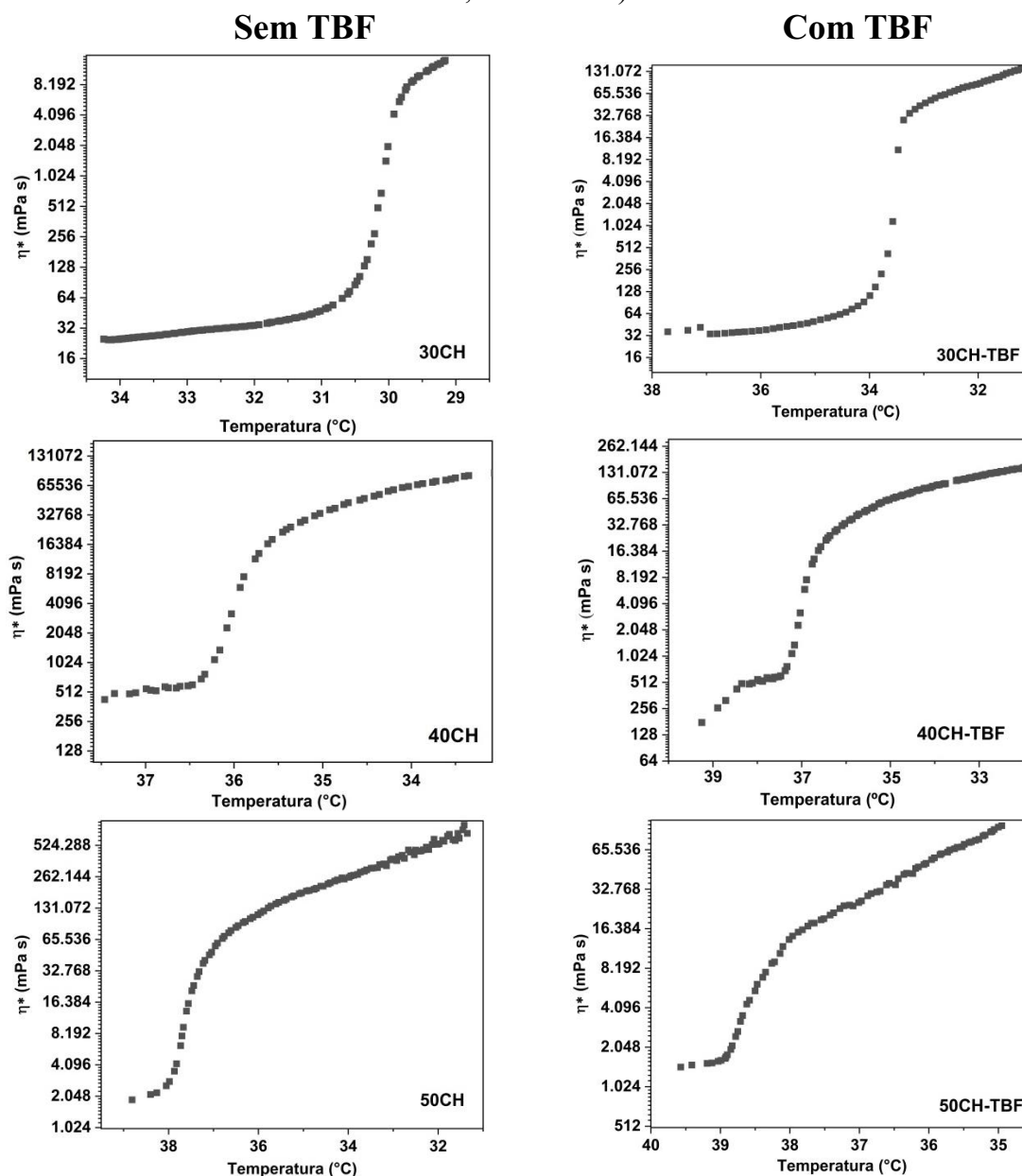
O primeiro fator analisado foi a viscosidade relativa η^* das formulações desenvolvidas, determinada em função da temperatura de resfriamento e plotada contra a temperatura de resfriamento em uma escala logarítmica dupla, conforme os gráficos da Figura 6 e 7. Analisando a viscosidade dos sistemas produzidos, observa-se comportamento de fluxo não-newtoniano, onde a viscosidade varia com a taxa de cisalhamento e a temperatura. Assim, as dispersões aquosas dos dois polímeros têm características de fluidos não-newtonianos pseudoplásticos.

Figura 6 - Análise da viscosidade relativa das suspensões de CG (100C).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Figura 7 – Análise da viscosidade relativa das suspensões em diferentes proporções de CG/HPMCAS sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) e com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Observa-se analisando a Figura 7 que em altas temperaturas, a viscosidade é proporcional a quantidade de κ -carragenana na amostra. Quanto maior a quantidade de CG maior é a viscosidade relativa, pois o aumento do número de moléculas de CG dispersas na solução diminuem as distâncias moleculares aumentando suas interações e consequentemente aumentando sua viscosidade.

Em temperaturas mais baixas, quando a matriz está em seu estado de gel, é possível verificar que o grupo controle (100C) (Figura 6) tem uma viscosidade relativa

maior quando comparada às formulações com e sem fármaco, isso indica que o fármaco e o HPMCAS interagem com a CG, fortalecendo a rede tridimensional. Observa-se ainda na Figura 7 que a adição de TBF em todas as formulações aumenta a viscosidade dos sistemas. Este fato pode estar associado à formação de novas interações do fármaco com os polímeros ocasionado numa redução de mobilidade aparente, o que faz com que o sistema tenha sua viscosidade aumentada quando comparada aos grupos sem fármaco.

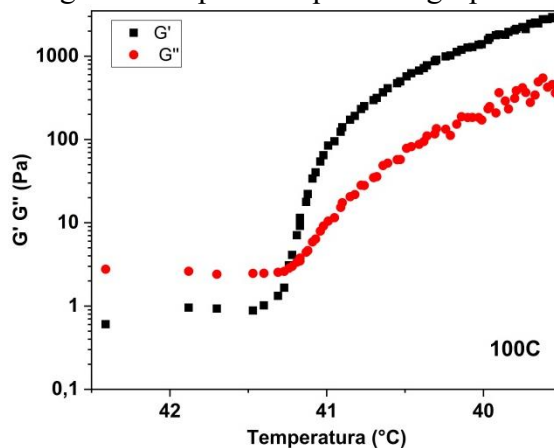
Tendo por base o comportamento de viscosidade observado anteriormente, foi conduzido estudo reológico de todos os sistemas.

O estudo reológico foi realizado em diferentes formulações: 20, 30, 40, 50 e 60% (m/m) de κ -carragenana (CG) em relação a massa de HPMCAS. Além das formulações de grupo controle com 100% de HPMCAS (100H) (2% m/v) e 100% de CG (100C) (2% m/v), estas suspensões foram caracterizadas na presença e ausência de terbinafina (TBF) (0,1%). Não foi possível mensurar a temperatura de transição sol gel de formulações menores que 30% e maiores que 50% de CG devido a limitações envolvendo o controle da temperatura do equipamento.

As amostras foram aquecidas até 80 °C e resfriadas durante o ensaio até 30°C, definindo-se a temperatura de transição sol-gel na intersecção entre a curva do G' (módulo de elasticidade) e do G'' (módulo viscoso), a uma frequência constante. A rampa de temperatura foi realizada na amplitude de 1% para evitar que a estrutura da amostra seja perturbada pela tensão.

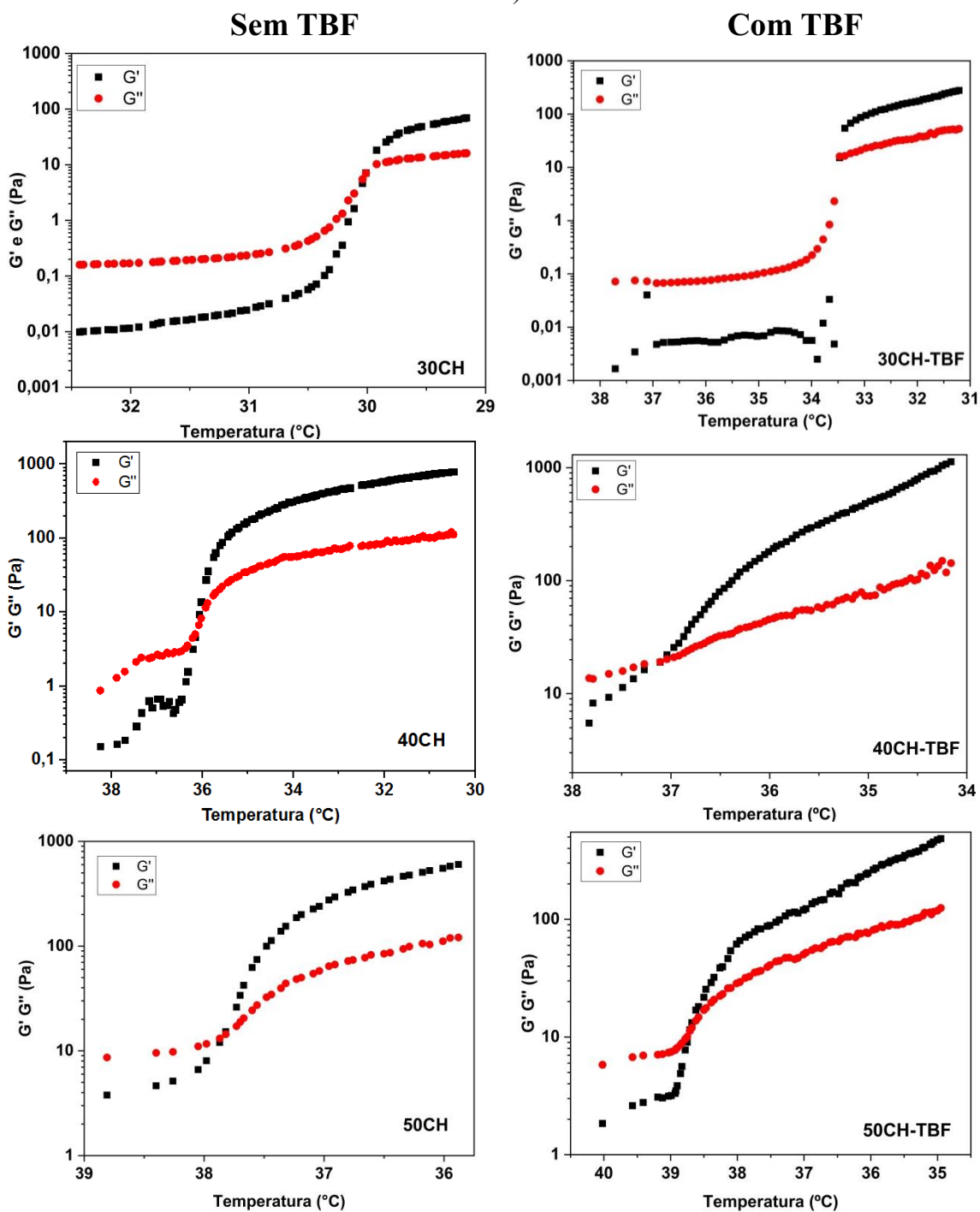
A Figura 8 e 9 e a Tabela 2 apresentam os ensaios realizados no reômetro oscilatório das dispersões aquosas cujas formulações foram posteriormente aplicadas no desenvolvimento das membranas.

Figura 8 - Estudo reológico da dispersão aquosa do grupo controle de CG (100C).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Figura 9 - Estudo reológico das suspensões em diferentes proporções de CG/HPMCAS sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) e com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF).



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

A Tabela 2 apresenta a temperatura de transição sol-gel das suspensões dos diferentes grupos estudados.

