

DESENVOLVIMENTO DE UMA PLATAFORMA DE LIBERAÇÃO SUSTENTADA PARA VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO RECENTE

JORDANI BORGES CARDOSO^{1,2}; THAIS CASARIN DA SILVA²; RUBENS
ALVES PEREIRA²; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ²; MARCIO NUNES
CORRÊA² EDUARDO SCHIMITT^{2,3}

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – jordanicardoso.12@gmail.com

²Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – schmitt.edu@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A vaca leiteira nas últimas semanas de gestação passa por um período crítico chamado de período de transição. Nesse momento ocorre a transição de gestante para lactante, aumentando as exigências nutricionais, e ocorrendo diversas alterações metabólicas que afetam a ingestão de matéria seca (IMS), promovendo uma situação de déficit energético, também conhecido como Balanço Energético Negativo (BEN) (NETO et al, 2011).

Um dos principais agravantes do BEN, é a predisposição à ocorrência de transtornos metabólicos, como hipocalcemia, deslocamento de abomaso, metrite, mastite e cetose. A cetose é caracterizada pelo aumento da taxa de β -oxidação de ácidos graxos não esterificados (AGNEs), na tentativa de suprir as exigências nutricionais do animal. Entretanto em excesso, sobrecarrega o fígado, e favorece a oxidação parcial do acetil-CoA, resultando na formação acentuada dos corpos cetônicos, que são acumulados no organismo (DRACKLEY, 1999).

Por esse motivo, vem se buscando no mercado farmacêutico veterinário, alternativas eficientes para tratamento e prevenção dessas doenças, uma vez que as opções comerciais existentes são na forma de solução aquosa oral ou injetável, que necessitam de múltiplas aplicações, devido a liberação instantânea do princípio ativo no organismo do animal. Esse processo, torna o manejo dentro de uma propriedade difícil e oneroso ao produtor.

Como alternativa para melhorar a eficiência desses fármacos, passou-se a desenvolver novas tecnologias farmacêuticas, como as de liberação sustentada, visando prolongar a ação terapêutica desses medicamentos, como por exemplo, os hidrogéis. O hidrogel é capaz de desenvolver um sistema de liberação controlada de uma determinada substância, que pode variar desde antibióticos, anticoagulantes, anticorpos, contraceptivos ou nesse caso um mineral (SÁEZ et,al 2003). Isso é possível devido a sua capacidade de expansão quando em contato com água e as principais vantagens do seu uso são a sua biocompatibilidade com variadas substâncias, alta capacidade de intumescimento, elasticidade que minimiza atritos, além da flexibilidade de incorporação de diferentes fármacos (MOURA, 2005).

O objetivo desse estudo foi desenvolver uma plataforma farmacêutica termo sensível de liberação sustentada de determinado mineral para simplificar o manejo do tratamento ou prevenção de cetose, visando o bem estar animal. Para preservar a propriedade intelectual envolvida nesse estudo, por estar em um processo de patenteamento, manteremos em sigilo o tipo de mineral e polímero utilizado, sendo mencionadas apenas as nomenclaturas polímero termo sensível e mineral X.

2. METODOLOGIA

Para realização do estudo, foram desenvolvidas três formulações utilizando dois polímeros (termos sensíveis) e um princípio ativo específico, que será chamado de mineral X. Todas as formulações continham as mesmas concentrações dos polímeros, diferindo apenas a concentração do mineral X. A formulação I (29%10%0mg) era composta por 29% do polímero 1, 10% de polímero 2 e 0 mg de mineral X; a formulação II (29%10%500mg) era composta por 29% do polímero 1, 10% do polímero 2 e 500 mg de mineral X e a formulação III (29%10%750mg) continha 29% do polímero 1, 10% do polímero 2 e 750 mg de mineral X.

Foram realizados testes *in vitro* para avaliar a temperatura de geleificação, erosão do gel e a taxa de liberação do mineral, em triplicata. A temperatura de geleificação foi determinada pelo método de inversão de tubo (KEMPWADÉ; TARANALLI, 2014). Para isso, as formulações foram preparadas em tubos de ensaio de 13mm de diâmetro e colocadas em banho-maria com agitação à 4°C. A temperatura foi aumentada em 2°C a cada 2 minutos, até o momento que a solução parou de fluir sob a inclinação do tubo em 90°C e então se registrou a temperatura de geleificação.

