

## FORMULAÇÃO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA PARA A MITIGAÇÃO DA DOR EM RUMINANTES: UMA AVALIAÇÃO *IN VITRO*

CAMILA FERNANDES VIEIRA<sup>1</sup>; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ<sup>2</sup>; URIEL SECCO LONDERO<sup>3</sup>; RAIANE DE MOURA DA ROSA<sup>4</sup>; BEATRIZ BATISTA BRITES<sup>5</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas – eucamifernandes@gmail.com

<sup>2</sup>Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, Universidade Federal de Pelotas; IGNIS Animal Science – josianefeijo@gmail.com

<sup>3</sup>Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, Universidade Federal de Pelotas; IGNIS Animal Science – uriel\_londero@hotmail.com

<sup>4</sup>Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – raianemourasvp@gmail.com

<sup>5</sup>Curso de Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas – beatriz.batista.brites@gmail.com

<sup>6</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – marcio.nunescorrea@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Cada vez mais se busca aprimorar os sistemas de criação de bovinos, proporcionando melhores condições aos animais, resultando em melhores índices de produtividade. Um dos principais problemas ligados ao bem-estar animal é a dor, principalmente em bovinos, e está diretamente ligada a enfermidades que acometem os animais, sejam eles de origem infecciosa, traumática ou metabólica (NUNES; PACHECO; WAGATSUMA, 2021). Devido à dificuldade no manejo dos animais (MALAFAIA, et al., 2011), se torna necessário aprimorar e buscar medicamentos que minimizem as aplicações, por este, se torna fundamental a implementação de medicações com liberação controlada (LOPES, LOBO e COSTA, 2005).

O reconhecimento da dor em bovinos exige a avaliação de vários parâmetros (GLEERUP et al., 2015). Devido a estes animais serem considerados presas na natureza, eles não demonstram facilmente a dor (GLEERUP et al., 2015), e para entendimento devem ser avaliados o comportamento animal, parâmetros fisiológicos e mediadores químicos envolvidos. Sendo estes entendimentos necessários para determinar o protocolo mais apropriado para mitigar a dor (ALMEIDA et al., 2006; MUIR; GAYNOR, 2009).

O controle e alívio da dor continuam gerando um grande desafio na medicina bovina, sendo necessário o estabelecimento de novos protocolos, tratamentos e medicamentos que atenuem a dor de forma mais segura e com maior eficácia e duração promovendo o alívio e bem-estar animal. Com isso, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma plataforma de liberação lenta para inserção de princípio ativo para a mitigação da dor.

### 2. METODOLOGIA

Este projeto contém um termo de sigilo a respeito de sua fórmula por se tratar de um projeto de inovação farmacêutica. Por isto, não são tratados na metodologia os nomes dos produtos utilizados.

Durante o processo de produção da fórmula, foram desenvolvidas oito formulações com diferenças em proporções e químicos. Formulação 1 (19,8% polímero X e 4,95% polímero Y); Formulação 2 (20% polímero X e 4% polímero Y); Formulação 3 (22,22% polímero X e 4,44% polímero Y); Formulação 4 (19,61%

polímero X, 3,92% polímero Y e 0,98% de emulsificante); Formulação 5 (Proporções iguais as da formulação 4 mas o emulsificante foi adicionado depois da dissolução dos polímeros); Formulação 6 (19,8% polímero X, 4,95% polímero Y e 9,9% produto oleoso); Formulação 7 (Proporções iguais a da formulação 6 porém o produto à base de óleo foi adicionado após a dissolução dos polímeros); Formulação 8 (20% polímero X, 4% polímero Y e 10% produto oleoso).

Para determinar quais seguiriam nos testes foram estabelecidos padrões. O primeiro padrão que as formulações respeitaram foi a densidade de aplicação, então foi feito o teste da seringabilidade (KESHAI et al., 2015). Com o auxílio de uma seringa foi coletado 10 mL de cada amostra e então foi testada a viabilidade de aplicação baseado na densidade de cada formulação.

Outro parâmetro a ser considerado foi a temperatura de geleificação depois da adição do polímero principal, do adjuvante e após a adição do princípio ativo. Foi induzido calor através do banho-maria com agitação e foram consideradas as formulações que apresentaram resultados mais parecidos com o grau de temperatura corpórea.

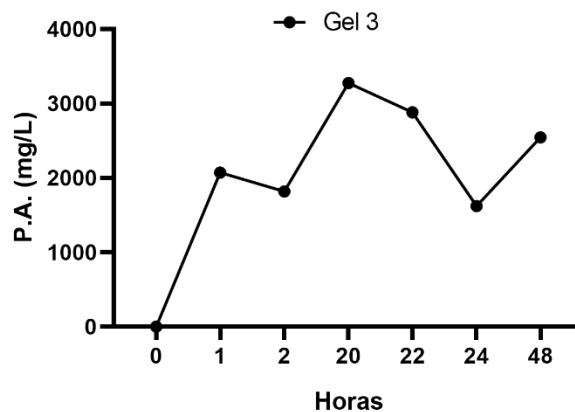
Foi utilizado como padrão de liberação *in vitro* o teste de liberação e erosão (PEPPAS; SAHLIN, 1989). Para isso foram colocados 10 mL da formulação e 10 mL do tampão Tris Base (pH 7,4). A cada coleta foi trocado todo o tampão do tubo de ensaio considerando o peso inicial e o peso no momento da coleta do tubo com o gel. Para quantificar a liberação, foi utilizado o espectrofotômetro FEMTO no comprimento de onda de 258 nm (BICALHO, et al., 2017). Os testes foram realizados em triplicatas.