Tabela 2 - Temperatura de transição sol-gel das suspensões.

Amostra	Temperatura de Transição Sol-Gel (°C)	
	Sem adição de TBF	Com adição de TBF
30CH	30,12	33,51
40CH	36,15	37,05
50CH	37,86	38,79
100C	39,91	-

Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

A partir dos gráficos da Figura 9 é possível verificar que G' e G'' aumentam com a diminuição da temperatura, devido a diminuição da mobilidade da cadeia molecular, e que em determinado valor, G' excede G'' indicando a formação de uma estrutura molecular em rede (gel).

O processo de gelificação da CG é complexo, e estudado há mais de 30 anos, na literatura, é descrito pela ocorrência em duas etapas de forma reversível: em temperaturas altas, as moléculas de CG estão dissolvidas na água, após o resfriamento, as hélices - também chamadas de bobinas - são formadas, seguidas pelas agregações destas hélices, o que resulta na gelificação (vide Figura 4). (LIU; HUANG; LI, 2016).

Estudos revelam que a adição de íons carregados positivamente (cátions) pode interferir no processo de gelificação. Michel e colaboradores (1997) demonstraram que íons de potássio interagem com às hélices de κ -carragenana, reduzindo consideravelmente a densidade de cargas. (MICHEL; MESTDAGH; AXELOS, 1997). Íons de potássio, rubídio e cézio mostraram ser mais eficientes na indução da gelificação do que íons de lítio e sódio, pois o efeito de proteção, que induz a diminuição da densidade de carga das hélices, aumenta com o aumento do raio dos íons de metais alcalinos. (BRUN-GRAEPPPI *et al.*, 2010).

No preparo das formulações, utilizou-se NaOH para o ajuste do pH, que em contrapartida possibilitou ainda mais a gelificação após o resfriamento, possibilitando futuramente uma maior adesão das membranas na pele.

A análise reológica mostra que a κ -carragenana (CG) apresenta propriedades viscoelásticas e um ponto de transição sol-gel em 39 °C (Figura 8) (IIJIMA; HATAKEYAMA; HATAKEYAMA, 2014). Pode se observar que o aumento da concentração de CG e a presença da terbinafina nos sistemas HPMCAS/CG provoca um aumento da temperatura de transição sol-gel, isso indica que é necessária mais energia térmica para interromper a ação referente à formação das estruturas de rede (IIJIMA;

HATAKEYAMA; HATAKEYAMA, 2014). Este dado será suportado e está coerente com os resultados obtidos pela análise de DSC.

Além disso, a adição de TBF nas formulações dos géis pode perturbar as interações entre CG e HPMCAS, reorganizando a rede de entrelaçamento e modificando a estrutura da matriz polimérica, fato que em solução pode proporcionar um aumento da viscosidade das soluções formadoras das membranas, assim como da temperatura de transição sol-gel. Dessa maneira, acredita-se que o aumento da viscosidade e da temperatura de transição sol-gel esteja associado à formação de interações da TBF com a matriz polimérica.

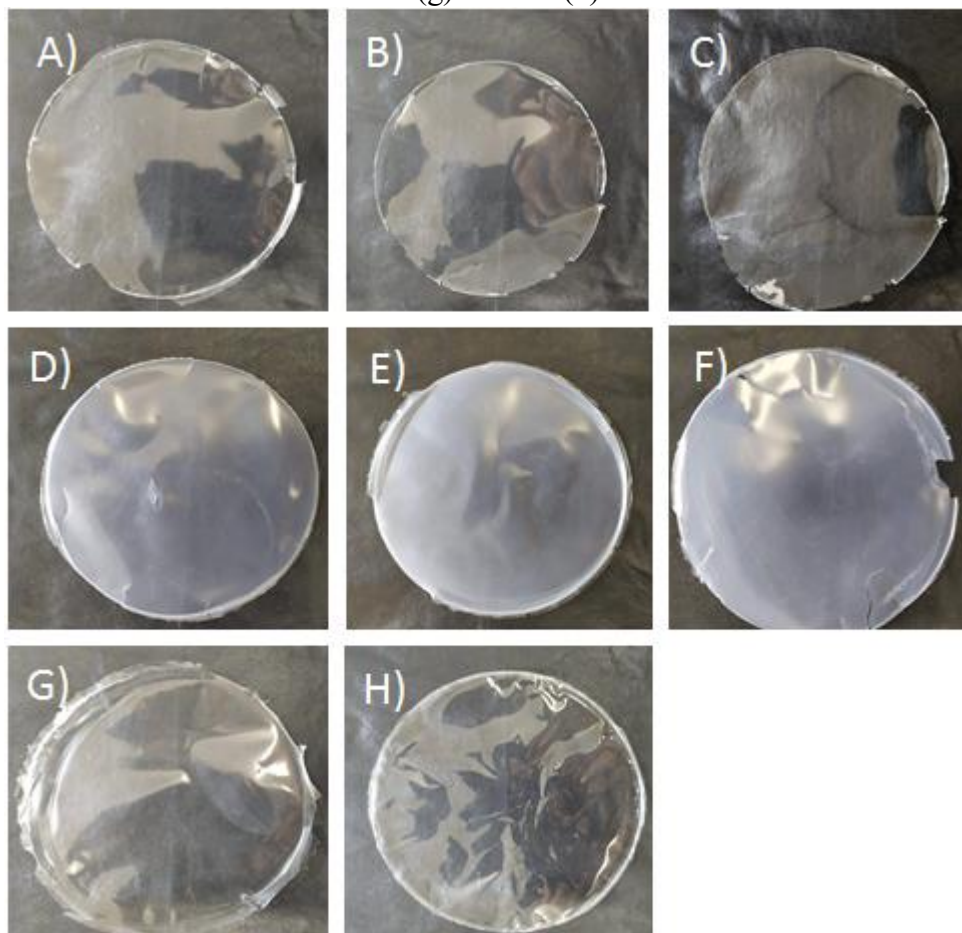
Espera-se que as amostras com uma transição sol-gel acima da temperatura corporal sejam as mais eficientes na liberação do fármaco, pois apresentam uma maior viscosidade e maior entrelaçamento das cadeias, capaz de suportar uma liberação mais prolongada sem degradar a matriz, aderindo com maior facilidade à pele.

5.2 ASPECTO VISUAL DAS MEMBRANAS E MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA

Tendo em vista os resultados do estudo reológico, foram produzidas membranas nas proporções em que a temperatura de transição sol-gel foi similar ou próxima à temperatura corporal humana, para que ao entrar em contato com a pele a membrana atinja uma temperatura que possibilite sua condição de gel, facilitando o controle da liberação do fármaco.

Dessa forma, foram produzidas formulações com 30, 40 e 50% (m/m) de CG em relação à massa do HPMCAS com e sem fármaco. Como grupo controle, prepararam-se membranas com 100% de CG e 100% de HPMCAS. A Figura 10 apresenta fotografias digitais das membranas, revelando suas características macroscópicas.

Figura 10 - Característica macroscópica das membranas sem fármaco: (a) 30CH; (b) 40CH; (c) 50CH; com fármaco: (d) 30CH-TBF; (e) 40CH-TBF; (f) 50CH-TBF e grupo controle: (g) 100H e (h) 100C.



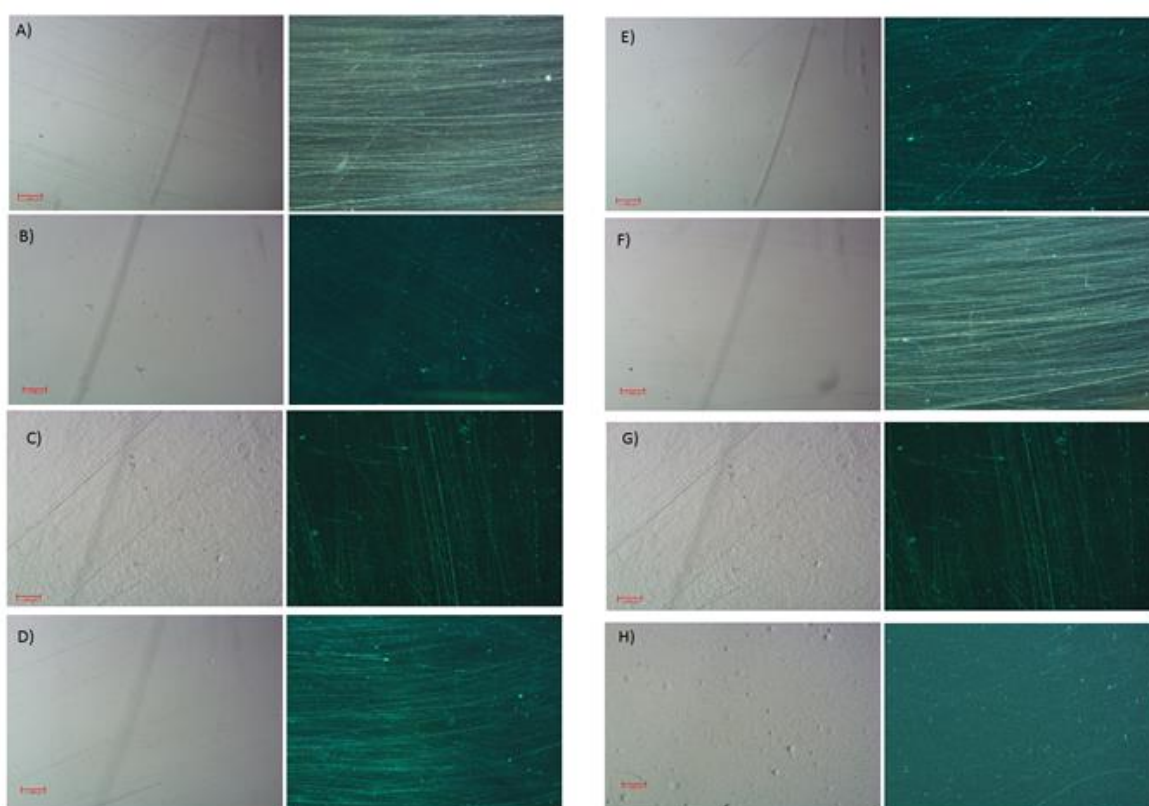
Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

As membranas sem fármaco (a-c) apresentaram aspecto translúcido, manifestando brilho quando expostos à luz e ao manuseá-las foi possível perceber uma boa maleabilidade. Já as amostras com fármaco (d-f) são opacas, com pouco brilho e homogêneas, mantendo suas características de maleabilidade. As membranas do grupo controle (g-h) apresentam-se translúcidas e uma maior fragilidade quando manuseadas comparadas às demais.

A mudança visual das membranas contendo TBF em relação às membranas puras deve-se ao fato de o fármaco estar disperso na amostra. Em uma análise macroscópica não se evidencia a presença de TBF não dissolvido nas membranas produzidas, o que é um fato importante para futuras aplicações farmacêuticas.

A partir da análise de microscopia óptica com luz polarizada é possível verificar se o fármaco se apresenta na forma amorfa ou cristalina nas membranas e também informações a respeito da morfologia da superfície da membrana. A Figura 11 mostra as microscopias das membranas na ausência de luz polarizada (a esquerda) e na presença de luz polarizada (a direita).

Figura 11 - Microscopia óptica convencional (esquerda) e microscopia de luz polarizada (direita) das membranas sem fármaco: (a) 30CH; (b) 40CH; (c) 50CH; com fármaco: (d) 30CH-TBF; (e) 40CH-TBF; (f) 50CH-TBF e grupo controle: (g) 100H e (h) 100C. As barras indicam tamanho de 500 μ m.