Posteriormente foi determinado o perfil de erosão, onde os tubos de ensaio foram pesados previamente e cobertos por uma solução tampão PBS (tampão fosfato-salino) com pH 7,4 na condição de não saturação do meio (*Sink condition*). Posteriormente, os tubos foram levados a um banho-maria sob agitação a 37 °C. A cada 24 horas era retirado todo o meio e realizada a pesagem dos géis para verificar a erosão dos mesmos.

Concomitantemente a análise de erosão, foi analisado o perfil de liberação do mineral X, através de análise por espectrofotometria do meio de liberação coletado, no comprimento de onda de 254 nm. Para o cálculo da concentração liberada, com base na absorbância gerada no espectrofotômetro, foi elaborada uma curva de calibração com concentrações conhecidas do princípio ativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, pode-se observar as temperaturas de geleificação das formulações I, II e III, que corresponderam à 33°, 31° e 30°C respectivamente. Buscam-se temperaturas de geleificação mais próximas da temperatura corporal do animal (+/- 38°C) (CUNNINGHAM, 1999), e não acima dessa, justamente para proporcionar um produto de fácil manipulação dentro do manejo diário da propriedade, evitando que ocorra geleificação fora do organismo do animal ou a não ativação desse mecanismo (CHEN et al, 2013).

Tabela 1: Temperatura de geleificação *in vitro* das formulações I, II e III, testadas no estudo:

FORMULAÇÕES	TEMPERATURA DE GELEIFICAÇÃO °C
I	29% 10% 0g
II	29% 10% 500g
III	29% 10% 750g

Houve uma taxa de liberação (Figura 1) do mineral X mais longa (72h) para a formulação II, em relação à formulação III (48h), assim como na erosão do gel (Figura 2). Isso pode ter ocorrido devido à adição de uma maior concentração do mineral na molécula do gel, acarretando em uma desestabilização da estrutura. Sabe-se que o tamanho e a solubilidade da molécula adicionada no polímero podem afetar a cinética de liberação e erosão do gel (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006), além disso, o mineral utilizado na formulação apresenta característica hidrofílica, ou seja, afinidade com a água, aumentando assim a velocidade de degradação do gel e liberação do princípio ativo (LYRA et al. 2007).