Para o cálculo de liberação por espectrofotômetro, foi desenvolvida uma curva de liberação com diluições sabida do princípio ativo em uma solução de HCL a 0,1Mol conforme método utilizado por BICALHO, et al., (2017).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

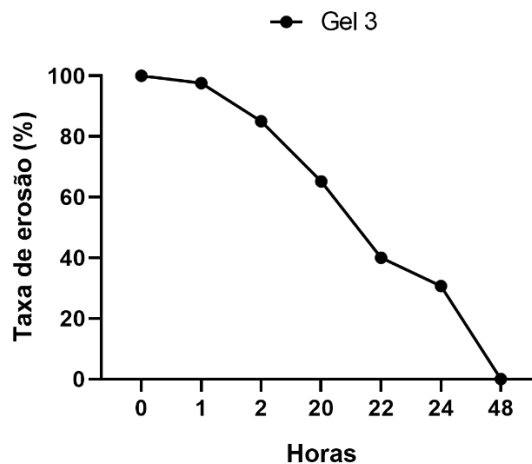
No teste de seringabilidade foram descartadas as formulações 4 e 5, ao simular uma aplicação se constatou que as formulações possuíam viscosidade alta inviabilizando a aplicação subcutânea. As formulações apresentam variações na temperatura de geleificação entre 31° C e 39° C, com isso, foi escolhida a formulação 3 para seguir nos testes, uma vez que a mesma após a adição do princípio ativo apresentou geleificação a 35 °C. Considerando que a temperatura corpórea dos bovinos varia entre 38 °C e 39,1 °C (ROBINSON, 1999), a formulação estaria na forma líquida em temperatura ambiente com geleificação somente após a aplicação no animal.

No Gráfico 1 podemos atestar que a formulação 3 apresentou liberação controlada e teve o seu pico de liberação entre as horas 2 e 20, ainda, é possível notar que a liberação se manteve até 48 horas. Considerando que a duração estimada do cetoprofeno (medicamento muito utilizado em ruminantes) é de 8 horas (STAFFORD, CHAMBERS e MELLOR, 2006), diferindo de nossos resultados uma vez que *in vitro* alcançamos o tempo de 48 horas de liberação, podendo melhorar a disponibilidade do princípio ativo para o animal.



**Gráfico 1.** Liberação da formulação 3 no teste de liberação e erosão.

No Gráfico 2 podemos notar que o decaimento no peso do gel condiz com a liberação do fármaco analisado por espectrofotometria ultravioleta observado no Gráfico 1. Na primeira hora o declínio foi menor possivelmente devido a géis hidrofílicos possuírem a capacidade de absorver água e sofrerem “inchaço” liberando o princípio ativo sem perda de peso do gel, corroborando com o que foi descrito LOPES, LOBO e COSTA (2005), de acordo com PEPPAS e SAHLIN (1989), a taxa de liberação do princípio ativo se dá através da proporção de erosão, com esta afirmação, é possível considerar resultados promissores, uma vez que o princípio degrada de modo parcial em 48 horas.



**Gráfico 2.** Erosão da formulação 3 no teste de liberação e erosão.

#### 4. CONCLUSÕES

O projeto se encontra em fase de testes e desenvolvimento, a formulação já atinge 48 horas de liberação constante e controlada. Os próximos passos a serem traçados incluem repetições nos testes *in vitro* e também a testagem *in vivo*.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, T. P. et al. Classificação dos processos dolorosos em medicina veterinária. **Veterinária em Foco**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 107- 118, 2006.
- BICALHO, A. B. et al. Análise de qualidade por doseamento espectrofotométrico ultravioleta/visível (UV/VIS) e titulação por oxirredução de dipirona sódica comprimidos 500 mg. **Revista Científica da Faminas**, Muriaé, v. 12, n.02, p. 15-26, 2017.
- BOND, G. B. et al., Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.7, p.1286-1293, 2012.
- GLEERUP, K. B. et al. Pain evaluation in dairy cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, Denmark, v. 171, p. 25-32, 2015.
- KESHAI, N. E. et al. Effect of liposomes on rheological and syringeability properties of hyaluronic acid hydrogels intended for local injection of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, France, v.487, p. 187-196, 2015.
- LOPES, C. M; JOSÉ, S. M. L; LOBO, C. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Portugal, v. 41, n. 2, p. 143-144, 2005.
- MALAFAIA, P. et al., Distúrbios comportamentais em ruminantes não associados a doenças: origem, significado e importância. **Colégio Brasileiro de Patologia Animal**, Seropédica, 2011.
- MUIR, W. W.; GAYNOR, J. S. **Manual de controle da dor em medicina veterinária**. São Paulo: MedVet, 2009. 2.ed.
- NUNES, M. H. V; PACHECO, A. D; WAGATSUMA, J. T. Reconhecimento e avaliação da dor em bovinos: Revisão. **PubVet**, Rio Branco, v.15, n. 06, p.1-12, 2021.
- PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International Journal of Pharmaceutics**, United States of America, v. 57, p. 169-172, 1989.
- ROBINSON, E. N. Termorregulação. In: CUNNINGHAM, J.G. (Ed.) **Tratado de fisiologia veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999. p.507-514.
- SILVA, D. F. et al. Bem-estar na bovinocultura leiteira: Revisão. **PubVet**, Bananeiras, v. 13, n. 01, p. 148, 2019.
- STAFFORD, K. J.; MELLOR, D. J. Addressing the pain associated with disbudding and dehorning in cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 135, n. 3, p. 226-231, 2011.