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

A partir das microscopias ópticas foi possível observar que as membranas apresentam superfícies irregulares (ranhuras) devido à superfície das placas utilizadas na secagem, além da presença de algumas bolhas de ar decorrentes do processo de agitação da mistura.

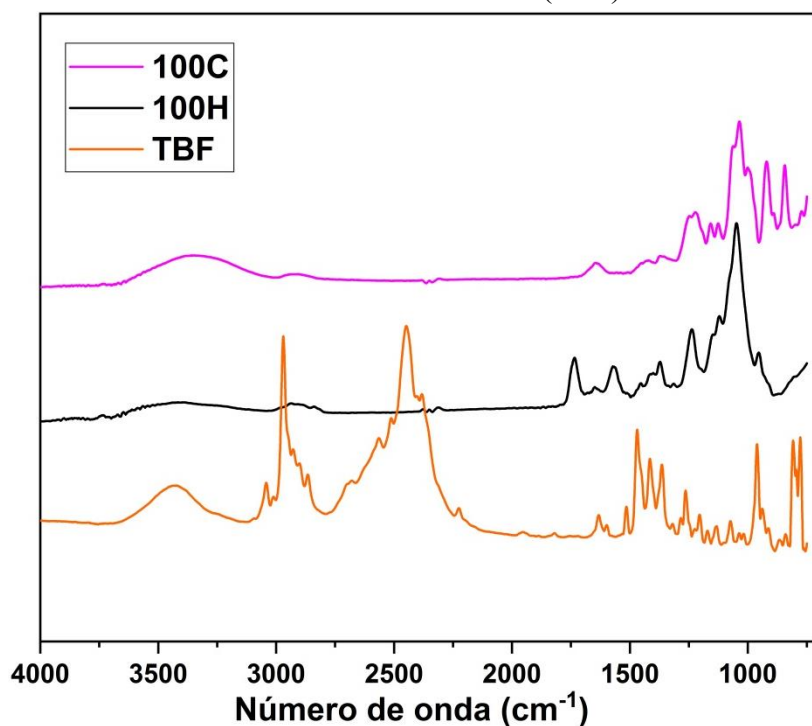
Não é evidenciada a presença de porosidade ou fraturas nas membranas puras e contendo TBF mostrando que os sistemas são densos, não são observadas também via microscopia óptica a presença de regiões cristalinas no interior da amostra.

As microscopias com luz polarizada retratam as características descritas anteriormente e evidencia-se que o fármaco foi solubilizado durante o processo de preparação das membranas, pois é possível observar poucos pontos brilhantes birrefringentes nas membranas que indicam a presença de material cristalino. Estas evidências são suportadas pelos resultados de análises de DSC das membranas, onde o ponto de fusão do fármaco não está presente.

5.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia FTIR foi utilizada para compreender as interações dos polissacarídeos CG e HPMCAS, bem como o efeito da presença de TBF em misturas binárias com os polímeros anteriormente citados. A Figura 12 apresenta os espectros de FTIR das membranas controle de CG e HPMCAS e TBF.

Figura 12 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da membrana de hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (100H), κ -carragenana (100C) e do Cloridrato de Terbinafina (TBF).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Tabela 3 – Grupos funcionais identificados nos espectros de FTIR das membranas de hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato (100H), κ -carragenana (100C) e do Cloridrato de Terbinafina (TBF).

Amostra	Grupos Funcionais	Número de onda (cm^{-1})
100C	D -Galactose-4-sulfato (C-O-S)	844
	3,6-anidro- D- galactose (C-O-C)	920
	Ligação glicosídica	1036
	Éster de Sulfato (O=S=O)	1222
	Alongamento C-O	1647
	Alongamento O – H	3400-3000
100H	Álcool primário	1046
	Álcool secundário	1237
	C=O	1737
	CH ₃	1270-1210
	Alongamento O – H	3400-3000
TBF	C-H (anéis aromáticos)	3041
	C-H (alifáticos)	2970
	C≡C	2224
	t-butila	1364 e 1415
	C=C (aromáticos)	1624 e 1514
	C-N	1135
	H ₃ C—N	2446
	Olefina <i>trans-substituída</i>	961

Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

O espectro da CG apresenta bandas características em 1222, 1036, 920 e 844 cm^{-1} que são atribuídas a deformação axial do éster de sulfato (O=S=O), ligações glicosídicas, 3,6-anidro D-galactose (C-O-C) e D-galactose-4-sulfato (CO-S), respectivamente. Em 1647 cm^{-1} observa-se a presença de um estiramento C-O referente a D-galactose. A banda ampla observada entre 3500 e 3000 cm^{-1} referente ao estiramento dos grupos O-H (SUN *et al.*, 2018).

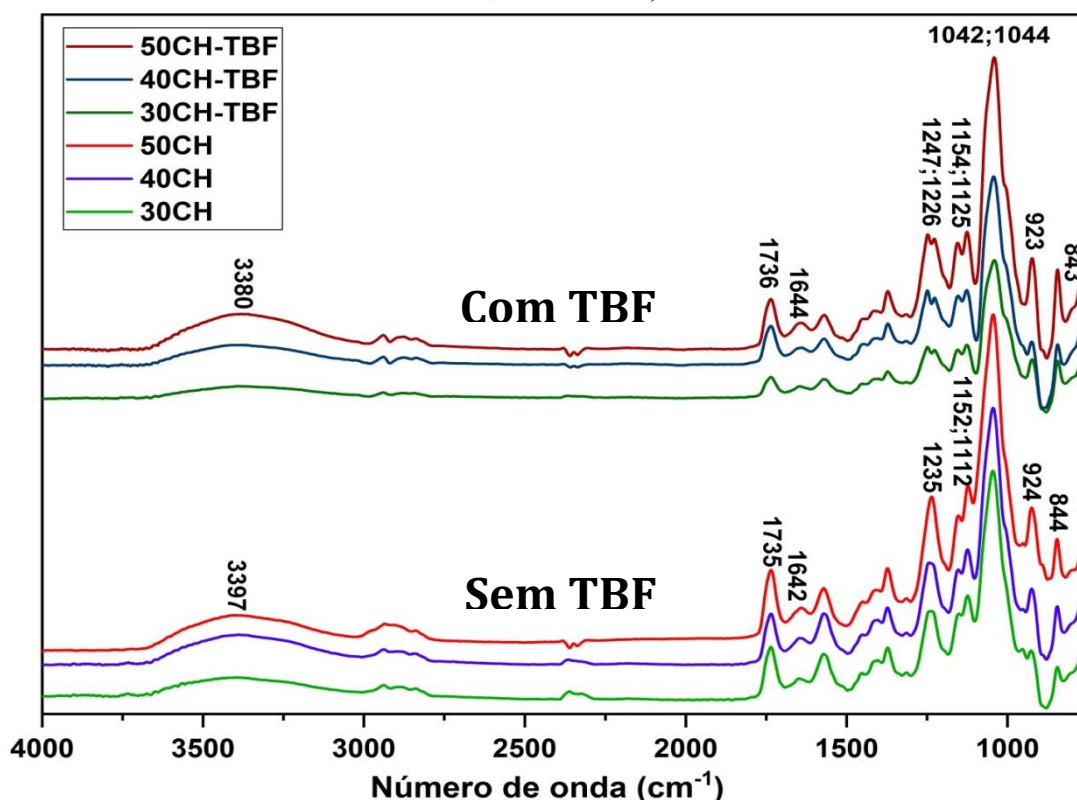
O espectro do HPMCAS descreve bandas características em 1046 cm^{-1} referentes ao estiramento C-O (álcool primário), e 1237 cm^{-1} (álcool secundário) e 1737 cm^{-1} (C=O), são observadas na região de 3500 a 3000 cm^{-1} vibrações referentes ao estiramento O-H (SARKAR *et al.*, 2014).

No espectro do cloridrato de terbinafina (TBF) observam-se suas bandas características. A banda em 3041 cm^{-1} refere-se às vibrações do estiramento de grupos C-H pertencentes aos anéis aromáticos. As deformações dos grupos alifáticos C–H são observadas por volta de 2970 cm^{-1} , provenientes ao metil e metilenos presentes na estrutura do fármaco. A banda em 2224 cm^{-1} faz referência às vibrações de estiramento

do grupamento $C\equiv C$. O grupo t-butila origina duas bandas de deformação axial, observadas em 1364 e 1415 cm^{-1} . As deformações axiais assimétricas de $C=C$ alifáticos e aromáticos estão presentes em 1624 e 1514 cm^{-1} , respectivamente, sua baixa intensidade é devido a posição *trans* (IIZHAR *et al.*, 2016). Por volta de 2446 cm^{-1} , uma banda intensa pode ser atribuída ao grupo amina (KUMINEK *et al.*, 2013). A banda de estiramento $C-N$ possui o valor de 1135 cm^{-1} (IIZHAR *et al.*, 2016). A banda intensa a 961 cm^{-1} pode ser atribuída à olefina *trans*- substituída (KUMINEK *et al.*, 2013).

A Figura 13 apresenta os espectros das membranas de CG/HPMCAS na presença e ausência de TBF, onde é possível observar similaridade entre as bandas com diferentes proporções, variando-se somente a intensidade das mesmas.

Figura 13 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das membranas sem fármaco (50CH; 40CH; 30CH) e com fármaco (50CH-TBF; 40CH-TBF; 30CH-TBF).



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

As vibrações de alongamento atribuídas ao 3,6-anidro D-galactose (C-O-C) e D-galactose-4-sulfato (C-O-S) referentes as características estruturais da CG e, o estiramento atribuído às ligações $C=O$ do HPMCAS continuaram presentes nos

espectros obtidos das misturas de CG/HPMCAS, indicando que esse sistema binário preservou as principais características estruturais destes compostos.

As amostras compostas pela mistura de CG/HPMCAS apresentaram um deslocamento da banda de 3372 cm^{-1} da CG e 3336 cm^{-1} do HPMCAS para bandas por volta de 3397 cm^{-1} , 3389 cm^{-1} e 3378 cm^{-1} para as amostras 30CH, 40CH e 50CH respectivamente, sendo um indicativo de formação de interação entre esses polissacarídeos através de ligações de hidrogênio (SUN *et al.*, 2018a). Outra evidência que corrobora com esta sugestão, é o fato de que a banda em 1048 cm^{-1} referente ao estiramento C–O de álcool primário e a banda em 1237 cm^{-1} referente ao estiramento de álcool secundário do HPMCAS aparecem deslocadas nos espectros das membranas contendo CG e HPMCAS (MUGHAL; IQBAL; NEAU, 2011).

Além disso, novas interações com o grupamento sulfato da CG foram observadas. O espectro FTIR da região de $1400\text{ a }1100\text{ cm}^{-1}$ mostra o deslocamento da banda em 1222 cm^{-1} , atribuído ao grupamento O=S=O da CG, para 1237 , 1235 e 1233 cm^{-1} com o aumento da concentração de CG nas membranas produzidas, respectivamente (Figura 13).