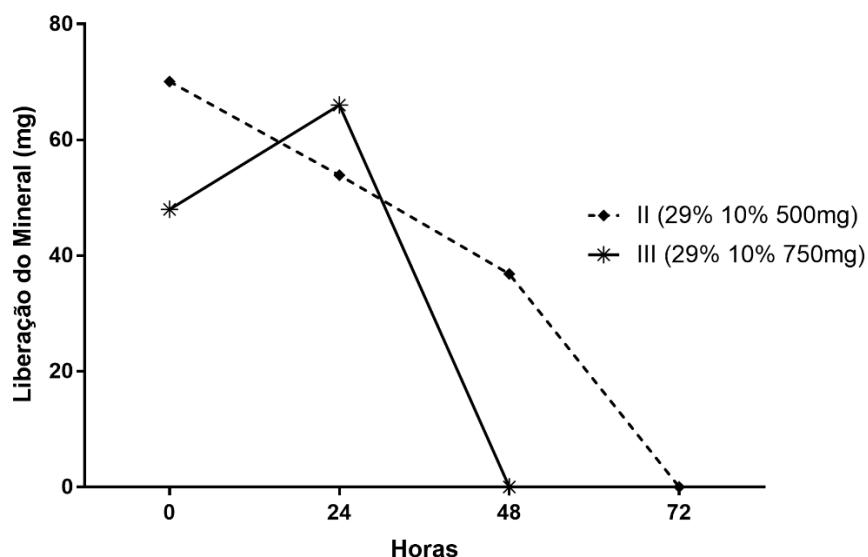


Figura 1: Taxa de liberação do mineral X (mg) *in vitro* ao longo de 72 horas

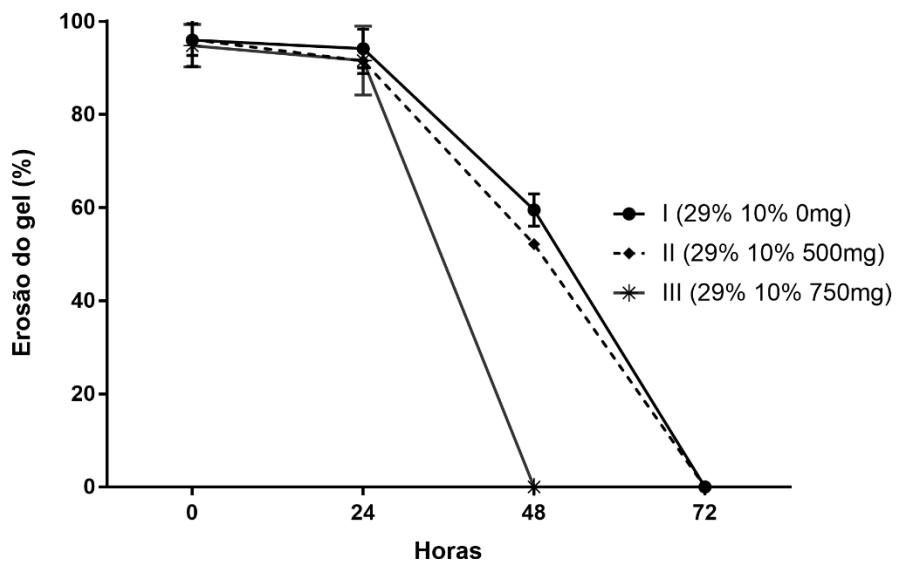


Figura 2: Perfil de erosão do gel (%) *in vitro* ao longo de 72 horas

Vale salientar que no presente estudo, os resultados da formulação II foram promissores, com liberação prolongada do produto e boa temperatura de geleificação.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que os resultados do presente estudo, são promissores. Foi possível prolongar o tempo de liberação do mineral, sem a necessidade de múltiplas aplicações, favorecendo a simplificação do manejo, visando o bem-estar animal. Ainda serão necessários novos testes *in vitro* e *in vivo* para consolidar o produto e ajustar a formulação, porém tem grande potencial para ser inserido no mercado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEN, J. ZHOU, R. LI, L. LI, B. ZHANG, X. SU, J. Mechanical, rheological and release behaviors of a poloxamer 407/poloxamer 188/carbopol 940 thermosensitive composite hydrogel. **Molecules**, Espanha, v. 18, n. 10, p. 12415-12425, 2013.
- COUGHLAN, D. C.; CORRIGAN, O. I. Drug–polymer interactions and their effect on thermoresponsive poly (N-isopropylacrylamide) drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, Holanda, v. 313, p. 163-174, 2006.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 454p.
- DE LYRA, M et al. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos **Latin American Journal of Pharmacy**, Bueno Aires, v.26, n.5, p 784-793, 2007.
- DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. **Journal of dairy science**, Missouri, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.
- KEMPWADÉ, A. AND TARANALLI, A. Formulation and evaluation of thermoreversible, mucoadhesive *in situ* intranasal gel of rizatriptan benzoate. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Nova York, p. 42-48, 2014.
- MOURA, M. R. D. **Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termosensível sintetizada a partir de alginato-Ca²⁺ e poli (Nisopropil acrilamida), do tipo IPN e semi-IPN**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química) - Curso de Pós-graduação em Química. Universidade Estadual de Maringá.
- NETO, A. C. et al. Problemas metabólicos provenientes do manejo nutricional incorreto em vacas leiteiras de alta produção recém paridas. **Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 12, n. 11, p.1-25, 2011.
- SÁEZ, V.; HERNÁEZ, E.; ANGULO, L. S. Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, Espanha, v. 4, n. 1, p. 21-91, 2003.