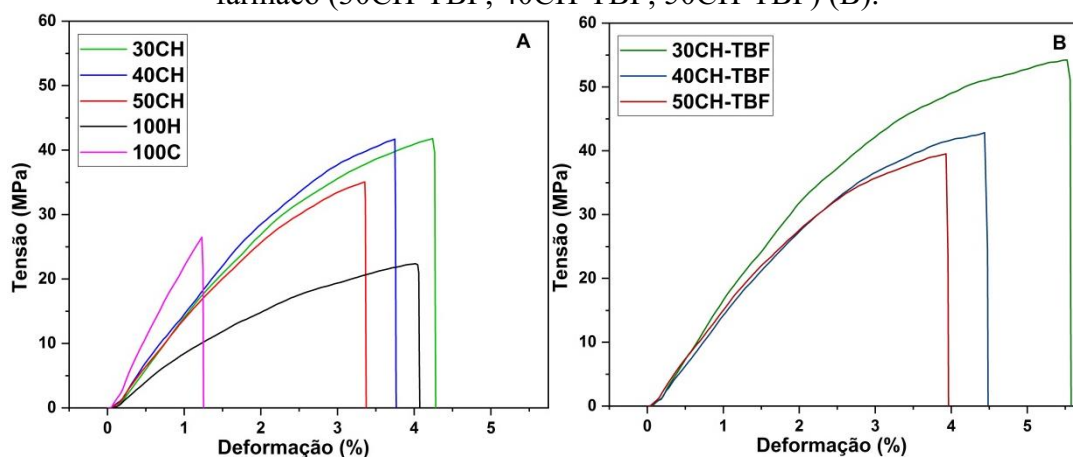
Ao grupamento sulfato da CG é atribuído interações intramoleculares da estrutura conformacional deste polímero, assim como a realização de interações intermoleculares com o HPMCAS para a obtenção de redes tridimensionais através de interações de ligação de hidrogênio e interações eletrostáticas com a TBF, que são evidenciadas no deslocamentos do grupamento O=S=O e do álcool secundário do HPMCAS citados anteriormente, além do deslocamento da deformação da ligação C-N da TBF. A mudança observada é indicativa de modificação da organização conformacional da CG e também da perturbação da interação entre CG e HPMCAS pelas interações com a TBF.

5.4 ENSAIOS DE TENSÃO VS DEFORMAÇÃO

A determinação das propriedades mecânicas das membranas desenvolvidas desempenha papel importante neste estudo, pois quando aplicadas em sistemas tópicos espera-se que elas possuam maleabilidade e resistência para que consigam envolver a superfície da pele evitando rachaduras e pouca adesividade.

As propriedades mecânicas das membranas foram obtidas através de medidas de tensão de ruptura (TR), alongação máxima (%E) e módulo de elasticidade (ME), apresentadas na Figura 14 e Tabela 4.

Figura 14 - Curvas de tensão *versus* deformação dos ensaios resultantes de tensão-deformação das membranas do grupo controle (100H;100C) e com diferentes composições de HPMCAS/CG sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) (A) e na presença de fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) (B).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Tabela 4 - Propriedades mecânicas das membranas descritas na Figura 14.

Amostra		Elongação máxima (%)	Tensão de ruptura (MPa)	Módulo de Elasticidade (MPa)
Controle	100C	1,4 ± 0,2 ⁿ	26,1 ± 5,7 ^{a,b}	2376,7 ± 11,3 ^e
	100H	4,0 ± 0,2 ^{a,b,c,d,e}	20,8 ± 1,9 ^a	820,1 ± 62,6 ^f
Sem TBF	30CH	4,2 ± 0,5 ^{c,i,k,m}	41,8 ± 5,8 ^{c,d,i}	1453,4 ± 74,7 ^{a,b}
	40CH	3,7 ± 0,9 ^{d,j,l,m}	41,8 ± 4,0 ^{c,e,h,j}	1507,2 ± 30,7 ^c
	50CH	3,4 ± 0,7 ^{e,g,h,k,l}	35,0 ± 7,5 ^{b,d,e,g}	1389,9 ± 60,2 ^b
Com TBF	30CH	5,5 ± 0,2 ^o	54,2 ± 0,9 ^k	1709,6 ± 73,8 ^d
	40CH	4,4 ± 0,9 ^{a,f,h,i,j}	42,8 ± 5,6 ^{f,j}	1709,7 ± 73,8 ^d
	50CH	4,0 ± 0,8 ^{b,f,g}	39,5 ± 1,7 ^{f,g,h,i}	1478,2 ± 54,7 ^{a,c}

n=7, média das medidas obtidas em 7 corpos de prova.

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

A partir dos valores apresentados na Tabela 4 e as curvas da Figura 14, observa-se que a membranas puras de HPMCAS (100H) e CG (100C) tem propriedades mecânicas opostas, enquanto a membrana de 100H apresenta baixa tensão de ruptura,

alta alongação máxima e baixo módulo de elasticidade, indicando alta mobilidade e baixa rigidez, a membrana de 100C é frágil com baixa alongação máxima e alto módulo elástico.

Ao preparar os sistemas de HPMCAS/CG observa-se uma melhora significativa nas propriedades mecânicas, verifica-se que as membranas com 30% de CG apresentam um valor de tensão de ruptura (TR) de 41 MPa, alongação (%E) de 4,2, e módulo de elasticidade (ME) de 1453 MPa, 50% maior que a das membranas de HPMC puras. À medida que se adiciona mais CG na formulação das membranas os valores de tensão de ruptura e deformação máxima diminuem, pois se formam novas interações moleculares entre os polímeros levando a uma reorganização estrutural desordenada, aumentando a distância molecular dos polímeros, e o volume de movimento livre das moléculas, garantindo-as menor mobilidade (SUN *et al.*, 2018a).

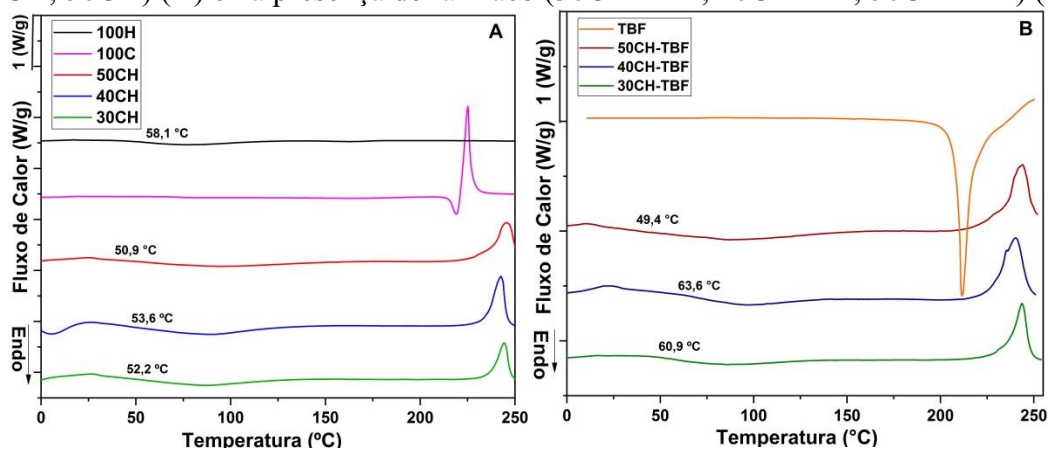
Após adição do cloridrato de terbinafina as propriedades mecânicas mudam consideravelmente em comparação as membranas puras. Observa-se que a TR aumenta bem como o módulo de elasticidade das membranas, pois o fármaco apresenta-se disperso e amorfo na matriz (conforme resultado das microscopias ópticas), ocupando volumes livres entre as cadeias poliméricas e favorecendo fortes interações moleculares com os polímeros. Tais interações podem ocorrer principalmente devido a presença da amina terciária na molécula de TBF, capaz de formar interações eletroestáticas com a CG.

5.5 ANÁLISES TÉRMICAS

5.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

Os resultados de DSC das membranas dos grupos controle e em diferentes concentrações de CG/HPMCAS na presença e ausência de TBF estão apresentados na Figura 15.

Figura 15 - Curvas de DSC da segunda corrida das membranas do grupo controle (100H;100C) e com diferentes composições de CG/HPMCAS sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) (A) e na presença de fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) (B).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Observa-se na Figura 15A que a amostra de HPMCAS (100H) apresenta uma transição vítrea (T_g) de 58,1 °C. Após a adição de CG nas membranas a T_g cai para 52,2 °C na amostra com 30% de CG, 53,6 °C na amostra com 40% de CG, e 50,9 °C na amostra com 50% de CG. A diminuição da T_g das amostras é observada, pois como descrito anteriormente nas análises de FTIR e nos ensaios mecânicos, CG e HPMCAS interagem formando novas redes tridimensionais que restringem a mobilidade dos polímeros.

A região em 225 °C é atribuída à decomposição de κ -carragenana (vide gráficos de TG na Figura 16) (SUN *et al.*, 2018b, 2018a). As membranas com HPMCAS/CG apresentam essa decomposição característica da CG com um aumento de temperatura: as amostras com 30, 40 e 50 % (m/m) apresentam as regiões de degradação em 244, 242 e 246 °C respectivamente, reforçando a mudança de perfil da matriz devido à suas novas interações moleculares. Este resultado condiz com as análises reológicas das suspensões, pois devido ao aumento da concentração de CG na membrana é necessária uma energia térmica maior para romper tais interações. Não foi possível verificar na análise de DSC a temperatura de fusão da CG, que possibilitaria a comparação com os dados reológicos, indicando uma temperatura de fusão próxima à temperatura de transição sol-gel.

Na Figura 15B observa-se o termograma do cloridrato de terbinafina que exhibe um evento endotérmico na temperatura de 211,5 °C referente ao seu ponto de fusão e evidenciando que esta substância é cristalina (KUMINEK *et al.*, 2013). Quando a TBF é dissolvida nas membranas, não se observa nenhum evento térmico de fusão, suportando

a evidência de que o fármaco se apresenta no estado amorfo e está disperso em toda a matriz polimérica das membranas, resultado consistente nas análises de microscopia óptica.

É possível observar na figura 15B, a Tg das membranas com fármaco. A amostra com 30% de CG apresenta uma Tg em 60,9 °C, enquanto a amostra com 40% de CG em 63,5°C e com 50% de CG uma Tg de 49,4 °C. Conforme a análise mecânica é esperado que o valor da Tg aumente em comparação com as membranas sem TBF pois o fármaco interage fortemente com os polímeros da matriz, ocupando volumes livres entre as cadeias, diminuindo sua mobilidade, resultando na menor flexibilidade da matriz levando portanto, ao aumento gradativo da Tg (SUN *et al.*, 2018b, 2018a).

5.5.2 Análise Termogravimétrica

A estabilidade térmica das membranas e de seus componentes puros foi determinada a partir da análise de TGA. As curvas estão apresentadas na Figura 16 e os dados referentes a análise termogravimétrica diferencial estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Dados Termogravimétricos obtidos a partir da análise termogravimétrica diferencial das amostras.

Amostra		Estágio 1		Estágio 2		Estágio 3		Massa residual (%)
		T ₁ ^a	P ₁ ^b	T ₂ ^a	P ₂ ^b	T ₃ ^a	P ₃ ^b	
Controle	100H	65	6	–	–	377	50	24
	100C	36	4	250	25	–	–	39
	TBF	-	-	270	98	-	-	2
Sem TBF	30CH	106	8	271	14	378	47	27
	40CH	91	6,5	269	17	383	56	21
	50CH	99	6	271	21	369	56	22
Com TBF	30CH	91	7	267	19	381	56	25
	40CH	86	7	269	33	373	55	22
	50CH	76	4	273	24	358	56	23

^a Temperatura de máxima velocidade de degradação, °C

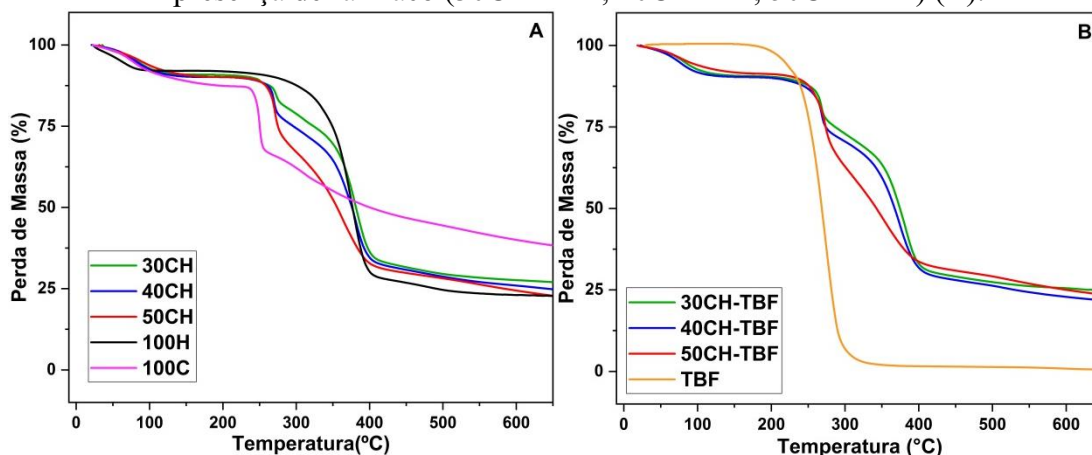
^b Porcentagem de perda de massa em cada estágio de degradação

^c Massa residual a 600°C

Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

Na Figura 16A as curvas são referentes às diferentes formulações de CG/HPMCAS indicam as regiões de perda de massa referentes aos polímeros, enquanto a Figura 16B refere-se às curvas de TGA das diferentes formulações na presença da terbinafina.

Figura 16 – Curvas de TG das membranas do grupo controle (100H;100C) e com diferentes composições de HPMCAS/CG sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) (A) e na presença de fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) (B).



Fonte: dados elaborados pelo autor deste trabalho (2020).

A curva do grupo controle da CG (100C) mostra o primeiro pico de perda de massa de 4% em 36 °C, representando a perda de água absorvida. O segundo pico de perda de massa de 25% a 250 °C que representa a decomposição da CG (SUN *et al.*, 2018b, 2018a). Mahmood, *et al.*, (2014) relatam que este segundo estágio está relacionado à fragmentação da cadeia principal da CG devido a cisão da ligação acetal, e a degradação da cadeia lateral, pela perda do grupo éster sulfato (MAHMOOD; KHAN; YEE, 2014).

O grupo controle de HPMCAS (100H) tem seu primeiro pico de perda de massa de 6% a 65 °C referente à desidratação, e o segundo pico de perda de massa de 50% a 377 °C que faz referência à decomposição do HPMCAS (SUN *et al.*, 2018b, 2018a).

Considerando-se a flexibilidade dos sistemas poliméricos, sabe-se que a maior flexibilidade levará a uma menor restrição dos movimentos macromoleculares, ou seja, maior mobilidade e uma maior dissipação de energia térmica, levando a menor probabilidade de quebra de ligações químicas. A presença das ligação acetal na unidade repetida da CG contribui para uma menor flexibilidade da cadeia, confirmando sua estabilidade térmica menor do que a do HPMCAS, que pode dificultar a dissipação de energia térmica, levando a uma degradação superficial e, conseqüentemente, uma menor perda de massa, com um maior resíduo no final do processo (SHAHBAZI *et al.*, 2016).

Conforme a Tabela 5, é possível verificar que a CG tem uma hidrofobicidade maior que a da HPMCAS. Quando as membranas apresentam diferentes formulações dos polímeros observa-se que quanto maior a quantidade de CG menor é a perda de

massa referente ao primeiro pico relacionado à desidratação, esse resultado é coerente com a análise de capacidade de absorção de água, onde se observa o mesmo perfil de afinidade com água (vide Figura 17).

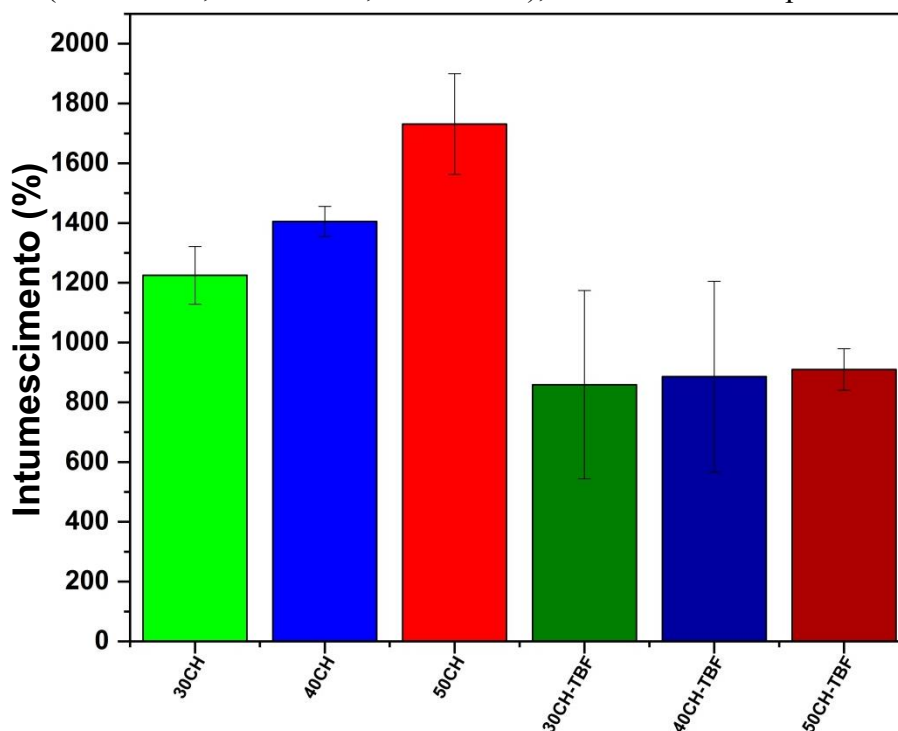
A temperatura máxima do pico referente à decomposição da estrutura química da CG e do HPMCAS aumenta nas membranas com diferentes formulações de CG/HPMCAS na ausência de TBF, quando comparada ao seu respectivo grupo controle, indicando fortes interações via ligação de hidrogênio na matriz. Dessa forma, como a interação entre as cadeias é mais forte, necessita-se de maior energia térmica, que consequentemente colaboram com os resultados de DSC onde encontramos valores de Tg em menores temperaturas, além de menores valores de deformação vistas nas análises mecânicas.

5.6 GRAU DE INTUMESCIMENTO

O fenômeno de intumescimento é causado pelo afastamento da rede polimérica na presença de pressão osmótica. Assim, a absorção da solução aquosa extra na membrana é favorecida devido à força motriz osmótica das cadeias da rede, resultando no ganho de massa (RASOOL *et al.*, 2019).

A Figura 17 apresenta um gráfico referente a análise de intumescimento das membranas no meio de solução tampão de pH simulado.

Figura 17 – Intumescimento das membranas sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH) e com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF), realizadas em tampão fosfato pH 7,4.



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

Tabela 6 – Intumescimento (%) das membranas sem fármaco (30CH; 40CH; 50CH), com fármaco (30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF) e grupo controle (100H) realizadas em tampão fosfato pH 7,4.

Amostra		Intumescimento (%)
Controle	100H	1562±118,7
Sem TBF	30CH	1225±96,5
	40CH	1405±50,4
	50CH	1731±168,7
Com TBF	30CH-TBF	859±315,3
	40CH-TBF	886±319,3
	50CH-TBF	910±69,5

Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

Na Figura 17 e Tabela 6, pode-se observar que as formulações com maior fração de CG absorveram maior quantidade de água, tamanha quantia não foi possível mensurar para a membrana com CG pura (100C), pois a absorção foi altamente rápida, levando a solubilização imediata do polímero. Conforme Doroynski, *et al.*, (2011)

matrizes baseadas apenas em carragenanas têm uso limitado na preparação de sistemas, elas estão sujeitas a rápida hidratação e erosão e não são capazes de manter propriedades satisfatórias por um período suficientemente longo. Estudos de intumescimento mostraram que a carragenana realiza uma absorção de água duas vezes maior que a de HPMC (VALENTA; SCHULTZ, 2004). Quando hidrolisada a carragenana pode sofrer quebra nas ligações glicosídicas, na ligação de 3,6-D-anidrogactose ou nos grupo sulfato, a perda resultará numa menor repulsão eletrostática intramolecular, tornando o polímero com uma conformação menos estendida e mais flexível (MORAIS, 2016).

As membranas de CG/HPMCAS com fármaco apresentaram menor absorção de água quando comparadas com as formulações sem fármaco. Este resultado revela a interferência do fármaco no empacotamento das cadeias, pois se aumenta o número de interações eletrostáticas na matriz, levando a compactação da mesma, diminuindo a mobilidade das cadeias, e o espaço vazio interno delas, fazendo com que a estrutura de rede seja menos flexível, diminuindo sua capacidade de absorção de água. Estes dados suportam as análises mecânicas e análises de DSC citadas anteriormente (SUN *et al.*, 2018b, 2018a).

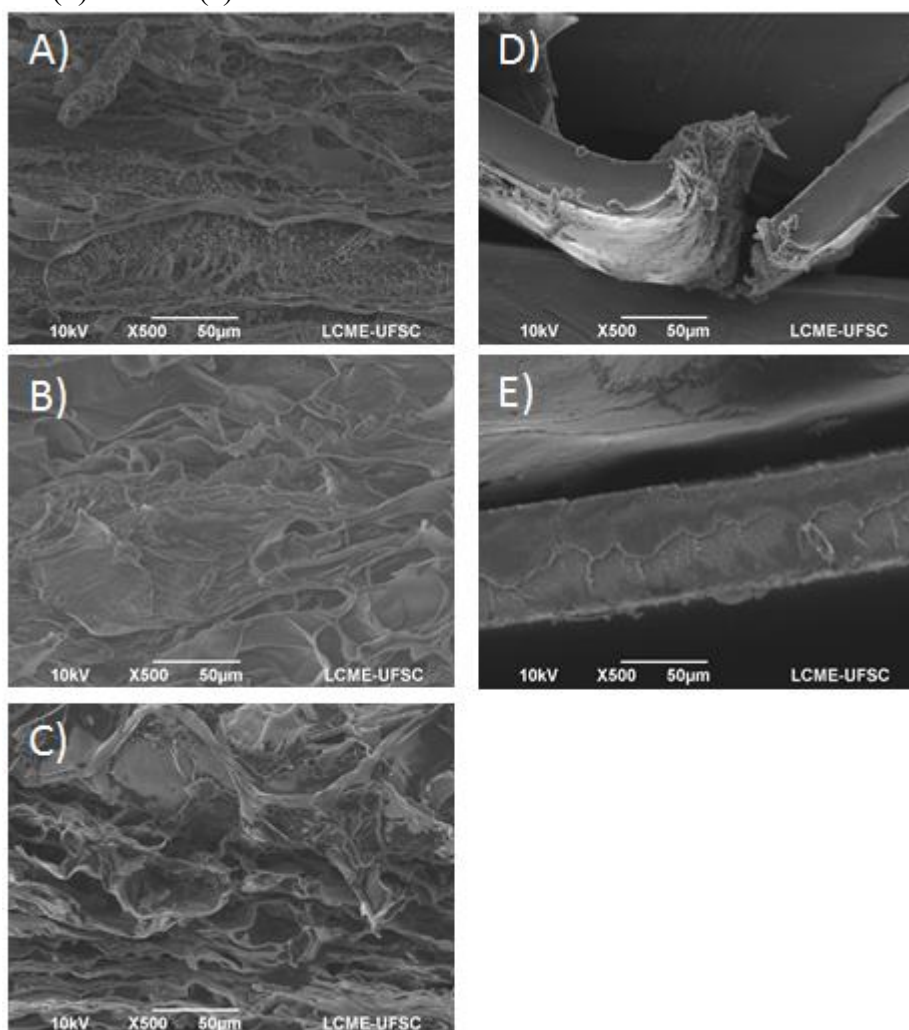
A absorção de água na matriz é necessária, pois o afastamento das cadeias poliméricas facilita a liberação da terbinafina na pele. Dessa maneira, pode-se manipular a hidrofiliabilidade da membrana para que ela se mantenha hidratada até o final da liberação.

5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Visto nas análises de microscopia ótica que ao final da secagem todas as membranas apresentaram-se densas, sem fraturas e poros aparentes, realizou-se análises de MEV para avaliar a morfologia interna das membranas em seu estado de gel. Dessa forma as membranas foram intumescidas até seu máximo de retenção de água sem se dissolver, em solução tampão de pH 7,4 congeladas e liofilizadas.

As imagens da fratura das membranas com fármaco (a-c) e grupo controle (d-e) estão apresentadas na Figura 18.

Figura 18 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura das fraturas das membranas com fármaco: (a) 30CH-TBF; (b) 40CH-TBF; (c) 50CH-TBF e membranas do grupo controle: (d) 100H e (e) 100C. As barras em branco indicam um tamanho de 50 μ m.



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

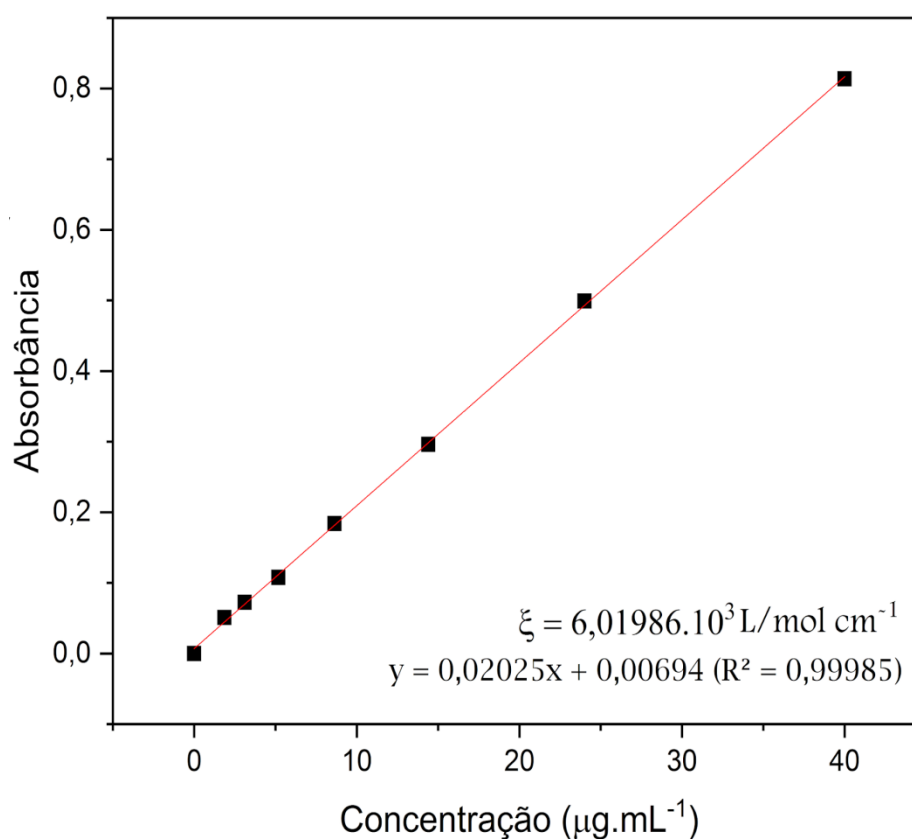
Observa-se que os grupos controle de HPMCAS (d) e CG (e) apresentam uma estrutura densa (SUN *et al.*, 2018a), enquanto as amostras de CG/HPMCAS mostram suas regiões internas porosas devido às interações entre os polímeros da matriz. Conforme se aumenta a quantidade de κ -carragenana, maiores são as rugosidades do sistema, aumentando assim a absorção de água na membrana, conforme mostra a análise de absorção de água.

Esse espaço livre formado entre as cadeias poliméricas devido ao intumescimento da matriz é essencial para a estabilidade da rede proporcionando a flexibilidade das cadeias, e a aderência da matriz na pele, além da liberação facilitada do fármaco (NERURKAR *et al.*, 2005).

5.8 PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DA TERBINAFINA

Para quantificar a terbinafina no estudo de liberação, realizou-se uma curva de calibração por espectroscopia de UV-vis, obtendo-se um coeficiente de absorção de $6,0198 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A Figura 19 mostra a curva analítica de calibração para quantificar o fármaco durante o experimento de liberação em fluido simulado.

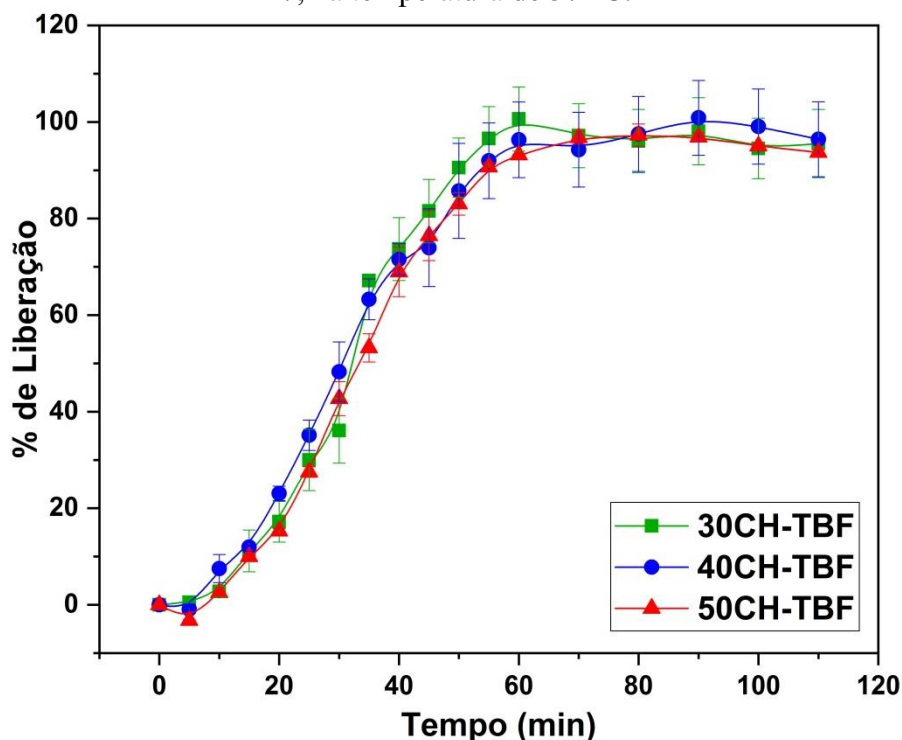
Figura 19 - Curva de calibração do cloridrato de terbinafina ($\lambda_{\text{max}} = 285 \text{ nm}$).



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

A Figura 20 apresenta o perfil de liberação das membranas realizado em banho sob agitação mecânica variada linearmente de um lado para o outro, a uma temperatura de 37°C em condição *sink*.

Figura 20 – Perfis de liberação das membranas com fármaco em solução tampão de pH 7,4 à temperatura de 37 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

Os dados experimentais observados na Figura 20 revelaram que a liberação da TBF é rápida, eficiente e, independente da concentração de CG da matriz. Em ambas as amostras, após 1h, 90 a 100% da TBF foi liberada.

A partir da análise dos perfis de liberação de TBF das membranas de HPMCAS/CG, pode-se obter uma visão sobre o mecanismo de liberação do fármaco, usando diferentes modelos cinéticos. A partir desta modelagem matemática é possível obter informações sobre os mecanismos de transporte de massa que estão envolvidos nestes sistemas. Os dados de liberação cumulativa foram ajustados aos modelos cinéticos de Primeira ordem (Equação 6), Higuchi (Equação 7) e Korsmeyer-Peppas (Equação 8) (QUADRADO; FAJARDO, 2020; SIEPMANN; PEPPAS, 2012b).

$$Q = Q_{max}(1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (6)$$

$$Q = k_H \cdot t^{0.5} \quad (7)$$

$$Q = k_{KP} \cdot t^n \therefore \log\left(\frac{Q_t}{Q_\infty}\right) = \log(k_{KP}) + n \log(t) \quad (8)$$

Onde, Q é a quantidade de cloridrato de terbinafina liberado no tempo t (h), Q_0 é a quantidade de cloridrato de terbinafina contido nas membranas, Q_∞ é a quantidade de cloridrato de terbinafina liberado no equilíbrio e k (k_1 , k_H e k_{kp}) são as constantes cinéticas para cada modelo. O parâmetro n (adimensional) é o expoente de liberação do modelo Korsmeyer-Peppas, que está ligado ao modelo de mecanismo de liberação do agente antifúngico. De acordo com os critérios para cinética de liberação de solutos a partir de membranas, um valor de coeficiente difusional $n \leq 0,5$, indica que o mecanismo de liberação observado é o de difusão do soluto através de camadas da matriz, também conhecido como mecanismo de liberação Fickiano. Um valor de $n = 1,0$ indica que a liberação do soluto é controlada apenas pelo intumescimento/relaxação da cadeia polimérica, isto é, independente do tempo, mecanismo este, também conhecido como “Caso II” de transporte. Quando $0,5 < n < 1,0$, obtém-se um transporte não-Fickiano ou anômalo, onde ocorre a superposição dos dois fenômenos, sendo que a liberação é controlada pela difusão e intumescimento, simultaneamente. Para valores de $n > 1,0$ têm-se um Super Caso II de transporte, no qual ocorre a contribuição simultânea de processos como difusão, intumescimento, relaxação e erosão da matriz polimérica (BETTINI *et al.*, 2001; SIEPMANN; PEPPAS, 2012b).

A Tabela 7 traz o ajuste dos pontos experimentais de liberação da TBF para as três diferentes equações cinéticas, mostrando as constantes cinéticas (k), R^2 e os parâmetros extras que dependem de cada equação.

Tabela 7 - Parâmetros cinéticos para a liberação da terbinafina em solução tampão pH 7,4.

Modelo	Parâmetro	30CH-TBF	40CH-TBF	50CH-TBF
Primeira Ordem	k_1 (h^{-1})	0,036	0,036	0,026
	R^2	0,9417	0,9559	0,9543
Higuchi	k_H ($mg.h^{1/2}$)	16,62	17,73	13,14
	R^2	0,9036	0,9372	0,9338
Korsmeyer-Peppas	K_{KP}	0,036	0,058	0,360
	n	2,08	2,02	1,35
	R^2	0,9904	0,9910	0,9925

Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

Após a consideração dos valores de R^2 , verificou-se que o modelo de Korsmeyer-Peppas ajusta melhor os dados cinéticos para a liberação de cloridrato de terbinafina a partir das membranas desenvolvidas. A partir do modelo proposto, observa-se que uma sobreposição de fatores rege a liberação do agente antifúngico a partir das membranas.

O primeiro estágio é onde ocorre o início do intumescimento da matriz polimérica sendo observada uma rápida liberação do agente para o meio de liberação. Posteriormente, com a completa relaxação, dissolução e intumescimento da matriz polimérica, ocorre a difusão do agente ativo presente nas membranas (BETTINI *et al.*, 2001).

A partir da análise dos expoentes difusionais (n), do mecanismo proposto, observa-se que todos encontram-se entre $n > 1,0$ têm-se um Super Caso II de transporte, no qual ocorre a contribuição simultânea de processos como difusão, intumescimento, relaxação e erosão da matriz polimérica (BETTINI *et al.*, 2001; NERURKAR *et al.*, 2005).

Observa-se que a amostra com menor quantidade de CG (30CH-TBF) apresenta um coeficiente de difusão maior e uma liberação menor de TBF quando comparada às demais nos primeiros 30 minutos do experimento, este fator se deve à sua temperatura de transição sol-gel de 33,51°C (vide Tabela 2), dessa maneira, as cadeias da matriz se encontram relaxadas, nas condições experimentais (~37 °C), permitindo a hidratação que conseqüentemente provoca uma erosão do sistema favorecendo em seguida a liberação do princípio ativo.

Em contra partida, a amostra com 40% de CG (40CH-TBF) tem uma temperatura de transição sol-gel de 37°C, assim a competição do meio com o princípio ativo é menor do que na amostra com 30% de CG, que facilita sua liberação e difusão, já nos primeiros minutos de experimento, seguida da relaxação e erosão da matriz polimérica.

A amostra com 50% de CG (50CH-TBF) tem uma temperatura de transição sol-gel em 38 °C, dessa maneira, durante o experimento as cadeias se encontram mais entrelaçadas quando comparada às demais amostras. Assim, inicialmente a difusão do fármaco é facilitada, seguida posteriormente do intumescimento e erosão da matriz polimérica, como mostra as constantes k e n do mecanismo proposto.

O processo de erosão dos polímeros possivelmente influenciou na quantificação do fármaco liberado, indicando alguns pontos de interferência da matriz na análise de UV-Vis, que é observado no desvio padrão de acima de 100% obtido nas curvas de liberação.

Para uma possível aplicação em pele este resultado é favorável, uma vez que a matriz intumesceria na superfície da pele, favorecendo a liberação tópica e localizada via difusão. Outro ponto a ser destacado é o fato de que ao intumescer, a membrana fica com características adesivas, o que facilitaria sua afinidade a superfície da pele, ainda, a matriz pode permitir uma liberação controlada do ativo, que é dependente da temperatura e da quantidade de água adicionada (NERURKAR *et al.*, 2005).

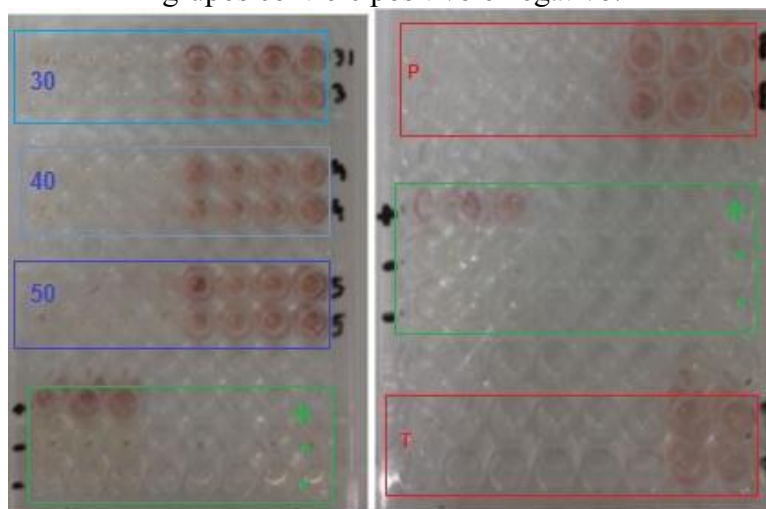
5.9 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

5.9.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) por microdiluição

Para a verificação da ação antifúngica das membranas utilizou-se cepas do fungo *Candida albicans*, através do método de microdiluição, uma técnica quantitativa capaz de determinar a concentração inibitória mínima, que é a menor concentração de agente antimicrobiano capaz de inibir visivelmente o crescimento de micro-organismos. Para isso, o inóculo utilizado foi uma suspensão em gel da formulação das membranas, que não seguiram para o processo de secagem nas três diferentes concentrações de HPMCAS/CG. Como grupo controle, utilizou-se o pó de TBF puro e a formulação comercial em creme de TBF.

Na Figura 21 os destaques em azul representam as formulações dos géis em 30, 40 e 50% de CG. Os destaques em vermelho (T) e (P) refere-se às microplacas com a terbinafina em pó e com o creme comercial respectivamente. Nos destaques em verde, estão o grupo controle positivo (+) e negativo (-) referentes ao controle de esterilidade do meio de cultivo e do diluente e o controle de crescimento da levedura e de ausência de contaminação nas amostras.

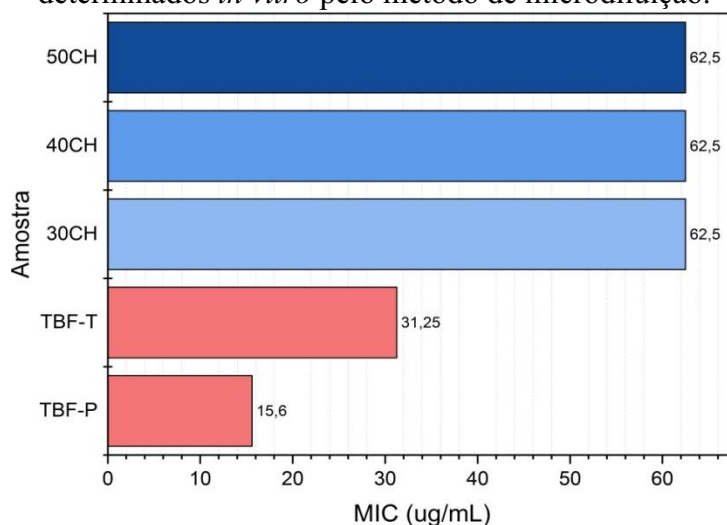
Figura 21 – Fotografia das microplacas de MIC das membranas 30CH-TBF; 40CH-TBF; 50CH-TBF (esquerda) e da terbinafina em pó e creme comercial (direita) e respectivos grupos controle positivo e negativo.



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

Visualmente é possível verificar na Figura 21 que ambas as amostras apresentaram atividade antifúngica contra o fungo *Cândida albicans*. O fármaco em pó apresenta a menor concentração inibitória mínima ($MIC = 15,6 \mu\text{g mL}^{-1}$), seguido do creme ($MIC = 31,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e das formulações do gel ($MIC = 62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), descritos no gráfico da Figura 22. Essa diferença pode ser influenciada pelas características das amostras, especialmente pela solubilidade dos outros componentes da matriz no diluente.

Figura 22 - Concentração inibitória mínima (MIC) dos géis a base de HPMCAS/CG determinados *in vitro* pelo método de microdiluição.



Fonte: Elaborado pelo autor do trabalho (2020).

A proporção entre os polímeros empregados na preparação das amostras não influenciou os valores de CIM. As formulações das membranas apresentaram atividades antifúngicas semelhantes, apesar do aumento de kappa-carragenana. No entanto, para uma melhor eficácia na atividade antifúngica é necessário elevar a concentração do fármaco nestas formulações.

Estudos *in vivo* e *in vitro* buscaram determinar a eficácia da terbinafina e outros dois agentes antifúngicos (itraconazol e fluconazol) no tratamento de pacientes com Candidíase vulvovaginal através da administração oral dos medicamentos. Foi obtido uma CIM de $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *Cândida albicans*, valor semelhante ao resultado obtido da terbinafina em pó (FERAHBAS *et al.*, 2006).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise reológica foi possível determinar a viscosidade relativa das formulações, este resultado revelou a evidência da interação dos polímeros da matriz entre si e com o fármaco, pois observou-se um aumento gradativo da viscosidade relativa no estado de gel das formulações CG/HPMCAS sem fármaco quando comparada ao polímero puro de CG, e uma elevação ainda maior quando na presença de TBF.

A análise de reologia foi essencial para determinar a concentração dos polímeros na membrana, com intuito de alcançar uma temperatura de transição sol-gel acima ou próxima temperatura corporal. Pode-se observar neste estudo, que o aumento da concentração de CG nas dispersões aquosas e a presença de TBF provocou um aumento da temperatura de transição sol-gel, indicando que é necessária uma energia térmica maior para interromper a ação referente à formação das estruturas de rede, resultado satisfatório para a liberação do fármaco, pois a mudança de conformação das cadeias na transição de fase, aumenta a distância entre elas, facilitando assim, a liberação do medicamento, e mantendo o entrelaçamento das cadeias durante o processo.

Através do método de *casting* e dos resultados reológicos foi possível preparar as membranas de κ -carragenana e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato incorporadas com terbinafina. A análise de FTIR sustentou os resultados descritos na análise de viscosidade relativa, pois se observou a partir do deslocamento das bandas 3372 cm^{-1} da CG e 3336 cm^{-1} do HPMCAS para bandas por volta de 3397 , 3389 , e 3378 cm^{-1} para as misturas. Novas interações com o grupamento sulfato da CG foram observadas, o espectro mostra o deslocamento da banda em 1222 cm^{-1} , atribuído ao grupamento O=S=O da CG, para 1237 , 1235 e 1233 cm^{-1} revelando interações para a obtenção de redes tridimensionais, a partir de ligações de hidrogênio. As membranas apresentaram propriedades macroscópicas adequadas para sua aplicação, evidenciando a homogeneidade e solubilização do fármaco, observada na análise de microscopia óptica com luz polarizada e na análise de DSC.

As propriedades mecânicas das membranas são modificadas quando comparadas as propriedades dos polímeros puros, com a adição da TBF, a tensão de ruptura, a deformação e módulo de elasticidade aumentam consideravelmente, indicando a dispersão do fármaco na matriz e suas fortes interações eletrostáticas, aumentando a mobilidade da membrana.

A análise de DSC foi de extrema importância para o estudo, pois fortaleceu o pressuposto de que o fármaco se encontra no estado amorfo e disperso na matriz, pois não foi observado nenhum evento térmico de fusão nas curvas das membranas de CG/HPMCAS. Além disso, foi observado o aumento da Tg das amostras com fármaco quando comparadas às formulações sem fármaco, suportando os resultados da análise mecânica, que indicam a forte interação com os polímeros, ocupando volumes livres entre as cadeias, diminuindo a mobilidade da matriz. Tais interações também são evidenciadas nas análises de TGA, que indicam o aumento de energia térmica necessária para degradar os polímeros nas misturas de CG/HPMCAS na ausência de TBF.

As membranas com TBF apresentaram menor absorção de água em comparação com as membranas sem TBF e as membranas dos polímeros puros, fortalecendo os resultados das análises anteriores. O intumescimento da matriz é necessário, pois o afastamento das cadeias poliméricas favorece a liberação da TBF. O aumento da quantidade de CG nas membranas com TBF produziu um aumento gradativo do intumescimento revelando um aumento da rugosidade da estrutura interna, conforme análises de MEV das fraturas das membranas.

O estudo de liberação *in vitro* da terbinafina mostram que a liberação é rápida e eficiente, liberando o medicamento em menos de 1 hora. O modelo cinético que melhor descreveu o mecanismo de liberação foi o de Korsmeyer-Peppas, indicando um transporte anômalo, onde ocorre a contribuição simultânea dos processos de difusão, intumescimento, relaxação e erosão da matriz polimérica.

As formulações apresentaram atividade antifúngica contra o fungo *Cândida albicans*, independente da concentração de CG nas formulações.

Dessa maneira, as membranas desenvolvidas apresentaram resultados favoráveis para aplicação em pele, uma vez que a matriz é intumescente em uma temperatura determinada pela concentração dos excipientes e possibilita o afastamento das cadeias poliméricas, devido a mudança de fase (gel) e a liberação e difusão da TBF. Além disso, o estado de gel apresenta uma alta viscosidade que possibilita a adesão do sistema na superfície da pele, devido às ligações de hidrogênio formadas na matriz.

Buscando estudar as características termoreversíveis e o comportamento desse sistema em pele, estudos como DMA, ângulo de contato, permeabilidade *ex vivo* e teste de adesão devem ser realizados futuramente.

REFERÊNCIAS

ALBERTI, I. et al. In vivo assessment of enhanced topical delivery of terbinafine to human stratum corneum. **Journal of Controlled Release**, v. 71, n. 3, p. 319–327, 2001.

ALKILANI, A. Z.; MCCRUDDEN, M. T. C.; DONNELLY, R. F. Transdermal drug delivery: Innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. **Pharmaceutics**, v. 7, n. 4, p. 438–470, 2015.

ASTM. American Society for Testing and Materials. D 882-02: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. **ASTM International**, v. 14, p. 1–10, 2002.

BANERJEE, S. et al. Aspect of adhesives in transdermal drug delivery systems. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 50, p. 70–84, 2014.

BARNES, H. A. **A Handbook of elementary rheology**. [s.l.] The University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, Department of Mathematics, 2000.

BARNES, H. A.; BELL, D. Controlled-stress rotational rheometry: An historical review. v. 15, n. 4, p. 187–196, 2003.

BARNETTE, D. A. et al. Comprehensive kinetic and modeling analyses revealed CYP2C9 and 3A4 determine terbinafine metabolic clearance and bioactivation. **Biochemical Pharmacology**, v. 170, n. October, p. 113661, 2019.

BARONI, A. et al. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 257–262, 2012.

BETTINI, R. et al. Translocation of drug particles in HPMC matrix gel layer: Effect of drug solubility and influence on release rate. **Journal of Controlled Release**, v. 70, n. 3, p. 383–391, 2001.

BOLZINGER, M. A. et al. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 17, n. 3, p. 156–165, 2012.

BOUWSTRA, J. A. The skin barrier, a well-organized membrane. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 123–124, p. 403–413, 1997.

BRUN-GRAEPPPI, A. K. A. S. et al. Study on the sol-gel transition of xyloglucan hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 2, p. 556–563, 2010.

BUCK, C. B. et al. Carrageenan is a potent inhibitor of papillomavirus infection. **PLoS Pathogens**, v. 2, n. 7, p. 0671–0680, 2006.

CÁCERES, P. J. et al. Carrageenans from chilean samples of *Stenogramme interrupta* (Phyllophoraceae): Structural analysis and biological activity. **Phytochemistry**, v. 53, n. 1, p. 81–86, 2000.

CAMPO, V. L. et al. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis - A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 167–180, 2009.

DARKES, M. J. M.; SCOTT, L. J.; GOA, K. L. Terbinafine: A review of its use in onychomycosis in adults. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 4, n. 1, p. 39–65, 2003.

DELGADO-CHARRO, M. B.; GUY, R. H. Effective use of transdermal drug delivery in children. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 73, p. 63–82, 2014.

DESHPANDE, T. M. et al. Developing a stable aqueous enteric coating formulation with hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate (HPMCAS-MF) and colloidal silicon dioxide as anti-tacking agent. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 542, n. 1–2, p. 108–116, 2018.

DONG, Z.; CHOI, D. S. Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate: Potential Drug - Excipient Incompatibility. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 3, p. 991–997, 2008.

DONNELLY, RYAN F. SINGH, T. R. R. **Novel Delivery Systems for Transdermal and Intradermal Drug Delivery**. 2015.

DOROYŃSKI, P. et al. Gastroretentive drug delivery systems with l-dopa based on carrageenans and hydroxypropylmethylcellulose. **International Journal of**

Pharmaceutics, v. 404, n. 1–2, p. 169–175, 2011.

DU, L. et al. A study on phase separation behavior in kappa/iota carrageenan mixtures by micro DSC, rheological measurements and simulating water and cations migration between phases. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 81–88, 2016.

DUL, M. et al. Self-assembled carrageenan/protamine polyelectrolyte nanoplexes-investigation of critical parameters governing their formation and characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 339–349, 2015.

FERAHBAS, A. et al. Terbinafine Versus Itraconazole and Fluconazole in the Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. v. 336, p. 332–336, 2006.

FILHO, J. D. O.; BOHJANEN, K. Estrutura e Função da Pele. p. 1–5, [s.d.].

GHORPADE, V. S.; YADAV, A. V.; DIAS, R. J. Citric acid crosslinked cyclodextrin/hydroxypropylmethylcellulose hydrogel films for hydrophobic drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 75–86, 2016.

GOODWIN, JIM W.; HUGHES, R. W. **Rheology for Chemists**. 2. ed. [s.l.] The Royal Society of Chemistry, 2008.

GUPTA, A. K.; FOLEY, K. A.; VERSTEEG, S. G. New Antifungal Agents and New Formulations Against Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, p. 127–141, 2017.

HAY, R. Superficial fungal infections. **Medicine (United Kingdom)**, v. 45, n. 11, p. 707–710, 2017.

HOARE, T. R.; KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, v. 49, n. 8, p. 1993–2007, 2008.

IJIMA, M.; HATAKEYAMA, T.; HATAKEYAMA, H. Gel-sol-gel transition of kappa-carrageenan and methylcellulose binary systems studied by differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 596, p. 63–69, 2014.

IIZHAR, S. A. et al. In vitro assessment of pharmaceutical potential of ethosomes entrapped with terbinafine hydrochloride. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 3, p. 453–461, 2016.

IKEDA, S.; MORRIS, V. J.; NISHINARI, K. Microstructure of aggregated and nonaggregated κ -carrageenan helices visualized by atomic force microscopy. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 4, p. 1331–1337, 2001.

JO, J. H. et al. Diverse Human Skin Fungal Communities in Children Converge in Adulthood. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 136, n. 12, p. 2356–2363, 2016.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 68, p. 258–266, 2014.

KATHE, K.; KATHPALIA, H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 6, p. 487–497, 2017.

KONDAVEETI, S. et al. Sustainable hydroxypropyl methylcellulose/xyloglucan/gentamicin films with antimicrobial properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 285–293, 2017.

KUMINEK, G. et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Single crystal structure, solid state characterization and dissolution rate of terbinafine hydrochloride. v. 79, p. 105–111, 2013.

LI, L. et al. Carrageenan and its applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 1–11, 2014.

LIU, H. et al. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 12, p. 1348–1368, 2009a.

LIU, J. et al. Films based on κ -carrageenan incorporated with curcumin for freshness monitoring. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 134–142, 2018.

LIU, S.; BAO, H.; LI, L. Thermoreversible gelation and scaling laws for graphene oxide-filled κ -carrageenan hydrogels. **European Polymer Journal**, v. 79, p. 150–162, 2016.

LIU, S.; HUANG, S.; LI, L. Thermoreversible gelation and viscoelasticity of κ -carrageenan hydrogels. **Journal of Rheology**, v. 60, n. 2, p. 203–214, 2016.

LIU, Y. et al. Effect of carrageenan on poloxamer-based in situ gel for vaginal use: Improved in vitro and in vivo sustained-release properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3–4, p. 306–312, 2009b.

MAHMOOD, W. A. K.; KHAN, M. M. R.; YEE, T. C. Effects of Reaction Temperature on the Synthesis and Thermal Properties of Carrageenan Ester Wan Ahmad Kamil Mahmood, 1 Mohammad Mizanur Rahman Khan 2* and Teow Cheng Yee 1. **Journal of Physical Science**, v. 25, n. 1, p. 123–138, 2014.

MARTINS, J. T. et al. Synergistic effects between κ -carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 2, p. 280–289, 2012.

MENON, G. K. New insights into skin structure: Scratching the surface. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. SUPPL., 2002.

MENON, G. K.; CLEARY, G. W.; LANE, M. E. The structure and function of the stratum corneum. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 435, n. 1, p. 3–9, 2012.

MICHEL, A. S.; MESTDAGH, M. M.; AXELOS, M. A. V. Physico-chemical properties of carrageenan gels in presence of various cations. **International Journal of Biological Macromolecules**, 1997.

MIYOSHI, E.; TAKAYA, T.; NISHINARI, K. Rheological and thermal studies of gel-sol transition in gellan gum aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 30, n. 2–3, p. 109–119, 1996.

MORAIS, S. C. **Estabilidade térmica de polímeros hidrossolúveis**. [s.l.] Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte, 2016.

MUGHAL, M. A.; IQBAL, Z.; NEAU, S. H. Guar gum, xanthan gum, and HPMC can define release mechanisms and sustain release of propranolol hydrochloride. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 1, p. 77–87, 2011.

NECAS, J.; BARTOSIKOVA, L. Carrageenan: A review. **Veterinarni Medicina**, v. 58, n. 4, p. 187–205, 2013.

NERURKAR, J. et al. Controlled-release matrix tablets of ibuprofen using

cellulose ethers and carrageenans: Effect of formulation factors on dissolution rates. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 61, n. 1–2, p. 56–68, 2005.

ÖZCAN, İ. et al. Enhanced Topical Delivery of Terbinafine Hydrochloride with Chitosan Hydrogels. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 1024–1031, 2009.

PARKER, A. et al. Rheology and fracture of mixed ι - and κ -carrageenan gels: Two-step gelation. **Carbohydrate Polymers**, v. 20, n. 4, p. 253–262, 1993.

PAWAR, H. V.; TETTEH, J.; BOATENG, J. S. Preparation, optimisation and characterisation of novel wound healing film dressings loaded with streptomycin and diclofenac. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 102–110, 2013.

QUADRADO, R. F. N.; FAJARDO, A. R. Microparticles based on carboxymethyl starch/chitosan polyelectrolyte complex as vehicles for drug delivery systems. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 2183–2194, 2020.

RASOOL, A. et al. Fabrication of novel carrageenan based stimuli responsive injectable hydrogels for controlled release of cephadrine. **RSC Advances**, v. 9, n. 22, p. 12282–12290, 2019.

SHAHBAZI, M. et al. Kinetic study of κ -carrageenan degradation and its impact on mechanical and structural properties of chitosan/ κ -carrageenan film. **Carbohydrate Polymers**, v. 142, p. 167–176, 2016.

SHANKAR, S. et al. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of chitin nanofibrils reinforced carrageenan nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 468–475, 2015.

SHOJAEI-ALIABADI, S. et al. Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 582–591, 2014.

SIEPMANN, F. et al. Aqueous HPMCAS coatings: Effects of formulation and processing parameters on drug release and mass transport mechanisms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 63, n. 3, p. 262–269, 2006.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery

systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 163–174, 2012a.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 163–174, 2012b.

SONAWANE, R. O.; PATIL, S. D. International Journal of Biological Macromolecules Fabrication and statistical optimization of starch- κ -carrageenan cross-linked hydrogel composite for extended release pellets of zaltoprofen. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 2324–2334, 2018.

STURM, D. R. et al. Solubility of water and acetone in hypromellose acetate succinate, HPMCAS-L. **Fluid Phase Equilibria**, v. 429, p. 227–232, 2016.

SUN, G. et al. Rheological behaviors and physical properties of plasticized hydrogel films developed from κ -carrageenan incorporating hydroxypropyl methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 85, n. May, p. 61–68, 2018a.

SUN, G. et al. Food Hydrocolloids Rheological behaviors and physical properties of plasticized hydrogel films developed from κ -carrageenan incorporating hydroxypropyl methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 85, n. July, p. 61–68, 2018b.

TANRIVERDI, S. T.; ÖZER, Ö. Novel topical formulations of Terbinafine-HCl for treatment of onychomycosis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2013.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 360–374, 2016.

VALENTA, C.; SCHULTZ, K. Influence of carrageenan on the rheology and skin permeation of microemulsion formulations. **Journal of Controlled Release**, v. 95, n. 2, p. 257–265, 2004.

YANG, F. et al. Co-delivery of terbinafine hydrochloride and urea with an in situ film-forming system for nail targeting treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, 2020.

